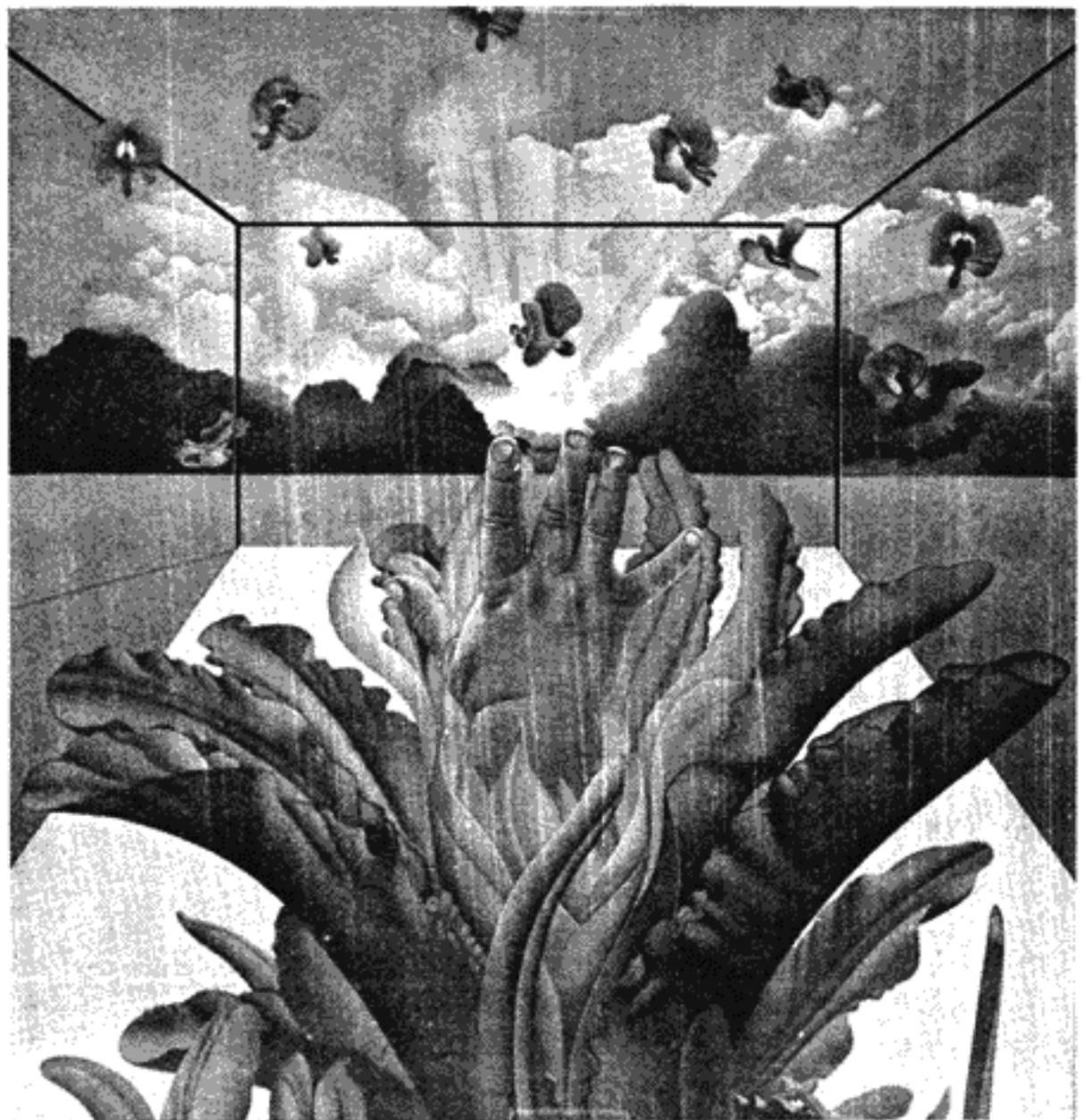


Transferencia genética horizontal: implicaciones evolutivas y biotecnológicas

DANIEL PIÑERO D.*

INTRODUCCION

La Teoría de la Evolución por selección natural siempre ha enfrentado la disyuntiva de explicar la diversidad de especies y el denominador común a la vida, su unicidad. Es Gregor Mendel (1822-1884), quien desarrolla la explicación de unicidad de la vida en relación al mecanismo mediante el cual se heredan las características de una generación a otra. Sus leyes explican en gran medida por qué los hijos se parecen a los padres y no permiten cambios que se incorporen a su información genética. Si las leyes de Mendel existieran y no hubiera mutación, sería imposible la diversidad genética. Es difícil imaginar un mundo sin mutación genética y fue Hugo de Vries (1848-1935) quien no sólo redescubrió (entre otros) las leyes de Mendel, sino que también propuso un mecanismo de generación de variación genética: la mutación, que revolucionó el Mendelismo convirtiéndolo en un proceso dinámico de herencia. Estos dos principios genéticos, las leyes de Mendel y la teoría de la mutación de de Vries son la base conceptual de lo que ahora entendemos como los principios de unicidad y diversidad de los seres vivos (véase Barahona, 1987, en este número).



