



BEB 83

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN II

NUM. 2

JUNIO 1983

EDITORIAL

PERSPECTIVAS PARA UN ESTUDIANTE DE LICENCIATURA QUE DESEA SER BIOQUIMICO

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., realiza anualmente, desde hace poco más de dos décadas, un curso de entrenamiento para candidatos a ocupar plazas de ayudante de profesor. Con este curso se pretende seleccionar a los mejores candidatos entre los estudiantes de licenciatura que están interesados en la bioquímica. Sin embargo, antes de incorporarlos como docentes, se les ofrece un curso introductorio a la investigación en bioquímica, con la pretensión de que tengan una visión panorámica de lo que es en realidad, la investigación en esta área y sepan cuáles son sus posibilidades en el caso de ser llamados a tomar parte en proyectos de investigación, primero y luego en la docencia.

En vista de las dificultades crecientes para realizar investigación biomédica en México, es prioritario hacer reflexionar a los estudiantes, sobre las perspectivas que se les ofrecen en el momento en que deciden seguir el camino de un investigador. Estos son algunos de los hechos que deben conocer los citados candidatos:

- 1) No todos ellos podrán ser investigadores. Conviene que estén plenamente seguros de tener vocación para ello.
- 2) La investigación exige dedicación de tiempo completo. No se le puede abrazar esporádicamente como un pasatiempo.
- 3) El investigador biomédico no es de los profesionistas mejor remunerados. Si un candidato busca en primer término satisfacción económica, no la va a encontrar fácilmente al dedicarse a la investigación.

- 4) En vista de la crisis económica por la que atraviesa actualmente nuestro país, no existen muchas plazas de investigador.
- 5) Enfrentamos cada día una competencia más grande en la investigación. Los elementos mejor preparados son los que obtienen mayores facilidades y más ofertas de trabajo. Las facilidades de trabajo en general son limitadas en nuestro país, comparativamente con las que existen en otros países.
- 6) La preparación fundamental de quien va a realizar investigación biomédica puede hacerse en México. Mientras más pronto se inicia ésta es mejor. Esto quiere decir que los candidatos pueden realizar sus estudios de licenciatura y mientras tanto hacer sus contactos iniciales con la investigación, tomando los cursos propedéuticos que les permitan, al concluir su licenciatura, proseguir su preparación en los niveles de maestría y doctorado. En todo este proceso el candidato tiene oportunidad de definir su área de interés y avanzar más fácilmente y con seguridad hacia la consecución de sus metas.
- 7) La obtención de resultados en el trabajo de investigación no es fácil a corto plazo. La constancia y la honradez en el manejo de los datos son cualidades muy valiosas en un investigador.
- 8) Las estancias en el extranjero son más recomendables en la etapa posdoctoral, para realizar entrenamiento en nuevas técnicas del área que ya se eligió y en la que se ha trabajado por varios años.
- 9) La abrumadora mayoría de los estudiantes graduados que están entrenándose fuera del país reciben el apoyo económico principal o total de fuentes extranjeras. Es muy limitado el apoyo nacional para realizar estudios en el extranjero.
- 10) Para los investigadores ha sido cada vez más difícil realizar periodos sabáticos en instituciones fuera del país.
- 11) Algunos de los candidatos que tienen inte-

COMITE EDITORIAL

ALFONSO CARABEZ TREJO
Centro de Investigaciones en Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

ALBERTO HAMABATA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

JOSE ANTONIO HOLGUIN HUESO
Instituto Nacional de Cardiología
"Dr. Ignacio Chávez"
México, D.F.

JESUS MANUEL LEON CAZARES
Centro de Investigaciones en Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ENRIQUE PIÑA GARZA
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

COORDINADOR EDITORIAL
YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES
Ma. Dolores Alvarez Bruneliere (León Gto.),
Humberto Avila Rodríguez (Durango, Dgo.),
Alfredo Delgado (Monterrey, N.L.), Manuel Escobar L.
(Zacatecas, Zac.), Jesús R. Garcilaso (Hermosillo Son.), Ma.
Cristina González de Mac Swiney, (Mérida, Yuc.), Luis Rogelio
Hernández Montenegro (Saltillo Coah.), José Alberto Rivera
Brecht (Escuelas y Facultades de Medicina Veterinaria y
Zootecnia), Jesús Manuel Rodríguez (San Luis Potosí, S.L.P.),
Carlos Corredor (Cali, Colombia).



FACULTAD DE MEDICINA UNAM

DR. FERNANDO CANO VALLE
Director de la Facultad de Medicina UNAM.

DR. ULISES AGUILAR BATURONI
Secretario General de la Facultad de Medicina UNAM

C.P. EDUARDO MUÑOZ GONZALEZ
Secretario Administrativo

DR. JUAN C. DIAZ ZAGOYA
Jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina
UNAM.

BEB 83 Vol. II, Núm. 2 junio de 1983

EDITORIAL

Perspectivas para un Estudiante de Licenciatura que desea Ser Bioquímico. J.C. Díaz Zagoya 1

ARTICULOS

Características del Proceso de Diferenciación Celular en Cultivos in vitro de Plantas Superiores. E. Sánchez de Jiménez 3

El Arte de Investigar. A. Sols 7

La Fijación del Nitrógeno. V.M. Loyola Vargas 16

OTRAS COMUNICACIONES

La Enfermedad de Alzheimer, un Trastorno de la Inervación Colinérgica Cortical. Dr. Guillermo Carvajal S. 24

La Naloxona, eficaz en la Enfermedad de Alzheimer. Dr. Guillermo Carvajal S. 24

La Fisostigmina y la Lecitina en el Tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. Dr. Guillermo Carvajal S. 24

Inmunodeficiencia Celular debida a Oroticoaciduria Hereditaria. Dr. Guillermo Carvajal S. 25

"El Papel Biológico de las Poliaminas". Primera Mesa Redonda. 25

El Sistema Espermina-Espermina Oxidasa y sus posibilidades Quimioterapéuticas. G. Carvajal*, C. Vargas, C. Correa y Enequina J. de Carvajal** 25

Interacción del DNA con Poliaminas, I. Baeza R. *. 26

Poliaminas y Biología de la Reproducción. O. Hernández-Pérez Ballesteros-Negrete L.M., Rosado-García A. 26

Diseño Síntesis y Estudio de Inhibidores de la Ornitina Descarboxilasa. Carlos Wong Ramírez* y Ricardo Yáñez Avila 27

Inhibición de la Biosíntesis de Poliaminas y su Repercusión Metabólica. José D. Méndez 27

Poliaminas en la respuesta de Herida y Senescencia en Plantas. Ruth Román Palacios, Yolanda Cocotle y Carlos Pérez Brizuela 28

El Rincón del Taller. Yolanda Saldaña de Delgadillo 28

INDICES DE REVISTAS 29

Instrucciones para los colaboradores del Boletín de Educación Bioquímica 32

DONANTES

Dr. Raúl Aguilar Caballero Dra. Beatriz Eugenia Baca Dr. Pedro Campos M., Dr. Jean Luis Charli, IBQ. Ma. Elena Carvajal de Cruz, Dr. Guillermo Carvajal S., Dr. Alfredo Delgado Arredondo, Dr. Federico Fernández Gavarrón, M.V.Z. Antonio Gallardo Rubio, Sr. José Antonio Heredia Rojas, Dr. Luis Rogelio Hernández Montenegro, Dr. Jesús Manuel León Cazares, Dr. Rubén López Revilla, Dr. Rubén C. Montes Pérez, Dr. Ezequiel Murillo, Dra. Susana Ramírez Robles, Dra. Yolanda Saldaña Balmori de Delgadillo, Dr. Amado Jorge Shain Mercado, Dra. Marcela Vela del Bosque, Dra. Kaethe Willms Manning, Sr. Manuel Zapata Saucedo, Dr. Alejandro Zentella Dehesa.

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB) es una publicación trimestral auspiciada por la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Registro en Trámite. Correspondencia Y. Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70159, Delegación Coyoacán. 04510 México, D. F.

rés en la investigación, pueden lograr acomodo en el área de la biotecnología, porque sólo contando con elementos bien preparados en esta área se acelerarán los proyectos de desarrollo, que nos harán menos dependientes de otros países más avanzados.

En conclusión, las perspectivas que enfrenta un estudiante de licenciatura que desea dedicarse a la bioquímica no son muy halagado-

ras, pero, si después de haber hecho el análisis cuidadoso de estas perspectivas decide seguir por el camino de la investigación en bioquímica, dicho candidato es merecedor de todo nuestro respeto, cuidado, ayuda y consejo, para hacerle más agradable el camino.

*Dr. Juan C. Díaz Zagoya
Departamento de Bioquímica,
Facultad de Medicina, U.N.A.M.*

CARACTERISTICAS DEL PROCESO DE DIFERENCIACION CELULAR EN CULTIVOS in vitro DE PLANTAS SUPERIORES

Estela Sánchez de Jiménez Departamento de Bioquímica Vegetal, Facultad de Química, UNAM.

El fenómeno de la diferenciación celular es uno de los más ampliamente observados en la naturaleza. Su estudio incide en una área interdisciplinaria en donde la embriología y otras ciencias relacionadas con el desarrollo, han aportado los primeros apoyos y conocimientos científicos para su comprensión. Durante muchos años, los estudios y las investigaciones sobre este fenómeno se habían limitado a ser de tipo descriptivo fundamentalmente, debido a la gran complejidad del mismo. Sin embargo, a medida que otros campos de la ciencia han avanzado, el concepto acerca de la diferenciación celular se ha ido transformando. En los últimos años, la bioquímica y en especial la biología molecular han aportado conocimientos tan relevantes a este fenómeno que han permitido un avance significativo en la comprensión del mismo, de tal manera que en la actualidad ya es posible hacer planteamientos a nivel molecular en las investigaciones acerca de este fenómeno.

El fenómeno de la diferenciación celular consiste en la especialización que presentan las células de los organismos en determinados estadios de su desarrollo, el cual les confiere un fenotipo específico es decir un conjunto de características morfológicas y funcionales. Este fenotipo es estable, potencialmente reversible, al menos en plantas y bacterias y transmisible a las nuevas generaciones de células, sin que se pierda la totipotencialidad celular (contenido de toda integridad de la información genética original).

Con base en los conocimientos que se tienen actualmente, se ha sugerido que los mecanismos que regulan la expresión de cada fenotipo de las células diferenciadas, están basados en cambios epigenéticos, mecanismos de regulación posteriores a la

organización del genoma, aunque no es posible descartar la reorganización de ADN y aún la pérdida de algunas fracciones de éste. De hecho los avances recientes en biología molecular permiten pensar que la adquisición de ciertos estados de diferenciación celular, se realizan por las transposiciones de algunas regiones específicas del ADN.

En organismos animales existe un ejemplo bien caracterizado de un rearrreglo molecular involucrado en el proceso de diferenciación celular, el cual lo constituyen los genes de las inmunoglobulinas. En efecto, ha sido demostrado que durante la diferenciación de los linfocitos B, las células que sintetizan los anticuerpos, las zonas de ADN que contienen la información genética para la síntesis de inmunoglobulinas, son translocadas para quedar integradas en una región específica del cromosoma. En forma similar se han reportado extensas translocaciones de ADN en rearrreglos ocurridos en la ontogenia del erizo de mar.

En plantas se cuenta con menor información a nivel molecular en relación a éstos fenómenos; sin embargo, existen reportes relativos a los mecanismos que regulan la expresión de algunas proteínas de reserva en granos, como las globulinas en frijol, y la zeína en maíz en donde se ha demostrado que no hay amplificación genética (incremento de un tipo específico de genes) en el proceso de especialización de las células productoras de estas proteínas, sino que son mecanismos epigenéticos los que hacen que se sinteticen y depositen en gran escala estas proteínas. Recientemente se ha logrado mayor información acerca de rearrreglos moleculares de ADN relacionados con la expresión fenotípica de las plantas, como el caso del maíz, en que se conoce que existen translocaciones de algunas secciones

movibles de ADN dentro del genoma, los cuales ocasionan variabilidad en los patrones de coloración del endospermo de algunas variedades de maíz.

SISTEMA DE CULTIVO *in vitro*

El cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales, es un conjunto de técnicas especializadas que permiten mantener en forma estéril, células y tejidos en continuo proceso de crecimiento. A través de manipulaciones en el contenido de los nutrientes y los fitorreguladores del sistema, es posible inducir el proceso de diferenciación celular en ambos sentidos: de tejidos y órganos se pueden producir células aisladas y masas celulares sin morfología definida, con desaparición de las características funcionales originales a lo que se denomina *desdiferenciación* y a partir de estas células o tejidos amorfos, ha sido posible regenerar nuevamente el desarrollo de plantas completas (figura 1). Estos sistemas ofrecen un modelo ideal para abordar los estudios de diferenciación celular, debido a que en ellos se puede controlar la concentración de nutrientes y hacer manipulaciones de tipo ambiental, fisiológico, bioquímico y genético. En estos sistemas es posible hacer planteamientos experimentales a nivel molecular, acerca de los mecanismos que regulan la expresión genética de las plantas.

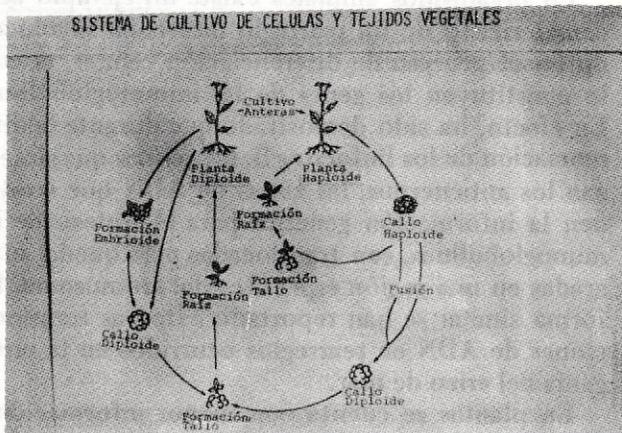


Figura 1. Sistema de cultivo de células y tejidos vegetales. Conjunto de manipulaciones que permiten cerrar un ciclo completo de diferenciación celular. La formación de plantas haploides por ese proceso solamente se ha logrado en los géneros: *Nicotiana*, *Datura* y *Petunia*.

FUNCION DE LOS FITORREGULARES Y OTROS FACTORES EN LA DIFERENCIACION CELULAR

El proceso de *desdiferenciación* y *rediferenciación* está controlado primordialmente por la relación de dos fitorreguladores fundamentales en los tejidos vegetales: las auxinas y las citocininas (figura 2). El desbalance hormonal causado por la pre-

sencia de auxinas en el medio de cultivo induce la formación de callos a partir de tejidos organizados de la planta. De la misma manera a partir de callos, los niveles bajos de auxinas y las concentraciones elevadas de citocininas, inducen el proceso de *diferenciación*. Este tipo de comportamiento hormonal se ha observado en distintas especies vegetales como tabaco, soya, alfalfa y algodón. También se han involucrado otros fitorreguladores como responsables del proceso de diferenciación, como las giberelinas, sin embargo, la evidencia de su participación en este proceso es menor que el de los fitorreguladores arriba mencionados.

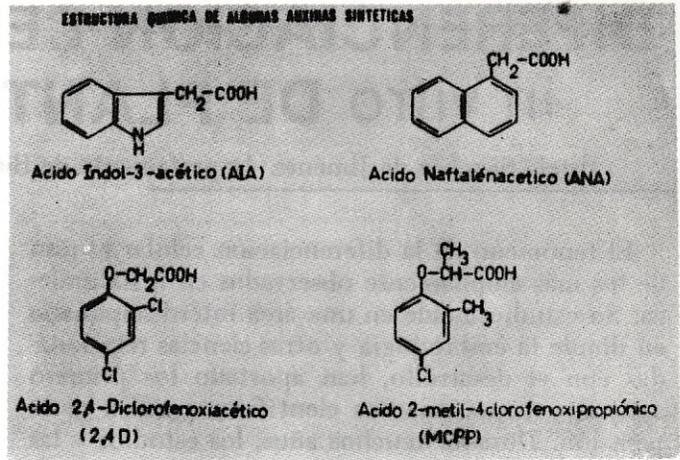


Figura 2. Fórmulas de algunas de las auxinas más usadas en cultivo de células y tejidos *in vitro*.

Actualmente, a pesar de la numerosa literatura acumulada en relación al control hormonal en la *citodiferenciación*, no se conoce con exactitud y a nivel molecular, la forma de participación de estos reguladores. Sin embargo, se han hecho avances significativo en este respecto y se puede afirmar que ambos fitorreguladores inciden en el proceso de transcripción y/o traducción de las proteínas. De tal manera que la adición de auxinas exógenas en tejidos en diferenciación, acelera la velocidad de síntesis de las proteínas, alterando además el patrón normal de las proteínas sintetizadas por ese tejido. Asimismo, la acción de citocininas ha sido localizada a nivel de los ribosomas además de su participación en la estimulación de la división celular.

Diferentes autores han reconocido también la existencia de otros factores que influyen de manera importante en el proceso de la *rediferenciación* celular. Entre ellos los más destacados son:

a) *Edad del callo*. En la mayoría de las plantas es muy clara la dependencia de la capacidad organogénica de la edad del cultivo, como en tabaco, papa y alfalfa, la cual se va perdiendo a medida que aumenta el número de generaciones celulares producidas en resiembras sucesivas del cultivo. En otras especies sin embargo, la edad del callo no parece ser tan de-

cisiva en el proceso de diferenciación, como ocurre con algunas leguminosas y en otras plantas dicotiledóneas, en las que aún después de un largo periodo de resiembras se observa cierta capacidad para regenerar plántulas. Este fenómeno parece depender al menos parcialmente, de la acumulación de defectos genéticos a través de la sucesiva formación de generaciones celulares (figura 3).

