



RASC

Real Academia
Sevillana de Ciencias

Fotosíntesis, microalgas, biocombustibles discurso pronunciado por el

Ilmo. Sr. D.

Miguel García Guerrero

en el acto de recepción como académico numerario
el día 1 de abril de 2008

y

contestación del académico numerario

Excmo. Sr. D.

Enrique Cerdá Olmedo

FOTOSÍNTESIS, MICROALGAS, BIOCOMBUSTIBLES

*Discurso pronunciado por el
Ilmo. Sr. D. Miguel García Guerrero,
en el Acto de su recepción como Académico Numerario
celebrado el 1 de abril de 2008.*

Excelentísimo Señor Presidente de la Real Academia Sevillana de Ciencias, Dignísimas Autoridades, Excelentísimos Señores Académicos, Señoras y Señores:

Mis primeras palabras han de ser de reconocimiento y gratitud. Agradecimiento a esta Real Academia por el alto honor conferido al nombrarme miembro de la misma y, en especial, a los Excelentísimos Señores Académicos que me honraron al presentar mi candidatura y a aquellos que la apoyaron. Mi agradecimiento también a todos los que, de una u otra manera, han contribuido a que yo esté aquí hoy.

A la hora de reconocer estas contribuciones surgen muchas personas a las que debo gratitud por su positiva influencia sobre mis inclinaciones, educación, formación y desarrollo, tanto personal como profesional. Mis padres sacrificaron mucho para facilitarnos a mí y a mis hermanos la mejor formación disponible, siendo su casa la primera y mejor escuela de abnegación, trabajo y amor. De ellos recibí valores inestimables que me han acompañado a lo largo de mi vida y ayudado a avanzar en mi trayectoria profesional. En comparable amplitud me he beneficiado asimismo de los valores, firme apoyo y comprensión de Maribel, mi mujer, y de mis hijos Miguel, Carlos y David, quienes han soportado las múltiples inconveniencias de mi apuesta científica y académica, contribuyendo a su progresión.

Entre los Académicos de esta Ilustre Corporación se encuentran algunos de los más prestigiosos catedráticos que encontré en mi Licenciatura, los Profesores Cerdá Olmedo, García Novo, Losada Villasante y Valdés Castrillón, este último actual Presidente de la Academia. Agradezco a todos ellos el papel que tuvieron en mi formación. Una mención especial al Profesor Enrique Cerdá por contestar a este Discurso de ingreso, privilegio que reconozco en lo que vale. Del Académico Cerdá recibí brillantes clases de Genética y de una novedosa asignatura, absolutamente fascinante, que inventó el curso 1969/70 y denominó Biología Molecular. Me constan sobradamente las virtudes del Enrique Cerdá científico y docente, pero en lugar de emitir mi propio juicio, prefiero contarles la valoración que tuve oportunidad de escuchar en Berlín de labios del Nobel Max Delbrück, hace ya algunos años. Decía Delbrück: "Enrique es uno de los dos mejores investigadores que han pasado nunca por mi laboratorio. El otro es James Watson. Y como docente, Cerdá es mucho mejor que Watson". Como les decía, un privilegio.

Me honro en ser discípulo del Académico Manuel Losada, a quien debo un particular agradecimiento por todo lo que de él he recibido e incorporado a mi bagaje académico y personal, si bien siempre insuficiente para aproximarme a la talla del maestro. Siendo estudiante, el Profesor Losada me descubrió la forma de ver y analizar los procesos biológicos, la vida, desde el nivel de las moléculas y de la energética celular. Él me enseñó a apreciar la importancia de la luz como fuente de vida y la maravillosa singularidad del proceso fotosintético, aportando la visión de quien había participado activamente en su esclarecimiento. Desde ese momento supe lo que quería hacer: investigar sobre esas cosas con ese señor. Y eso hice a lo largo de muchos años de estrecha y fructífera colaboración. Avanzando científicamente en el laboratorio, a base de controles, repeticiones, comparaciones, todavía no, démosle la vuelta, ¿y si?, más controles, ¿y si no?, más repeticiones, ahora sí. Aprendiendo cómo escribir artículos científicos, cómo redactar proyectos, cómo conseguir recursos, cómo gestionar, hasta llegar a alcanzar cierto nivel en esas actividades esenciales para poder hacer ciencia o posibilitar que otros la hagan. Aprendiendo también a enseñar para que el efecto primario perseguido, que a veces se olvida –el de formar al alumno– se cumpla. Y aún sigo aprendiendo de mi maestro cada vez que tengo la fortuna de gozar de su compañía.

Muchas son las deudas que el sistema científico español tiene contraídas con Losada. Entre ellas se encuentra el reconocimiento de su papel en la creación de la figura de los Centros Mixtos entre el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y la Universidad. A su visión y decidida implicación personal se debe la creación en 1967 del embrión del actual Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis de la Universidad de Sevilla y el CSIC, modelo de productiva simbiosis entre Instituciones al que me enorgullezco de pertenecer.

El sistema científico español es deudor también de otro ilustre miembro de esta Corporación, el Académico de Honor Julio Rodríguez Villanueva, homólogo para la Microbiología española de lo que Losada representa para la Bioquímica y Biología Vegetal, y pionero también en la creación, paralela en el tiempo, de otro Centro Mixto, el Instituto de Microbiología Bioquímica de la Universidad de Salamanca y el CSIC. Al Profesor Rodríguez Villanueva, a quien también quiero honrar aquí hoy, le agradezco su especial consideración para cianobacterias y microalgas por tratarlos como miembros de pleno derecho del mundo microbiano, lo que, créanme, no es nada frecuente entre microbiólogos, incluyendo a los más jóvenes. Tengo a Don Julio en gran estima y valoro especialmente la consideración con que siempre me ha distinguido, en lo personal y en lo científico, contando conmigo y con mis microorganismos fotosintéticos para cursos, congresos y simposios. Considero muy relevante, por otra parte, el impulso al progreso de la investigación española que proporciona desde la Fundación Ramón Areces, donde desempeña una constante y destacable actividad de apoyo a la ciencia.

Otros investigadores con marcada influencia en mis comienzos y trayectoria científica son el Profesor Antonio Paneque Guerrero, de quien recibí, con el más delicado trato y exquisita cortesía imaginables, una sólida y valiosa formación experimental, esencial para un aspirante a bioquímico. El Profesor José María Vega Piqueres fue Codirector de mi Tesis Doctoral, pero más que eso, supuso el compañero y amigo dedicado y gene-

roso que aportó su experiencia y esfuerzo personal a mi trabajo de Tesis, experimento a experimento. De la amistad y desprendimiento de Paneque y Vega he continuado beneficiándome ampliamente, habiendo sido siempre extraordinariamente grato colaborar con ellos en trabajos y proyectos.

Algunos científicos con impacto decisivo en mi formación han fallecido ya. Para ellos, un sentido reconocimiento y recuerdo. La Profesora Birgit Vennesland –noruega de nacimiento, norteamericana de nacionalidad y ciudadana del mundo– me acogió con gran calidez y consideración en su Instituto Max Planck de Berlín, apoyando decididamente mis primeras incursiones autónomas en investigación, para cuya elección me concedió total libertad. Ella, que había contribuido decisivamente a desvelar la estereoespecificidad de acción de las enzimas y de la biología en general, me reveló el misterio de cómo las macromoléculas biológicas distinguen entre dos grupos enantiotópicos unidos a un carbono pro-quiral, químicamente idénticos. En Birgit Vennesland se aunaban un inmenso amor por la ciencia y una gran pasión por la música y el arte, con efectos contagiosos sobre los que disfrutamos de su cercanía. Para Vennesland, lo mejor que puede hacer un ser humano es tratar de aumentar la comprensión de la realidad total –el todo– que nos rodea. Decía Albert Einstein que “la más bella experiencia que se puede tener es el misterio, la emoción fundamental que está en la cuna del verdadero arte y de la verdadera ciencia. Quienquiera que no lo conozca y que no pueda sorprenderse ni maravillarse es como si estuviera muerto”. Vennesland precisaba que el científico no es un creador *sensu stricto* como es el artista, pero que, sin embargo, existe arte en el trabajo del buen científico. Y el momento en que prima el arte es aquel de elaboración de la teoría y diseño de la correspondiente aproximación experimental. El arte de interrogar adecuadamente a la naturaleza, al sistema, planteando la pregunta idónea. Y la emoción llega cuando consigues la respuesta. El escalofrío es la señal, decía Vennesland, que revela que tienes la respuesta correcta. Incansable luchadora en momentos en que el ejercicio de la ciencia era bastante difícil para una mujer, llenó de humanidad una importantísima trayectoria investigadora.

Con el Profesor David O. Hall –sudafricano de nacimiento, británico de adopción y también ciudadano del mundo– tuve la oportunidad de conocer la realidad de los países en vías de desarrollo, el tercer mundo, tan distinta de la imagen que se alcanza a través de terceros. Organizaba y dirigía un equipo internacional diverso, de científicos algo chiflados, que desarrollábamos cursos itinerantes sobre “Productividad Vegetal y Fotosíntesis” en uno y otro continente, cursos teórico-prácticos de calidad y altura en condiciones precarias, a veces duras, para los que David conseguía financiación de debajo de las piedras. Nunca he tenido alumnos tan interesados, diligentes, trabajadores como aquellos; nunca la docencia me recompensó tanto. De Hall aprendí a organizar con pocos medios y a contemplar la fotosíntesis y la energía en términos globales. A su lado pude constatar que la biomasa vegetal es el combustible esencial, único, para muchos millones de seres humanos, así como que el tratamiento de los residuos en un artesanal digestor anaeróbico puede proporcionar luz y calor a una familia, o a todo un poblado. Con David Hall, allí, donde a duras penas viven los parias de la Tierra, me convencí de que para ayudar efectivamente al desarrollo de los países

pobres, la enseñanza, la formación, la educación, es con seguridad la mejor vía, la de mayor alcance.

Como pueden ver, he sido inmensamente agraciado en mis relaciones con eminentes científicos y grandes personas, sintiéndome muy afortunado por ello, así como por mantener la capacidad de apasionarme, enamorarme, conservar la curiosidad, la ilusión por investigar, por desvelar, por conocer, por transmitir.

La suerte de disfrutar de inmejorable compañía se manifestó también en mi etapa más intensa de dedicación a la gestión de la ciencia –entre 1996 y 2001– en que, compartiendo cargo de Vicepresidente con el Profesor Emilio Lora-Tamayo, formamos parte del equipo directivo del CSIC que presidió el Profesor César Nombela. Emilio y César son grandes investigadores y profesores universitarios, de cuya amistad me enorgullezco, y con los que compartí en el Consejo momentos de gran ilusión, entrega e intenso, a la vez que delicado, trabajo. Estoy honestamente convencido de que la visión, compromiso y esfuerzo del Presidente Nombela sirvieron para consolidar la Institución, mejorar su percepción, el papel de los científicos y el de la ciencia en general por parte de la sociedad, así como para extender la implantación del Consejo a todo el territorio español, acudiendo en muchos casos a la figura del Centro Mixto. Colaborar con César Nombela y Emilio Lora-Tamayo para alcanzar esos objetivos fue otra apasionada y gratificante experiencia.

Quiero, en fin, dar las gracias a todos aquellos con los que, de una u otra forma, comparto día tras día esas tareas apasionantes de hacer, transmitir y gestionar ciencia. De y con mis estudiantes y compañeros de grupo, laboratorio, Instituto, Centro, Departamento, Facultad, así como colegas de otras Instituciones, sigo aprendiendo y tomando fuerzas. Del importante y valioso conjunto humano al que me refiero, y ante quienes me excuso por no identificar como debiera, uno a uno, mencionaré sólo un nombre: Joaquín Rivas Florido, compañero a lo largo de tantos años de carrera, doctorado y equipo de investigación, que se nos fue hace ahora algo más de un año, y a quien hoy, aquí, no puedo dejar de recordar especialmente.

1. INTRODUCCIÓN

He titulado este discurso “Fotosíntesis, Microalgas, Biocombustibles”, aludiendo a un proceso, unos organismos y unos productos que, en mayor o menor medida, vienen ocupando un lugar preferente en mis realizaciones, consideraciones y elucubraciones.

En relación a la fotosíntesis, es esencial en primera instancia constatar que, en sus más variadas facetas, la vida en la Tierra depende de la energía radiante proveniente del Sol. La luz solar ilumina nuestro planeta y sustenta el crecimiento del plancton y de los prados, bosques, selvas y cultivos agrícolas, que a su vez suministran alimento a las demás formas de vida, incluyendo la especie humana. A través de la biomasa fotosintetizada, el hombre se surte también de madera combustible, así como de una variedad de materias primas. La propia biomasa generada en épocas remotas, también a expensas de la energía solar, tras sufrir largas y complejas alteraciones biofísicoquímicas, ha sido la

fuelle primaria de los tan codiciados combustibles fósiles sobre los que la civilización moderna ha basado su explosivo progreso y desarrollo (Guerrero y Losada, 1983).

Los organismos fotosintéticos –representados básicamente por cianobacterias, algas y plantas superiores– poseen la capacidad de captar la energía de la luz solar, de transformarla y almacenar una fracción significativa de ella en forma de energía química. Mediante la fotosíntesis, a expensas de la energía solar, las plantas sintetizan productos orgánicos y oxígeno a partir de sustratos inorgánicos oxidados. De este fundamental proceso de bioconversión de energía solar depende la existencia y continuidad de la vida en nuestro planeta (Arnon, 1992; Lara et al. 1986).