Wilson McLean

* Centro de Ecología, UNAM

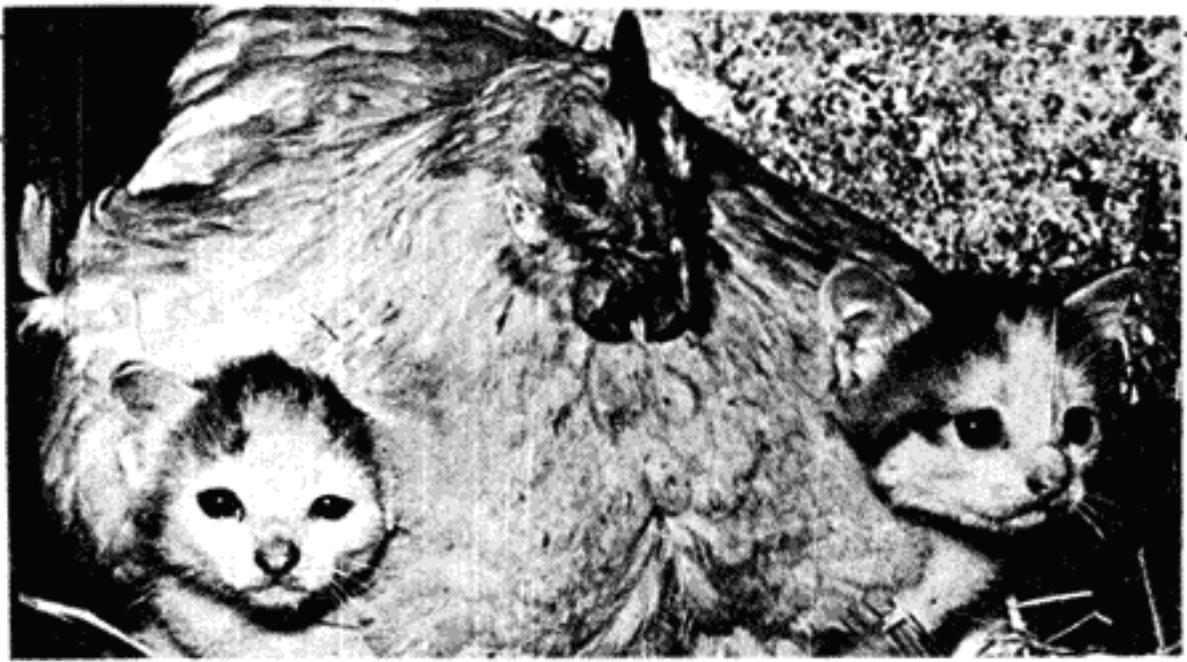
Un poco más tarde, en medio de un ambiente ya completamente mendeliano, H.J. Muller (1890-1967) describió otro mecanismo generador de variabilidad, la recombinación genética. Este proceso junta diferentes alelos en *loci* distintos creando nuevas combinaciones, que como la mutación, forma la base sobre la que opera la selección natural (véase Eguiarte, 1986, para una descripción más detallada de estos fenómenos).

La forma en que la mutación provoca nuevas variantes es modificando la secuencia de bases del ADN. El cambio en la secuencia repercute directamente en un cambio en la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada por el fragmento de ADN. La recombinación, en cambio, genera variación por la unión en un solo individuo de alelos que contribuyen a la expresión fenotípica de un carácter poligénico. Así por ejemplo, si suponemos que el color de los ojos está determinado por dos genes con dos alelos cada uno (A,a y B,b), y tenemos individuos AB/ab, la recombinación generaría gametos Ab y aB ausentes del individuo original y que producirían nuevas coloraciones en los ojos cuando estén presentes en un mismo individuo en combinaciones Ab/Ab o aB/aB.