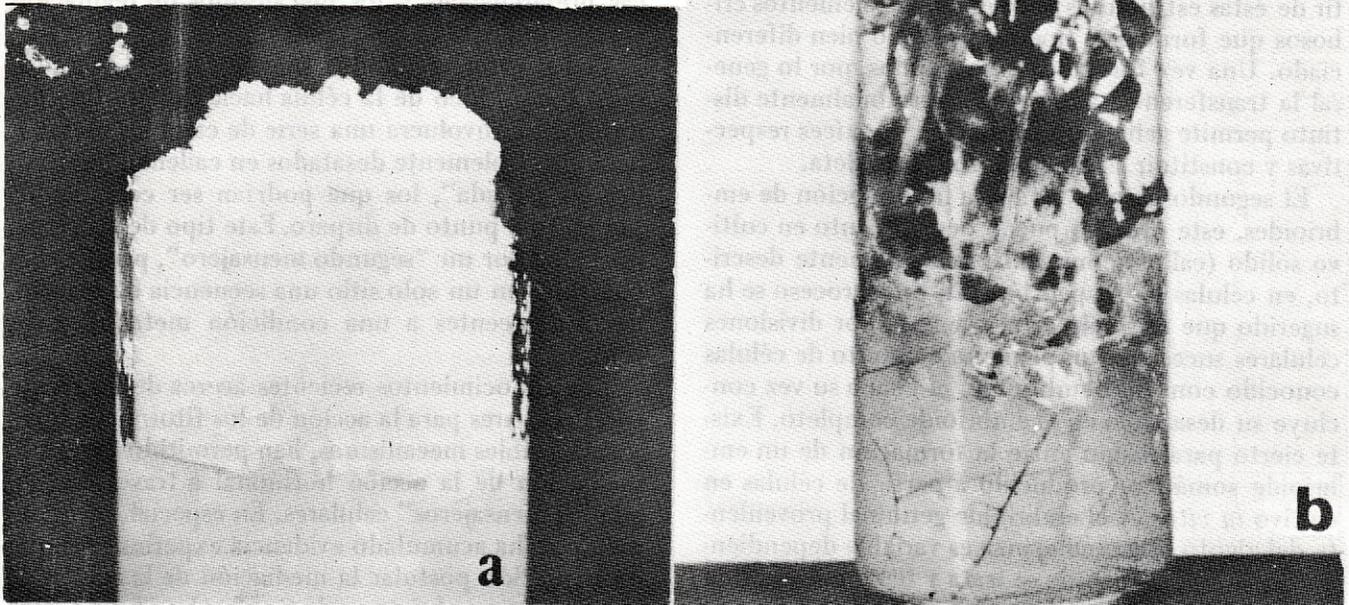


Figura 3. Capacidad de organogénesis de callos de *B. ternifolia*. a) Callo en proceso de crecimiento. b) Plántula en desarrollo. Fernández L., y Sánchez de Jiménez, E. (1982). *In vitro* culture of *Bouvardia ternifolia*. Can. J. Bot. 60. 917-821.

b) *Choque Osmótico*. El proceso de organogénesis, requiere un alto nivel energético, el cual es proporcionado por la acumulación de almidón y azúcares en el cultivo. Estos compuestos actúan además como osmorreguladores del proceso. En tabaco se ha llegado a demostrar que un incremento en la presión osmótica de las células causada por 3 por ciento de sacarosa en el medio, estimula la formación de tallos, la cual sin embargo, disminuye si se sobrepasa este nivel óptimo de presión. Por otra parte, estudios en cultivos de cereales han mostrado que el inicio de la formación de embrioides es fuertemente estimulado por una presión osmótica de 12 por ciento de sacarosa en el medio. Estos embriones sólo desarrollan a plántula cuando posteriormente son cultivados en una presión osmótica menor, del orden de 2 por ciento de sacarosa.

Estos resultados indican que en un momento determinado del desarrollo del cultivo, el factor osmorregulador se convierte en definitivo para la inducción de los tejidos diferenciados.

c) *Metabolismo Nitrogenado*. El proceso de diferenciación puede también ser inducido en las células en cultivo por alteraciones de su metabolismo nitro-

genado. Se ha reportado que los niveles altos de amonio, aunados a los cambios hormonales inducen la formación de embrioides en cultivos de zanahoria y alfalfa, mientras que la presencia de glutamina, estimula la diferenciación en cultivos de algodon y en cultivos derivados de embriones maduros de maíz.

Debido a que se conoce poco acerca del metabolismo nitrogenado de los tejidos *in vitro*, no es posible todavía saber cuál es el o los mecanismos a través de las cuales ocurre este fenómeno. Sin embargo, es posible considerar, con base en la evidencia existente, que la relación de este metabolismo con los procesos de diferenciación celular, está mediada por los niveles de poliaminas (espermina, espermidina, putrescina) presentes en las células. La vía de biosíntesis de estos compuestos, está relacionada con dos metabolitos clave dentro del metabolismo nitrogenado: la arginina y la glutamina.

ORGANOGENESIS vs. EMBRIOGENESIS

Existen dos caminos fundamentales a través de los cuales un callo o un cultivo de células en suspen-

sión puede formar una planta completa: la organogénesis y la embriogénesis. El primer camino se refiere a la formación de órganos, tallos y raíces, a partir del callo. En este proceso, los callos generan zonas meristemáticas en las que posteriormente se pueden observar elementos de traqueidas; es decir, se forman los primeros indicios de la generación del sistema vascular en esos tejidos (xilogénesis). A partir de estas estructuras se originan los elementos cribosos que forman el floema y el tallo bien diferenciado. Una vez formados estos tejidos, por lo general la transferencia a un medio hormonalmente distinto permite generar la formación de raíces respectivas y constituir así una plántula completa.

El segundo caso se refiere a la formación de embrioides, este proceso puede ocurrir tanto en cultivo sólido (callos) como, más recientemente descrito, en células en suspensión. En este proceso se ha sugerido que una sola célula genera, por divisiones celulares sucesivas, un pequeño conjunto de células conocido como proembriode, el cual a su vez concluye su desarrollo en el embriode completo. Existe cierto paralelismo entre la formación de un embriode somático, producido a partir de células en cultivo *in vitro*, y el embriode germinal proveniente del cigoto. Esta semejanza es variable dependiendo de la especie de que se trata y tiene patrones diferentes en las primeras divisiones celulares; sin embargo, a partir del estado globular del embriode, los pasos sucesivos de desarrollo hasta el estado de madurez del embrión parecen efectuarse con la misma trayectoria en los dos sistemas, de tal manera que ambos generan finalmente una plántula completa.

INICIO DEL COMPROMISO CELULAR

Independientemente de que el proceso de rediferenciación celular se realice por organogénesis o por embriogénesis, en ambos sistemas se inicia primero un proceso bioquímico de compromiso celular, el cual corresponde al cambio sin retorno de las condiciones metabólicas del tejido, que deriva en la formación de un fenotipo celular específico.

Es importante considerar, que la diferenciación morfológica implica la diferenciación bioquímica, y que de hecho va precedida por ella. De aquí la relevancia de comprender los mecanismos bioquímicos que intervienen en el proceso de "comprometer" una célula, o a un grupo de células, en el inicio del proceso de diferenciación.

Algunos estudios sugieren que los callos no corresponden a un estadio totalmente desdiferenciado desde el punto de vista bioquímico, es decir, que a pesar de que morfológicamente no tienen ningún rasgo que recuerde el tejido de donde procede, persisten en esas células ciertas características funcionales inherentes a dicho tejido. Así, se puede ha-

blar de diferenciación bioquímica de los cultivos de células resistentes a la acción de herbicidas, o células especializadas en la síntesis de algún metabolito secundario. Más aún se ha podido comprobar que algunos callos conservan patrones específicos de isoenzimas, semejantes a los de los tejidos que les dieron origen, o que callos procedentes de diferentes tejidos de una planta, mantienen las vías metabólicas preferenciales y los mecanismos de regulación correspondientes a esos tejidos.

Todos estos resultados sugieren que el compromiso bioquímico de la célula hacia un fenotipo determinado, involucra una serie de cambios metabólicos probablemente desatados en cadena, "reacciones en cascada", los que podrían ser controlados por un solo punto de disparo. Este tipo de procesos, iniciados por un "segundo mensajero", permitirían controlar en un solo sitio una secuencia de reacciones conducentes a una condición metabólica sin retorno.

Los conocimientos recientes acerca de los receptores celulares para la acción de los fitorreguladores y sus posibles mecanismos, han permitido sugerir la mediación de la acción hormonal a través de "segundos mensajeros" celulares. En especial, recientemente se ha acumulado evidencia experimental que ha permitido postular la mediación de la acción de las auxinas por el sistema de Ca^{++} calmodulina. Este mecanismo implica la posible fosforilación simultánea de una serie de enzimas como medio de regulación funcional, en forma similar a lo que se ha encontrado en algunos sistemas de tejidos animales.

DIFERENCIACION CELULAR EN AUSENCIA DE ORGANIZACION TISULAR

Una de las ventajas importantes que presentan los cultivos de tejidos vegetales para el estudio de la diferenciación celular, es la posibilidad de desdoblar el fenómeno en dos estadios importantes: la diferenciación a nivel celular y la diferenciación a nivel tisular. Esto es, la posibilidad de inducir procesos bioquímicos especializados en células que se mantengan sin ningún signo de diferenciación organogénica y que en ese estadio se puede mantener en forma indefinida. Así, en estos sistemas es posible analizar un número simplificado de procesos metabólicos y poder distinguirlos de los procesos que regulan la interacción celular conducente a la formación de órganos (diferenciación morfológica).

Entre estos sistemas uno de los más interesantes es la formación de callos verdes. En efecto, varios autores han informado acerca de la inducción de un tipo de callos de color verde, que se mantienen como tal creciendo en sistemas *in vitro*. Los callos verdes constituyen un ejemplo de diferenciación bioquímica, puesto que generan cloroplastos, pro-

ducen clorofila y son capaces de realizar funciones altamente especializadas como la fijación de CO₂ para producir carbohidratos. En el desarrollo de los callos verdes, además de la acción hormonal en los tejidos, se conoce que la luz es indispensable para desarrollar este proceso y que la presencia de niveles altos de CO₂ y concentraciones bajas de sacarosa en el medio lo estimulan y aceleran. En estos modelos ha sido posible estudiar la expresión de actividades enzimáticas dependientes sólo del genoma del **plastidio**, como es el caso de la glutamato sintasa (GOGAT) -ferredoxina, en callos verdes de *B. ternifolia* (figura 4), o el de la ribulosa difosfato carboxilasa en callos verdes de tabaco, cuya expresión depende tanto del genoma del plastidio como del núcleo.

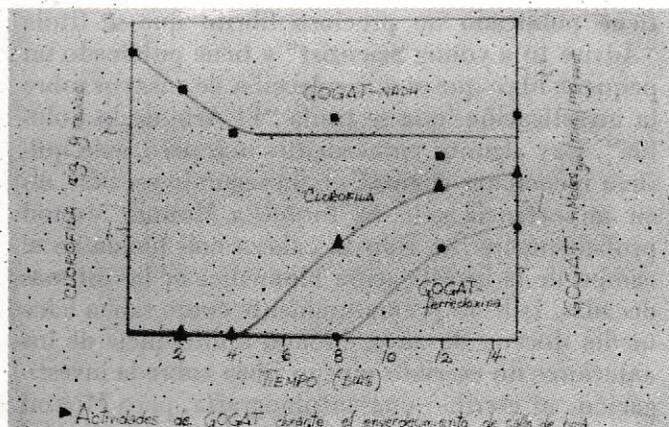


Figura 4. Actividad de glutamato sintasa (GOGAT) durante el proceso de enverdecimiento de callos de *B. ternifolia*.

Los callos blancos de *B. ternifolia* presentan normalmente actividad de GOGAT-NADH dependiente y ausencia de GOGAT-ferredoxina dependiente, enzima localizada en cloroplasto exclusivamente. Cuando se induce enverdecimiento, se genera primero la clorofila y posteriormente la GOGAT-ferredoxina dependiente. ▲clorofila, ■GOGAT-NADH dependiente, ●GOGAT-ferredoxina dependiente.

Murillo E. y Sánchez de Jiménez E. (manuscrito en preparación).

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El proceso de la diferenciación celular es poco conocido a nivel molecular. Las plantas presentan modelos muy interesantes para su estudio y en especial los sistemas de cultivo de células y tejidos *in*

vitro proporcionan condiciones ventajosas para investigaciones a nivel básico.

Algunos aspectos bioquímicos de este proceso permiten destacar ciertos elementos importantes en la adquisición del "compromiso celular" en la diferenciación. En especial, la función de los reguladores del crecimiento es significativa en cuanto que generan las condiciones metabólicas celulares que conducen al punto inicial y definitivo del proceso.

El desarrollo de callos verdes proporciona un modelo de diferenciación intermedia, que permite preguntar sobre la interacción en la expresión genética de dos genomas diferentes, el nuclear y el del cloroplasto y sus **mecanismos** específicos de regulación.

Es de esperarse que el avance en el desarrollo de los sistemas de cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales y las técnicas modernas en bioquímica y biología molecular aplicados a ellos, permitan dar respuestas a múltiples incógnitas que aún existen acerca de uno de los fenómenos biológicos más antiguamente observados por el hombre: la diferenciación celular.

REFERENCIAS

- 1) Tissue Culture and Plant Science. Street, H.E. Ed. Academic Press. London, New York, Sn. Francisco 1974.
- 2) Frontiers of Plant Tissue Culture, IATPC. Thorpe T.A. Ed. University of Calgary, Calgary, Canada. 1978.
- 3) Plant Tissue Culture. Fujiwara, A. Ed. Maruzen Co. Ltd. Tokyo, Japan. 1982.
- 4) Naora, H. y Deacon, N.J. (1981). A possible regulatory mechanism in RNA processing and its implication for posttranscriptional sequence control during differentiation of cell function. *Differentiation* 18: 125-131.
- 5) Nowick, E.M. y Peterson, P.A. (1981). Transposition of the Enhavier controlling element system in maize. *Mol. Gen. Genet.* 183: 440-448.
- 6) Hanson, J.B. y Trewavas, A.J. (1982). Regulation of plant cell growth: The changing perspective. *New Phytol.* 90: 1-18.

EL ARTE DE INVESTIGAR

Alberto Sols, Profesor de la Universidad Autónoma de Madrid.

(Conferencia dictada en la U.N.A.M., el 15 de julio de 1981. Versión obtenida de la grabación supervisada por el Dr. Juan C. Díaz Zagoya).

Quisiera estar unos días charlando con ustedes sobre algo que afecta mucho a la sociedad actual.

La investigación científica está, para bien o para mal, o ambas cosas, muy metida en la sociedad

actual; este es un fenómeno relativamente nuevo en la historia de la humanidad, es una consecuencia del progreso natural a lo largo de los últimos tres siglos del método científico, que ha dado lugar a una formación científica tremenda en el centro de nuestro siglo. Se puede hablar del método científico de varias maneras, básicamente de dos. Casi se puede empezar por preguntar. ¿Existe un método científico concreto, enseñable? ¿Existe una sistematización transmisible de una forma actual? La respuesta es en parte sí y en parte no, más bien no. Es un hecho que los investigadores de hoy se forman o se han formado casi por generación espontánea. Yo digo frecuentemente, que la formación que se adquiere en cuanto a método científico es principalmente por ósmosis; se aprenden técnicas de trabajo para problemas determinados, para especializaciones determinadas, pero aptitudes científicas ante la investigación, en general no se suelen enseñar, no están en los programas de nuestras universidades, y los estudiantes graduados que en teoría se están preparando para la investigación, resulta que se preparan para piezas de la investigación en un campo determinado, sin la educación mental para hacerles ante todo investigadores y, digamos, sólo en segundo lugar, investigadores en una cosa concreta. Entonces, quiero para empezar hacer constar el hecho de que el método científico es susceptible de enfoques filosóficos, y de hecho ha sido tema tratado más frecuentemente por filósofos que por científicos y es más frecuente que haya una disciplina relacionada con el método científico en Facultades de Filosofía, que en Facultades de Ciencias.

Yo no soy filósofo, al menos no en el sentido oficial de la palabra y de ninguna manera quiero incidir sobre la vertiente filosófica de la investigación, que se puede tipificar en el filósofo austriaco autodidacta Karl Popper, que ha publicado lo que actualmente se considera la obra standard, básica, de "la lógica de la investigación científica", vista filosóficamente, o más recientemente, "la estructura de las revoluciones científicas" de Kuhn.

Frente a este abordaje filosófico, lo único que yo puedo hacer es el de la experimentación vivida, de la experiencia vivida. Es un investigador el que les va a comentar algo de lo que, por ósmosis, fundamentalmente por ósmosis y por experiencia, por fracasos repetidos hasta escarmentar sobre la marcha, he aprendido. De lo que yo les voy a hablar, los mejores antecedentes son el clásico libro de Claude Bernard, de hace ya poco más de un siglo, "La Introducción para Estudiar la Medicina Experimental" que fue una revolución práctica del método científico en ciencias biomédicas o, nuestro, en el sentido hispánico, nuestro Cajal que publicó justo en la transición del siglo pasado al actual un precioso librito que se titula "Reglas y Consejos sobre la In-

vestigación Biológica"; se los recomiendo calurosamente. Y además Cajal publicó una autobiografía científica que es sumamente interesante, es una autobiografía muy franca, muy desinhibida, muy sincera y es también esta última un valioso elemento de formación con independencia de cual sea la especialidad de cualquiera de ustedes. Esta autobiografía de Cajal, escrita a comienzos de este siglo, publicada primero en el año diecisiete y luego con una pequeña ampliación en el año veintitrés, cuando Cajal tenía setenta años, se agotó, quedó olvidada, yo la descubrí hace un par de años y he conseguido que se republique en España ("Recuerdos de mi vida: historia de mi labor científica", Alianza Editorial, Madrid, 1981).