Hasta el advenimiento de la llamada “era de los combustibles fósiles”, en que nos encontramos, la humanidad satisfizo sus requerimientos, tanto de alimentos como de materiales y energía, con los productos de la fotosíntesis inmediata y contemporánea. Luego, comenzó a utilizar, además, masivamente, las reservas acumuladas de la fotosíntesis remota –carbón, en una primera fase, y petróleo y gas natural, posteriormente– no sólo como combustibles, sino también para la fabricación de compuestos químicos, fibras y otros materiales sintéticos. Con estos esquemas imperantes, de un desarrollo claramente insostenible, el exacerbado consumo energético basado en combustibles fósiles ha dado lugar a una sustancial reducción de las reservas y a un marcado deterioro del medio ambiente, factores que hipotecan el futuro de las generaciones venideras.

En el inevitable cambio de paradigma en que estamos inmersos, hacia un desarrollo sostenible, las energías renovables como la solar están llamadas a desempeñar un papel cada vez más relevante en el balance energético global. La biomasa vegetal y los bio-combustibles líquidos y gaseosos, productos más o menos directos de la fotosíntesis, deben cubrir una cuota sustancial, ciertamente superior a la actual. La energía que fija el reino vegetal en su conjunto a través de la fotosíntesis es unas diez veces superior al actual consumo energético, lo que certifica el potencial de la conversión biológica de la energía solar a efectos de contribuir decisivamente a cubrir la siempre creciente demanda de energía primaria. Ha de tenerse en cuenta, además, que la generación fotosintética de biomasa emplea dióxido de carbono como uno de sus principales sustratos, siendo de hecho la fotosíntesis el único proceso acreditado, además de operativo a gran escala, capaz de retirar CO₂ de la atmósfera y fijarlo, transformándolo en materia orgánica rica en energía.

Los combustibles de carácter renovable, elaborados a partir de materias primas vegetales, sobre los que se centra la atención actual, son de naturaleza líquida, pudiendo utilizarse como carburantes para motores de combustión interna, fundamentalmente los denominados bioetanol y biodiésel. Las materias primas utilizadas para su producción lo son también de alimentos básicos, lo que introduce un contencioso con posible incidencia sobre los precios de los cereales, el azúcar y los aceites.

Junto a las plantas y cultivos terrestres, cianobacterias y microalgas presentan un considerable potencial para su aprovechamiento, al conjuntar propiedades típicas de plantas superiores con atributos biotecnológicos propios de células microbianas: una particular combinación que sustenta su empleo con fines aplicados. La adecuada utilización de estos microorganismos fotosintéticos en una variedad de procesos, así como

para la generación de compuestos de interés, representa la base de la “Biotecnología de microalgas”. Actualmente, se registra un marcado interés en aprovechar eficazmente las capacidades de las microalgas, tanto a efectos de secuestrar parte del dióxido de carbono acumulado, como para generar biocombustibles.

Pretendo en este discurso revisar algunos de los conceptos que he esbozado, analizando facetas específicas de los mismos que me suscitan especial interés, principalmente de aquéllas en las que he tenido una implicación personal y directa a lo largo de mi quehacer académico, tanto investigador como docente, así como de otras que representan preocupaciones de índole social, ética o económica, estrechamente vinculadas con el progreso y calidad de vida de nuestras sociedades y de la Humanidad en general.

2. LA FOTOSÍNTESIS

En palabras del Profesor Arnon (1992), la más importante actividad bioquímica que tiene lugar en el Planeta, la fotosíntesis, es el *punte* que conduce *de la luz a la vida*. Un puente que une el mundo físico con el mundo orgánico, que conecta el mundo de la materia inorgánica con la fina película de vida que cubre gran parte de la superficie terrestre y puebla las aguas con una inmensa variedad de organismos. Las partículas de luz (los fotones), que fluyen continuamente desde el Sol y envuelven la Tierra, alimentan el motor de la vida. Estas partículas de energía radiante, de naturaleza electromagnética, tienen su origen en reacciones termonucleares de fusión, que acontecen en el interior de nuestro Sol. Cuatro núcleos de hidrógeno se combinan para formar un núcleo de helio, lo que supone una diminuta pérdida de masa pero conlleva la liberación de una ingente cantidad de energía, de la que una mínima parte alcanza nuestro planeta. Una fracción aún más diminuta es convertida por la fotosíntesis en energía química, que es a su vez utilizada por los demás seres vivos. En último término, la energía nuclear, a través de la luz solar, propulsa y mantiene la vida sobre la Tierra.

La práctica totalidad de los organismos vivos depende de la energía solar, aunque la mayoría sólo podemos beneficiarnos de ella tras su captura por fotosíntesis, el maravilloso proceso emblemático de las células verdes fototrofas. Gracias a la fotosíntesis, estos privilegiados organismos transforman, a expensas de la energía solar, sustratos inorgánicos desprovistos de potencial químico útil –a saber, agua, dióxido de carbono, nitrato o dinitrógeno, sulfato y fosfato– en productos orgánicos ricos en energía –principalmente carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos–, así como oxígeno molecular. Los organismos quimiotrofos dependemos de la energía química contenida en los compuestos orgánicos sintetizados por los fototrofos, que conseguimos al alimentarnos, bien directamente con productos vegetales o de organismos que a su vez emplean plantas como sustento. El oxígeno generado en la fotosíntesis oxigénica, que llevan a cabo cianobacterias, algas y plantas, es esencial para los organismos aeróbicos, actuando como aceptor final de electrones en la respiración, siendo asimismo clave para cualquier proceso de combustión. La acumulación de oxígeno de origen fotosintético en la atmósfera, al absorber la radiación ultravioleta, ha generado una capa de ozono en

la estratosfera, protegiendo a la Tierra de las perjudiciales radiaciones solares de corta longitud de onda. Así pues, todas las criaturas vivas hemos llegado a ser dependientes de la fotosíntesis como proceso clave para proveer alimento, aire oxigenado y protección frente a radiación destructiva.

2.1. El proceso fotosintético

En la fotosíntesis de tipo anoxigénico, típica de bacterias verdes y purpúreas y a la que ya no se aludirá posteriormente, se fotooxidan donadores de electrones no oxigenados, transcurriendo sin desprendimiento de oxígeno molecular. En la fotosíntesis oxigénica, el donador de electrones que se fotooxida en el proceso es el agua. Las cianobacterias, algas y plantas superiores son, pues, organismos privilegiados, únicos, por estar dotados de la capacidad de fotoescindir el agua en hidrógeno y oxígeno. Dado que la vida en nuestro planeta depende de esta –aparentemente muy sencilla– reacción fotoquímica redox, promovida por el pigmento verde clorofila, la lisis del agua a expensas de la energía de la luz merece ser considerada como la reacción más simple y primordial de la bioenergética (Guerrero y Losada 1993; Lara et al. 1986).

Los aspectos esenciales de la fotólisis del agua, tanto a nivel estructural como funcional, se han estudiado exhaustivamente en los últimos años y se conocen ya con bastante precisión (Amunts et al. 2007; Barber 2006; De la Rosa et al. 1993; Kern y Renger 2007; Nelson y Ben-Shem 2004; Nelson y Yocum 2006). Sin entrar en su análisis pormenorizado, ha de mencionarse que es en las membranas de los tilacoides donde se encuentran estrechamente asociados las proteínas y los pigmentos fotosintéticos esenciales para el proceso. Estos complejos clorofila-proteína son fundamentalmente tres: el denominado “complejo colector de luz” en el que se integra la mayoría de las clorofilas antena junto a carotenoides y otros pigmentos accesorios, así como los fotosistemas I y II, donde tienen lugar los actos estrictamente fotoquímicos. El complejo colector de luz se asocia preferentemente al fotosistema II, al cual se vincula también el denominado complejo fotooxidante del agua. Los fotosistemas I y II se conectan funcionalmente entre sí mediante una serie de transportadores de electrones y por el complejo de citocromos b_6f , asimismo embebido en las membranas tilacoidales. La absorción de un fotón por el fotosistema I promueve la excitación de un electrón de su centro de reacción P700 y su transferencia hasta la proteína aceptora ferredoxina, a través de una serie de centros sulfoferricos que forman parte del propio fotosistema. El déficit de electrones así creado se equilibra mediante el aporte de electrones desde el fotosistema II, siguiendo la correspondiente fotoexcitación de su centro de reacción, P680. Gracias a la intervención del complejo de citocromos b_6f , que se reduce por las quinonas de la membrana y se oxida por la plastocianina libre en el interior del tilacoide, los electrones pueden fluir con rapidez desde el fotosistema II al fotosistema I. Finalmente, el agua, que libera oxígeno al oxidarse en el correspondiente complejo asociado al fotosistema II, suministra los electrones necesarios para enjugar el déficit de este fotosistema. El efecto global es la reducción de la ferredoxina

con electrones procedentes del agua, superando una diferencia de potencial mayor de 1 V.

Estrechamente acoplada al flujo fotosintético de electrones se encuentra la síntesis de adenosín-trifosfato o ATP, la divisa energética de la célula, a partir de adenosín-difosfato (ADP) y ortofosfato (Pi) que, al estar igualmente impulsada por la luz, se denomina fotofosforilación o fosforilación fotosintética. Se distinguen dos tipos de fotofosforilación, una cíclica acoplada al flujo de electrones alrededor del fotosistema I, y otra no cíclica, asociada al transporte de electrones desde el agua a la ferredoxina, con intervención de los dos fotosistemas. En la conversión de la energía redox en energía química contenida en el ATP participa como intermediario la energía ácido-base, correspondiente al gradiente de protones (potencial electroquímico) que, vinculado al transporte electrónico, se establece entre uno y otro lado de la membrana. El complejo proteico ATP sintetasa lleva a cabo el acoplamiento y conversión de energía ácido-base en energía química, que queda contenida en la molécula de ATP.

En síntesis, la energía luminosa se transduce en energía de oxidación-reducción, convirtiéndose una parte de ella en energía ácido-base y finalmente en energía química de enlace. Esto es, los fotones energizan a los electrones, los electrones energizan a su vez a los protones, y los protones energizan la molécula de ortofosfato a metafosfato (Losada et al. 1990).

Los productos iniciales de la fotosíntesis oxigénica son, por tanto, poder reductor (ferredoxina reducida) y energía química (ATP), conjunto que Arnon ha denominado poder asimilatorio. Ahora bien, la fotosíntesis no termina normalmente aquí, con fotólisis del agua, activación de sus electrones al nivel del electrodo de hidrógeno y conversión de ortofosfato en metafosfato. De hecho, en una etapa subsiguiente de la fotosíntesis se transfieren los correspondientes equivalentes de reducción a los elementos biogénicos primordiales –carbono, nitrógeno y azufre–, cuyas formas oxidadas captadas del medio circundante se reducen para ser asimiladas, aportándose además, cuando así se requiere, energía adicional en forma de ATP. Así, finalmente, una parte de la energía luminosa queda contenida y almacenada como energía química en los compuestos orgánicos que componen el material celular (Lara et al. 1986; De la Rosa et al. 1993).

Mucho he oído relatar con gran entusiasmo a mi maestro, el profesor Manuel Losada, sobre su participación personal en el esclarecimiento de aspectos básicos de la fotosíntesis, al inicio de los sesenta en el laboratorio del Profesor Arnon en la Universidad de Berkeley, contribuyendo en un momento realmente especial al establecimiento del concepto de fotólisis del agua y a la clarificación de la ruta de los electrones en fotosíntesis. No cabe duda que su interesante y productiva experiencia investigadora en tan importante proceso determinó en gran medida la elección de su principal temática de investigación –la asimilación fotosintética del nitrógeno– a su regreso a España, que trasladó de Madrid a Sevilla cuando, en 1967, se incorporó a la Universidad Hispalense. Dicha temática ha tenido una consideración prioritaria en el inicial Departamento de Bioquímica de Sevilla, de la Universidad y el CSIC, y en el subsiguiente Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis.

Es importante resaltar que las células y tejidos fotosintéticos de plantas superiores contienen aproximadamente 50% de carbono y hasta 10% de nitrógeno, procedentes respectivamente de la asimilación de CO_2 y de especies nitrogenadas inorgánicas con distinto grado de oxidación. Entre ellas, el nitrato constituye la fuente primordial, si bien algunas cianobacterias diazotróficas pueden utilizar N_2 atmosférico, como así lo hacen también determinadas plantas en asociación simbiótica con microorganismos fijadores. Si bien la conversión de un átomo de carbono del CO_2 al correspondiente de carbohidrato requiere 4 electrones, la asimilación de un átomo de nitrógeno del nitrato al nivel de nitrógeno amínico de aminoácido requiere 10 electrones. Esto significa que, en la asimilación fotosintética de los principales bioelementos, la proporción de poder reductor que va al nitrógeno puede representar tanto como la mitad de la que va al carbono (Guerrero et al. 1981). Aún así, muchos autores han ignorado esta realidad, polarizando la visión de la actividad fotosintética a la fijación de dióxido de carbono, llegando a identificar dicha asimilación con el proceso fotosintético global. Ciertamente esta interpretación restrictiva e incompleta de la fotosíntesis se va reemplazando por aquella que considera la asimilación, impulsada por la luz, de todos los bioelementos (C, N, S, P), siendo la del nitrógeno, como ya se ha mencionado, la segunda más importante en términos cuantitativos.