Sin la existencia de la recombinación, simplemente esta variación no existiría. La recombinación genética no sólo se da entre genes sino también puede ser entre porciones de un gene, lo que significa intragénicamente. Dicho mecanismo forma moléculas recombinantes que efectúan la función original en forma diferente a los alelos existentes en la población.

TRANSFERENCIA VERTICAL VS. TRANSFERENCIA HORIZONTAL

La información genética se transmite de padres a hijos verticalmente. La recombinación es la unión de la información genética de dos individuos coetáneos por medio de la reproducción sexual. Visto así, se trata de un mecanismo transmisor de información que incluye —además del aspecto estrictamente vertical— un aspecto de transferencia horizontal de información genética. La probabilidad de que dos alelos existan en estado homocigoto (digamos AA y BB) en un mismo individuo a partir de otro aabb y sin que



Tomado de Time Life

haya recombinación mediada por la reproducción sexual, es la probabilidad de que "A" mute a "a" al cuadrado, multiplicada por la probabilidad de que "B" mute a "b" al cuadrado. Si suponemos una tasa típica de mutación de 10^{-6} , entonces la probabilidad de que surja un individuo AABB a partir de uno aabb sería $[(10^{-6})^2][(10^{-6})^2]$ ó 10^{-24} . Si consideramos por otro lado la probabilidad de obtener el mismo individuo por recombinación esta sería la probabilidad de mutación en ambos genes $(10^{-6})^2$ multiplicada por la probabilidad de recombinación que sería entre 0.01 (si los genes están muy juntos en el cromosoma) y 0.5 (si segregan independientemente). Esta probabilidad sería entonces entre 10^{-14} y 10^{-13} que es entre diez mil millones y cien mil millones de veces más alta que la calculada anteriormente. El efecto de la recombinación es entonces aumentar la probabilidad de aparición de combinaciones genéticas en varios órdenes de magnitud. Este efecto se hace más manifiesto si consideramos una mayor cantidad de genes determinando el fenotipo sujeto a estudio. Para tres genes el fenómeno se hace probable de un millón de veces más (diez mil millones de millones de veces) que si consideramos únicamente dos genes. Cada gene que agregamos, por su efecto en un fenotipo poligénico, incrementa la relevancia de la recombinación en seis órdenes de magnitud al ser comparada con la mutación como fuente de variación genética. Algunos fenotipos resultan afectados por decenas de genes y esto causa que la relevancia de la recombinación en tales casos sea muy clara.

TRANSFERENCIA DE GENES VS. TRANSFERENCIA DE GENOMAS

Uno de los aspectos interesantes a con-

siderar es la diferencia en cuanto a su mecanismo y las implicaciones que tiene la transferencia de un gene y aquella de todo el genoma. La especie es comúnmente definida como aquel grupo de individuos que comparten la misma poza génica. En este caso, la transferencia horizontal intraespecífica vía la reproducción sexual junto con la recombinación, constituyen fenómenos comunes; pero si consideramos que la transferencia se lleva a cabo entre individuos de especies diferentes, no se considera en ese caso. Esta transferencia, cuando existe, llega a desempeñar un impacto central sobre la manera de generar nueva variabilidad. Supongamos por un momento que los genes de la fotosíntesis rebasaran los límites específicos transfiriéndose a un heterótrofo multicelular: constituiría entonces un organismo que en la actualidad no existe. De hecho la ingeniería genética trata primordialmente este tipo de transferencia; por ejemplo, transferir genes de resistencia a la sequía entre plantas diferentes es la versión biotecnológica de un fenómeno que ha prevalecido en la naturaleza por mucho tiempo.

Así como en cada evento de reproducción sexual se ponen en contacto dos genomas distintos, podríamos imaginar la transferencia de un genoma de una especie a otra distinta. La teoría endosimbiótica del origen del cloroplasto y la mitocondria, es un típico caso de esta clase de transferencia. Aquí no sólo se rebasan las barreras entre especies sino que la cantidad de material genético que se moviliza es tal, que el variante producido crea una novedad que difícilmente se obtendría de otra manera. Existen especies de bacterias y de otros organismos que no tienen reproducción sexual; en la mayoría de ellas, la recombinación no juega un papel importante cuando se consideran genes localizados en el cro-

mosoma. El mismo principio no parece aplicarse al estudiar los genes presentes en plásmidos (genomas circulares físicamente independientes del cromosoma), en los cuales se han localizado, por ejemplo, los genes responsables de la resistencia a algunos antibióticos y que pueden ser transferidos en forma horizontal. Una pregunta que parecería central para abordar este problema en poblaciones naturales es cómo se puede detectar la transferencia horizontal y cómo sería posible estimar la tasa de ocurrencia en la naturaleza.