Y en tercer lugar mencionarí, ya en nuestra generación a Medawar, el Premio Nobel inglés que tiene publicado un precioso librito que se titula "Advice to a young Scientist" y tiene publicado un pequeño libro que es una colección de ensayos sobre la investigación, que se titula "El Arte de lo Soluble". Hay algunos antecedentes más pero, sólo quisiera mencionar además, en un segundo escalón, no en importancia sino en forma, a Monod. Monod probablemente ha sido la cabeza más lúcida en el campo de la investigación biomédica de las últimas décadas, falleció prematuramente como saben hace media docena de años. Monod a diferencia de los anteriores no escribió ningún libro sobre la investigación, ni escribió una autobiografía, pero Monod tiene el importantísimo pequeño libro que tiene el tamaño grande de la importancia filosófica, ante la naturaleza, que es el libro titulado "Le hasard et la nécessité", que yo recomiendo a todos los que siguen el curso, si no lo han leído. Y por otro lado es también muy digno de recomendación un libro de colección de trabajos suyos seleccionados, que se publicó a raíz de su muerte, puesto que muchos de sus trabajos son ejemplos vivos del método científico del más alto nivel de calibre intelectual. Entonces una colección de sus trabajos se han juntado en forma de libro para hacerlo asequible, porque algunos de sus trabajos se han publicado en revistas no muy extendidas, al menos para bibliotecas jóvenes.

EL METODO CIENTIFICO TAL COMO LO VIVIMOS.

Entonces, al margen de las discusiones, es una realidad que la investigación científica existe, que el método científico se ha ido desarrollando y que de lo que vamos a hablar es del método científico tal como lo vivimos los científicos investigadores.

Una observación previa quiero hacer, que es: investigar no es lo mismo que publicar trabajos, todo lo contrario, por desgracia es una maldición de la ciencia contemporánea el que a lo largo de las últi-

mas dos décadas, se ha ido acudiendo cada vez al comodín de contar el número de las publicaciones. Y ha proliferado de tal manera el ruido mezclado con las nuées que es una maldición del mundo científico actual. De ninguna manera ni jóvenes ni no tan jóvenes de los que están aquí, esperen de mí que les ayude a resolver el problema de publicar más, de ninguna manera, sino al contrario. Investigar es descubrir cosas grandes o cosas no tan grandes, pero descubrir. La investigación genuina, da lugar a descubrimientos, cuyo valor, los hay muy grandes, 10ⁿ. Los hay pequeños; además, como resultado de la labor de muchos científicos, hay múltiples contribuciones a la ciencia sin llegar a ser descubrimientos, tales como por ejemplo los que dan lugar a confirmaciones. No se descubre nada porque ya estaba descubierto, pero todo descubrimiento está un poco en el aire hasta que es confirmado. Por consiguiente es una aportación positiva, es una contribución, cuyo valor puede ser digamos del orden entre uno y diez. Y no termina aquí la escala, hay además lo que yo llamo "confusiones" cuyo valor es "-X", grande o pequeña, y que con otros términos se podría llamar "tinta de calamar". Ya saben ustedes que el calamar es un curioso animal que echa mucha tinta andando hacia atrás; pues bien, la ciencia va hacia atrás cuando algunos científicos o pseudocientíficos publican lo que no se debería de publicar, porque es meramente "tinta de calamar", aunque algo le valga para que su *curriculum* crezca. Conviene que estas distinciones se hagan desde el principio.

¿QUIEN ES INVESTIGADOR?

Entonces vamos hablar en primer lugar de quién es investigador. El investigador es el que investiga y puede serlo por vocación como lo era hasta hace pocos años, sólo había investigadores por vocación, hasta ya entrado este siglo nadie hacía investigación nada más que por vocación. Por ejemplo, permítanme que de nuevo les hable de nuestro Cajal. Cajal se pagaba sus investigaciones, no solamente no recibía sueldo por investigar, ni siquiera medios materiales para investigar, sino que él se tenía que comprar su microscopio, sus colorantes, suscribirse a revistas y para eso, como el sueldo no le daba, comenzó dando clases particulares. El mundo ha cambiado, las cosas ya no son así.

Entonces se puede investigar por vocación y se puede investigar por profesión. En la generación actual a diferencia de las anteriores, la investigación es una profesión normal, una profesión respetable de la cual vive alguna gente, bastante gente en algunos países y sociedades. Y por último la investigación puede ser materia de ocasión, de una manera muy clara para algunos de los que están en la

audiencia: los que están haciendo estudios de posgrado, típicamente muchos de ellos, tal vez la mayoría al principio, son investigadores de ocasión, les toca de acuerdo con un plan de estudios durante dos, tres años según las universidades, les toca investigar con independencia de lo que hagan el día de mañana. Para algunos esto será el comienzo en la carrera de investigadores, para otros no, pero durante ese tiempo lo han sido de ocasión. Otro ejemplo muy claro de ocasión es el de algunos médicos de buenos hospitales, que de vez en cuando se encuentran con cosas raras, síndromes aparentemente no descritos y se remangan literalmente, los estudian y acaban haciendo una aportación a la ciencia médica. No eran investigadores, eran médicos de profesión, pero sí tenían algunas de las cualidades mentales de que vamos a hablar después pueden a lo largo de su vida profesional, ocasionalmente, hacer investigación.

Entonces hay vocación, profesión y ocasión en la investigación.

¿QUIEN PUEDE SER INVESTIGADOR?

¿Quién puede ser investigador, o qué cualidades son importantes para la investigación? La más importante, creo que sin duda la más importante es algo que yo he venido a resumir o condensar en la siguiente expresión: "curiosidad científica deportiva". Sin curiosidad no hay investigación, el afán de descubrir. Si no es científica, con curiosidad se puede uno dedicar a muchas cosas incluido el chismoso, no sé si en México exista la palabra chismoso, corre ve y dile; entonces, curiosidad científica, pero no basta que sea curiosidad científica, porque si uno tiene mucha curiosidad científica a secas lo que debe hacer es leer y estudiar porque hay tanta ciencia ya en los libros y revistas que no da tiempo la vida de un hombre para aprender todo lo que ya se ha aprendido, todo lo que ya se sabe. Entonces ¿Por qué algunos en vez de estudiar lo mucho que ya se sabe prefieren sudar para descubrir un pedacito que todavía no se sabe? Ese es el deportista, el deportista que para subir a un determinado pico, como recuerdo en Río de Janeiro el "Pan de Azúcar", me contaron que además del funicular, en el cual uno cómodamente sube en cinco minutos y además contemplando el paisaje, pues que hace años unos alpinistas muy laboriosamente subieron escalando, esa es la forma deportiva. Entonces si uno es deportista puede ser alpinista, pero si uno es curioso científico y además tiene un cierto espíritu deportivo entonces lo que querrá es descubrir él, y es una de las satisfacciones intelectuales más grandes posibles, es la emoción de descubrir, de ver por primera vez lo que nadie había visto. De manera que cualidad básica es la curiosidad científica deportiva.

Darwin escribió a uno de sus hijos el siguiente comentario. Por cierto Darwin también tiene un libro maravillosamente interesante para los que deseen acercarse a la investigación vivida, que es su autobiografía, que es tremendamente sencilla, la escribió para su familia y su familia no permitió que se publicara entera hasta hace veinte años, las ediciones anteriores estaban censuradas.

En un libro de biología para bachillerato que está traducido en hispanoamérica no sé con qué título, en el primer capítulo está Einstein contemplando un reloj; fíjense la cantidad de gente que hemos visto un reloj, hemos usado un reloj y no hemos pensado qué tendrá dentro; entonces se tipifica a Einstein como el prototipo del investigador, pensando, imaginándose qué cosas podrá tener dentro, hechos vistos, ideas en su cabeza. Y ahora viene el comentario de Darwin, contándole a su hijo que la noche anterior estuvo preocupado sobre qué hace de un hombre un descubridor de cosas desconocidas. Dice que todo es muy perplejante y confiesa que él creía sinceramente que muchos que no descubren nada son más inteligentes que los que descubren, o al menos que muchos de los que descubren, como él. Y por fin dice, lo que yo puedo conjeturar es que el arte consiste en buscar habitualmente por las causas y significado de todo lo que ocurre. ["I have been speculating last night what makes a man a discoverer of undiscovered things; and a most perplexing problem it is. Many men who are very clever-much cleverer than the discoverers - never originate anything. As far as I can conjecture THE ART CONSISTS IN HABITUALLY SEARCHING FOR THE CAUSES AND MEANING OF EVERYTHING WHICH OCCURS" (Darwin, 1871 - Carta a su hijo Horace)].

El gran fisiólogo ruso Pavlov, el hombre de los reflejos, describió un reflejo que viene muy a pelo aquí, este es un reflejo muy menospreciado, decía Pavlov, que puede llamarse el reflejo investigador, "yo le llamo el reflejo de ¿qué es? En el hombre este reflejo ha sido grandemente desarrollado, representado en su más alta forma por la inquisitividad que es la madre del método científico". Curiosamente, como veremos más adelante, si en el hombre en general, moderno, está tremendamente desarrollado, en el hombre individuo tiende a estar atrofiado por la educación, porque la educación suele pedir un cierto conformismo y no pregunte cosas complicadas.

CLASIFICACION DE LAS CURIOSIDADES

Ya llegamos a la clasificación de las curiosidades que les contaba antes, de que la curiosidad científica puede ser filosófica que lleva a ser erudito al que estudia mucho, que sabe una barbaridad, y puede ser

deportiva que es la que lleva a investigar. Sí, aquí tienen una anécdota, tomada del periódico que tenemos los bioquímicos "Trends in Biochemical Sciences", con motivo de no sé qué, vino hace algún tiempo un dibujo de Fleming. Un administrador de la Facultad que se está quejando de que se despreocupa de los enfermos y está perdiendo demasiado tiempo satisfaciendo su curiosidad con el microscopio. Este es uno de los problemas que frecuentemente los investigadores tienen hoy día, aunque me anticipo a decirles que no soy partidario de defender a todo trance a los investigadores por encima de todo. Pero es un hecho patente que grandes aportaciones a beneficio de la medicina y de la humanidad en general, han dependido de la curiosidad de algunos científicos.

Además de la "curiosidad científica deportiva", qué más cualidades conviene, aparte de que, claro, uno tiene las que tiene, aunque las que tiene a veces las puede desarrollar o dejar que se atrofien. Una cualidad muy deseable para la investigación científica es la ambición. La realidad es que en el mundo científico actual si no se tiene un cierto grado de ambición es probable que cualquier cosa que se emprenda en la investigación tenderá a ir a la zaga de otras que se estén haciendo también, es decir en investigación hoy día a diferencia del siglo pasado, no basta proponerse llegar a una meta, sino que hay que llegar antes que los demás para que realmente tenga deportividad y para que tenga la emoción de ser el primero que lo ha visto. Por otro lado es sumamente importante la creatividad, algo muy difícil de definir pero lo trataremos a continuación. Pero quisiera resumir aquí: curiosidad científica deportiva, más ambición, —por cierto ambición que debe ser honesta, porque si la ambición no es honesta hay otras muchas maneras de adquirir prestigio, fama y otras cosas, que no la lenta laboriosa y a veces larga investigación científica— más ambición, más creatividad, de la que hablaremos en un momento, y además no quisiera terminar este breve resumen sin añadir una cosa, pudiéramos decir, entre paréntesis, que es la conveniencia de un cierto grado de austeridad, y no solamente en lo económico; los investigadores en la mayor parte de las sociedades ya pueden vivir de la investigación pero generalmente no muy bien. Entonces para dedicarse a la investigación, en principio conviene un cierto grado de austeridad para no vivir una vida un poco irregular o incómoda. Por otro lado la investigación requiere un grado de dedicación, de perseverancia en la persecución de un objetivo, que lleva implícita una cierta necesidad de austeridad, es decir hay que decir no a muchas cosas para poderse dedicar intensamente a una investigación; de manera que a varios niveles un cierto grado de austeridad va bastante bien.

El gran humorista gráfico español Mingote hace cosa de un año o dos, con motivo de problemas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y de la Investigación General en España, publicó un chiste al efecto. A él le gusta representar hombres primitivos uno de los cuales está cazando moscas y alguien comenta que "ni investigación ni narices, lo que a ti te pasa es que te gusta cazar moscas"; bueno pues algo de ésto que está puesto aquí como chiste es verdad. Un investigador que se dedica a investigar, posiblemente porque es una profesión de la cual se puede vivir, y que no se divierta investigando, es una lástima, porque la investigación es muy bonita si se tiene un poco de apetencia interna y en cambio si no, se pudiera uno dedicar a otras muchas cosas más redundantes. Una escala un poco digamos estandar, de etapas en la formación de un científico, incluye: el ambiente social del mundo civilizado que conduce al conocimiento de la existencia de orden en la naturaleza, la licenciatura en que se ha aprendido el contenido de una ciencia, el doctorado o estudios de posgrado, como se llaman aquí, en que se entra más en qué es la ciencia, la investigación posdoctoral en que se está contribuyendo a la ciencia, por supuesto que hay doctorandos que ya contribuyen a la ciencia. Pero el pico máximo solo está a nivel de los años posdoctorados recientes y el investigador bien establecido que al menos en teoría se supone que está creando ciencia continuamente, por desgracia no siempre es así.

EL PROBLEMA DE LA CREATIVIDAD

Decía que vamos a entrar un poco en detalles sobre el problema de la creatividad que tan vital es para una investigación fecunda, es muy difícil de decidir los ingredientes para la creatividad. Para empezar por algún sitio, quisiera decirles que creatividad requiere de cierto grado de imaginación, un mínimo de imaginación; que creatividad requiere - un mantenimiento de la disposición infantil, a veces el genio no es más que el que ha sabido seguir preguntando cosas, que todos los niños preguntan, pero que cuando empiezan a ser mayores dejan de preguntar; el que las sigue preguntando frecuentemente ese puede convertirse en un genio. Y por cierto que aquí también Picasso tiene una analogía muy curiosa sobre lo que pudiéramos decir el investigador por vocación y el investigador por profesión, aunque ambos pueden estar asociados, creo que hay investigadores por vocación que no tienen la función de investigar y hay investigadores de profesión que nunca tuvieron vocación sino que escogieron ese empleo porque algún empleo tenían que escoger. La analogía de Picasso, y él ciertamente no la hizo para eso, yo la he aprovechado para eso, Picasso hace la distinción entre artista y pintor: el

artista vende lo que pinta mientras que el pintor pinta lo que vende, a ver si lo captan, el pintor pinta lo que sabe que va a vender, que se cotiza en el mercado, el artista pinta lo que le sale de dentro y al ver que está el cuadro, como tiene que vivir, algunos de ellos los vende. Esta analogía de investigación es entre trabajar en lo que sea fácilmente publicable y trabajar en lo que me he empeñado en descubrir. Además de Picasso, otro pintor, un pintor francés, llamaba la atención sobre algo que viene muy a cuento aquí y es, decía Chardin, que se pinta con sentimiento más que con colores, piensen en ésto, por supuesto que no se puede pintar sin colores, se pinta con tintas pero sobre todo con sentimiento; a mi me dan todos los lápices habidos y por haber, todos los colores habidos y por haber, y yo nunca pintaría porque no me sale de adentro. Pues ¿qué se puede hacer por tratar de fomentar en uno la creatividad?, bueno, pues una de las reglas más prácticas es dar vuelo libre a la imaginación, todos la tenemos generalmente un poco aherrojada, darle vuelo libre; pero la imaginación nos llevaría a muchos sitios descarriados. Pauling, el premio Nobel de Química y Premio Nobel de la Paz, y vecino de ustedes en California, dice que para tener buenas ideas hay que tener muchas ideas. Yo lo comparo con las mutaciones, ya saben ustedes que el progreso biológico siempre es fruto de mutaciones, pues bien, la mayoría, la gran mayoría de las mutaciones son desfavorables y malas y son barridas por la selección natural; sólo habiendo muchas mutaciones algunas son buenas y son seleccionadas por naturaleza. A mi me da pena cuando algún joven viene a decirme". . . sobre el problema X o Z, he tenido una idea y para demostrarla quiero hacer tal o cual experimento". Yo me sonrío, le paro y le digo querrás decir para decidir si la idea es buena o no, incluso más todavía para decidir si la idea es aparentemente buena o decididamente mala. Entonces, acuérdense de ésto, hay que tener muchas ideas para que algunas sean buenas.

¿COMO TENER MUCHAS IDEAS?