La asimilación del nitrógeno, tanto en microorganismos heterótrofos como, muy especialmente, en organismos fotosintéticos, ha constituido para mí una trascendental línea de actividad investigadora a la que he dedicado intensos esfuerzos, recompensados por modestas, si bien a veces originales aportaciones al conocimiento de tan fundamental aspecto de la fotosíntesis. Así, junto a la caracterización de las moléculas implicadas en catalizar la reducción de nitrato hasta amonio –las enzimas nitrato reductasa y nitrito reductasa– en diversas células y tejidos fotosintéticos, también las reacciones iniciales en la incorporación de amonio a esqueletos carbonados para generar aminoácidos han sido objeto de mi atención.

Para estas investigaciones empleamos una diversidad de organismos, siendo en el caso de las cianobacterias donde mejor identifiqué haber contribuido a la disección de las diferentes etapas de la asimilación de nitrógeno, persiguiendo una visión pormenorizada e integrada de las mismas. Desde el transporte del nitrógeno nítrico al interior celular hasta su conversión en nitrógeno amínico de glutamato, junto a la verificación de la naturaleza fotosintética del proceso conjunto (Flores et al. 1983a, b; Guerrero y Lara 1987; Madueño et al. 1988; Omata et al. 1997). Siempre me han suscitado especial curiosidad los mecanismos de los que se vale la célula viva para regular y controlar selectiva y delicadamente la miríada de reacciones que componen su metabolismo, adecuando el progreso de las diferentes rutas metabólicas a las condiciones nutricionales y medioambientales imperantes en su entorno. La aproximación a este desafío en el caso de la asimilación fotosintética de nitrato en cianobacterias ha supuesto una apasionante experiencia investigadora, que recompensa sobradamente los esfuerzos que muchos hemos aplicado para acercarnos a su conocimiento, aunque algunos de sus detalles permanezcan aún por precisar.

Entre las diferentes formas en que se manifiesta la regulación de la asimilación fotosintética del nitrógeno, la de su conexión con el metabolismo asimilatorio del carbono me resulta especialmente fascinante. Así, la asimilación de nitrógeno y la del carbono se encuentran íntimamente interrelacionadas, tanto a nivel metabólico como al de la regulación de ambos procesos, existiendo interacciones mutuas que determinan un balance preciso de estos dos bioelementos en la célula (Flores et al. 1983c; Lara y Guerrero 1989, 1997; Romero et al. 1987). Empleando cianobacterias como sistema modelo comprobamos que la asimilación de nitrógeno estimula el flujo del carbono hacia la biosíntesis de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados, con la disminución concomitante del flujo de carbono hacia el polisacárido glucógeno. En cuanto a los efectos de la asimilación de carbono sobre el metabolismo del nitrógeno, y prescindiendo de la necesidad de esqueletos carbonados sobre los que incorporar el amonio, la asimilación de nitrato presenta un estricto requerimiento por la fijación activa de CO_2 , un requisito que es de carácter regulador. La modulación de la asimilación fotosintética de nitrato por la fijación de dióxido de carbono se localiza en cianobacterias a nivel de la entrada del nitrato a la célula, conociéndose hoy con precisión el dominio de la proteína componente del sistema de transporte de nitrato afectado. En último término, es el nivel de productos específicos de la fijación de CO_2 (reflejo de la tasa de fijación de carbono) el que determina la tasa de asimilación de nitrógeno, al establecer el flujo de entrada de nitrato a la célula. Situaciones similares en cuanto a las interacciones carbono/nitrógeno ocurren en células y tejidos fotosintéticos eucarióticos, con operación de sistemas de control que, aunque diferenciados en correspondencia con una mayor complejidad estructural y funcional, se asemejan en gran medida a los operativos en cianobacterias.

Partiendo de los sillares moleculares resultantes de la asimilación primaria de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo, y empleando asimismo poder asimilatorio del generado en la luz, los organismos fotosintéticos prosiguen sintetizando las variadas y complejas biomoléculas que las que se compone la biomasa vegetal.

2.2. Eficiencia de la fotosíntesis

En todo proceso de conversión de energía, un importante factor a considerar es la eficiencia con la que éste tiene lugar, esto es, la fracción del total de energía incidente que queda atrapada en la forma de energía resultante. Cuando se refiere a la generación de materia orgánica o biomasa, se considera eficiencia fotosintética la fracción de la energía contenida en la radiación solar incidente, sobre una superficie y en un tiempo dados, que queda transformada y almacenada en materia orgánica recuperable.

La longitud de onda de la luz útil para fotosíntesis comprende el intervalo entre 400 y 700 nm. Esta franja de luz visible contiene solo alrededor del 50% de la energía de la radiación solar incidente. Aproximadamente un 30% de esta radiación fotosintéticamente activa no llega a las membranas fotosintéticas, y solo un 20% de la energía que éstas reciben queda finalmente convertida en energía química almacenada. Otras pérdidas adicionales, que incluyen respiración y fotorrespiración, reducen la eficiencia final

del proceso a un valor entre el 5 y el 6% (Guerrero y Losada 1983; Hall y Rao 1999) Aunque estos valores de eficiencia pueden parecer bajos si se comparan con los de otros procesos de conversión de la energía solar tal como el fotovoltaico, ha de tenerse en cuenta que en el caso de la fotosíntesis no sólo incluye la conversión instantánea, sino también el relevante factor de almacenamiento, no considerado en otras instancias.

De cualquier forma, el valor estimado representa el máximo teórico para el caso de plantas. En condiciones óptimas de campo, puede llegarse en algunos casos a eficiencias del 3%, si bien para periodos cortos de crecimiento. Cuando se derivan valores medios para el año completo, éstos se encuentran entre 0,5 y 1,5%, con máximos del 2,5% para cosechas específicas en zonas subtropicales.

En el caso de las microalgas, algunos autores han referido valores de eficiencia fotosintética que superan el 4%.

2.3. Magnitud de la captación y conversión de energía solar por fotosíntesis

La energía luminosa que llega a la biosfera ($10^{17} \text{ W} \approx 3 \times 10^{24} \text{ J año}^{-1}$) contiene tan sólo una milmillonésima parte de la emitida por el Sol, siendo captada y convertida por los ecosistemas terrestre y acuático con un eficiencia global media del 0,1 por ciento, lo que determina que queden almacenados unos $2 \times 10^{17} \text{ g}$ de biomasa año^{-1} , equivalentes a $10^{14} \text{ W} \approx 3 \times 10^{21} \text{ J año}^{-1}$.

Cuando se compara la producción de biomasa con el contenido energético de la biomasa almacenada y el de las reservas de combustibles fósiles (Guerrero y Losada, 1983; Hall et al. 1985) resulta que dicha producción anual de biomasa es sólo un orden de magnitud menor que las reservas actuales de biomasa ($2 \times 10^{18} \text{ g} \approx 3 \times 10^{22} \text{ J}$) y que las reservas probadas de combustibles fósiles ($3 \times 10^{22} \text{ J}$) que, a su vez, podrían ser un orden de magnitud menor que las estimadas como probables ($3 \times 10^{23} \text{ J}$). Como se discutirá más adelante, la energía solar que fija el reino vegetal en su conjunto es casi un orden de magnitud mayor que la energía que como tal utiliza la humanidad ($3,7 \times 10^{20} \text{ J año}^{-1}$) y unas 200 veces más que la que se consume como alimento ($1,5 \times 10^{19} \text{ J año}^{-1} \approx 10^{15} \text{ g año}^{-1}$).

En resumen, la energía que fija el reino vegetal al año es 1000 veces menor que la energía solar que recibe la tierra en dicho periodo, 100 veces menor que las reservas estimadas de combustibles fósiles, y 10 veces menor que las reservas comprobadas de estos combustibles y de la biomasa existente. Aún así, dicha tasa de fijación de energía solar por fotosíntesis es casi 10 veces mayor que la de utilización de energía por la humanidad y 200 veces mayor que la del consumo de alimentos (Guerrero y Losada 1983).

Aunque el ecosistema acuático cubre aproximadamente 2/3 de la superficie de la Tierra, frente a 1/3 el terrestre, ambos ecosistemas producen aproximadamente la misma cantidad de biomasa ($10^{17} \text{ g año}^{-1}$). En el ecosistema terrestre, la mayor producción corresponde a las áreas forestales (70%), seguida de las praderas y sabanas (20%) y finalmente de los cultivos agrícolas (10%), en tanto que en el ecosistema marino casi

toda la producción se debe al fitoplancton, y sólo una pequeña proporción, inferior al 10%, a las algas macrofitas.

El rendimiento biomásico medio del ecosistema natural (2×10^{17} g año⁻¹) por unidad de superficie es de hacia 400 g m⁻² año⁻¹ (4 ton ha⁻¹ año⁻¹), correspondiendo, al menos, el doble al ecosistema terrestre (600 g m⁻² año⁻¹) que al acuático (300 g m⁻² año⁻¹). A título comparativo, cabe mencionar el rendimiento anual de algunos cultivos agrícolas y formaciones naturales terrestres y acuáticas, entre los que se pueden destacar la caña de azúcar (6.000 g m⁻² ó 60 ton ha⁻¹), maíz (5.000 g m⁻² ó 50 ton ha⁻¹), bosques (1.000 a 4.000 g m⁻² ó 10-40 ton ha⁻¹), jacinto de agua (*Eichornia crassipes* y *E. azurea*) (15.000 g m⁻² ó 150 ton ha⁻¹) y algas (entre 5.000 y 200.000 g m⁻² ó 50-200 ton ha⁻¹).

Las reservas de biomasa del ecosistema natural –que, como se ha dicho anteriormente, se estiman superiores en un orden de magnitud a la de su producción anual, es decir, 2×10^{15} kg $\approx 3 \times 10^{22}$ J– se encuentran almacenadas casi en su totalidad en el ecosistema terrestre (99%), siendo ínfimas (1%) las del ecosistema acuático.

2.4. Aprovechamiento real y potencialidades de la biomasa vegetal

Un aspecto muy relevante en relación con la conversión de la energía solar que realizan las células verdes radica en la enorme variedad de productos que resultan del proceso fotosintético (Guerrero 1982). Dichos productos constituyen en conjunto el material orgánico que puede denominarse biomasa vegetal, propio de los diferentes organismos que integran la riquísima flora terrestre.

En general, la biomasa vegetal ha sido utilizada en gran escala con distintos fines –alimentarios, estructurales y energéticos– según su composición y propiedades. Así, el hombre ha seleccionado para su alimentación y la cría de ganado plantas con elevado contenido en proteínas, grasa, féculas y azúcares, y se ha servido de determinados tipos de fibras celulósicas para su empleo en la industria textil, destinando preferentemente la madera, aparte de su uso como combustible, a material para la construcción en sentido amplio, fabricación de máquinas y enseres, industria papelera, etc.

Dado que la población del planeta crece a un ritmo sobrecogedor y exige cada vez mayores aportes, tanto alimentarios como materiales y energéticos, el hombre ha vuelto su atención a la fotosíntesis como proceso de captación, conversión y almacenamiento de la energía solar, en la confianza de que el aprovechamiento adecuado de su inmenso potencial pueda contribuir significativamente a mantener en el futuro el nivel de vida alcanzado en los países prósperos, haciéndolo a su vez extensible a toda la población mundial. Siendo muy importante el incremento global del número de habitantes del planeta –actualmente cercano a los 7.000 millones–, es todavía más marcado el aumento proporcional de la llamada “clase media”, el grupo humano de más rápido crecimiento. Así, en los próximos doce años, mientras que el total de la población mundial aumentará en unos 1.000 millones de personas, el correspondiente aumento de la clase media, que demanda más y mejor alimentación y consume más energía, se estima en unos 1.800 millones. El ritmo de aumento en la demanda energética global –del que un

65 % correspondería a países en desarrollo— se ha tasado en el 1,6 % anual, de manera que el consumo energético en 2030 debe suponer un incremento del 50% sobre el valor actual. De cualquier forma, una nueva consideración de las cifras anteriormente citadas confirma que la energía solar asequible y, en particular, la fijada por el reino vegetal en su conjunto mediante fotosíntesis sobrepasan cumplidamente tanto las necesidades presentes como las previsibles en los plazos considerados.

No puede ignorarse, sin embargo, la existencia de factores que dificultan y limitan el aprovechamiento tanto de la energía solar primaria, como de la fracción almacenada en la biomasa fotosintetizada (Hall et al. 1985; Lewis, 1983). En lo que a esta última respecta, destaca en primer lugar el problema de la localización de gran parte de la misma en océanos y lugares de difícil acceso que, de momento, la dejan fuera del alcance del hombre. Los costes energéticos de la recolección y transporte restringen también el posible aprovechamiento de la biomasa producida en lugares relativamente alejados de los centros de utilización. Por otra parte, la existencia de vastos eriales, la extensión limitada de las zonas cultivables, y el tipo de materias primas carbonadas y combustibles, preferentemente líquidas y gaseosas, en que la civilización actual basa su funcionamiento imponen serios condicionamientos tanto a la producción de biomasa aprovechable, como al modo en que ésta puede utilizarse, por lo que consiguientemente y con frecuencia es necesario el procesamiento previo de la misma. Se impone, pues, la implantación de concepciones alternativas para mejorar la productividad de las áreas cultivables y para la explotación de las baldías, incluyendo, si procede, el cultivo de especies hasta ahora poco consideradas, con el fin de optimizar la producción de biomasa tanto alimentaria como energética. Se precisa, también, desarrollar tecnologías adecuadas para la transformación de la biomasa en materiales de interés industrial y energético (Hall 1986, 1997).