DETECCION DE TRANSFERENCIA HORIZONTAL

Detección experimental

Un experimento que se antoja útil para detectar la transferencia horizontal consistiría en usar a un organismo marcado con ciertos genes e introducirlo a una población con otros marcadores genéticos, registrando así el paso de ellos entre las cepas. Este experimento podría hacerse con mayor factibilidad en bacterias, dado lo breve de su ciclo de vida (véase Trevors *et al.*, 1987, para una revisión). Si la tasa de transferencia y la tasa de fijación combinadas es del orden de la tasa de mutación como se ha sugerido para genes cromosomales en bacterias, digamos 10^{-9} , este fenómeno sería difícil de detectar sobre todo si consideramos que el marcador genético puede aparecer en la población con esa misma tasa. Si se quisiera obtener un nivel de sensibilidad mayor, entonces se pueden usar tres marcadores genéticos, detectando el paso de dos de ellos que estén ligados; en cambio si la tasa es mayor y se utiliza una fuerte presión selectiva para hacer que la tasa de fijación sea igual a uno, entonces este enfoque puede ser usado para detectar la transferencia, pero si no se halla de esta manera, hay que argumentar las siguientes razones: a) el gene o los genes que

se utilizaron probablemente estén localizados en regiones del genoma que no se transfieren o bien, b) la sensibilidad de la metodología usada tal vez no sea eficaz para revelar valores mínimos de transferencia.

Detección filogenética: incongruencia de las tasas de sustitución

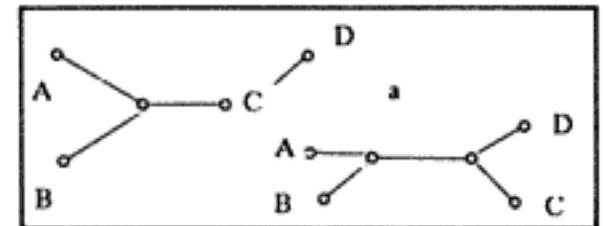
Sin duda este ha sido el método más usado en la detección de transferencia horizontal. Se ha encontrado que para una proteína particular las tasas de sustitución (esto es, la probabilidad de sustitución de un alelo por otro, fenómeno que incluye tanto la tasa de mutación como la probabilidad de fijación de un mutante) son constantes al graficarse con respecto al momento en que dos genes homólogos divergieron. En algunos casos una proteína de un cierto taxón no se ajusta al promedio de sustitución por año presentando una distancia aparentemente más corta que el tiempo de divergencia del taxón. Es decir, si la proteína parece haber divergido más recientemente que los taxa, entonces podemos suponer que hubo transferencia horizontal. Tal es el caso de la histona H3 entre las especies de erizo *Psammonechinus miliaris* y *Strongylcentrotus drobachiensis* (Busslinger *et al.* 1982).

Detección filogenética: incongruencia entre las topologías

La topología de una filogenia es el orden en el que existen las bifurcaciones (Llorente, 1986). Así por ejemplo, la filogenia de tres taxa A, B y C puede tener tres diferentes topologías (de hecho el número posible de topologías de n taxa es $((2n-3)!)/(2^{n-2}(n-2)!)$; (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) La primera es aquella en la que los taxa A y B son los más parecidos aunque también podemos considerarlos como más relacionados a A y C o a B y C. Usando esta premisa conceptual es posible entonces construir dos filogenias, una que represente las relaciones entre las moléculas y otra las relaciones entre los taxa. Si la topología construida con una molécula particular es diferente de

aquella que se obtiene considerando varios caracteres, entonces inferiremos que ha habido transferencia horizontal de la molécula en cuestión. Tal es el caso del gene de resistencia a kanamicina entre cuatro géneros de bacterias (Gray y Fitch, 1983).