Y ¿cómo tener muchas ideas? pues sobre esto les voy a leer una cosa que me llamó mucho la atención. Hay un libro dedicado a la creatividad, un libro que editó el profesor Krebs, fruto de una reunión que hubo en Alemania hace media docena de años, que se titula "The creative processes". Reunieron en Alemania a una colección de grandes cerebros incluido Popper y Monod, para jerarquizar los dos grandes de la filosofía y de la ciencia experimental; estaban también el profesor Krebs, Eigen y unos cuantos más y se recogieron todas las discusiones; no es un libro de ponencias es un libro de discusiones. Pero de todas maneras hubo en cada se-

sión una especie de iniciador, la primera sesión fue iniciada por Monod, y Monod cuenta en su primera intervención de este simposio sobre creatividad, una anécdota extraordinariamente interesante de Einstein. Parece ser que cuando Einstein estuvo algún tiempo residiendo en París, una señora de la alta sociedad consiguió atraerle a una tertulia a la cual trajo a varios otros personajes importantes, entre ellos un poeta que se llamaba Valery y Valery tuvo gran curiosidad de averiguar cómo creaba Einstein y le preguntó que cómo trabajaba, y Einstein contestó vagamente "bien, no sé, salgo por la mañana y me voy de paseo". ¡Oh! dijo Valery, interesante, y naturalmente usted lleva un cuaderno en el bolsillo y cuando se le ocurre una idea la anota en el cuaderno, "¡Oh! —dijo Einstein— no, no lo hago". ¿De verdad que no lo hace? "Bueno, ya sabe, una idea es tan rara", concluyó Einstein. Notable es que en ese mismo libro, en una sesión al día siguiente, Popper comentó lo siguiente: que Einstein había escrito en alguna ocasión que en los dos años que precedieron a la formulación de la teoría general de la relatividad, él había tenido por término medio una idea cada dos minutos, casi siempre desde luego ideas que rechazaba, por eso no necesitaba la libreta. Y cuando no la conseguía rechazar ya estaba tan grabada que no necesitaba la libreta. Bueno pues qué se puede hacer para fomentarlo de una manera sistemática a primera vista parece que es muy poco. Monod comentaba en este simposio que él no podía pensar de encargo, no podía intentar decir, ahora me toca pensar en esto, que le venía el pensamiento sin saber cómo. Pero hay trucos para hacer más probable que el pensamiento funcione y creo que el que mejor ha dado en el clavo, de cómo sistematizar los trucos es un físico norteamericano llamado Platt que tiene un libro precioso, tan precioso que lo voy a incluir aquí entre las recomendaciones, un librito que se titula "The Excitement of Science", (Lo Exitante de la Ciencia), y en él hay un capítulo que se titula "El arte del pensamiento creativo", y ese capítulo se puede resumir en algo sumamente sencillo; él hace una analogía entre la resolución de un problema intelectual y la resolución de un problema de alpinismo y que para ambas cosas hace falta un mínimo de capacidad intelectual, en el primer caso, y física en el segundo, obvio. Pero qué más necesitamos, bueno necesitamos, dice, para lo primero, tiempo de dedicación formal, el equivalente en el alpinismo es tiempo de entrenamiento, nadie puede ser un alpinista si no se entrena. Pues nadie puede aspirar razonablemente a tener ideas decisivas si no le ha dedicado suficiente tiempo formal, de este tiempo formal hablaré más dentro de un momento, antes voy a seguir con el esquema general, en tercer lugar, hacen falta cuerdas, garfios y otros artilugios

para el alpinismo y medios para la investigación de distinta clase, según el problema de que se trate, evidentemente. Y en cuarto lugar aconseja él descomponer el problema. La mayor parte de los objetivos que puede plantearse un investigador pueden ser demasiado difíciles de resolver de golpe. Quizás el secreto del éxito está en descomponerlo en partes que puedan ser sucesivamente abordables y vencibles; y la analogía con el alpinismo, por lo visto porque yo nunca he sido alpinista, es muy importante saber descomponer la ascensión en etapas, la primera etapa consiste en resolver esta dificultad, luego esta otra. Por etapas, no de frente.

EL TIEMPO DE DEDICACION

En cuanto el tiempo de dedicación formal, Platt hace mucho hincapié en la dificultad de pensar de encargo, y él compara el pensamiento creador con las partidas de ajedrez. Los que de ustedes sean aficionados o lo hayan sido, yo lo he sido mucho, al ajedrez, sabrán la intensa dedicación que el aficionado llega a tener por una partida de ajedrez, ese tipo de dedicación intelectual no se puede tener ocho horas al día que es el horario normal de trabajo, y no se puede tener a cualquier hora del día, se tiene a veces digamos, se puede tener como media hora o una hora, en definitiva lo que Platt aconseja es dedicar no infrecuentemente, de preferencia frecuentemente, sesiones de pensamiento, que yo llamo "por libre", al problema o problemas que se estén deseando resolver, en los cuales se procure estar aislado de todo, del mundo, del reloj y de todo, mientras la cabeza lo resista; es un consejo que yo he tomado de Platt y que se los transmito calurosamente. Dediquen de vez en cuando alguna partida de tiempo a pensar "por libre" en el problema que les acucie, esto aumentará tremendamente las probabilidades de que se les ocurra una idea, sobre todo si además de esas sesiones de partida, aislado del mundo, y que muchas veces no es en el laboratorio, sino es mucho mejor paseando como hacía Einstein cuando se iba a dar el paseo por la mañana, mejor que en una mesa de trabajo.

Esto será especialmente eficaz si han empleado previamente un truco, el truco es reclutar el subconsciente. Yo no sé si aquí hay algún psicólogo, si lo hay yo tendré un poco de vergüenza en la terminología que voy a emplear pero yo personalmente estoy convencido de que el subconsciente es un arma tremenda en nuestra cabeza que nos ayuda y que nos puede ayudar mucho si lo reclutamos. El reclutarlo es algo así como transmitirle al subconsciente la preocupación por el problema y dejarlo descansar y entonces, pasa el tiempo y un día sale, quien recuerde la película que se llamaba "Tiburón", una película en que al gran tiburón le consi-

guen anclar una enorme boya y de repente, los que recuerden la película, de repente sale. Así es como la idea, como una serpiente mordiendo la cola, esas ideas famosas que aparecen bruscamente, que bruscamente tienen algún sitio y ese sitio es el subconsciente porque se le pegó. De manera que para tener más creatividad eviten las inhibiciones, recluten el subconsciente y empleen partidas de pensamiento libre, intenso. Y a continuación, con una mano están creando, con la otra mano tienen que criticar, porque recuerden hoy lo de las mutaciones, la mayor parte de las ideas serán malas, igual que Einstein hay que cepillárselas. Entonces solamente la pequeña minoría de las muchas ideas que no se las consigan cepillar ustedes mismos, de primera intención, merecerán ser estudiadas en el laboratorio, donde a su vez muchas veces serán cepilladas en las experimentaciones, pero lo que cuenta es que a veces al final se saca algo bueno, y entonces se olvida uno de todo lo que hubo por el camino.

EL AMBIENTE

Además de esto hay factores ambientales que ayudan o dificultan. El ambiente es muy importante; yo estoy completamente de acuerdo con el doctor Ochoa, y llevo veinticinco años investigando en España, que la falta mayor que tenemos los investigadores en España, no es la falta de medios, es la falta de ambiente lo que más hemos padecido. El ambiente social contribuye mucho a que la investigación sea favorecida o sea dificultada, al investigador le afecta eso, a mi me ha afectado muchas veces, desfavorablemente. Pues bien el consejo es: el que tenga la suerte de tener un ambiente favorable que lo aproveche y el que no, que procure hacer su micro-ambiente, si el país no lo tiene, quizá lo tenga la universidad ésta o aquella, si la universidad en conjunto no lo tiene, quizá lo tenga el instituto éste o el otro, y así si el instituto no lo tiene, quizá un pequeño laboratorio dentro del instituto llegue a tenerlo.

Y aquí quisiera contarles algunas anécdotas sobre el ambiente favorable y el ambiente desfavorable. Monod, Lwoff y Jacob que compartieron el Premio Nobel, Lwoff fue maestro de Monod, Monod fue maestro de Jacob. Contaba Jacob, al recibir el Premio Nobel, sí, describió la atmósfera del ático, en México se dice ático al desván, al piso de arriba de una casa que no es de lujo sino todo lo contrario, donde él se formó con Monod y con Lwoff, una atmósfera donde se mezclaban "el entusiasmo, la lucidez intelectual, la curiosidad deportiva y la amistad". Y sí, ciertamente el espacio les estaba muy restringido, tenían sólo un espacio pequeño en el ático del Instituto Pasteur "pero ahí cada uno tenía la posibilidad, en el pasillo de aquel gra-

nero, de frotar y limarse el cerebro contra el de algún otro". Y él cuenta, sencillamente que él llegar a donde llegó, en buena parte fue porque tuvo la suerte de llegar a un sitio bueno, en un buen momento, a un ambiente fabuloso, el ambiente del ático del Instituto Pasteur, que en la década de los 50s fue fabuloso, y condujo al tremendo avance que supuso en los primeros años de la década de los 60s, como fruto de la incubación durante la década de los 50s, la revolución que hubo en materia de regulación de la expresión génica y de regulación alostérica.

Vamos a ver algo de las interferencias. En un chiste gráfico reciente se representa a un pobre científico que tiene "una esposa, dos niños y mucha investigación que sostener" y el pobre está muy malo, esperando. Las dificultades económicas son una dificultad para la investigación y a veces, permítanme que una vez más les cite a Cajal. Cajal cuenta que él estuvo deseoso de dedicarse a microbiología, y con esfuerzo pues llegó a no hacerlo porque creyó que la microbiología era demasiado cara para sus posibilidades, y él no hubiera podido investigar bien microbiología porque él que se tenía que pagar los reactivos para histología, y en microbiología no lo hubiera podido hacer. Entonces ténganlo en cuenta y cada uno en la esfera donde se pueda desenvolver que no pretenda investigar mucho más allá de lo que las posibilidades financieras se lo permitan. Hay investigaciones caras, investigaciones medianamente caras, e investigaciones baratas y algunas investigaciones baratas son muy buenas, como varias de las cosas que se hicieron en la ciencia en la década de los 50s, eran investigaciones baratísimas, el único material importante era la sustancia gris.

En un anuncio reciente no me acuerdo si de la revista TIBS, de uno que se ofrece como "burro de investigadores, que está dispuesto a cualquier cosa", uno que ha sido estudiante graduado en la Universidad de Yale y que está dispuesto a hacer cualquier cosa con tal de que pueda adquirir conocimientos, además de simplemente vivir. Fíjense que dan toda clase de facilidades. A mi me llama la atención el contraste entre esto y muchos de mis jóvenes conciudadanos que están esperando que le lleven a donde él está, a donde hizo la tesis, le lleven un nombramiento de investigador vitalicio, con sueldo garantizado de por vida y por supuesto medios para hacer lo que quiera de por vida, la vida real a veces es bastante distinta. Nuestro Cervantes hace ya muchos años que dijo: "los trabajos del estudiante son estos: principalmente pobreza. . ."; afortunadamente esto ya no es tan frecuente, la mayor parte de los investigadores hoy día pueden vivir bien. Pero no se olvide el que tenga vocación, que tiene que estar dispuesto a veces a pasarlo un poco apurado desde el punto de vista económico.

Es un hecho real en materia de creatividad, que la creatividad que tenemos, con el tiempo tiende a disminuir. Un investigador sueco indicó tres curvas: la creatividad original, que tiene un pico máximo alrededor de los 30 años, la capacidad administrativa que viene después, y por último la capacidad de intriga que es la última; y ésto es un hecho claro cuanto mayor se es y más se sabe hay más interferencias para el proceso creador, cada vez más que las ideas espontáneas tienden a ser dominadas por una serie de ideas de que ya no puede ser; entonces, muchas de las ideas más fértiles las tienen los investigadores muy jóvenes y recientemente yo empecé a hacer una serie de observaciones de investigaciones muy importantes, hechas por gente muy joven, y realmente hay casos muy notables, de manera que los que de la audiencia todavía son jóvenes que se aprovechen y los demás, bueno que hagan lo que puedan.

Este es un problema que nos afecta en un grado o en otro a muchos de los científicos serios. Parkinson, el autor de la famosa ley de que las organizaciones crecen con independencia de las necesidades de trabajo, Parkinson tiene una segunda ley que es para la investigación médica, que es un poco de ley de la vida y es que a medida que uno asciende más y más en la escala académica tiene más y más obligaciones administrativas. Entonces, si uno desea ser investigador, las tareas administrativas, por temporadas, es una obligación social el compartirlas, pero continuadas pasan a ser una carga, una carga muy pesada. Y como complemento les contaré una anécdota que se publicó en la revista *Perspectives in Biology and Medicine*, se publicó hace cerca de veinte años un artículo titulado ¿"Quién mató al Gallo Robin"?. Está tomado de la fábula inglesa en que un pájaro que fue muerto y todos decían yo no fui, yo no fui, se cuenta la anécdota de un investigador joven profesor adjunto de Fisiología y Farmacología en la Universidad de Chihuahua, que hizo un descubrimiento importante y se hizo famoso, entonces en seguida en su Facultad le ascendieron inmediatamente de adjunto a profesor asociado y además le metieron en la comisión de admisiones y en la de *curricula*, por otro lado del NIH le llamaron para una de las secciones de estudio y le pidieron que fuera co-editor ó referee habitual y él dijo, de todas maneras yo voy a leer los artículos y los leeré antes; pero resultó que llevaba mucho trabajo y llevaba discusiones con los autores a través del editor, etc.; total se fue embalando con múltiples cosas y al cabo de algún tiempo empezaron los compañeros a preguntar ¿y qué pasa con los trabajos de Gallo Robin, que no oímos hablar?. No oímos hablar, es

que los tenía abandonados. Entre tanto, gente joven se había metido al campo e incluso había introducido nueve técnicas y llegó un momento en que se sintió totalmente desplazado del propio campo que él había abierto. Entonces la vida es muy variada, para muchos es normal, un proceso digamos profesional, escalonado, pero los que de verdad, los que tengan mucha vocación investigadora, tengan en cuenta que las promociones llevan a muchos extremos. Warburg el gran bioquímico, decía que la mayor parte de los viajes que hacemos los científicos, incluido el mío, aquí en México esta semana, es turismo científico. Desde el punto de vista de Warburg es verdad, aunque socialmente creo que los científicos tenemos una vida social que no nos permite trabajar todo el tiempo. Queremos justificarlo claro, pero si estamos 90 por ciento del tiempo viajando entonces ya no tiene justificación.

SELECCION DEL TEMA Y INVESTIGACION

Bueno no quisiera cansarles y quiero entrar rápidamente en la última parte de la charla, que es sobre investigar, sí, pero en qué: selección de tema. Y en esto les quiero comentar en unos minutos, el problema de las modas y de los modelos y decirles que, en mi opinión los científicos jóvenes de hoy se parecen a las mujeres jóvenes de siempre, en la fascinación por las modas. Para los científicos si está de moda dará prestigio, será fácilmente financiable, se podrá publicar con facilidad, hace *currículo* rápido. El inconveniente es que atrofia la originalidad, uno se esclaviza, y que frecuentemente se mete tratando de competir en cosas donde no tiene medios para competir con los que los han abierto. Tiene muchas contrapartidas lo de seguir las modas. En cuanto a los modelos, les recuerdo que los modelos frecuentemente no son más que caricaturas de la realidad y, que no es infrecuente el que modelos propuestos por científicos famosos tengan muy poco de sustancia y se pierde una enorme cantidad de tiempo viviendo esclavizados alrededor de la fantasía del famoso modelo X y Z. Los que recuerden el cuento del traje del emperador, aquel traje de una tela invisible, pues un poco de ésto pasa con algunos de los modelos, que a todo mundo le da vergüenza el decir que en realidad no lo entiende, pero se ha hecho tan famoso el modelo y que sí que es estupendo, y en el fondo, claro, esto no tiene sentido.

Entonces al elegir el tema hay que procurar que tenga relevancia, relevancia científica, si es posible sobre una base social, pero que tenga alguna relevancia. La predecibilidad es un índice de trivialidad, entonces, si uno quiere investigar y va por lo seguro puede investigar cuánto pesan las alubias o los frijoles como dicen ustedes, coge un saco de frijoles, lo

pesa, cuenta el número de frijoles y averigua la media por frijol. De acuerdo, pero puede hacer más, puede pesarlos, con una buena balanza, de uno en uno, y hacer una curva de Gauss y una serie de cálculos estadísticos.

Bueno, esa investigación sale siempre, pero claro, vale muy poco. Entonces hay que aspirar a que tenga alguna relevancia, pero no se olviden de la medida, la medida que tiene el ensayo de Medawar que se titula "El Arte de lo soluble", decía, la investigación es el arte de lo soluble, si no es soluble es perder el tiempo. El que se proponga investigar ahora si hay seres vivos fuera del Sistema Solar, seguramente perderá el tiempo, se morirá de viejo y no sabrá nada. No está al alcance del mundo actual. El que se proponga averiguar cuál es la clave de la actividad mental, pues posiblemente se morirá de viejo y no lo habrá conseguido, no sabemos si llegará a poderse averiguar cómo pensamos. Entonces el arte de lo soluble es muy importante, recuérdelo, hay que tener un poco de modestia en la aspiración, al mismo tiempo que un poco de ambición que no sea demasiado trivial, es decir procurar escoger un término medio, en cuanto a relevancia.

Loewi el famoso farmacólogo que descubrió la transmisión por acetilcolina, contaba cómo se le ocurrió de noche y luego al día siguiente sabía que había tenido, una idea muy buena, pero no se acordaba de qué era, se fue al laboratorio y no consiguió acordarse, y 2 o 3 días después, vuelve a despertarse de noche con la idea ya, encendió la luz y la apuntó en un papel, hizo el experimento y le dieron el Premio Nobel. Pues Loewi tiene una definición de fármaco que es la siguiente: "un fármaco es una sustancia que administrada a un animal de experimentación produce un trabajo, un "papier" ". Claro que siempre se puede administrar en una dosis distinta, por vía distinta, a una hora distinta, a una rata distinta.

¿CON QUIEN?

La colaboración es muy importante, no en el mundo antiguo, los investigadores eran aislados, en el mundo actual es muy importante y es difícil entroncar empezando en solitario, es muy difícil. La colaboración puede ser vertical, y puede ser horizontal. Los jóvenes que se consideren superdotados, genios de entrada que creen que pueden ser autosuficientes están equivocados, si valen mucho, pues se desarrollarán más a la sombra de un maestro, la mayor parte de los premios Nobel han sido discípulos buenos, no se crearon solitarios, y a veces viajaron muy lejos para poder estar a la sombra de alguno que les permitiera desarrollar lo que él tenía adentro, de manera que científicos jóvenes recuérdelo. A mí me dan pena los doctorandos, los que

cuando están elaborando la tesis ya aspiran a que cuando yo lea la tesis, ya quieren tener un puesto como investigador independiente, te has cortado tu carrera, todavía podrías aprender mucho en los años posdoctorales asociado. En Estados Unidos a mí me llamó la atención el hecho de que los que acaban de hacer el doctorado con un científico, tienen comprometido ir con otro científico después, para tener la oportunidad de ideas diferentes, aunque el primero fuera Premio Nobel, siempre cambian, siempre cambian de sitio después de doctorados.