Para conseguir aumentar la producción agraria ha de incrementarse tanto la superficie de las tierras cultivables como la productividad del suelo. Aunque, en principio, podría doblarse la superficie dedicada a cultivos, ello requeriría enormes inversiones en el acondicionamiento de los suelos. En lo referente a los aumentos de la productividad por unidad de área, y complementando la constatada bondad de la mejora genética convencional, la moderna agrobiotecnología o biotecnología verde (Sasson 2006) está teniendo un impacto apreciable, que debe aumentarse considerablemente en el futuro, una vez se moderen las restricciones impuestas por algunos al cultivo de plantas modificadas genéticamente, ciñéndose a lo esencial. Por otra parte, la consecución de aumentos en la productividad descansa también, en gran medida, en la optimización de las prácticas agrícolas, que conllevan en general aumentos en los aportes energéticos, principalmente como combustible de vehículos, herbicidas, pesticidas y fertilizantes. Si bien así se han conseguido aumentos significativos en rendimiento por unidad de área, el rendimiento por unidad de energía introducida en el sistema ha disminuido, lo que suscita la reflexión.

Uno de los factores primordiales que influencia la productividad es el abono adecuado de los suelos mediante el aporte de nitrógeno y demás elementos necesarios para el máximo rendimiento de los cultivos. La síntesis industrial de los abonos agrícolas,

particularmente de los nitrogenados, se basa esencialmente en la utilización de energía y materias primas derivadas de combustibles fósiles. La escasez de petróleo y gas natural, con las consiguientes alzas de precios, inciden fuertemente en la disponibilidad y asequibilidad de los abonos, cuyo coste energético constituye alrededor del 50 por ciento del aporte total de energía a los cultivos, representando los de naturaleza nitrogenada el componente mayoritario. Se presta, por ello, extraordinaria atención a la posibilidad de utilizar medios biológicos de abono, especialmente a base de incrementar la contribución de la fijación biológica de nitrógeno atmosférico. Este proceso lo llevan a cabo un reducido número de microorganismos, caracterizados por su capacidad de reducir el nitrógeno molecular a amoníaco, bien por sí solos, a expensas de sustratos carbonados o de energía solar, o en asociación simbiótica con algunas plantas superiores, especialmente las leguminosas. Las esperanzas inmediatas de desarrollar una explotación intensiva de la fijación biológica de nitrógeno en la práctica agronómica se fundan especialmente en conocer mejor el proceso, sobre todo a nivel genético, bioquímico y fisiológico, y en conseguir la utilización adecuada de los organismos fijadores.

3. LAS MICROALGAS

Como se ha mencionado, microalgas y cianobacterias llevan a cabo fotosíntesis oxigénica. Sin embargo, estos grupos de microorganismos fotosintéticos son sustancialmente diferentes en cuanto a estructura y organización celular, siendo eucariotas las microalgas y procariotas las cianobacterias. No obstante, en una interpretación amplia y manifiestamente heterodoxa bajo el punto de vista taxonómico, si bien común y ampliamente adoptada en la literatura en biotecnología y ficología aplicada, y que se extiende a la denominación de las correspondientes sociedades científicas, se considera colectivamente como microalgas a los microorganismos poseedores de clorofila *a*, junto a otros pigmentos, con capacidad para llevar a cabo fotosíntesis oxigénica (Abalde et al. 1995; Guerrero y Losada 1991). Así, al ya heterogéneo grupo de microalgas propiamente dichas, que contiene decenas de miles de especies con variada morfología, tamaño y hábitat, se añaden también las cianobacterias procarióticas, cianofíceas o algas verde-azuladas (Rodríguez y Guerrero 1992). Las microalgas y cianobacterias planctónicas están en la base de la cadena trófica en el medio acuático y son responsables, como ya se ha mencionado, de alrededor de la mitad de la productividad primaria de la biosfera, con una producción estimada de unos 10^{17} g de biomasa al año.

Desde la introducción en los laboratorios, hacia 1920, por el Nobel alemán Otto Warburg, de *Chlorella* como material de experimentación en fisiología celular y bioquímica, se ha confirmado plenamente la idoneidad de las microalgas como modelos para la elucidación de complejos procesos biológicos, tales como morfogénesis y diferenciación, reconocimiento celular o ritmos biológicos. En el ámbito específico de la biología vegetal, la comprensión de reacciones promovidas por la luz, así como de complejas rutas metabólicas, se ha fundamentado en gran medida en experimentación desarrollada con estos microorganismos, lo que también se aplica al conocimiento de una diversidad

de aspectos del proceso fotosintético. A este respecto, y a título de ejemplo, pueden mencionarse la verificación de la fotólisis del agua, de la eficiencia cuántica de la fotosíntesis, y de la naturaleza fotosintética de la asimilación de formas oxidadas de carbono, nitrógeno y azufre en la luz, incluyendo la elucidación de las correspondientes rutas bioquímicas y la regulación de las mismas.

En el Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis, de la Universidad de Sevilla y el CSIC, las microalgas y las cianobacterias han sido en gran medida los organismos de elección sobre los que se ha focalizado gran parte del trabajo de sus grupos, en torno a una variedad de facetas del proceso fotosintético. Estas investigaciones han tenido amplia repercusión internacional, habiendo acreditado al IBVF como verdadero Centro de referencia en la investigación sobre fotosíntesis. Tras haber constatado la validez de *Chlorella* y otras microalgas clorofíceas en los últimos sesenta, la entrada de las cianobacterias en el Instituto al inicio de los setenta vino de la mano del fundador del mismo, el Profesor Manuel Losada. Al regreso de una serie de conferencias impartidas en Universidades alemanas, Losada trajo entre su equipaje un cultivo de *Anacystis nidulans* (ahora reclasificada como *Synechococcus* sp.) procedente de la Universidad de Göttingen. Desde ese momento, las cianobacterias acapararon la atención y el trabajo de diversos grupos del IBVF, situación que se mantiene en la actualidad.

A quien ahora les habla le cupo la responsabilidad de cuidar de nuestra primera cianobacteria, manteniéndola, propagándola y comprobando su capacidad de crecimiento y su idoneidad para las aproximaciones experimentales pretendidas. Muy pronto, *Anacystis* se convirtió en el más preciado organismo y objeto de activa investigación, no sólo por mi parte, sino por la de otros compañeros, para generar una ingente cantidad de novedosa información, principalmente referente a la asimilación fotosintética de nitrógeno por este procariota fotosintético, que fue convenientemente publicada y presentada en importantes foros científicos. Tras *Anacystis* llegaron otras estirpes de cianobacterias, de entre las cuales, las filamentosas fijadoras de dinitrógeno se convirtieron también en organismos insustituibles para investigar gran número de problemas de carácter básico y orientado.

Es a finales de los setenta cuando se comienzan en nuestro grupo aproximaciones de carácter aplicado, apoyadas en el conocimiento adquirido en el estudio de la asimilación fotosintética de nitrógeno en cianobacterias. Éstas se enfocaron inicialmente a la fotoproducción de amonio a partir de nitrato y nitrógeno molecular y, más tarde, al cultivo de cianobacterias filamentosas fijadoras de nitrógeno para la producción a la intemperie de biomasa rica en ficobiliproteínas (Guerrero y Losada 1991; Rodríguez y Guerrero 1992). Más recientemente hemos desarrollado trabajos dirigidos al aprovechamiento de microalgas para la generación de carotenoides específicos (Del Campo et al. 2007) que, junto a los anteriormente mencionados, se encuadran en el contexto de la Biotecnología de microalgas, que se considera a continuación.

3.1. Biotecnología de microalgas

En visión de algunos expertos, la(s) biotecnología(s) debe(n) entenderse como un conjunto de técnicas que permiten la aplicación de seres vivos, sus componentes y sus procesos a la producción de bienes y servicios. Personalmente, considero más apropiada su consideración como la aplicación del conocimiento acumulado en las ciencias de la vida a la resolución de problemas prácticos en salud, agroalimentación, medio ambiente y otros campos de actividad socioeconómica.

En microalgas y cianobacterias se conjuntan propiedades típicas de plantas superiores –como la simplicidad de requerimientos nutricionales y una eficiente fotosíntesis oxigénica– con atributos biotecnológicos propios de células microbianas, tales como activo crecimiento en medios líquidos y capacidad de acumular y/o secretar algunos metabolitos. Esta particular combinación, que lleva también implícita la posibilidad de manipular las condiciones nutricionales o medioambientales, sustenta el empleo de estos microorganismos fotosintéticos con fines aplicados y representa la base de lo que se ha dado en llamar “Ficología Aplicada” o “Biotecnología de Microalgas” (Borowitzka y Borowitzka 1988; Richmond 2004), denominación esta última que ha adoptado nuestro grupo de trabajo en el IBVF.

En términos generales, la biotecnología de microalgas persigue el desarrollo comercial de productos o procesos, partiendo de experimentación en el laboratorio hasta alcanzar eventualmente el mercado. En este largo y complejo trayecto, son estadios esenciales la previa definición de un producto (o proceso) de interés, así como la identificación de un cepa o estirpe de microalga que produzca y acumule (o libere) el producto deseado, debiendo definirse y establecerse un proceso de producción adecuado y escalable, cuya eficiente operatividad se verifique a lo largo de un periodo razonable. Para el éxito de la iniciativa, resulta esencial dominar los aspectos científicos y tecnológicos relativos al crecimiento celular y generación de compuestos específicos, sin perder de vista los aspectos económicos de los procesos de cultivo y producción que tienen, asimismo, importancia trascendental.

La principal peculiaridad de las microalgas en relación a su producción intensiva, con vistas al aprovechamiento práctico de su carácter microbiano, reside en la naturaleza de la fuente de energía –la luz solar– que soporta su desarrollo autotrófico sobre CO₂ y sales minerales. La disponibilidad y gratuidad de la energía luminosa representa una considerable ventaja, especialmente si se compara con el requerimiento de fuentes orgánicas de carbono por parte de los microorganismos heterótrofos, normalmente empleados en biotecnología. Sin embargo, la luz solar como fuente energética tiene dos principales inconvenientes: es difusa e intermitente. La baja densidad energética por unidad de superficie con la que nos alcanza, junto a su variación diaria y estacional, así como el requerimiento de una exposición adecuada y rítmica a la luz de las células de la suspensión, impone el desarrollo de sistemas de cultivo y condiciones de operación especiales, claramente diferentes a los de los fermentadores convencionalmente empleados para el mantenimiento y desarrollo de microorganismos en otras aplicaciones biotecnológicas.

La idoneidad de las microalgas para una variedad de aplicaciones de carácter práctico se ha puesto de manifiesto en diversidad de instancias (Chisti 2006; Richmond 2004). Aunque gran parte de su inmenso potencial aplicado se encuentra aún por materializar, los considerables avances obtenidos en los dos últimos decenios permiten predecir un importante papel de estos organismos en su aplicación a la resolución de problemas de gran impacto social y económico, muy especialmente los relacionados con energía y medio ambiente. Clave para avanzar en el aprovechamiento práctico de las microalgas es disponer de un conocimiento adecuado de la biología de estos organismos, así como de su comportamiento en los sistemas intensivos de cultivo, donde las condiciones imperantes son muy peculiares, distintas tanto de las propias de hábitats naturales, como de las estrictamente controladas con las que usualmente se trabaja en un laboratorio o cámara de cultivo.

Las microalgas tienen uso e interés como componentes de piensos para la alimentación de animales terrestres y acuáticos. Por ser el fitoplancton un componente integral de la cadena trófica en el medio acuático, la inclusión de las microalgas como alimento básico en acuicultura es una práctica imprescindible. El escenario previsto de rápido crecimiento y expansión de la acuicultura contrasta con una disponibilidad limitada y decreciente de harina y aceite de pescado, por lo que es de prever una demanda incrementada de microalgas como fuente indispensable de los ácidos grasos poliinsaturados, presentes en los productos de pescado componentes de los actuales piensos. El elevado valor nutritivo de la biomasa de microalgas, unido a la atribución más o menos fundada, según los casos, de propiedades vigorizantes o curativas ha impulsado también su consumo como alimento dietético-medicinal. La actual producción de biomasa de microalgas, mayoritariamente *Arthrospira* (*Spirulina*), *Chlorella* y *Dunaliella*, para tales fines se evalúa en unas 7.000 toneladas anuales. El empleo de cianobacterias fijadoras de nitrógeno (algalización) en la fertilización de millones de hectáreas de arrozales en diferentes países de Extremo Oriente acredita otra importante aplicación de la biomasa de estos microorganismos fotosintéticos. Por otra parte, se utilizan microalgas en sistemas híbridos con bacterias para la depuración de aguas residuales, ampliándose actualmente sus capacidades a otros procesos de biorremediación, ofreciendo fundadas esperanzas su empleo en el secuestro del CO₂ presente en emisiones industriales. Adicionalmente, las microalgas generan una variedad de compuestos específicos, algunos de carácter bioactivo, de los que pueden beneficiarse las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética, química y energética.