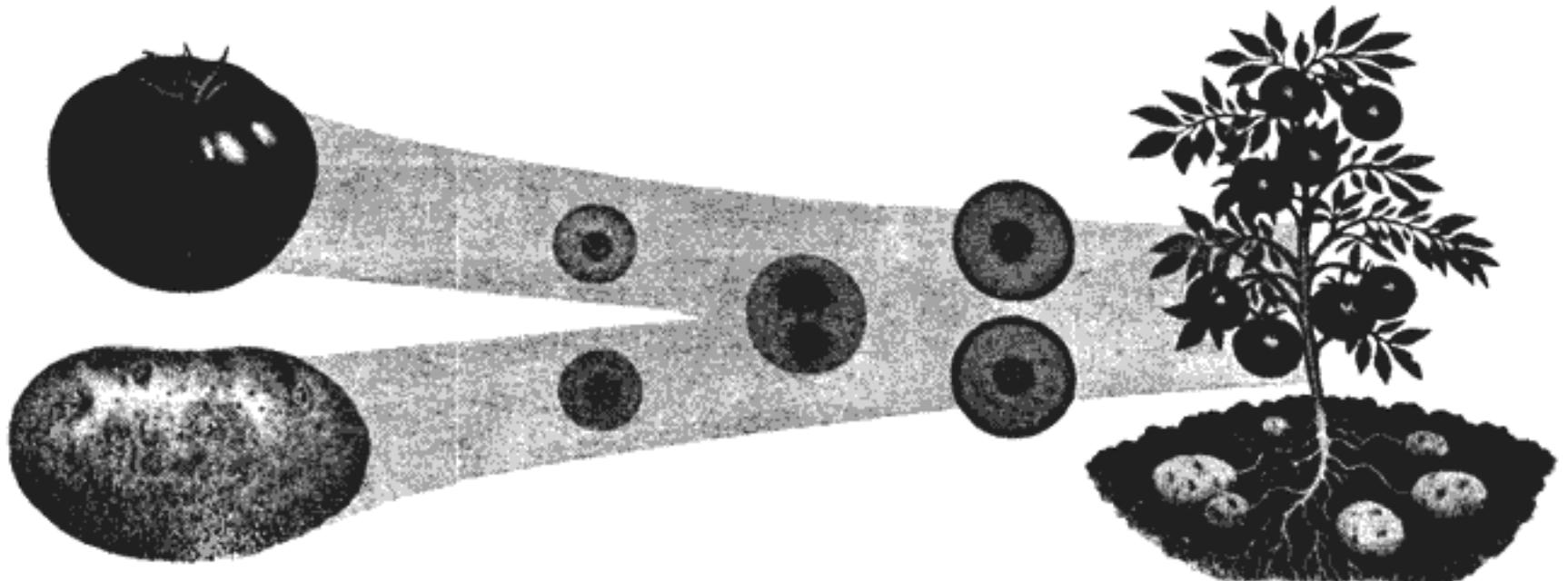
La estimación de la diferencia entre la topología de dos filogenias es aproximadamente el doble del número de transformaciones que han de hacerse para pasar de una topología a otra. Así, por ejemplo, para pasar de la topología



se requiere de una sola transformación que mueve al taxón C creando un nuevo borde inexistente en la topología anterior. El parámetro empleado para estimar esta diferencia se llama índice de distorsión. Como la reconstrucción de filogenias tiene involucrado un cierto grado de error, elaborar estadísticos de este índice aplicando simulaciones, parece ser una línea de investigación muy promisoría.

FILOGENIAS DE CROMOSOMAS VS. FILOGENIAS DE PLASMIDOS

Recientemente (Selander *et al.*, 1987) se ha encontrado que en la mayoría de las especies analizadas parece no tener mucha importancia la recombinación cromosómica. Las poblaciones bacterianas se comportan como un grupo de clonas en lo que se refiere a los genes localizados en el cromosoma. Estas clonas se comportan como líneas evolutivas que están sujetas a extinciones periódicas por selección natural. Si por



otra parte evaluamos la evidencia que existe acerca de la dinámica poblacional de los plásmidos bacterianos, encontraremos a una gran cantidad de datos, cuya directriz apunta hacia la idea de que los genes localizados en los plásmidos son fáciles de transferir entre cepas, así como la existencia de plásmidos autotransferibles. Estos fenómenos sugieren una gran movilidad de los plásmidos la cual contrasta profundamente con lo clonal de la mayoría de los cromosomas bacterianos. Si este fenómeno es común debiéramos esperar que al construir filogenias utilizando cromosomas y plásmidos obtendríamos topologías diferentes. Las implicaciones conceptuales de este fenómeno son muchas. Aquí sólo quisiera puntualizar algunas que parecen de interés inmediato. Podríamos, si las filogenias no son topológicamente congruentes, considerar que aun cuando una sola célula esté hospedando a cromosomas y plásmidos, éstos verdaderamente están evolucionando como unidades distintas.