De manera que la colaboración es muy importante, la vertical y la horizontal; la horizontal es muy importante porque muchas veces dos más dos son cuatro, o cinco más cinco son diez, pero cinco por cinco son veinticinco muchas veces dos investigadores se potencian. Ha habido muchas labores fecundadas en la investigación por asociación entre investigadores, y yo les invito a todos a que recuerden esto, eviten la tentación de querer siempre, —hay un refrán en España que habla de cabeza de ratón, no sé si ustedes lo conocen aquí, o se es cabeza de ratón o cola de león—, de algunos que prefieren tener un pequeño reino solo, cuando si hicieran asociación con otro, no necesariamente permanente pero quizás ocasional, puede haber un fruto multiplicado. De manera que si observan la literatura verán que es un hecho real que todos los trabajos están firmados por una media de dos o tres personas y esto refleja el hecho de la vida real actual, bien, por encima de esto ya se entra en la multifirma, pero un mínimo de dos o tres forma parte de esa masa, porque además la crítica continua evita la tendencia a despistarse que uno tiene, se mejora mucho si uno tiene continuo diálogo y discusión con un compañero de trabajo, horizontal o vertical.

Yo, a mis becarios jóvenes siempre les digo desde un principio, siempre podéis poner en tela de juicio lo que yo diga, si me convencéis de que estoy equivocado os daré las gracias porque yo siempre agradezco a que se me enseñe y ese día habré aprendido algo. De manera que la colaboración es muy importante.

EL MATERIAL DE TRABAJO

Y por último para terminar, supongamos que ya tengo resuelto lo del tema, supongamos que ya tengo resuelto lo de la colaboración ¿En qué material?. Esta parte parece muy sencilla pero no lo es, no lo es, no es automáticamente claro en qué material se va a hacer bien una cosa, Cajal cuenta en su autobiografía científica que una gran parte de su éxito fue en acudir a un material determinado, si el cerebro es tan complicado en el adulto, pues probablemente lo será más sencillo en el embrión y se puso a estudiar cerebros de embriones y él cuenta, en re-

rospectiva, que está convencido de que tuvo en ello una enorme parte del secreto de su éxito, que posiblemente se hubiera perdido en la maraña del cerebro adulto si hubiera empezado por el cerebro adulto. Pero hay una serie de contingencias, en principio conviene emplear un material que sea muy fácilmente comparable con el de otros investigadores, hay una tendencia a que se saque más partido de estudiar organismos tan conocidos como el *coli*, como la *drosófila* o como la rata en los animales superiores, pero desde otros puntos de vista, a veces es decisivo emplear algo específico. Hay un artículo de un zoólogo holandés que se titula "The unusual animal: how to expect the unexpected" en el que se dice: para el que quiera estudiar función renal, las oportunidades que ofrece una rata del desierto que es capaz de beber agua del mar, incluso más salada que la del mar, son muy grandes; para el que quiera estudiar gemelos idénticos el armadillo tiene normalmente cuatro gemelos idénticos; el que quiera estudiar embriones podría sacar mucho partido de acudir a los marsupiales en que el embrión es literalmente manejable durante una proporción considerable del periodo de formación. La lista es muy larga, el axón gigante de calamar ofreció a los neurofisió-

logos un mundo fabuloso que les permitió cosas inesperadas. Entonces siempre puede ser importante el considerar si el material que uno está empleando es el más adecuado, o si podría convenir, permanente u ocasionalmente, cambiar de material. Siempre considerar el material en que se trabaja.

Y con esto quiero terminar, pero les quiero leer una frase, una frase de la autobiografía de Cajal en que dice: "Mi fácil éxito comprueba una vez más que las ideas no se muestran fecundas con quien las sugiere o las aplica por primera vez, sino con los tenaces que las sienten con vehemencia, y en cuya virtualidad ponen toda su fe, todo su amor. Bajo este aspecto, bien puede afirmarse que las conquistas científicas son creaciones de la voluntad y ofrenda de la pasión. Consciente de haber encontrado una dirección fecunda (la investigación de las neuronas, en su "año cumbre", 1888) procuré aprovecharme de ella, consagrándome al trabajo, no ya con ahínco, sino con furia. Al compás de los nuevos hechos aparecidos en mis preparaciones, las ideas bullían y se atropellaban en mi espíritu". Brindo esto a todos los interesados en la investigación. Muchas gracias por su atención.

LA FIJACION DEL NITROGENO

V. M. Loyola Vargas.

Depto. de BIOQUIMICA VEGETAL, División de Estudios de Posgrado,
Facultad de Química, UNAM. 04510 México, D. F.

I. INTRODUCCION

Con excepción del carbono, el hidrógeno y el oxígeno, el nitrógeno es el elemento más abundante en los organismos vivos y se encuentra en compuestos tan esenciales como las proteínas, los ácidos nucleicos, algunos reguladores del crecimiento de las plantas, las porfirinas y en muchas de las vitaminas. Como componente de éstos y de muchos otros compuestos, el nitrógeno interviene en todas las reacciones bioquímicas de los organismos vivos.

Las plantas tienen necesidad de un suministro continuo de nitrógeno para sobrevivir, de hecho en todas las áreas cultivadas del planeta, donde la energía solar y el agua no son limitantes, la productividad biológica está determinada por la disponibilidad de nitrógeno inorgánico en el suelo. Por ello resulta paradójico que la gran mayoría de los vegetales, encontrándose literalmente sumergidos en un mar de nitrógeno ya que la atmósfera terrestre se encuentra constituida por un 80 por ciento de nitrógeno, no puedan usarlo para su metabolismo.

En efecto, el nitrógeno es uno de los elementos más inertes, y requiere temperaturas y presiones muy grandes para poder reaccionar con otros elementos o compuestos. Aunque algunas formas de nitrógeno fijo o combinado pueden llegar al suelo sin la participación de organismos vivos, por ejemplo los óxidos de nitrógeno producidos por las descargas eléctricas y relámpagos, una cantidad mucho mayor es fijada por mediación de microorganismos del suelo. ¿Cuáles son, pues, las formas de nitrógeno disponibles para la planta y cómo se convierte el nitrógeno atmosférico o molecular en estas formas?

Los elementos biológicos más abundantes tales como carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre están sujetos a ciclos y el más importante es el del nitrógeno. El ciclo del nitrógeno (fig. 1), es la recirculación del nitrógeno desde elemento libre pasando a través de los organismos vivos. Este se inicia cuando el nitrógeno atmosférico es fijado por algunos microorganismos, descargas eléctricas o fijación industrial y es llevado hasta nitrógeno inorgánico reducido (amonio, NH_4^+), el cual puede ser oxidado

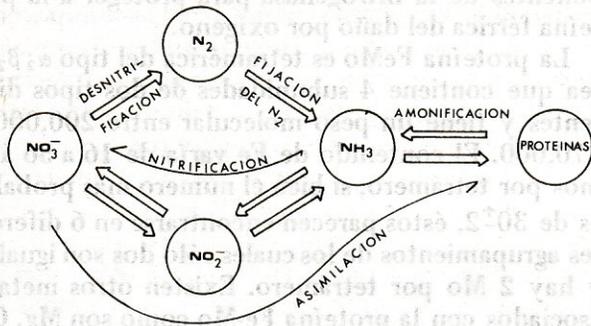


FIGURA 1. El ciclo biológico del nitrógeno.

por la flora del suelo hasta nitrato. Las plantas pueden utilizar cualquiera de estas dos formas asimilables del nitrógeno.

El nitrato absorbido por las plantas es reducido hasta amonio e incorporado en algunos aminoácidos y en otros compuestos nitrogenados, éstos son ingeridos por los animales, quienes los degradan para incorporarlos a sus propios componentes nitrogenados. El nitrógeno pasa así de un animal a otro devolviéndolo finalmente al suelo cuando el animal muere o excreta sus productos de desecho; la flora microbiana aprovecha estos compuestos para su propio crecimiento y de esta manera, el nitrógeno puede ser convertido de nuevo en amonio o nitratos que podrán ser asimilados por las plantas y así sucesivamente. Finalmente, existen algunos microorganismos que convierten al nitrato nuevamente en nitrógeno molecular y de esta manera lo regresan nuevamente a la atmósfera para cerrar el ciclo.

II. FIJACION DEL NITROGENO.

La fijación del nitrógeno es el proceso por el cual se compensa la pérdida por desnitrificación y como ya se mencionó anteriormente esta fijación puede ser llevada a cabo biológicamente, de hecho más del 70 por ciento del nitrógeno fijado corresponde a procesos biológicos.

La fijación biológica del nitrógeno conduce a una reacción, la cual en términos químicos es poco usual. La molécula de nitrógeno es normalmente muy poco reactiva, son necesarias elevadas presiones y temperaturas como en el proceso Haber-Bosch, para hacer que el nitrógeno sea reactivo. En parte esta inercia química se debe al triple enlace muy estable que une a los dos átomos de nitrógeno ($N \equiv N$). Los organismos fijadores de nitrógeno hacen reactiva esta molécula a temperatura y presiones ordinarias, pero además también lo hacen en el agua o en una atmósfera de oxígeno no obstante que ambas sustancias interfieren el proceso Haber-Bosch. El catalizador biológico, o enzima responsable de este proceso deberá tener algunas propiedades químicas excepcionales y la forma en la cual funciona es un fascinante problema, el cual sólo ha sido resuelto en parte.

La fijación biológica del nitrógeno está restringida a unos pocos organismos procariontes pero que abarcan una gran variedad de metabolismos: anaerobios estrictos, aerobios estrictos, autótrofos, quimioautótrofos, heterótrofos, bacterias fotosintéticas y algas azul-verdes. En la tabla I se ha dividido a

TABLA I. Sistemas Biológicos que fijan N_2

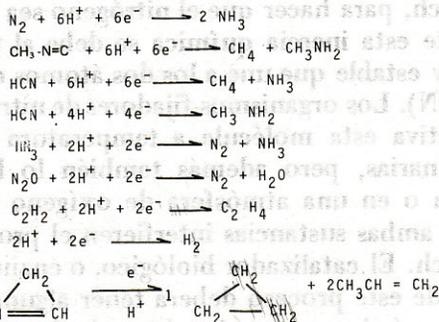
SIMBIOTICO	}	LIQUENES	(<u>Nostoc</u> , <u>Anabaena</u>)
		ANGIOSPERMAS	(<u>Nostoc</u>)
		AZOLLA	(<u>Anabaena azollae</u>)
		PASTOS TORPICALES	(<u>Azotobacter paspali</u> , <u>Azospirillum</u>)
		NODULOS DE RAIZ	(Leguminosas + <u>Rhizobium</u>) (No leguminosas + " <u>Frankia almi</u> " (actinomiceto))
AEROBICOS	}		<u>Nostoc muscorum</u> , <u>Anabaena cilíndrica</u>
			<u>Beijerinckia indica</u>
			<u>Micobacterium flavum</u>
			<u>Spirulina</u> , <u>Azotobacter vinelandi</u>
CELULAS LIBRES	}	FACULTATIVOS	{ <u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>Citrobacter freundii</u>
		ANAEROBICOS	{ <u>Rhodospirillum rubrum</u> <u>Clostridium pasteurianum</u> <u>Chromatium vinosum</u>

los organismos fijadores de nitrógeno en los que viven en simbiosis y los que viven en forma libre. Estos organismos poseen la enzima nitrogenasa que es la responsable de la catálisis de la reacción de la fijación del nitrógeno.

Bioquímica de la nitrogenasa. La nitrogenasa es una enzima compleja y entre sus propiedades poco usuales tenemos que: cataliza la reducción de una variedad de sustratos (tabla II) con la hidrólisis con-

TABLA II. Diferentes sustratos reducidos por la nitrogenasa.

TABLA II. DIFERENTES SUSTRATOS REDUCIDOS POR LA NITROGENASA



comitante de ATP. Contiene dos proteína Fe-S fácilmente separables, una de las cuales contiene Mo y es inhibida irreversiblemente por oxígeno.

La nomenclatura de los componentes de la nitrogenasa ha causado varias diferencias de opinión en la última década. El componente proteico que contiene FeMo ha sido llamado componente 1, debido a que eluye a más baja fuerza iónica de una columna de DEAE-celulosa que la proteína férrica (tabla III). Se ha propuesto una nueva nomenclatura la cual consiste en utilizar las primeras letras del microorganismo del que se extrae seguida por el número 1 para la proteína FeMo y el 2 para la proteína férrica.

TABLA III. NOMENCLATURA DE LOS COMPONENTES

COMPONENTE MoFe	PROTEINA - Fe
COMPONENTE I	COMPONENTE II
MOLIBDOFERREDOXINA	AZOFERREDOXINA
AZOFERMO	AZOFE
NITROGENO REDUCTASA	NITROGENASA REDUCTASA

En todas las bacterias investigadas la nitrogenasa contiene dos proteínas Fe-S las cuales son necesarias para su actividad *in vitro*. Algunas bacterias como: *Rhodospirillum rubrum* y *Azospirillum brasilense* contienen una proteína activadora para el componente proteína férrica, mientras que *A. vinelandii* y *A. chroococum* poseen una proteína con 2Fe-2S, la cual forma un complejo equimolar con los com-

ponentes de la nitrogenasa para proteger a la proteína férrica del daño por oxígeno.

La proteína FeMo es tetramérica del tipo $\alpha_2\beta_2$ o sea que contiene 4 subunidades de dos tipos diferentes y tiene un peso molecular entre 200,000 y 270,000. El contenido de Fe varía de 16 a 36 átomos por tetrámero, si bien el número más probable es de 30 ± 2 , éstos parecen encontrarse en 6 diferentes agrupamientos de los cuales sólo dos son iguales, y hay 2 Mo por tetrámero. Existen otros metales asociados con la proteína Fe-Mo como son Mg, Cu, Ca y Zn a los cuales no se les conoce ninguna función ni en la estructura de la nitrogenasa ni en la actividad. El factor FeMo de *A. vinelandii* es inestable al oxígeno y al agua y contiene 8 Fe y 6 S lábiles por cada Mo y parece ser que no contiene la estructura convencional 4Fe4S. Los ligandos que ocurren son: Mo-S y FeMo y no se ha determinado un ligando Mo-O el cual se forma en presencia de oxígeno provocando una pérdida en la actividad.

El componente II de la nitrogenasa tiene un peso molecular entre 55,500 y 72,600 y es una proteína del tipo α_2 que comprende dos subunidades idénticas. Contiene 4 Fe y 4 S en un solo agrupamiento. Esta proteína transfiere electrones *in vitro* ya sea desde un donador biológico o químico hacia la proteína FeMo. En *Rhodospirillum rubrum* se han encontrado dos bandas en geles de poliacrilamida con SDS y que contienen adenina, ribosa y fosfato (posiblemente AMP) firmemente unida, lo que implica que hay por lo menos dos tipos de proteína férrica en la nitrogenasa.

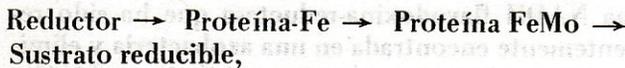
Algunas publicaciones recientes indican la posibilidad de un tercer componente proteico, el cual protegería a la nitrogenasa del daño por oxígeno, o como se ha sugerido recientemente, regularía la actividad de la nitrogenasa asociándose o disociándose del complejo.

Mecanismo de acción de la nitrogenasa. La nitrogenasa es un complejo enzimático de dos componentes proteicos los cuales requieren ATP, un reductor, un sustrato reducible, Mg^{2+} y un ambiente anaeróbico para funcionar. Existen cuatro preguntas fundamentales a ser contestadas: a) la función de los dos componentes proteicos, b) la función del ATP, c) la naturaleza del sitio activo y d) el mecanismo de la reducción del nitrógeno.

La unión del complejo ATP-Mg provoca un cambio conformacional en la proteína férrica y si bien es difícil decir cuantos sitios de unión hay para el complejo ATP-Mg, las evidencias indican que son posiblemente de 3 a 5. También existe un sitio de unión para el complejo ADP-Mg el cual es inhibidor de la nitrogenasa, aunque las evidencias provenientes de los estudios cinéticos de la nitrogenasa en estado estacionario indican dos sitios de unión para el ADP-Mg.

Entre las evidencias que se tienen para el cambio conformacional se cuentan: a) el ^{14}C -ATP se une a la proteína en presencia de Mg^{2+} , b) el ATP incrementa la sensibilidad al oxígeno, a los reactivos de grupos sulfhidrilos y a los agentes quelantes, c) el ATP cambia el punto medio REDOX (E_m) de +280 a -400 mV.

El espectro de resonancia paramagnética del electrón (EPR) de la proteína FeMo cambia en presencia de una variación del pH, o de acetileno, lo cual se ha interpretado en el sentido en que estos sustratos se unen a dicha proteína por lo que se sugiere que la secuencia de la reacción es:



con la concomitante hidrólisis de ATP.

La formación del complejo entre las dos proteínas componentes de la nitrogenasa es, presumiblemente, esencial para la transferencia de los electrones. La mayor pregunta por resolver es acerca de si el complejo es necesario solamente para la transferencia de los electrones, en cuyo caso podrían asociarse y disociarse con cada transferencia dentro del recambio de la enzima o se asocian para formar un sitio activo para una de las actividades de la nitrogenasa. Una segunda pregunta por resolver es ¿cuál es la relación molar de componentes para tener el complejo activo? Para esta pregunta la respuesta parece ser 1:1, sin embargo, aún se encuentra abierta a discusión.