3.1.1. Cultivo de microalgas: fotobiorreactores

La implantación de sistemas de producción masiva de microalgas a la intemperie puede representar una revolución en producción vegetal en cuanto a los organismos y sistemas de cultivo empleados, que difieren considerablemente de los utilizados tradicionalmente en agricultura, si bien se encuentran igualmente sujetos a variación estacional. De hecho, tanto la temperatura como la radiación solar son factores que determinan

en gran medida la productividad de los cultivos fototróficos de algas al exterior. Los niveles de los principales nutrientes deben monitorizarse y mantenerse próximos a los establecidos como óptimos. La densidad de población y la turbulencia son también parámetros determinantes, debiendo combinarse adecuadamente de acuerdo con el paso de luz (diámetro o profundidad) del sistema empleado, a efectos de propiciar la mejor captación de luz por la suspensión celular. El diseño y rendimiento del reactor son extremadamente importantes, debiendo tenerse en cuenta estas peculiaridades, como también deben establecerse las condiciones idóneas para su operación, buscando, asimismo, optimizar la utilización de la irradiancia luminosa disponible por las células del cultivo (Borowitzka y Borowitzka 1988; Richmond 2004).

El costo de producción de la biomasa microalgal supone el principal factor limitante del éxito comercial de los sistemas de producción masiva. Si bien son esperables mejoras en las tecnologías de recogida y deshidratación de la biomasa, así como en la extracción y purificación de los productos específicos, la reducción más significativa de costos se derivaría de aumentos sustanciales en la productividad de los cultivos. La mayoría de los sistemas de producción presentan rendimientos medios de 10 a 15 g por metro cuadrado y día (unas 30 a 45 ton ha⁻¹ año⁻¹, para 300 días de operación efectiva al año), todavía lejos de los rendimientos máximos estimados. El gran empuje que actualmente se registra en el desarrollo de la ingeniería de los sistemas de cultivo, al que las realizaciones de nuestros colegas del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería están contribuyendo notablemente, anima a prever progresos significativos que han de contribuir al desarrollo y alcance de las aplicaciones de las microalgas.

Se conoce una variedad de sistemas para el cultivo de microalgas a la intemperie (Acién-Fernández et al. 2007; Chisti 2006, 2007; Richmond 2004). Entre los sistemas abiertos al aire, la mejor opción por el momento la constituye el estanque horizontal poco profundo de tipo "raceway". Cada unidad de cultivo ocupa un área de entre varios cientos y pocos miles de metros cuadrados, estando compuesta de dos o más pistas niveladas de 2 a 10 m de ancho y 15-30 cm de profundidad, separadas entre sí por tabiques verticales, pudiendo adoptar un sistema de meandros. A lo largo de estos canales, cuyo piso y paredes suelen estar recubiertos por una capa de plástico inerte, fluye la suspensión celular a una velocidad de 0,2 a 0,5 m s⁻¹, impulsada por la acción de paletas giratorias, hélices o bombas. El sistema se opera extrayendo la suspensión de manera intermitente y devolviendo al estanque en lo posible el líquido sobrante, una vez recogidas las células. La concentración de los diferentes nutrientes se estima a intervalos regulares, corrigiéndose para evitar limitaciones en los mismos. El carbono inorgánico se suministra a demanda, conforme es utilizado por las células del cultivo, lo que se controla generalmente por medio de un pHstato y una válvula solenoide, de forma que se insufla CO₂ cuando el pH supere un valor crítico, hasta restablecer el pH óptimo para el crecimiento. El cultivo en masa de microalgas en estanques abiertos combina características típicas de los cultivos agrícolas (uso extensivo de terreno, agua y nutrientes, así como dependencia del clima y de la radiación solar), con otras que asemejan la acuicultura y, sobre todo, con aquellas propias de procesos industriales para el cultivo

de microorganismos, tales como operación continua, aporte dosificado de nutrientes y control del proceso de producción.

Las limitaciones de los sistemas abiertos dificultan el mantenimiento en el tiempo de cultivos monoalgales y libres de predadores, por lo que su empleo a gran escala se ha limitado a estirpes que se desarrollan adecuadamente en condiciones restrictivas de pH (*Arthrospira*) o salinidad (*Dunaliella*), o que se comportan como “mala hierba” (*Chlorella*), multiplicándose activamente y restringiendo el desarrollo de otros organismos, lo que a veces conlleva la producción de compuestos alelopáticos. Los sistemas de cultivo cerrados, de mayor sofisticación tecnológica, representan la alternativa a los estanques abiertos, aportando mejores condiciones para cultivar cualquier microalga. Permiten mantener condiciones idóneas para el crecimiento de una estirpe concreta, a la vez que dificultan la invasión por organismos contaminantes, posibilitando así el sostenimiento de cultivos monoalgales.

En los fotobiorreactores cerrados pueden mantenerse valores de densidad celular más elevados que en los abiertos, suministrando mayor productividad que éstos, aunque los costos de construcción, mantenimiento y operación de los sistemas cerrados son considerablemente mayores. Si bien con reactores planos se consiguen los mejores valores de productividad, la dificultad de su escalado limita su empleo en grandes instalaciones. Los sistemas tubulares suponen de hecho la opción más práctica y extendida. Estos fotobiorreactores tubulares consisten esencialmente en tubos transparentes de vidrio o material plástico, conectados en serie o en paralelo para formar el colector solar, a través del cual se recircula la suspensión celular mediante bombas mecánicas o sistemas “airlift”, en los que el flujo de aire sustenta el movimiento de la masa líquida. Los sistemas tubulares con circulación impulsada por “airlift” son robustos y menos susceptibles a la contaminación que los basados en bomba mecánica, estando las células menos expuestas a sufrir daños que en este último caso; el airlift cumple la doble función de bomba y de intercambiador de gases, eliminando el exceso de oxígeno generado fotosintéticamente, que acumula el cultivo en su recorrido por el colector solar. El diseño del reactor debe tener en cuenta el flujo idóneo y el adecuado intercambio gaseoso, además de maximizar la captura de luz, a la vez que se minimiza la ocupación de superficie. El diámetro del tubo debe estar entre 2 y 15 cm, siendo el valor óptimo de aproximadamente 10 cm. El tamaño de la unidad de este tipo de reactor no debería sobrepasar los 5.000 l. La mayor planta en operación basada en reactores tubulares (de disposición vertical) se encuentra en Klötze, Alemania, (600.000 l) y se dedica a la producción de biomasa microalgal (*Chlorella*) para consumo humano.

Actualmente, se presta también atención al diseño y verificación de eficiencia de reactores planos simples, de bajo costo de construcción y operación, que consisten esencialmente en una bolsa de plástico transparente que contiene entre 100 y 1000 l de suspensión celular, mantenida entre soportes metálicos verticales simples de unos dos metros de altura, siendo el ancho del reactor semejante al diámetro de los sistemas tubulares. La agitación se consigue insuflando aire y el sistema puede termostatizarse mediante un intercambiador de calor colocado en su interior. Estos sistemas planos “semiabiertos”, con propiedades híbridas de estanques y sistemas cerrados, presentan

interesante potencial para su empleo en aproximaciones masivas, como serían aquellas dirigidas al aprovechamiento de las microalgas para la captura de CO₂ y/o la generación de biomasa para su empleo como materia prima de biocombustibles.

3.1.2. Producción de compuestos de interés por microalgas: el caso de los carotenoides

Las microalgas pueden servir como fuente de una diversidad de compuestos con valor comercial. Estos organismos son, de hecho, la primera fuente natural de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, como son los ácidos araquidónico, linolénico, eicosapentaenoico, o docosahexaenoico, esenciales para el hombre. Microalgas y cianobacterias producen, y a menudo liberan, polisacáridos con variadas aplicaciones. Estos organismos son asimismo productores de una variedad de metabolitos bioactivos, de composición química y actividad biológica diversa, incluyendo desde toxinas a principios activos de medicamentos.

Algunos pigmentos, especialmente aquellos que complementan a la clorofila en la captación de luz, posibilitando la cobertura de toda la gama visible del espectro, presentan también relevancia económica. Los microorganismos fotosintéticos representan una fuente especialmente atractiva de estos pigmentos, a los que utilizaré como ejemplo de compuestos específicos de valor que pueden ser producidos mediante sistemas de microalgas. Entre ellos destacan las ficobiliproteínas (en cianobacterias y algas rojas), así como los carotenoides. Aunque la producción de ficobiliproteínas por cianobacterias fijadoras de dinitrógeno ha sido también objeto de estudio y desarrollo por parte de nuestro grupo (Rodríguez y Guerrero 1992), me limitaré a comentar algunos aspectos de trabajos enfocados al aprovechamiento de microalgas para la producción de carotenoides.

Los carotenos y xantofilas que componen este grupo de pigmentos liposolubles decoran, entre otros, hojas, frutos y flores de plantas, así como plumas de aves, caparazones de crustáceos, carne y piel de peces, aportando colorido y belleza natural. En algas y plantas superiores, los carotenoides desempeñan una diversidad de papeles esenciales en fotosíntesis. En otros organismos desempeñan también importantes funciones, algunas todavía por establecer, atribuyéndoseles propiedades protectoras frente a diversas situaciones de estrés, incluyendo el de carácter oxidativo, y habiéndose constatado efectos positivos de algunos carotenoides específicos sobre la salud humana. El mercado mundial para carotenoides muestra una tendencia claramente creciente, estimándose que alcanzará un valor superior a 1.000 millones de dólares USA al final de esta década. La demanda selectiva por parte de los consumidores favorece el desarrollo de pigmentos de fuentes biológicas, incrementándose así las oportunidades de las microalgas (Del Campo et al. 2007).

En relación a trabajos desarrollados por nuestro grupo sobre la producción de beta-caroteno por *Dunaliella*, una cloroficea que acumula este pigmento en condiciones de estrés salino, a niveles superiores al 15% de la biomasa seca, se ha verificado la viabili-

dad de su cultivo en estanques abiertos de hasta 4.000 l y fotobiorreactor cerrado de menor volumen, habiéndose comparado la eficiencia de diversas condiciones de operación, con valores de productividad de caroteno superiores $0.1 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ (García-González et al. 2003, 2005). Además de proporcionar mayor productividad, el sistema de fotobiorreactor cerrado permite generar una biomasa de mayor calidad, con un perfil mejorado de carotenoides y predominio del isómero 9-cis del β -caroteno.

Entre las aportaciones recientes de mayor impacto en relación a la producción de carotenoides naturales, puede que se encuentre la introducción de algunas estirpes de microalgas como novedosa fuente de la xantofila luteína. Este pigmento se emplea como colorante de alimentos y especialmente como aditivo alimentario, esencial en piensos para avicultura y acuicultura. Junto a la zeaxantina, constituye el componente pigmentado principal de la *macula lutea* presente en la retina humana. En los últimos años, han recibido un considerable refuerzo algunas aplicaciones de la luteína en salud humana, ya que no sólo se ha verificado su efecto preventivo en el desarrollo de procesos degenerativos del ojo, tales como degeneración macular senil y cataratas, sino también sobre la progresión de la aterosclerosis temprana. Un contrastado efecto estimulante sobre la respuesta inmune en animales de compañía ha llevado a su inclusión en los correspondientes alimentos preparados, verificándose actualmente efectos positivos de la luteína sobre viabilidad y productividad de los cultivos acuícolas, tal como se ha demostrado en el caso del erizo de mar. El conjunto de estas aplicaciones han hecho aumentar la demanda de luteína, cuyo mercado mundial crece a una tasa superior al 6% anual, para aproximarse a los 200 millones de dólares USA al final del decenio.

La adición a la ficología aplicada de la clorofícea *Muriellopsis* como fuente de luteína, junto a la demostración de la viabilidad de su productivo cultivo a la intemperie, tanto en fotobiorreactor tubular cerrado como en estanque abierto (Blanco et al. 2007; Del Campo et al. 2001), supone una gratificante contribución de nuestro grupo a la biotecnología de microalgas, que ha ido seguida de la verificación de otras estirpes de microalgas para el mismo objetivo. Los cultivos de *Muriellopsis* a la intemperie pueden desarrollarse a lo largo de prácticamente todo el año, si se operan en condiciones optimizadas. En fotobiorreactor tubular cerrado, funcionando en régimen continuo, se alcanzan valores máximos de productividad por metro cuadrado y día del orden de 40 g de biomasa seca y 180 mg de luteína. Como cabe esperar, los valores son inferiores en el caso de cultivos semicontínuos en estanque abierto, en los que la productividad promedio a lo largo del año es de unos 13 g de biomasa y 75 mg de luteína $\text{m}^{-2} \text{ día}^{-1}$.