Muchas especies de bacterias contienen genes funcionalmente importantes en sus plásmidos, como en los genes de resistencia a antibióticos, también aquellos involucrados en la fijación de nitrógeno atmosférico, así como los de resistencia a metales pesados. Como puede verse tales genes son —en muchos casos— responsables de actividades centrales en algunos ambientes donde la bacteria se desarrolla; enfrentamos entonces dos alternativas en cuanto a la dinámica del genoma de bacterias: por un lado, los dos genomas presentan historias evolutivas similares y por el otro, pudiera ser que ambas filogenias fueran independientes una de otra. Para resolver esta disyuntiva debemos obtener marcadores genéticos en ambos replicones, lo suficientemente informativos como para obtener filogenias confiables. Aún así las filogenias resultantes van a tener una cierta probabilidad de estar equivocadas. Para ello debemos diseñar estrategias estadísticas para evaluar la reproducibilidad de tales topologías. Métodos estadísticos en la asignación de límites de confianza a la reconstrucción filogenética, parecen ser los más adecuados para este propósito (Felsenstein, 1985).

IMPLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LA EXISTENCIA DE TRANSFERENCIA HORIZONTAL

Muchas de las técnicas propuestas hoy día, cuya finalidad es aumentar nuestro



nivel de vida, descansan en la suposición de que los genomas del cromosoma y de los plásmidos bacterianos se comportan como una unidad homogénea. Si en el laboratorio se genera una cepa de bacterias particularmente eficiente en la fijación de nitrógeno y para la asociación más productiva con el huésped, su establecimiento dependerá de esta suposición debido a que el destino del cromosoma podría ser diferente al del plásmido. Este problema se agrega a aquéllos expresados en relación a un probable peligro ecológico cuando sea introducido un organismo modificado genéticamente en el medio ambiente natural, determinando directamente el posible éxito alcanzado con ello. En esta contribución no quisiera discutir los aspectos ecológicos de la introducción y que pueden ser de varios tipos, sino sólo aquéllos determinantes en la probabilidad de que la cepa se establezca en el medio desde el punto de vista genético. La densidad de introducción, la época del año, la distribución del inóculo y otros aspectos afectarán directamente la probabilidad de que la cepa introducida sea o no exitosa, pero en el proceso de colonización estamos suponiendo que genéticamente la cepa se va a mantener pura. Si su plásmido y/o su cromosoma conteniendo los genes que le fueron introducidos recombinan con los de otras cepas en forma frecuente, entonces las pruebas de competitividad que se llevaron a cabo en el laboratorio o en el campo, ya no tendrían significado porque lo que nosotros llamamos cepa en realidad no existe. Sólo si la competitividad de los genes introducidos se expresara en cualquier genoma verificaríamos el incremento en la frecuencia de esos genes en la población. Si, desde otro punto de vista la recombinación no juega un papel relevante y nuestra cepa se mantiene homogénea, entonces sí tiene sentido desarrollar tecnologías para producir cepas mejoradas cada vez. Es de esta consideración que el entender la dinámica de las poblaciones de bacterias en lo que se refiere a la importancia de la transferen-

cia horizontal, se sugiere como una alternativa crítica de la estrategia de investigación.

BIBLIOGRAFIA

- Buslinger, M., S. Rusconi y M.L. Birnstiel. 1982. An unusual evolutionary behaviour of a sea urchin histone gene cluster. *Molecular Evolutionary Biology* 1:57-66.
- Cavalli-Sforza, L.L. y A.W.F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* 19:233-257.
- Eguarte Fruns, L.E. 1986. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. *Ciencias No. Especial de Evolución* :30-39.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies with a molecular clock. *Systematic Zoology* 34:152-161.
- Gray, G.S. y W.M. Fitch. 1983. Evolution of antibiotic resistance genes: The DNA sequence of a kanamycin resistance gene from *Staphylococcus aureus*. *Molecular Evolutionary Biology* 1:57-66.
- Llorente Bousquets, J. 1986. Algunas ideas de la teoría sistemática contemporánea: conceptos en cladismo. *Revista Ciencias No. Especial de Evolución* :74-87.
- Selander, R.K., J.M. Musser, D.A. Caugant, M.N. Gilmour y T.S. Whittam. 1987. Genetic analysis of populations of pathogenic bacteria by motilocus enzyme electrophoresis. *Microbial Pathogenesis* 3:1-17.
- Trevors, J.T., T. Barkay y A.W. Bourquin. 1987. Gene transfer among bacteria in soil and aquatic environments: a review. *Canadian Journal of Microbiology* 33:191-198.