Como ya se mencionó la nitrogenasa cataliza la reducción de varios sustratos, (tabla II) y hay varias líneas de evidencia que sugieren que éstos son reducidos en diferentes sitios o por diferentes formas de la enzima, la principal evidencia proviene de estudios de inhibición de la enzima cuyos resultados se resumen en la tabla IV y cuya interpretación sugiere que hay por lo menos 4 sitios activos o formas diferentes de la enzima.

TABLA IV. Naturaleza de la inhibición por algunos aceptores de electrones e inhibidores de la nitrogenasa.

SUSTRATO	I N H I B I D O R							
	N_2	N_3^-	C_2H_2	HCN	N_2O	H_2	CO	CH_3NC
N_2			NC	NC	C	C	NC	
N_3^-			NC	C		NI	NC	C
C_2H_2	C	NC		NC	NC	NI	NC	
HCN	I	C	E		E	E	NC	
H^+	I	I	I	I	I	NI	NI	I

C= inhibición competitiva, NC= inhibición no competitiva, NI= no hay inhibición, I= inhibe, E= estimula.

Por lo que respecta a los intermediarios durante la reducción del N_2 , la única evidencia directa es de la presencia de un intermediario del tipo diazono unido a la enzima, sugiriéndose una estructura probable del tipo $\text{E-Mo-N}\equiv\text{NH}_2$ o $\text{E-Mo-N}\equiv\text{N-NH}_3^+$. Postgate (1978), así como F. Winter y Burris (1976) han resumido todos estos hechos en un diagrama que se muestra en las figuras 2a y 2b.

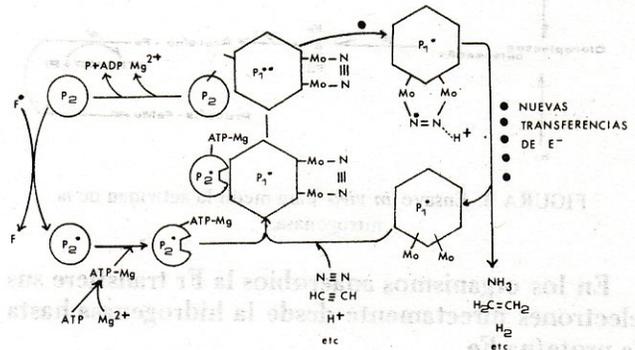


FIGURA 2a. Probable mecanismo de acción de la nitrogenasa, adaptado de Postgate (14).

Aspectos fisiológicos de la fijación del nitrógeno. Los donadores de los electrones para la actividad *in vivo*

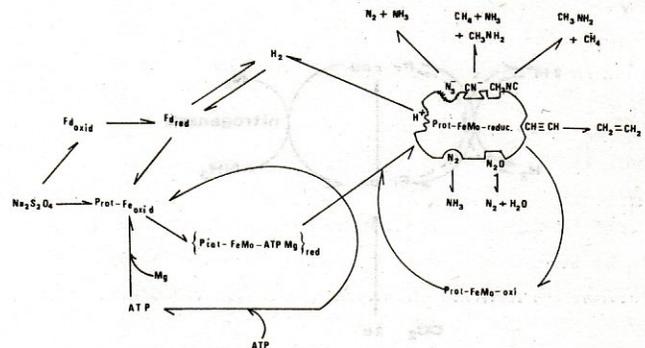


FIGURA 2b. Probable mecanismo de acción de la nitrogenasa, adaptado de Winter y Burris (18).

in vivo de la nitrogenasa son la ferredoxina (Fr) y la flavodoxina (Fd), de la primera se conocen 4 tipos con pesos moleculares que van desde 6,000 hasta 24,000 y con niveles de oxidación desde -1 hasta -3, si bien pueden, en teoría, tener niveles desde cero hasta -4. De la Fd sólo se conoce un tipo con un peso molecular que varía entre 14,000 y 23,000 y se caracteriza por tener un solo grupo de FMN por molécula, el cual puede encontrarse completamente oxidado (amarillo), semirreducido (azul) y reducido (amarillo pálido o sin color).

Un ensayo *in vivo* para medir la actividad de la nitrogenasa es el llamado ensayo de la nitrogenasa en cloroplasto el cual consiste en calentar cloroplastos de espinaca para así destruir el fotosistema II y el suministro de electrones al fotosistema I se reali-

za mediante ascorbato y diclorofenolindofenol en presencia de la luz y en ausencia de O_2 . Este sistema se ha usado para caracterizar varias ferredoxinas y flavodoxinas como posibles acarreadores de electrones a la nitrogenasa; sin embargo, tiene la desventaja de ser muy inespecífico (fig. 3).

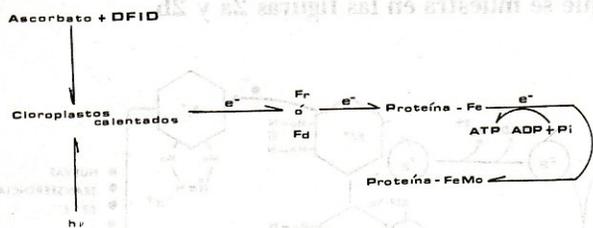
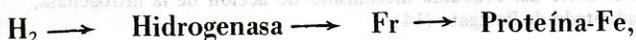


FIGURA 3. Ensayo *in vivo* para medir la actividad de la nitrogenasa.

En los organismos anaerobios la Fr transfiere sus electrones directamente desde la hidrogenasa hasta la proteína-Fe.



siendo el piruvato el donador de los electrones (fig. 4).

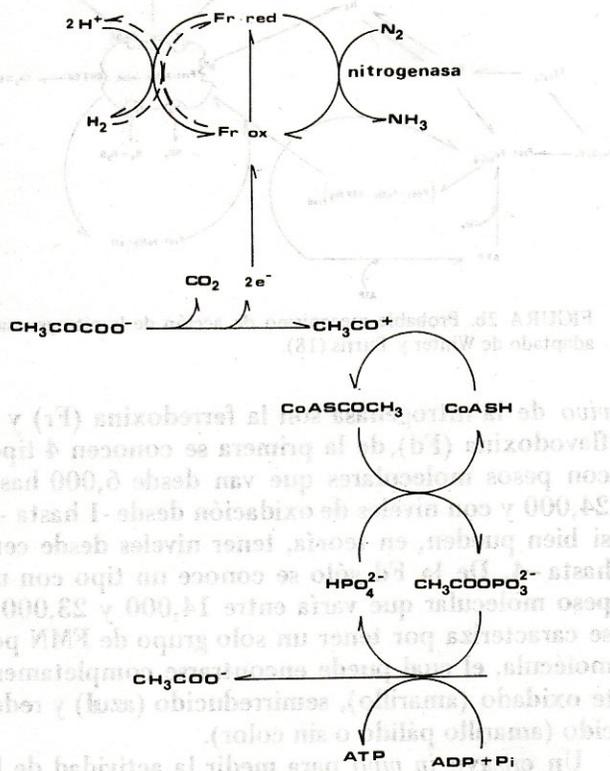


FIGURA 4. Flujo de los electrones desde el piruvato hasta la nitrogenasa en organismos anaerobios.

En los organismos aerobios se han propuesto dos hipótesis, una involucra tanto a la Fr como a la Fd, en tanto que la otra sólo a la Fd.

El mecanismo propuesto por la primera hipótesis es:



Sin embargo, tiene el inconveniente de que requiere de una alta relación $NADPH/NADP^+$ lo cual es indeseable en la bacteria, ya que le inhibe enzimas claves en su metabolismo.

La segunda hipótesis propone la existencia de una NADH flavodoxina-reductasa que ha sido recientemente encontrada en una azobacteria y elimina el inconveniente que presenta la primera hipótesis, sin embargo ésta presenta el inconveniente de los diferentes valores de pH requeridos durante la reacción los cuales son difíciles de conseguir sin compartamentalización (fig. 5). Ambos modelos tienen en común la proposición de que la Fd es el acarreador de electrones adyacente a la nitrogenasa.

En cianobacterias la mayor vía de transferencia de electrones a la nitrogenasa involucra al NADPH producido fotosintéticamente, queda por elucidarse, si las vías que utilizan NADH o NADPH involucran acarreadores de electrones diferentes.

La sensibilidad de la nitrogenasa al oxígeno. Cuando la nitrogenasa se encuentra *in vitro* es rápidamente inhibida por el oxígeno y esta propiedad es común a la enzima de todos los microorganismos estudiados hasta ahora.

¿Cómo es entonces que los microorganismos fijadores de N_2 pueden hacerlo en un planeta cubierto por 20 por ciento de O_2 , cuando la enzima responsable de esta función es irreversiblemente inhibida cuando entra en contacto con ese gas? ¿En qué componente de la nitrogenasa reside la sensibilidad al O_2 ? Hasta ahora sabemos que la sensibilidad de la nitrogenasa al oxígeno se encuentra en sus dos componentes, si bien la proteína-Fe es más sensible que la proteína-FeMo y es probable que la inactivación resulte de la interacción del oxígeno con el estado reducido de estas proteínas. Ahora bien, este fenómeno no es privativo de la enzima *in vitro*, también se da *in vivo*. Sin embargo, la inhibición de la fijación del nitrógeno *in vivo* por el oxígeno puede ser reversible y los organismos que fijan nitrógeno han desarrollado una serie de medidas tendientes a proteger a su nitrogenasa del oxígeno. Entre estas estrategias tenemos:

a) Medio anaerobio. Organismos tales como *Clostridium pasteurianum* y *Desulfovibrio desulfuricans* bacteria que reduce sulfato son anaerobios estrictos por lo que su nitrogenasa se mantiene activa evitando el contacto con el aire.

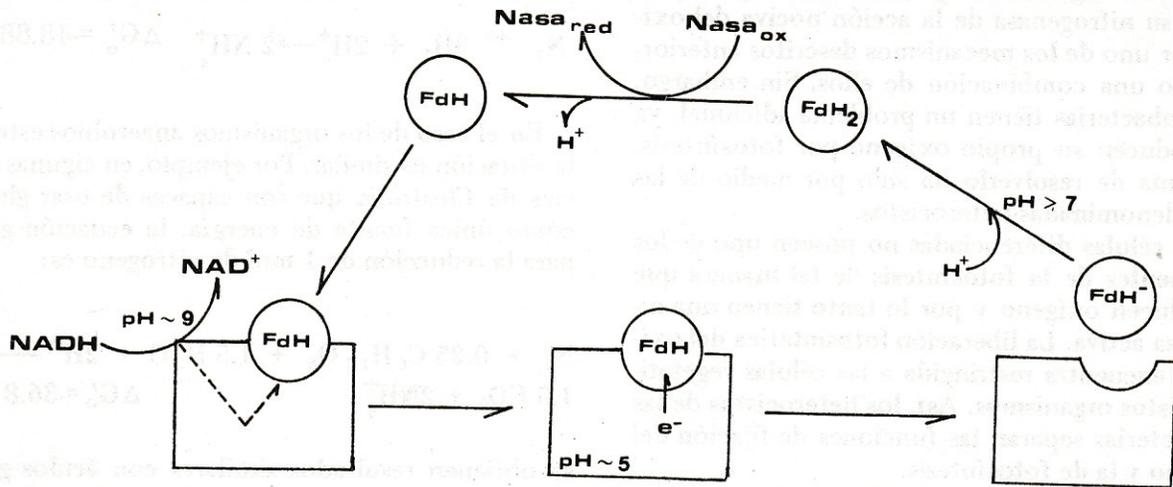


FIGURA 5. Hipótesis para explicar la transferencia de electrones a la nitrogenasa en organismos aerobios.

b) Barreras físicas o bioquímicas. Si bien varios microorganismos fijadores de nitrógeno se rodean de una gruesa cápsula de limo, no hay una prueba directa que ésta limite la difusión del oxígeno dentro de las células. Por otro lado, muchas cianobacterias tienen su nitrogenasa en células especializadas llamadas heterocistos, éstos no liberan oxígeno y además se encuentran rodeados por una gruesa pared celular la cual puede actuar como barrera a la difusión del oxígeno en estas células.

En los nódulos de las raíces de las leguminosas, debido a que la difusión del oxígeno a través de las células de la raíz a los bacteroides se encuentra restringida, junto con la gran demanda de oxígeno por los bacteroides hace que las concentraciones de oxígeno sean muy bajas. También, para asegurar un adecuado suministro de oxígeno a los bacteroides para la generación de ATP en la fijación del nitrógeno, los nódulos de las leguminosas contienen una proteína acarreadora de oxígeno, la leghemoglobina.

c) Eliminación metabólica del oxígeno. Los organismos aerobios fijadores de nitrógeno tales como *Azotobacter chroococum* y *A. vinelandii* poseen una elevada velocidad de respiración; estos microorganismos tienen una cadena respiratoria que en altas concentraciones de oxígeno se encuentra pobremente acoplada a la producción de ATP, lo cual da por resultado mantener una concentración de oxígeno muy cercana a cero. De igual manera *Klebsiella pneumoniae* disminuye la tensión de oxígeno siempre y cuando las colonias sean muy densas de tal manera que sean capaces de bajar la concentración de oxígeno a casi cero en su vecindad.

Otro camino de eliminación metabólica del oxí-

geno es a través del metabolismo del hidrógeno. La nitrogenasa puede reducir iones de hidrógeno a hidrógeno molecular. Esto podría parecer un desperdicio ya que se consume ATP; sin embargo, muchos microorganismos fijadores de nitrógeno poseen una hidrogenasa, la cual puede oxidar hidrógeno, introduciendo los electrones extraídos en una cadena transportadora de electrones con oxígeno como el aceptor final. De esta forma, el ATP hidrolizado por la nitrogenasa durante la producción del hidrógeno molecular se recupera y el oxígeno se consume.

d) Protección conformacional. Se ha sugerido que cuando *Azotobacter* se encuentra expuesto al oxígeno, su nitrogenasa sufre un cambio conformacional generando una forma de la enzima resistente al oxígeno pero inactiva. Evidencias recientes en apoyo a esta hipótesis provienen de experimentos en los cuales en las preparaciones crudas de nitrogenasa de *Azotobacter* que tiene una proteína Fe-S, ésta forma un complejo con las proteínas de la nitrogenasa y Mg^{2+} , protegiendo a esta última de la inactivación por el oxígeno. Sin embargo, este sistema no puede hacer frente a exposiciones prolongadas en altas concentraciones de oxígeno.

e) Síntesis de nitrogenasa. En la cianobacteria *Anabaena flos-aguae*, la exposición en altas concentraciones de oxígeno causa una inhibición de la actividad de la nitrogenasa, pero a diferencia de *Azotobacter* no se recupera rápidamente después de eliminar el exceso de oxígeno. Por el contrario la actividad de la nitrogenasa regresa lentamente como resultado de la síntesis de enzima nueva. Esto sugiere que en *A. flos-aguae* el nivel de nitrogenasa activa se mantiene por medio de un balance entre la síntesis y la inactivación por el oxígeno de la enzima.

Todos los organismos fijadores de nitrógeno protegen a su nitrogenasa de la acción nociva del oxígeno por uno de los mecanismos descritos anteriormente, o una combinación de ellos. Sin embargo, las cianobacterias tienen un problema adicional, ya que producen su propio oxígeno por fotosíntesis, una forma de resolverlo ha sido por medio de las células denominadas heterocistos.

Estas células diferenciadas no poseen uno de los componentes de la fotosíntesis de tal manera que no producen oxígeno y por lo tanto tienen una nitrogenasa activa. La liberación fotosintética del oxígeno se encuentra restringida a las células vegetativas de estos organismos. Así, los heterocistos de las cianobacterias separan las funciones de fijación del nitrógeno y la de fotosíntesis.

Otra forma de algunas cianobacterias para proteger a su nitrogenasa es efectuar una fotosíntesis anoxigénica es decir que no se libera oxígeno y una tercera alternativa es la que efectúa la cianobacteria *Gloeocapsa*, ya que ha separado en el tiempo las dos funciones; la fotosíntesis que libera oxígeno la efectúa en la luz, mientras que la fijación del nitrógeno la efectúa en la oscuridad cuando no hay liberación de oxígeno.

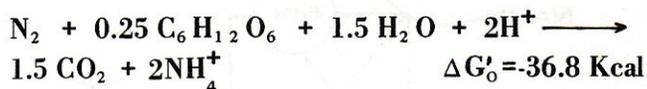
La actividad de hidrogenasa en la nitrogenasa. La hidrogenasa es la enzima que cataliza tanto la eliminación de electrones del hidrógeno como la reducción de los protones. Hay tres tipos en la naturaleza; el primero es la hidrogenasa presente en bacterias anaerobias la cual actúa como un vertedero de electrones asociado con la reducción de la ferredoxina; el segundo es una hidrogenasa que toma hidrógeno unidireccionalmente y la cual se encuentra en bacterias fijadoras de nitrógeno, el tercer tipo de hidrogenasa es la que se encuentra asociada a la nitrogenasa y en la cual la liberación de hidrógeno es dependiente de ATP.

En los nódulos de raíz de las leguminosas se han postulado tres funciones para la hidrogenasa: a) para ayudar a la protección respiratoria, b) reciclar el hidrógeno para mejorar la eficiencia metabólica, pues aproximadamente el 30 por ciento de la energía requerida para la fijación del nitrógeno se pierde al producirse hidrógeno molecular y c) impedir la producción de hidrógeno molecular por la nitrogenasa para evitar que la inhiba. Las dos primeras han sido encontradas en una variedad de organismos fijadores de nitrógeno.