El abanico de carotenoides de microalgas sobre los que nuestro grupo ha centrado sus esfuerzos en el último decenio se completa con la astaxantina, una xantofila de elevada demanda como componente esencial de la dieta en acuicultura de salmónidos, de la que depende la adecuada coloración de su carne y piel. Recientemente se han invocado también aplicaciones potenciales en nutrición y salud humana para la astaxantina, que se cotiza a unos 2.500 dólares USA por kilo, en un mercado dominado por el compuesto sintético pero en el que crece la demanda del pigmento natural. La clorofícea *Haematococcus pluvialis* constituye la fuente biológica más rica en astaxantina y se cultiva para su comercialización. En células de *Haematococcus*, la astaxantina se loca-

liza en glóbulos lipídicos localizados en el citoplasma, habiendo sido el proceso de su acumulación objeto de una diversidad de estudios por diferentes grupos. Dado que, en general, la reducción o anulación del crecimiento se ha considerado requisito para inducir la acumulación de astaxantina, se ha seleccionado una estrategia de dos fases para la producción de células ricas en astaxantina, manteniendo condiciones de cultivo estanco. Así, *Haematococcus* se cultiva, en primera instancia, en condiciones de suficiencia de nutrientes para conseguir un rendimiento elevado de biomasa. Posteriormente, la población de células verdes obtenida se somete a una segunda fase de estrés nutricional y medioambiental, al exponerla a deficiencia de nutrientes (especialmente nitrógeno y fósforo), incremento de temperatura o adición de sales, junto a irradiancia aumentada. Se induce así la formación de quistes o aplanosporas rojos de pared dura y gruesa, que acumulan astaxantina a niveles del 3% de la biomasa seca (Aflalo et al. 2007).

Nuestra aproximación a la optimización de la producción de astaxantina se ha centrado en una estrategia de una sola fase, en régimen continuo de cultivo, basada en la constatación de que *Haematococcus* puede también acumular el pigmento en condiciones de activo crecimiento y división, si se controla adecuadamente el aporte de nitrógeno, estableciendo una limitación selectiva y moderada de este elemento, que determina una población en la que predominan células rojizas, con un contenido en astaxantina de alrededor del 1% (Del Río et al. 2005). Se obtienen productividades más elevadas que en el sistema de dos fases, generándose un producto que presenta, asimismo, ventajas sobre los quistes rojos producidos en el sistema convencional, tanto en lo concerniente a biodisponibilidad como a actividad antioxidante (Cerón-García et al. 2007). Así, el conocimiento profundo de la influencia combinada de la irradiancia luminosa y la nutrición nitrogenada sobre crecimiento y acumulación de astaxantina en *Haematococcus* ha suministrado las bases científicas para, contraviniendo la creencia general, conseguir simultanear elevada productividad de biomasa y alta tasa de acumulación del pigmento, dando paso a un sistema novedoso de producción de astaxantina en una sola fase (Del Río et al. 2005, 2008). La asimilación fotosintética del nitrógeno aparece de nuevo en mis investigaciones como elemento crucial en la determinación de una situación fisiológica, ahora clave en el establecimiento de condiciones adecuadas para la operación de un sistema de relevancia aplicada.

3.1.3. Microalgas para la eliminación de dióxido de carbono

Pese a ser un gas minoritario en la atmósfera terrestre, el dióxido de carbono constituye uno de sus componentes más importantes, siendo sustrato esencial en la fotosíntesis, por una parte, y principal producto de la respiración de los seres vivos y de la combustión de los productos energéticos, por otra. A lo largo del último siglo se viene registrando un aumento del nivel de CO₂ atmosférico, del que se hace responsable a la utilización masiva y descontrolada de combustibles fósiles y que puede conllevar un sobrecalentamiento de la superficie terrestre (efecto invernadero). Un importante problema que afecta al desarrollo económico de muchos países es que, en la situación

actual, tal desarrollo se vincula a un incremento en el consumo de combustibles fósiles y, consecuentemente, en el nivel de emisiones de CO_2 .

Resulta, pues, absolutamente necesario desarrollar e implantar nuevas tecnologías que permitan generar energía con menores niveles de emisión de CO_2 , así como otras para su captación y eliminación, reduciendo su nivel en los gases de escape generados industrialmente. El primer aspecto supone una sustitución tecnológica difícil de abordar a corto plazo, en muchas instancias. Respecto al segundo aspecto, existe un acuerdo unánime en que, dada la magnitud del problema, no existe tecnología que por sí sola pueda resolverlo. Por ello, se impone el desarrollo y utilización combinada de las diferentes tecnologías disponibles para aproximarse al objetivo de balance "cero" de carbono. En este sentido, se llevan a cabo numerosos intentos para establecer la capacidad de retención del CO_2 en profundidades marinas, bolsas de gas o suelos petrocálcicos, considerándose también con esperanza alternativas de aprovechamiento de la fijación fotosintética del CO_2 , como procedimiento que permite almacenar el carbono como biomasa orgánica diversa, base de distintas transformaciones y aplicaciones. Entre las opciones consideradas están las que se basan en favorecer la expansión y actividad de los sumideros naturales de CO_2 , como las masas forestales o el fitoplancton oceánico (Benemann 1993).

La opción de secuestrar CO_2 del presente en emisiones industriales a través de su fijación fotosintética mediante el cultivo de microalgas se plantea, en principio, como una prometedora opción (Benemann 1993, 1997; Moheimani y Borowitzka 2006; Padroni et al. 2005). Junto a su elevada eficiencia y productividad, la naturaleza hidráulica de los cultivos de microalgas facilita la manipulación de los mismos, así como su instalación contigua a la propia fuente emisora de CO_2 , posibilitando un uso directo del gas. Por contra, el resto de los propuestos sumideros naturales de carbono sólo fijan CO_2 una vez que éste se ha liberado a la atmósfera para constituir contaminación difusa.

La eficiencia y el éxito de los sistemas de microalgas para la fijación de carbono inorgánico dependen en gran medida del microorganismo seleccionado, así como del sistema de producción y de la optimización de los parámetros de operación del mismo. Adicionalmente, han de considerarse las propiedades de los productos fotosintéticos generados y su posterior aprovechamiento. En este sentido, y como ya se ha considerado, los cultivos de microalgas convierten el CO_2 en carbono constituyente de la biomasa, que corresponde a la mitad del peso seco de la misma y forma parte de una diversidad de compuestos orgánicos. Otros productos de la fotosíntesis que pueden ser liberados por las células, tales como polímeros de naturaleza orgánica, contienen también carbono originalmente presente en el CO_2 .

Sobre las anteriores premisas, hemos desarrollado y evaluado una tecnología para la retirada de CO_2 acoplada a la generación fotosintética conjunta de biomasa y polímeros carbonados extracelulares (exopolisacáridos) por cultivos de una estirpe marina (ATCC 33047) de la cianobacteria filamentosa *Anabaena* (Moreno et al. 1998, 2003). Esta cianobacteria presenta alta productividad con N_2 atmosférico como fuente de nitrógeno y tolera elevados niveles de salinidad, así como amplios márgenes de pH y temperatura, resultando un organismo especialmente adecuado para el tipo de proceso considerado.

Empleando diferentes sistemas de cultivo, se han optimizado las condiciones para maximizar la producción de la mencionada materia orgánica híbrida, que flocula con facilidad, lo que facilita su recolección. La generación de cada unidad de peso de producto conlleva el consumo de 1,7 unidades de peso de CO_2 . En condiciones optimizadas, nuestros sistemas de cultivo de *Anabaena* a la intemperie generan diariamente hasta 0,6 kg de materia orgánica (correspondiente a la fijación de más de 1 kg de CO_2) por m^3 , de la que el exopolisacárido puede llegar a representar aproximadamente la mitad.

Entre las posibles opciones para el aprovechamiento de la biomasa y otros productos fotosintéticos generados, materiales con considerable poder calorífico (15 a 20 kJ g^{-1}), se encuentra su uso con propósitos energéticos. Como se considera más adelante, la utilización como combustible, directamente de los productos orgánicos fotosintetizados o, alternativamente, de los resultantes de su transformación por vía química o biológica, implica un reciclaje de carbono y puede suponer la sustitución energéticamente equivalente de un combustible fósil. Además de su interés como potencial combustible, el polímero carbonado que excreta *Anabaena* puede ser de utilidad en diversos procesos industriales (Moreno et al. 2000). En general, los polisacáridos obtenidos a partir de microorganismos fotoautotróficos poseen características que cubren una amplia gama de estructuras químicas complejas, a las que corresponden diferentes propiedades y posibilidades de utilización. De hecho, algunos polisacáridos exocelulares microbianos tienen aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica, como agentes espesantes, estabilizantes, emulsionantes o gelificantes. Otro posible uso es el acondicionamiento y recuperación de suelos para uso agrícola, habiéndose constatado también actividad antiviral y antitumoral para algunos polisacáridos de microalgas. Asimismo, los polisacáridos aniónicos, como el de *Anabaena*, son útiles para la concentración, adsorción, purificación y/o eliminación de iones metálicos, así como para inducir la floculación de partículas sólidas en el tratamiento de aguas residuales.

4. APROVECHAMIENTO DE LA FOTOSÍNTESIS CON FINES ENERGÉTICOS

Como ya se ha considerado anteriormente, todos los seres vivos dependemos de la fotosíntesis para la generación de alimento, aire oxigenado y protección frente a radiación destructiva. Los humanos tenemos, además, otros débitos y dependencias con el proceso fotosintético, ya que utilizamos productos no alimenticios del mismo, tales como madera y fibra para cubrirnos, protegernos, calentarnos, así como también impulsamos nuestra civilización industrial con carbón, gas natural, petróleo, productos fosilizados de una fotosíntesis que tuvo lugar hace millones de años. Por todo ello, además de por su magnitud, la fotosíntesis merece ser reconocida y valorada como el proceso bioquímico más importante que tiene lugar en la Tierra (Arnon 1992). A medida que la humanidad se expande y crecen sus demandas energéticas en un horizonte de escasez de recursos fósiles y aumento del CO_2 atmosférico, la propia continuidad del hombre puede, en último término, descansar en la efectividad con que aproveche la energía solar a través de diferentes opciones, siendo la de su conversión biológica la más completa,

prometedora y versátil en cuanto a la variedad y cantidad de sus productos (Guerrero 1982; Guerrero y Losada 1983).

En el editorial de presentación de la revista *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* (Dale 2007), el Profesor Bruce E. Dale enfatiza las implicaciones de la “bioeconomía”, término que se refiere a la economía asociada al uso de materias primas de origen vegetal como fuente de combustibles y de una diversidad de compuestos y bienes manufacturados. La transformación económica y social con base en la bioeconomía se encuentra impulsada fundamentalmente por una variedad de razones de alcance local, nacional, regional y global. Entre ellas, se encuentran las siguientes: ingentes importaciones de un petróleo cada día más caro; creciente demanda global de combustibles fósiles; seguridad nacional a diferentes niveles; preocupación por el creciente nivel de gases de efecto invernadero; aspiración por mayores oportunidades económicas, especialmente en zonas rurales; tendencia a asignar valor a la preservación del medio ambiente y a gravar los impactos sobre el mismo; lento desarrollo económico de los países pobres que carecen de petróleo y de divisas para importarlo; deseo de estabilidad en los costos de materias primas para las industrias basadas en el petróleo y sus derivados. Se anticipan cambios impresionantes, que suponen la transformación de una economía no renovable, basada en el petróleo, a una economía renovable, basada en lo “bio”, en material biológico de origen vegetal. A nivel mundial se prevé una importante generación de riqueza y la creación de millones de puestos de trabajo, con la consecuente transformación de la sociedad, especialmente de la rural. Estos cambios deben afectar profundamente a todos los sectores de la economía global.

Me centraré, a continuación, en aspectos relativos al aprovechamiento de la fotosíntesis y sus productos con fines energéticos. La ventaja principal de la opción “biomasa vegetal para combustibles” descansa fundamentalmente en el hecho de que la energía procedente de la luz solar queda atrapada en forma de materiales orgánicos que, en principio, pueden almacenarse y/o transportarse a través del tiempo y la distancia. Entre las desventajas de esta opción se encuentran la naturaleza difusa y usualmente estacional de la producción, así como el elevado contenido en agua de muchos de los productos vegetales. La posibilidad de implementar el suministro de productos con elevado contenido energético pasa, pues, por reformar las materias primas vegetales para aumentar su densidad energética y calidad en relación a la tecnología en la que se va a utilizar, lo que supone su recolección, transporte, deshidratación, concentración y transformación a través de un proceso de conversión, de tipo físicoquímico o biológico.

La utilización de biomasa vegetal seca, especialmente en forma de madera o paja, para la generación de calor por combustión directa es un hecho cotidiano, bien conocido. Este uso, aunque bastante disminuido si se compara con el de épocas anteriores, todavía persiste. Así, a escala global, la biomasa cubre por término medio entre el 10 y el 15 % de las necesidades energéticas del hombre. Mientras que en países industrializados la biomasa no representa más del 5 % del consumo energético (porcentaje similar al cubierto por la energía nuclear), llega a constituir la fracción mayoritaria (hasta el 95 %) en diversos países en vías de desarrollo, donde la media de consumo alcanza alrededor de una tonelada por habitante y año. Se calcula que unos tres mil millones de per-

sonas, fundamentalmente localizadas en países en desarrollo, dependen de la biomasa para cocinar y calentarse (Hall 1995, 1979). Aparte de otros usos más directos, el calor producido por la combustión de la biomasa seca puede transformarse en electricidad mediante la generación de vapor de agua a alta presión y su paso a través de una turbina (Larson 1993).

4.1. Transformación de la biomasa en combustibles

En general, la biomasa se emplea con mucha menor eficiencia de lo que sería técnicamente viable y económicamente posible, suministrando un rendimiento energético de bajo nivel. Para aumentar la contribución energética de la biomasa existen tecnologías de conversión aplicables a toda una variedad de fuentes de biomasa –desde residuos a plantaciones energéticas–, que se están perfeccionando tecnológicamente para generar productos que compitan en precio con los combustibles tradicionales. La selección de especies vegetales idóneas y la mejora de su productividad, así como el perfeccionamiento de técnicas de cultivo y recogida de la materia prima representan también objetivos prioritarios, a efectos de potenciar el uso energético de la biomasa y sus derivados.