Termodinámica y evolución. La fijación del nitrógeno requiere una gran cantidad de energía, de 12 a 24 moléculas de ATP por cada nitrógeno convertido en dos moléculas de amonio, lo cual es una sorpresa ya que la síntesis de amoniaco o de amonio a partir de sus elementos en condiciones estándares es altamente exergónica:



En el caso de los organismos anaerobios estrictos la situación es similar. Por ejemplo, en algunas especies de *Clostridia* que son capaces de usar glucosa como única fuente de energía, la ecuación global para la reducción de 1 mol de nitrógeno es:



se obtienen resultados similares con ácidos grasos en lugar de carbohidratos; si en vez de condiciones estándares se usan las concentraciones de los compuestos determinados en la célula, el $\Delta G'$ para la reacción anterior se convierte en -50.90 Kcal .

Puesto que la necesidad de ATP en la fijación del nitrógeno no se debe a una deficiencia en la energía libre, la función del ATP deberá buscarse en el mecanismo específico para la reducción del nitrógeno. Si bien aún no entendemos completamente este mecanismo, algunos hechos son claros. El ATP, junto con el Mg^{2+} son enlazados a la proteína férrica y los productos de la hidrólisis del ATP son liberados cuando los electrones se transfieren a la proteína-FeMo. Aquí es donde tiene lugar la fijación del nitrógeno, aparentemente ya sin necesidad de ATP. La estequiometría de la utilización del ATP no está aún clara y depende de las condiciones experimentales.

La nitrogenasa también actúa como una hidrogenasa irreversible, es decir acepta H^+ en lugar de nitrógeno y libera hidrógeno molecular en una reacción que también es dependiente de ATP. Broda y Peschek (1980) han propuesto, con base en consideraciones bioenergéticas, que tanto las hidrogenasas "clásicas", que no usan ATP en las células actuales, como la nitrogenasa, provienen de un ancestro común, una proteína FeS, el cual adquirió más tarde a la proteína FeMo dando origen a las hidrogenasas dependientes de ATP las cuales debieron tener una función muy importante en la tierra primitiva (en el arqueano) ya que como la atmósfera era reductora, la eliminación de los H^+ en las células debió haber sido termodinámicamente desfavorable y de aquí el gasto de ATP para estimular este proceso. Estas hidrogenasas evolucionaron más tarde perdiendo por un lado a la proteína-FeMo y dando origen a las hidrogenasas independientes de ATP y por el otro a la nitrogenasa que conservó la proteína FeMo y su dependencia de ATP (fig. 6).

La otra hipótesis propuesta por Silver y Postgate

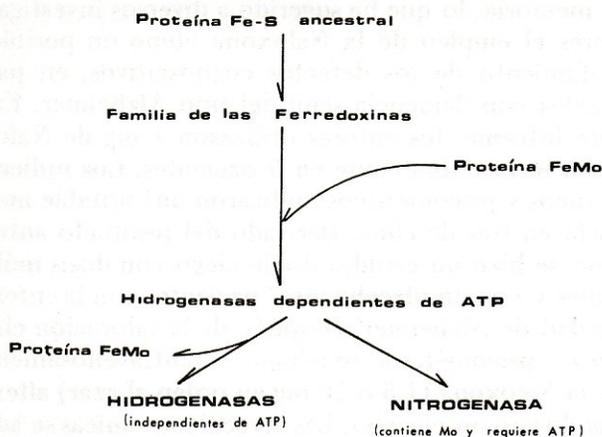


FIGURA 6. Hipótesis de Broda y Peschek (1) para la evolución de la nitrogenasa.

(1973) para el origen de la nitrogenasa es aquella que señala que en su estado primitivo, estas enzimas destruían acetileno, cianógeno, nitrilos e ins-nitrilos existentes en el ambiente primitivo. Sin embargo, puede objetarse que estos sustratos son extremadamente susceptibles a la hidrólisis por lo que difícilmente alcanzaron concentraciones a las cuales fuese necesario crear un mecanismo de defensa.

Fijación del nitrógeno en la atmósfera primitiva. Finalmente se tocará muy brevemente un tema que casi nunca se analiza en los reportes sobre fijación del nitrógeno: cómo se fijó el nitrógeno en la atmósfera prebiótica y en especial la función que tuvieron las descargas eléctricas.

En la atmósfera presente los rayos generan la fijación de 1 a 4 X 10⁷ toneladas de nitrógeno por año en la forma de óxido nítrico (NO). Este compuesto (gaseoso) se forma alrededor de la trayectoria del rayo que es donde se generan las altas temperaturas que requiere su síntesis. Este óxido nítrico es convertido más tarde por procesos fotoquímicos en óxido nitroso y en ácido nítrico. Ahora bien la cantidad de nitrógeno fijado varía de acuerdo con la composición de la atmósfera, Chameides y Walker (1981) han calculado una velocidad de fijación de nitrógeno de 10³⁴ moléculas por año en una atmósfera rica en CO₂ y alrededor de 10²⁹ moléculas por año para una atmósfera rica en metano, lo cual sugiere que la fijación abiótica del nitrógeno fue y es potencialmente significativa.

Desde luego los rayos no fueron la única fuente energética que se usó en la tierra primitiva, sino también radiación ionizante, el calor de las erupciones volcánicas y la luz ultravioleta.

Consideraciones finales. Se ha avanzado bastante en el conocimiento de la fijación del nitrógeno, sin embargo falta mucho por conocer, como por ejemplo, el tipo y arreglo de los racimos de S-metal en la proteína-FeMo y la definición en términos físico-

químicos de los sitios activos de la nitrogenasa. ¿Cuántas y cuáles son las funciones del ATP-Mg²⁺? ¿Cómo puede la proteína-Fe tomar 2e⁻/mol y poseer solamente un agrupamiento de 4 Fe 4 S, el cual aparentemente toma un solo electrón? ¿Cuál es el mecanismo de la reducción del nitrógeno y por qué genera hidrógeno molecular la enzima? ¿Cuál es el mecanismo de transferencia de electrones en los organismos aerobios que no poseen flayodoxina? ¿Cuál es la función de las ferredoxinas poco usuales en bacterias fotosintéticas? Estas y muchas otras preguntas requieren de mucha más investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. Broda, E. y Peschek, G.A. (1980). Evolutionary considerations on the thermodynamics of nitrogen fixation, *Biosystems*, 13, 47-56.
2. Burns, R.C. y Hardy, R.W.F. (Editores) (1975). *Nitrogen fixation in bacteria and higher plants*, Springer-Verlag, Berlin.
3. Chameides, W.L. y Walker, J.C.G. (1981). Rates of fixation by lightning of carbon and nitrogen in possible primitive atmospheres, *Origins of Life*, 11, 291-302.
4. Gallon, J.R., (1981). The oxygen sensitivity of nitrogenase: a problem for biochemists and micro-organisms, *TIBS*, 6, 19-23.
5. Lijones, T. (1979). Nitrogen fixation and bioenergetics: the role of ATP in nitrogenase catalysis, *Febs lett.*, 98, 1-8.
6. Mortenson, L.E. y Thorneley, R.N.F. (1979). *Structure and function of nitrogenase*, *Ann. Rev. Biochem.*, 48, 387-418.
7. Newton, W.E. y Orme-Johnson, W.H. (Editores) (1980). *Nitrogen fixation*, Vol. I, University Park Press, Baltimore.
8. Phillips, D.A. (1980). Efficiency of symbiotic nitrogen fixation in legumes, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31, 29-49.
9. Postgate, J., (1978). *Nitrogen fixation*, *Studies in Biology No. 92*, Edward Arnold, England.
10. Silver, W.S. y Postgate J.R. (1973). Evolution of Asymbiotic nitrogen fixation *J. Theor. Biol.* 40, 1-10.
11. Winter, H.C. y Burris, R.H. (1976). Nitrogenase, *Ann. Rev. Biochem.*, 45, 409-426.
12. Yates, M.G., (1980). *Biochemistry of nitrogen fixation in: The Biochemistry of plants*, P.K. Stumpf y E.E. Conn, Editores 2, 1-64, Academic Press, New York.
13. Yung, Y.L. y McElroy, M.B. (1979). Fixation of nitrogen in the prebiotic atmosphere, *Science*, 203, 1002-1004.

LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, UN TRASTORNO DE LA INNERVACION COLINERGICA CORTICAL.

(Coyle, J.T., Price, D.L. y DeLong, M.R., "Alzheimer's Disease: A Disorder of Cortical Cholinergic Innervation", *Science.*, 219: (4589) 1184-1189 (1983) Marzo 11).

La enfermedad de Alzheimer y la demencia senil de tipo Alzheimer, se distinguen en la actualidad por la edad de iniciación. Se caracterizan por anomalías progresivas de la memoria, del comportamiento y de las funciones cognitivas (capacidad para leer, escribir, calcular o usar el lenguaje apropiadamente).

El cerebro de estos pacientes presenta placas neuríticas y marañas neurofibrilares, que caracterizan tanto a la demencia senil como a la enfermedad de Alzheimer así como la pérdida de poblaciones específicas de células nerviosas. Los estudios neuroquímicos indican que los marcadores colinérgicos presinápticos están muy disminuidos en la corteza cerebral y en el hipocampo de los individuos afectados. Esta deficiencia colinérgica, parece deberse a una pérdida de neuronas en el septo medial, en la banda diagonal de Broca y en el núcleo basal de Meynert, un sistema colinérgico del cerebro anterior basal que se proyecta directamente al hipocampo y la neocorteza. La pérdida de esta población celular también se ha implicado en otros tipos de demencia que demuestran características comunes con la demencia de Alzheimer. La identificación de una vía transmisor-específica afectada selectivamente en una forma grave de demencia, es un paso importante en la planeación de estudios diagnósticos, de investigaciones de mecanismos patogénicos y en el desarrollo de enfoques terapéuticos para estos trastornos neuropsiquiátricos debilitantes.

Dr. Guillermo Carvajal
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional.

LA NALOXONA, EFICAZ EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

(Reisberg, B., Ferris, S.H., Anand, R., Pervez, M.M. A., Geibel, V. Deleon, M.J. y Roberts, E., (1983) Effects of Naloxone in senile dementia., *New Engl. J. Med.*, 308: (12) 721-722).

Varios estudios recientes parecen indicar una posible influencia moduladora de los sistemas opioides endógenos (endorfinas), en el almacenamiento de

la memoria, lo que ha sugerido a diversos investigadores el empleo de la Naloxona como un posible tratamiento de los defectos cognoscitivos, en pacientes con demencia senil del tipo Alzheimer. En este informe, los autores utilizaron 1 mg de Naloxona intravenosamente en 5 pacientes. Los índices clínicos y psicométricos indicaron una notable mejoría en tres de ellos. Derivado del resultado anterior, se hizo un estudio doble ciego con dosis múltiples y con un placebo, en 7 pacientes con la enfermedad de Alzheimer. Después de la valoración clínica y psicométrica, se administró intravenosamente la Naloxona (1,5 o 10 mg en orden al azar) alternando con un placebo. Las inyecciones únicas se administraron con intervalos de siete días en un periodo de seis semanas. Las valoraciones clínicas y psicométricas fueron llevadas a cabo antes y 15 a 60 minutos después de la inyección. El único efecto secundario observado fue el de aumento en la ansiedad en dos pacientes que recibieron 12 dosis de 10 mg. Los efectos del tratamiento en las respuestas a las pruebas clínicas y psicométricas fueron de una notable mejoría ($p < 0.01$). En tres de los pacientes los efectos clínicos fueron de suficiente magnitud para ser notados por los familiares. Se concluye que la Naloxona tiene efectos positivos, por lo menos temporales, sobre las pruebas cognitivas en los pacientes con demencia senil del tipo Alzheimer y que este asunto amerita más investigación.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional

LA FISOSTIGMINA Y LA LECITINA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

(Thal, L.J. y Fuld, P.A., Memory enhancement with oral physostigmine in Alzheimer's disease., *New Engl. J. Med.*, 308: (12) 720-721 (1983) Marzo 24).

Los pacientes con enfermedad de Alzheimer, presentan una pérdida selectiva de la enzima colina-acetil-transferasa en la corteza cerebral, lo que sugiere una deficiencia colinérgica específica. Los intentos para mejorar la función colinérgica central mediante la administración de los precursores colina y lecitina, han producido poca o ninguna mejoría en la memoria. Se ha informado que la administración parenteral de fisostigmina —un inhibidor de la colinesterasa— mejora la memoria en pacientes con la enfermedad de Alzheimer, produciéndose una mejoría más marcada con fisostigmina parenteral más lecitina oral. En esta comunicación se informa del empleo combinado de fisostigmina y lecitina por vía oral ambas, a dosis máxima de 16 mg/día de la

primera y de 3.6 gramos tres veces al día de la lecitina. Ocho de doce pacientes mejoraron en las tareas asignadas para evaluarlos, encontrándose que 2.5 mg/día es la dosis óptima de fisostigmina.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional.

INMUNODEFICIENCIA CELULAR DEBIDA A OROTICOACIDURIA HEREDITARIA.

(Giro, R., Hamet, M., Perignon, J.L., Guesnu, M., Fox, R.M., Cartier, P., Durandy, A., y Griselli, C., "Cellular Immune Deficiency in two sibilings with hereditary Orotic Aciduria., *New Engl. J. Med.*, 308: (12) 700-704 (1983) Marzo 24).

La oróticoaciduria es un error innato del metabolismo de las pirimidinas que se asocia con herencia autosómica recesiva. La enfermedad se caracteriza por un desarrollo y crecimiento retardados, anemia y médula ósea megaloblástica. Hasta la fecha sólo se han descrito nueve pacientes. El defecto enzimático involucra a dos enzimas de la síntesis "de novo" de las pirimidinas en el Tipo I de la enfermedad: la orotato fosforribosil-transferasa (EC. 2. 4.2.

10) y la descarboxilasa de la orotidina-5'-fosfato (ODC) (EC.4.1.1.23.) o el Tipo II en que sólo falta la ODC. La terapia substitutiva con uridina, generalmente conduce a una remisión clínica y hematológica, así como a una reducción en la excreción del ácido orótico. Como se han observado infecciones graves en algunos pacientes y dos de ellos han muerto-uno de varicela y otro de meningitis- se ha sospechado, aunque no demostrado, una inmunodeficiencia. En esta publicación se describen dos hermanos con la Oróticoaciduria del Tipo I, asociada con un síndrome de inmunodeficiencia caracterizado por alteración de la inmunidad mediada por células, con inmunidad humoral normal. La disminución de linfocitos T observada fué de 10 y 15 por ciento respectivamente (normal de 65 a 75 por ciento). Con anticuerpos monoclonales, se observó en uno, un 1 por ciento de linfocitos T cooperadores (normal de 46 a 51 por ciento) y 5 por ciento de los linfocitos T supresores (normal de 27 a 36 por ciento).

El trastorno observado es muy similar a otras inmunodeficiencias asociadas con el metabolismo de las purinas: las deficiencias de Adenosina-desaminasa y de la purina-nucleósido fosforilasa.

Dr. Guillermo Carvajal S.
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional.

PRIMERA MESA REDONDA

EL PAPEL BIOLÓGICO DE LAS POLIAMINAS

La Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C., invita cordialmente a todas las personas interesadas para asistir a la primera mesa redonda que sobre "El Papel Biológico de las Poliaminas" se llevará a cabo el 5 de septiembre del presente año a las 18:00 horas, en el Auditorio Nabor Carrillo de la Unidad de Bibliotecas de la UNAM, Ciudad Universitaria.

La intención es dar a conocer algunos aspectos relacionados con la función de las poliaminas en diversos sistemas celulares; la de incrementar la interacción entre quienes trabajan o están interesados en esta área de la investigación, establecer un intercambio de bibliografía, reactivos y las facilidades necesarias para el desarrollo del trabajo experimental. Se anexan algunos de los resúmenes que serán discutidos.

La Mesa Directiva

EL SISTEMA ESPERMINA-ESPERMINA OXIDASA Y SUS POSIBILIDADES QUIMIOTERAPEUTICAS.

G. Carvajal*, C. Vargas, C. Correa y Enedina J. de Carvajal**

Unidad de Investigación Biomédica. Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D. F.

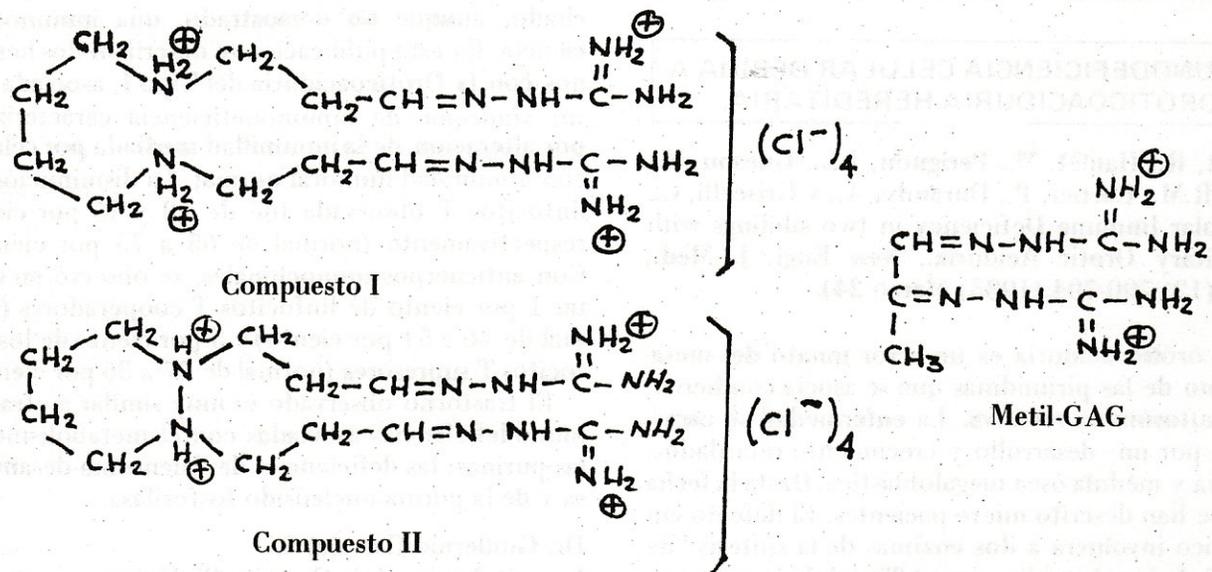
* Becario de la DEDICT-COFAA del IPN. **Dep. de Bioquímica. Esc. Nac. de Cienc. Biol. Ap. Post. 42186, México 16, D.F.

El dialdehído formado en la reacción catalizada por la espermina-oxidasa del suero bovino sobre la espermina, tienen propiedades antimicrobianas, antivirales, antifágicas, inmovilizante de los espermatozoides y antitumorales; pero es demasiado tóxico para su empleo "in vivo". Considerando que este compuesto dialdehídico puede deber su actividad biológica a la cercanía estérica de los grupos

carbonílicos y dado que la Metil Glioxal-bis-guanilhidrazona (MeGAG), tiene características análogas al dialheído, se transformó éste en la bis-guanilhidrazona correspondiente (Compuesto I). Con el fin de tener el compuesto en una conformación más restringida y poder apoyar el que la actividad biológica depende de la cercanía de los grupos carbonilo,

se sintetizó también el N¹, N² - Bis [(2-formil) 1-etilén] -piperidazina como bis-guanilhidrazona (Compuesto II) para hacer los estudios biológicos correspondientes, en la leucemia murina.

En esta comunicación preliminar se informará de los resultados obtenidos hasta el momento.



INTERACCION DEL DNA CON POLIAMINAS.

I. Baeza R.*, Departamento de Bioquímica, ENCB-IPN.

Se han descrito algunos métodos para lograr *in vitro* la conversión de la forma molecular alargada del DNA a una forma molecular compacta. Uno de ellos, estudiado por Gosulle y Shellman, emplea las poliaminas, espermina y espermidina, estas interaccionan en determinadas condiciones con una solución de DNA del bacteriófago T7, el cual por esta interacción se compacta a un volumen semejante al de la cabeza de dicho bacteriófago; según lo demostraron por dicroismo lineal y microscopía electrónica esos autores. En nuestro laboratorio hemos estudiado este tipo de complejos, empleando DNA de timo de ternera y modificando las concentraciones del DNA que usaron para formarlos Gosulle y Shellman, con el objeto de poder aplicar otras técnicas en el estudio de dichos complejos. Las técnicas que hemos usado para su estudio son: actividad de la DNasa I de páncreas, titulación con bromuro de etidio, determinación de $E(P)_{260nm}$, determinación de los espectros de absorción al ultravioleta, cromatografía en gel y electroforesis en placa vertical de gel de agarosa. Los métodos señalados reve-

lan diferencias muy claras entre las soluciones del DNA solo y las preparaciones en donde se ha hecho interaccionar el DNA con las poliaminas espermidina y espermina, respectivamente. La sensibilidad de estos complejos ante la DNasa I de páncreas, sus espectros de absorción, la titulación con bromuro de etidio y la cromatografía en gel, sugieren que en ellos el DNA se encuentra en una forma molecular compacta.

POLIAMINAS Y BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

O. Hernández-Pérez, Ballesteros-Negret L.M., Rosado-García A.

División de Bioquímica, Unidad de Investigación Biomédica, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D. F.

En el campo de la biología de la reproducción los cambios en el contenido de las poliaminas así como en la actividad de la ornitina descarboxilasa (ODC) y de la S-Adenosil Metionina descarboxilasa (SAM) se han relacionado con los cambios funcio-

*Becario de la DEDICT-COFAA del I.P.N.

nales inducidos en los tejidos blanco, por las hormonas sexuales. Por esta razón hemos estudiado la actividad de la ornitina descarboxilasa (ODC) así como el nivel de las poliaminas (cadaverina, putrescina, esperimidina y espermina) en el útero de la rata durante el ciclo estral. La actividad específica y por célula de la ODC aumenta dramáticamente de casi cero en el diestro I a 22 nmoles/mg DNA/hora en el diestro II y alcanza un valor máximo de 98 nmoles/mg DNA/hr en el proestro. Después la actividad enzimática disminuyó tan rápidamente como aumentó, de manera que es posible postular que la síntesis de esta enzima se detiene en algún momento del estro. El incremento en la actividad de ODC se acompaña por un aumento en los niveles de las poliaminas, la concentración de putrescina se triplica, mientras que las concentraciones de espermina y espermidina se duplican cuando el útero de la rata pasa de la fase diestro II a proestro. Hemos estudiado también la posible relación entre el patrón de polisomas del útero de la rata y los niveles tisulares de poliaminas.

DISEÑO SINTESIS Y ESTUDIO DE INHIBIDORES DE LA ORNITINA DESCARBOXILASA

Carlos Wong Ramírez* y Ricardo Yáñez Avila
Departamento de Bioquímica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

La ornitina descarboxilasa (ODC) es una enzima que participa en la biosíntesis de las poliaminas y se ha relacionado con el crecimiento y proliferación celular, ya que su actividad se incrementa notablemente antes de que el tejido entre en crecimiento (McCann 1980). Parece ser que se requiere una concentración alta de putrescina previa a la biosíntesis de DNA (McCann y col 1975), por lo que se ha sugerido que la inhibición de la ODC en enfermedades que se caracterizan por una alta proliferación celular, podría conducir a una disminución del crecimiento celular (Pegg y col. 1981).

Con esta idea se han sintetizado inhibidores de la ODC como la α -DL-metil-ornitina la cual inhibe competitivamente a la ODC de células de hepatoma de rata en cultivo, con una consecuente disminución en el crecimiento celular (Morris y col. 1977). Habiéndose obtenido resultados similares tanto "in vitro" como "in vivo" con la α -DL-difluorometil-ornitina un inhibidor irreversible de la ODC (Seiler y col. 1978).

De acuerdo con la teoría de los antimetabolitos

no-clásicos propuesta por Baker (Baker 1967), se diseñaron y sintetizaron el ácido 2-amino-5-yodoacetamido valérico y el ácido-2-amino-yodoacetamido hexanocio como posibles inhibidores de la ODC. En estos preliminares "in vitro" se ha encontrado que sí son capaces de inhibir a la ODC de hígado de rata.

INHIBICION DE LA BIOSINTESIS DE POLIAMINAS Y SU REPERCUSION METABOLICA.

José D. Méndez, División de Biología de la Reproducción, Unidad de Investigación Biomédica del Centro Médico Nacional, I.M.S.S.

En 1677, cuando Anton von Leeuwenhoek observó por primera vez al espermatozoide humano con su microscopio primitivo, descubrió también una sustancia cristalina en el plasma seminal; ahora sabemos que fue el fosfato de espermina, una sal de la primera poliamina conocida. Después de una larga sucesión de investigaciones se llegó a establecer su estructura así como la de una base relacionada, la espermidina, junto con las diaminas putrescina y cadaverina las cuales fueron descubiertas en cadáveres de animales en descomposición. Estas cuatro bases alifáticas constituyen los miembros principales de una familia ampliamente distribuida de productos naturales, las poliaminas. Las vías para la biosíntesis de estas moléculas han sido descubiertas en animales, plantas y microorganismos de modo que podemos decir que por lo menos algún miembro representativo está presente en todas las células eucariotes y procariotes. La putrescina se forma a partir de la ornitina en una reacción catalizada por la ornitina descarboxilasa (ODC). La espermidina y la espermina son sintetizadas a partir de la putrescina y la espermidina, respectivamente, por la transferencia de un residuo aminopropilo, de la S-adenosil-5-metil homocisteamina en reacciones catalizadas por las respectivas sintetasas. La cadaverina tiene propiedades similares y su síntesis es a partir de lisina. El interés en las poliaminas crece cada vez más debido a que parecen tener un papel esencial en el crecimiento, multiplicación y diferenciación celulares. Se han desarrollado varios inhibidores reversibles e irreversibles de las enzimas responsables de su síntesis; inhibición que puede llegar a tener aplicación antitumoral y antiparasitaria. Fozard y colaboradores han llevado a cabo estudios relacionados con la embriogénesis en varias especies de mamíferos usando difluorometilornitina. Nosotros hemos observado que se puede detener el embarazo por medio de la aplicación de este inhibidor por inyección intrauterina en la rata.

* Becario de la DEDICT-COFAA del I.P.N.

POLIAMINAS EN LA RESPUESTA DE HERIDA Y SENESCENCIA EN PLANTAS.

RUTH ROMAN PALACIOS, YOLANDA COCTLE Y CARLOS PEREZ BRIZUELA. Depto. de Bioquímica Vegetal, DEPg., Facultad de Química, UNAM 04510 México, D.F.

Los tejidos de plantas, como los tubérculos de *Solanum tuberosum* (papa), presentan una serie de cambios citológicos y bioquímicos cuando son heridos. Cuando este tipo de tejido se hiere a través de formar rebanadas (1x10 mm) y éstas son incubadas en un medio controlado de humedad, luz y temperatura, se presentan los cambios mencionados. Estos cambios traen como consecuencia el despertar del estado fisiológico de latencia de este tejido (primeras horas de incubación) manifestándose en un incremento metabólico activo con su correspondiente aumento de síntesis de proteína como uno de los cambios bioquímicos mientras que a nivel citológico las células parenquimáticas se transforman en células meristemáticas. Por otro lado, la incubación prolongada del tejido (2-5 días) manifiesta cambios bioquímicos tales como disminución del contenido y síntesis de proteína, además de la aparición de actividades enzimáticas degradativas, características que se han asociado a los procesos de senescencia. Sin embargo, la presencia de enzimas

hidrolíticas puede responder a los mecanismos de activación y desactivación de las proteínas que se alteran a partir del momento en que el tejido es herido.

Las poliaminas se han visto involucradas en una serie de eventos celulares, tales como el de estimular el crecimiento y desarrollo o bien retardar la senescencia en plantas, siendo la participación de las poliaminas en estos eventos a nivel molecular aun muy controvertido. A nivel molecular se han visto que afectan estimulando varios pasos en el mecanismo de síntesis de proteínas como el complejo ternario de iniciación en trigo, y en elongación. Parece importante no sólo localizar el nivel de acción molecular de la poliamina, sino relacionarlo con un sistema o estado fisiológico en particular. Por lo anterior resulta atractivo el estudio de su posible participación en un sistema como el que describo, ya que podría ayudar a entender su posible papel en el crecimiento de tejidos vegetales o despertar de latencia (1ras. horas de incubación), así como su influencia sobre parámetros bioquímicos tardíos (horas muy prolongadas de incubación) en donde su participación sea reflejo de una temprana (envejecimiento) o tardía senescencia.

En el presente momento nuestro grupo está estudiando la participación de las poliaminas en relación a síntesis *in vitro* e *in vivo* de tejidos de papa frescos y heridos, así como los niveles de ellas a lo largo de la respuesta de herida.

EL RINCON DEL TALLER

CAMBIO DE FECHAS

Debido a la huelga vivida recientemente en la U.N.A.M., todas las labores administrativas y académicas sufrieron un atraso. La realización del X Taller de Actualización Bioquímica no ha sido una excepción. Les suplicamos tomen nota del cambio de fechas. El Taller se llevará a cabo en la Escuela de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, durante los días 30 de octubre al 4 de noviembre del presente año. La cuota de inscripción es de \$1000.00 m.n.

El curso teórico-práctico sobre Receptores Membranales, impartido por los Dres. Jaime Flores del CINVESTAV, I.P.N., y Jesús Manuel Rodríguez de la Universidad Autónoma de S.L.P., se llevará a cabo del 7 al 11 de noviembre. El cupo máximo

para este curso es de 10 participantes y se están tramitando las becas correspondientes ante la S.E.P. Las personas interesadas en participar, hagan el favor de ponerse en contacto con quien suscribe.

Recordamos que habrá una sesión de carteles sobre investigación docente durante el Taller. La fecha límite para la recepción de resúmenes que deseen presentar durante dicha sesión es el 15 de octubre y deben ser enviados al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, U.N.A.M. Los ponentes deben llevar todo el material necesario para su exposición.

Yolanda Saldaña de Delgado
Depto. de Bioquímica,
Facultad de Medicina, U.N.A.M.

INDICES DE REVISTAS

Established 1845

**SCIENTIFIC
AMERICAN**

March 1983 Volume 248 Number 3

ARTICLES

- 28 **THE LAW OF THE SEA**, by Elisabeth Mann Borgese
In December 119 nations signed a convention for a new international order of the oceans.
- 36 **MICROPROGRAMMING**, by David A. Patterson
Most computers are controlled not by "hard-wired" circuitry but by a stored microprogram.
- 44 **THE SCRIPT OF THE INDUS VALLEY CIVILIZATION**, by Walter A. Fairservis, Jr.
One of the four earliest civilizations has a script that is only now beginning to be deciphered.
- 60 **MITOCHONDRIAL DNA**, by Leslie A. Grivell
The organelle has its own genetic system, different from all others, and even its own genetic code.
- 74 **THE FUTURE OF THE UNIVERSE**, by Duane A. Dicus, John R. Letaw, Doris C. Teplitz and Vigdor L. Teplitz A cosmological forecast of events through the year 10¹⁰⁰.
- 86 **MEMORY IN FOOD-HOARDING BIRDS**, by Sara J. Shettleworth
One species remembers where it has put thousands of seeds for as long as several months.
- 96 **OSCILLATING CHEMICAL REACTIONS**, by Irving R. Epstein, Kenneth Kustin, Patrick De Kepper and Miklós Orbán In them the concentrations of reactants rise and fall.
- 110 **AUTOPSY**, by Stephen A. Geller
The procedure is profoundly informative, but it is now done in only 15 percent of the deaths.

Established 1845

**SCIENTIFIC
AMERICAN**

April 1983 Volume 248 Number 4

ARTICLES

- 29 **A NUCLEAR-WEAPON-FREE ZONE IN EUROPE**, by Barry M. Blechman and Mark R. Moore It could reduce the chance that battlefield uncertainties could lead to doomsday.
- 36 **SILICON MICROMECHANICAL DEVICES**, by James B. Angell, Stephen C. Terry and Phillip W. Barth Small machines can be built much as microelectronic circuits are.
- 48 **THE STRUCTURE OF QUARKS AND LEPTONS**, by Haim Harari
They have been considered elementary particles, but they may consist of still smaller entities.
- 70 **HOT SPRINGS ON THE OCEAN FLOOR**, by John M. Edmond and Karen Von Damm
The waters vented at sea-floor spreading centers deposit metal ores and sustain life without light.
- 86 **A WINDOW ON THE SLEEPING BRAIN**, by Adrian R. Morrison
REM (rapid eye movement) sleep is opened to study by eliminating its associated paralysis.
- 96 **EARLY FARMERS OF THE NORTH EUROPEAN PLAIN**, by Peter Bogucki and Ryszard Grygiel Excavations illuminate the transition from the Paleolithic to the Neolithic.
- 106 **CHEMICAL SIGNALS OF SOCIAL AMOEBAE**, by John Tyler Bonner
Two amoebae of the soil maintain their identity by emitting and responding to different chemicals.
- 114 **INTUITIVE PHYSICS**, by Michael McCloskey
Newton's laws are well known, but tests show many people think moving objects act otherwise.

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la bioquímica y en áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes, no especializados, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea simple explícita y didáctica. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Solicitamos a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial.

I. ARTICULOS DE REVISION

- 1) El manuscrito no debe exceder de 12 cuartillas escritas a máquina a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón).
- 2) Se aceptarán como máximo 6 figuras o tablas. La limitación en el número de figuras, tablas y referencias obliga a los autores a que seleccionen aquellas realmente importantes e informativas. Numere las figuras con números arábigos y las tablas con números romanos. Adicione las leyendas y pies de figuras en una hoja aparte. Considere que las figuras y tablas serán reducidas de tamaño, aproximadamente a 1/2 o 1/4 de la hoja carta, las letras o números más pequeños, una vez hecha la reducción no deben ser menores a los 2 mm.
- 3) Sugerimos un máximo de 10 referencias tanto específicas como lecturas recomendadas. Cada referencia debe contener: nombre(s) del autor(es), año entre paréntesis, título del artículo, nombre de la revista, volumen a cursiva y el número de la primera y última páginas. Ejemplos:
 - a) Miller, C.O. (1982). Cytokinin Modification of Mitochondrial Function. *Plan Physiol.* 69, 1274-1277.
 - b) Larkins, B.A., Pearlmutter, N.L. y Hurkman, W.J. (1979). The mechanism of zein synthesis

and deposition in protein bodies of maize endosperm. En *The Plant Seed. Development, Preservation, and Germination*. Editores: Rubenstein, I., Phillips, R.L., Green, C.E. y Gengenbach, B.G. Academic Press. New York. pp. 49-55.

- 4) Evite hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes utilizadas en el texto deberán, enlistarse en la primera página.

II. OTRAS COMUNICACIONES

- 1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, bolsa de trabajo, etc.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera muy explícita.
- 3) El manuscrito debe ser de una a cuatro cuartillas de longitud, escritas en máquina a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por línea).
- 4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto. En casos en que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o tabla.

Los manuscritos serán leídos por dos revisores, uno de ellos familiarizado con el tema y el otro ajeno al mismo. Las correcciones y sugerencias se comunicarán al primer autor.

Envíe el original y dos copias de los manuscritos a la Dra. Yolanda Saldaña de Delgadillo. Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, Apdo. Postal 70-159, Delegación Coyoacán, 04510 México, D.F., o al Dr. Alberto Hamabata, Depto. de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apdo. Postal 14-740, 07000 México, D.F. o bien a través del corresponsal BEB.