La baja densidad física y energética de gran parte de la biomasa, tal como se recolecta directamente del terreno o se recupera de los desechos, así como su contenido en agua, normalmente muy alto, determinan que en la mayoría de los casos no sea adecuada como tal para reemplazar a los combustibles fósiles, gaseosos o líquidos. Se hace necesaria, pues, la transformación previa de la biomasa en combustibles de mayor densidad energética y/o física, contándose para ello con diversos procedimientos, que generan una gran variedad de productos (Hall et al. 1985; Kheshgi et al. 2000; Larson 1993; Lewis 1983). En general, los procedimientos de conversión de la biomasa para la generación de combustibles de calidad pueden dividirse en dos grupos, de acuerdo con la naturaleza fisicoquímica o biológica de los procesos implicados, cuya idoneidad depende en gran medida del grado de humedad del material vegetal y, en casos específicos, de una adecuada composición del mismo.

Los materiales más idóneos para su conversión fisicoquímica son los de bajo contenido en agua y alto en lignocelulosa, tales como madera, paja, cáscaras, etc. Los procedimientos fisicoquímicos de conversión se basan en someter la biomasa a la acción de altas temperaturas, y pueden dividirse en dos amplias categorías, dependiendo de que el calentamiento se lleve a cabo en ausencia de aire (pirólisis) o en presencia de cantidades limitadas de oxígeno (gasificación). El producto principal de la gasificación es un gas pobre, compuesto de cantidades variables de CO, CO₂, H₂ y CH₄. Este gas puede enriquecerse en metano, dando lugar así a un sustituto del gas natural, o reformarse a gas de síntesis, con proporciones adecuadas de CO y H₂. Los productos de la pirólisis son una mezcla de combustibles sólidos, líquidos y gaseosos en proporciones variables, dependiendo de las temperaturas y presiones empleadas en el proceso. Hay una tercera categoría de procesos térmicos de conversión, la hidrogasificación, que consiste en hacer reaccionar la biomasa con hidrógeno a temperaturas superiores a 500° C para producir

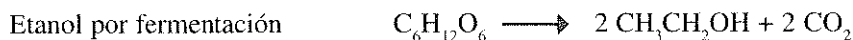
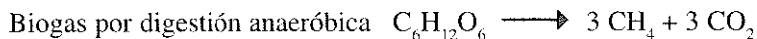
metano y etano. Este procedimiento parece tener menor interés que los anteriores, pues requiere hidrógeno, en sí mismo un combustible valioso.

Entre las diferentes opciones analizadas, el procedimiento que podría ofrecer mayores ventajas sería el de una gasificación que a base de utilizar parte del material como combustible, con objeto de generar las altas temperaturas requeridas, permitiese su transformación en gas de síntesis, fácilmente convertible en metanol o incluso en hidrocarburos.

Así pues, se dispone ya de tecnologías fisicoquímicas adecuadas, aunque ciertamente perfectibles, para la efectiva producción de calor, electricidad y combustibles sólidos, líquidos y gaseosos a partir de la biomasa. Entre los productos que pueden así generarse, el metanol constituye, además de un poderoso combustible líquido, el punto de partida para la producción de toda una serie de compuestos químicos, plásticos y fibras sintéticas. Quedan, pues, abiertas vías para la sustitución parcial de los combustibles fósiles convencionales y de sus derivados por productos de la biomasa renovable, a través de su conversión por vía fisicoquímica.

La biomasa con alto grado de humedad puede transformarse por degradación biológica, mediante procesos de digestión anaeróbica o de fermentación alcohólica, en metano o etanol, respectivamente, consiguiéndose aumentar la densidad energética de la biomasa de 16 kJ g^{-1} a 30 kJ g^{-1} (etanol) y 56 kJ g^{-1} (metano). En la actualidad, las técnicas más desarrolladas son, por un lado, la digestión anaeróbica de la biomasa con alto contenido en celulosa (basuras, residuos agrícolas, ganaderos e industriales, plantas acuáticas, etc.) para la generación de un gas con elevado contenido en metano (biogas), y por otro, la fermentación de materiales azucarados o amiláceos para la producción de etanol. En contraste con la fermentación alcohólica, que utiliza como sustratos productos de alto valor económico que sirven también para la alimentación humana y de ganado, la digestión anaeróbica emplea materias primas de escaso valor.

Las ecuaciones globales para los procesos biológicos implicados, suponiendo la glucosa como sustrato, son las siguientes:



En la digestión anaeróbica participan poblaciones complejas de microorganismos, actuando secuencialmente tres categorías de bacterias cuyas funciones son: 1) hidrólisis de polímeros (celulosa, lípidos, proteínas); 2) producción de ácidos volátiles (principalmente acético), CO_2 y H_2 ; y 3) generación de metano. Considerando la glucosa como materia prima, el rendimiento teórico en peso de la producción de metano es sólo del 27 por ciento, aunque el rendimiento energético es superior al 93 por ciento. Sin embargo, la naturaleza compleja de la materia procesada en los digestores anaeróbicos y la baja eficiencia de conversión se traducen, por lo común, en rendimientos energéticos brutos del 20 al 50 por ciento (Lewis, 1983). La práctica avala la validez, variedad y versatilidad de los desarrollos tecnológicos aplicados a la producción de biogas. Utilizando

tecnologías muy básicas, gran número de digestores rurales operan en países en vías de desarrollo, existiendo alrededor de 10 millones de ellos en China e India, extendiéndose su implantación masiva en otros países. Tecnologías más avanzadas se aplican en países de nuestro entorno, con digestores de diverso tamaño (de 50 a varios millones de m³) para el tratamiento de residuos agropecuarios, así como de otros procedentes de instalaciones industriales diversas como destilerías, fábricas de azúcar, mataderos, etc., empleándose los digestores de mayor volumen para el tratamiento de residuos orgánicos urbanos. Es obvio, pues, el interés de la digestión anaeróbica, en su doble papel de generación de un combustible gaseoso y eliminación de desechos, con la ventaja adicional de suministrar un residuo sólido con valor de abono.

En la producción de etanol por fermentación alcohólica, una tecnología bien establecida, intervienen levaduras que convierten directamente hexosas en etanol (Lin y Tanaka 2006). El rendimiento teórico en peso, con glucosa como sustrato, es superior al 50 por ciento, recuperándose aproximadamente el 93 por ciento de la energía contenida en el sustrato. En la práctica, el rendimiento puede estar entre el 85 y 90 por ciento del valor teórico. La generación del alcohol a partir de disacáridos o polisacáridos implica un paso previo de hidrólisis de los mismos para generar unidades de glucosa, catalizado por enzimas específicas. Actualmente se realizan grandes esfuerzos para conseguir una producción efectiva de etanol a partir de madera y otros materiales celulósicos (la celulosa es la molécula orgánica más abundante en el planeta), previa hidrólisis química y biológica de los correspondientes polímeros. El indudable valor del etanol como carburante líquido y aditivo para gasolinas, de generación renovable a partir de carbohidratos de origen vegetal (caña de azúcar, sorgo, mandioca, maíz, trigo, cebada) lo acredita como el biocombustible por excelencia, papel que se reconsidera más adelante.

4.2. Beneficio de productos industriales

Hay multitud de plantas que acumulan compuestos de gran interés energético o industrial como parte de su biomasa, razón por la que poseen notable valor práctico y pueden explotarse en gran escala con indudable beneficio. De hecho, abundan los compuestos naturales que pueden ser sustitutivos de gran número de derivados del petróleo. Aunque esta situación es conocida desde hace tiempo, habiéndose identificado un considerable número de productos y las especies vegetales que los generan (Guerrero 1982; Guerrero y Losada 1983), el interés por los mismos y los esfuerzos dirigidos a su aprovechamiento se han redoblado en los comienzos del siglo XXI.

En el contexto de los biopolímeros existe considerable número de tales ejemplos, habiéndose identificado diversas especies vegetales que producen y acumulan hidrocarburos elastómeros, fácilmente extraíbles. Un ejemplo bien conocido es el árbol del caucho (*Hevea*) cuyo látex representa la fuente natural de este producto. Otro arquetipo de planta cauchífera a la que se presta gran atención como fuente alternativa de este material es el guayule (*Parthenium argentatum*), especie herbácea de desarrollo frecuente en algunas zonas desérticas de México y Estados Unidos, con rendimientos del orden

de una tonelada de caucho por hectárea, cuya posible adaptación a regiones semiáridas del Sur de Europa se considera en la actualidad. El interés inicialmente encabezado por el Nobel Melvin Calvin sobre el establecimiento de plantaciones de especies del género *Euphorbia*, típicas de zonas áridas y que acumulan hidrocarburos de bajo peso molecular similares al petróleo, ha decaído, sin embargo, con el tiempo. Otras plantas contienen aceites lubricantes que podrían sustituir a los actuales lubricantes industriales sintéticos. El caso del aceite de la semilla de jojoba (*Sidmonsia chinensis*) es especialmente interesante a este respecto, siendo apreciado además de por sus propiedades lubricantes, por su valor como base de ceras y barnices, empleándose también en la industria farmacéutica y en cosmética. La posible aplicación de técnicas de biotecnología vegetal para la incorporación a plantas cultivables con elevada productividad de rutas biosintéticas de polímeros complejos, como ésteres céreos o bioplásticos diversos, resulta atractiva. El concepto de “biorefinería” aplicado a la pared vegetal presenta, asimismo, indudable interés, suponiendo su realización un ingente desafío si bien la recompensa esperada es inmensa. En efecto, la pared rígida que envuelve a las células vegetales representa el 85% del total de la biomasa producida en la agricultura. Por ello, resulta tan atractiva la posibilidad de degradar los polímeros que la componen —celulosa, hemicelulosa y lignina— en sus unidades básicas para, a continuación, combinarlas de acuerdo a patrones adecuados para generar biocarburantes, resinas, disolventes, adhesivos y otros productos esenciales para el hombre, que en la actualidad produce la industria petroquímica.

En los últimos años se ha concedido gran atención a la posible utilización de aceites vegetales, con estructura similar a los hidrocarburos del petróleo, como combustibles para motores diésel, habiéndose comprobado la eficiencia de ésteres metílicos o etílicos de aceites de soja, colza, coco, palma, girasol, cacahuete y otros, solos o en diferente grado de mezclas con gasóleo. La problemática del empleo del biodiésel como carburante de automoción de generación renovable se considera más adelante.

5. LOS BIOCOMBUSTIBLES

Actualmente no existe duda acerca de la inaplazable necesidad de desplazar a los combustibles líquidos convencionalmente empleados en motores de combustión interna, de origen fósil, disponibilidad limitada, elevado y creciente precio, que contribuyen a incrementar el nivel de CO₂ en la atmósfera. La convergencia de las fuerzas del mercado y la alarma por el deterioro del medio ambiente está impulsando la carrera hacia nuevos combustibles basados en lo ‘bio’ (Bungay HR 2004; Hall 1997; Somerville 2007). En este contexto, se hace indispensable recurrir a combustibles líquidos de generación renovable, neutros en cuanto al balance de carbono, que progresivamente reemplacen a los derivados del petróleo, gasolina y gasóleo, como parte de la estrategia que se ha dado en llamar “defosilización” de los combustibles. Tanto el sector agrario como el del transporte son de los principales consumidores de combustibles fósiles y contribuidores a la contaminación medioambiental, situación que podría paliarse al reemplazar los carburantes convencionales por otros renovables, de origen biológico. El desarrollo

de combustibles alternativos que reúnan condiciones que se correspondan con nociones como desarrollo sostenible, eficiencia, ahorro energético, y preservación del medio ambiente se hace indispensable en el actual contexto (Agarwal 2007; Kheshgi et al. 2000). De nuevo la humanidad ha de recurrir a la fotosíntesis como el único proceso operativo disponible para generar con carácter renovable, a expensas de la energía solar, los tan requeridos biocombustibles o biocarburantes, en forma más o menos directa y a la escala necesaria. El uso de un biocombustible cierra un ciclo de carbono, en el que el CO_2 liberado en su combustión es devuelto a la atmósfera de donde se fijó al sintetizarse, sin la adición neta de carbono que, por el contrario, acontece al emplear un combustible fósil, recargando la atmósfera con un carbono ancestral que permanecía inerte en el yacimiento.

En el desarrollo de procesos eficientes para la transformación de materias primas vegetales en combustibles han de ser de utilidad extrema las conversiones basadas en la operación de microorganismos o componentes de los mismos, en aportaciones de la biotecnología a una temática y escala distintas a aquellas en las que, hasta el momento, ha demostrado éxitos indiscutibles (Potera 2006; Savage et al. 2008; Tollefson 2008).

Entre la variedad de biocombustibles potencialmente disponibles, bioetanol y biodiésel son los mejor considerados globalmente como sustitutos de sus homólogos de origen fósil, empleados masivamente para automoción y transporte, de precio creciente y que contribuyen sustancialmente a la polución ambiental. La actual producción de estos biocombustibles líquidos cubre sólo aproximadamente el 1% del consumo global de combustibles para locomoción, concentrándose esfuerzos en la mayoría de los países para aumentar esta contribución, incluyendo las principales potencias económicas, la Unión Europea y Estados Unidos, que la apoyan por medio de políticas públicas, incentivos, subvenciones y medidas legislativas. Europa se ha marcado como objetivo para el año 2020 que un 10% del combustible empleado en el sector del transporte se cubra con biocombustibles, mientras que Estados Unidos proyecta para el mismo plazo multiplicar por más de cinco su actual producción. En una escala global, los subsidios que se destinarán al desarrollo de biocombustibles se medirán en miles de millones de euros.

Una cuestión trascendental respecto de la producción de combustibles se refiere al balance energético en su producción. Obviamente, cualquier sistema productor de energía requiere energía para suministrar energía. Por ello, resulta extremadamente importante en este caso minimizar el valor de la cantidad de energía fósil aportada al sistema por unidad de energía contenida en el biocombustible producido (Lewis 1993; Pimentel y Patzek 2005). En cualquier caso, es esencial optimizar la eficiencia energética en cada una de las fases de los procesos productivos de los biocombustibles. Mientras que no hay discusión acerca de que la producción de etanol a partir de caña de azúcar transcurre con balance energético considerablemente positivo –suministrando unas ocho veces más energía que la utilizada en su producción– se sigue discutiendo si el balance a partir de maíz o cereales también lo es, o si el contenido energético del combustible renovable es inferior al de los aportes de energía fósil en los diferentes estadios del proceso, desde que se planta la semilla a la destilación del alcohol.

Las aproximaciones más exhaustivas al análisis energético de los ciclos de vida de los biocombustibles predominantes en Estados Unidos se decantan por asignarles un balance energético neto positivo, si bien se admite que el etanol de maíz sólo rinde 25% más energía que la que se requiere para producirlo, mientras que el biodiésel procedente de soja rinde un 93% (Hill et al. 2006). De acuerdo con otro estudio reciente del Centro Común de Investigación (Joint Research Centre, JRC) de la Comisión Europea, la ganancia energética para el etanol procedente de trigo es de un 15%, siendo de un 59% para el biodiésel derivado de aceite de girasol. Debe señalarse que en el caso del etanol procedente de cereales, el balance energético neto sólo resulta positivo cuando se computa el crédito energético correspondiente a los residuos del grano, utilizables como pienso para ganadería. Cuando se considera la reducción de emisiones de CO₂ que conlleva reemplazar carburantes fósiles por biocombustibles, los valores calculados son de un 41% para el caso de la sustitución de gasóleo por biodiésel de soja y de un 12% para la sustitución de gasolina por etanol de maíz (Hill et al. 2006).

De acuerdo con recientes estimaciones económicas, los costos de producción de etanol más bajos (32 \$ USA por barril) corresponden al etanol de caña, siendo 2,3 y 4,1 veces superiores el de maíz y de trigo, respectivamente. En el caso del etanol, no sólo el costo de la materia prima es determinante, sino que los costos de los procesos de producción influyen también decisivamente sobre el precio final del producto. En el caso del biodiésel, el precio del aceite representa alrededor del 80% de su precio final.

5.1. Bioetanol

El etanol es un atractivo combustible líquido alternativo (Agarwal 2007), cuyo valor como carburante se identificó hace décadas. Empleado por Henry Ford en sus primeros automóviles, el etanol producido a partir de materiales biológicos representaba su opción como combustible idóneo para automoción a la hora de diseñar el modelo T. Sin embargo, ya en los inicios del siglo XX la gasolina se convirtió en el combustible dominante para transporte, tanto por su adaptabilidad a la tecnología de motores de la época, como por su bajo precio, asociado al masivo descubrimiento de pozos de petróleo. En relación a la gasolina, el etanol tiene un mayor índice de octano. Su mezcla con la gasolina mejora el rendimiento y reduce las emisiones contaminantes en los motores de combustión, distinguiéndose entre las distintas combinaciones, como sigue. El combustible **E5** contiene 5% de etanol y 95% de gasolina, siendo la mezcla actualmente autorizada por la regulación europea. **E10** contiene 10% de etanol en gasolina normal, siendo la mezcla más utilizada en estados Unidos y la que podría autorizarse en breve para Europa. **E5** y **E10** pueden utilizarse sin ninguna modificación del motor. **E85**, **E95** son mezclas con gasolina conteniendo 85 y 95% de etanol, que requieren motores especiales para su uso, como también es el caso para el etanol absoluto (**E100**). El etanol es también materia prima para la síntesis de **ETBE** (etil terc-butil éter), un aditivo de la gasolina, menos volátil y más miscible que el etanol, que se combina en proporciones del 10 al 15% con la gasolina, aumenta el índice de octano y evita la adición de anti-

detonantes conteniendo plomo. Adicionalmente, el etanol puede mezclarse con gasóleo para generar el combustible **E-diésel** para motores de compresión-ignición, con mejora en la combustión y reducción de la contaminación, que ya se comercializa en España.

En los últimos años se ha asistido a un espectacular desarrollo de la producción fermentativa de etanol a partir de sacarosa de la caña de azúcar (Brasil) y remolacha (Francia) o de almidón procedente de maíz (Estados Unidos, Canadá) trigo, cebada (Europa) para su empleo como aditivo de la gasolina o como carburante directo. El caso del etanol constituye, sin duda, el ejemplo más interesante de materialización de las potencialidades de la biomasa para la generación de un biocombustible específico. La producción de bioetanol por fermentación se inició con carácter masivo por Brasil en 1975, con la puesta en marcha del programa Proalcool, habiendo alcanzado en 2007 una cantidad cercana a los 23.000 millones de litros. En Brasil, el etanol cubre un 40% de las necesidades de combustible para el sector del transporte. Si bien Brasil ha venido siendo el principal productor de bioetanol y continúa contribuyendo significativamente al actual total mundial de 50.000 millones de litros al año, la mitad de esta producción se localiza actualmente en Estados Unidos (Tollefson 2008). De hecho, la industria norteamericana de biocombustibles se ha constituido en la mayor del mundo, consumiendo cerca de la cuarta parte de la producción de maíz del país, para cubrir un 3% de su consumo de combustible para automoción. En Europa la actividad generadora de etanol, a partir de remolacha en Francia y de cebada o trigo en España y otros países, no es tan intensa, suponiendo unos mil millones de litros al año, siendo especialmente relevante el caso español, con una producción de unos 300 millones de litros en 2007. El consumo de bioetanol en España se mantiene en torno a 180 millones de litros, exportándose el resto. En España el etanol no se mezcla directamente con la gasolina, sino tras su combinación con isobutileno para producir el antidetonante oxigenado ETBE.

5.2. Biodiésel

Los aceites vegetales han de ser modificados para aproximar sus propiedades relacionadas con la combustión a las del combustible diésel mineral (gasóleo o gasoil). Los aceites base para la fabricación de biodiésel se componen mayoritariamente de triglicéridos, en los que tres moléculas de ácido graso están esterificadas con una molécula de glicerol. Los triglicéridos se hacen reaccionar con exceso de metanol en una reacción de transesterificación o alcoholisis, generándose, con un rendimiento superior al 98%, ésteres metílicos de los ácidos grasos (biodiésel), y glicerol como subproducto. El etanol puede reemplazar al metanol en la transesterificación (Agarwal 2007).

Dejando de lado al procedente de grasas animales o de aceites vegetales usados previamente para freír, el término biodiésel hace en general referencia a aquel que procede de la transformación de aceites vegetales vírgenes, comestibles o no. Sólo (**B100**) o mezclado en cualquier proporción con aceite mineral (gasóleo) se comporta como adecuado carburante en motores de compresión-ignición (diésel), sin requerir prácticamente modificación alguna, y resultando en una reducción considerable de emisiones

de hidrocarburos sin quemar, monóxido de carbono y material particulado. El nivel de mezcla con gasóleo se refiere como **Bxx**, donde xx indica el contenido de biodiésel en la mezcla (por ejemplo, en **B20**, la mezcla más utilizada internacionalmente, la proporción de biodiésel es del 20%). Rudolf Diesel, inventor del motor que lleva su nombre, proyectó el mismo para funcionar con una variedad de carburantes, incluyendo polvo de carbón suspendido en agua, aceite mineral pesado y aceites vegetales. Cuando presentó su motor en la exposición Universal de París, en 1900, el combustible con que funcionaba era aceite de cacahuete. Las dos siguientes frases de Diesel ilustran la profundidad y amplitud de su visión: “El motor diésel puede funcionar con aceites vegetales, lo que podría contribuir considerablemente al desarrollo de la agricultura de los países que lo usen”; “El empleo de aceites vegetales como carburante puede parecer insignificante hoy (en 1912), pero estos aceites pueden llegar a ser, con el curso del tiempo, tan importantes como actualmente son los productos del petróleo y el alquitrán de carbón”.

En los años treinta y cuarenta los aceites vegetales se emplearon de vez en cuando como sustitutos del gasóleo, si bien solo en situaciones de emergencia. Recientemente se ha revitalizado la relevancia del biodiésel como combustible de generación renovable, habiéndose promovido su empleo en muchos países. Dependiendo de las condiciones climáticas y las propiedades de los suelos, se contemplan distintas fuentes de aceite vegetal. Soja en Estados Unidos, colza y girasol en Europa, palma aceitera (palma africana, *Elaeis guineensis*) en el Sureste asiático, coco en Filipinas, constituyen a priori las opciones más apropiadas en cada caso. Sin embargo, la creciente demanda del sector energético, impulsada en muchos casos por regulaciones estatales y regionales, así como los requerimientos de materia prima para las plantas de producción instaladas en los países más industrializados, ha estimulado el trasiego de aceites vegetales alrededor del mundo, para su transformación y uso como biodiésel. En 2007, la producción de biodiésel en Estados Unidos superó los 9 millones de toneladas alcanzando la de Argentina unos 8 millones de toneladas, de la que exportó casi el 95%. Europa es un importante consumidor de biodiésel (unos 8 millones de toneladas en 2007), si bien descansa ampliamente en la importación, tanto del producto manufacturado como de los aceites vegetales básicos para su producción. La capacidad española instalada para la producción de biodiésel a final de 2007 se aproximó al millón de toneladas al año, si bien el consumo nacional fue de solo 300.000 toneladas, de las cuales sólo la mitad se produjo en plantas españolas, importándose de Estados Unidos unas 150.000 toneladas de biodiésel procedente de soja, subvencionado en origen. La agricultura española produce menos del 10% del aceite vegetal base para la producción de biodiésel, habiendo de recurrirse a la importación masiva de materia prima de soja, maíz o palma aceitera para completar el volumen requerido. La situación del sector en España, bajo diversas perspectivas y, sobre todo, desde la de la independencia energética es ciertamente peregrina.

5.3. *¿Alimento y combustible para todos?*

La disyuntiva “combustible frente a alimento”, en relación al uso final de una materia prima vegetal con la doble opción, planea sobre el presente y futuro de los biocombustibles, introduciendo cuestiones sociales, económicas y éticas de alcance (Cassman y Liska 2007; Hall 1995). No puede olvidarse que no solo aumenta la demanda de energía, sino también, y muy principalmente, la de alimentos, previéndose la necesidad de aumentar un 50% la producción de estos últimos de aquí a 2030. No va a ser fácil compatibilizar el desarrollo de cultivos para generar biocombustibles con el requerido a su vez para satisfacer la ingente necesidad de comida. En principio, la respuesta a la cuestión de si el producto de una cosecha debe utilizarse preferentemente para la alimentación o como combustible, ha de decidirse en función de las circunstancias particulares de cada región o país, sin que puedan ofrecerse reglas generales. La producción de biocombustibles a escala moderada, preferentemente en terrenos marginales, para satisfacer necesidades acotadas de consumo local no parece objetable a priori, sino digna de consideración y estímulo. Por lo demás, ésta es una cuestión que se presentará como contencioso no fácil de resolver siempre que se considere la alternativa de cultivos agroalimentarios frente a cultivos agroenergéticos, destinados específicamente a la producción de biomasa para combustible. Por descontado que lo ideal sería emplear para fines energéticos tierras marginales y residuos agrícolas que no compitieran con los cultivos para la producción de alimentos, aunque es inevitable que sean criterios de tipo social, económico y político los que finalmente determinen la decisión a adoptar. En nuestra globalizada sociedad, serán las reglas del mercado global las que, con carácter general, predominarán sobre otro tipo de consideraciones.

El incremento registrado en la producción de biocombustibles, junto al aumento en el precio del petróleo y al de una crecida demanda por parte de algunas economías emergentes, parece ser principal agente causante del brusco aumento de los precios de los principales productos agrícolas de gran consumo, pese a la relativa suficiencia en el suministro de los mismos (Cassman y Liska 2007). Los precios de algunas de estas materias primas agrícolas se han duplicado entre 2006 y 2007, y mantienen su escalada en lo que va de 2008. Se hace posible, pues, la paradoja de que los precios de las cosechas que puedan emplearse como alimento y para generar combustibles vengan determinados principalmente por su coste como materia prima de biocarburantes, más que por su valor como alimento humano o pienso para animales. El conjunto de razones anteriormente apuntado, junto a intervenciones de índole especulativa en el mercado mundial de futuros han determinado una distorsión de la estructura de precios del grano y otras ‘mercancías’ vegetales utilizables como materias primas para producir biocombustibles, que son objeto de comercio en los mercados mundiales. Por una parte, el aumento de los precios de los alimentos básicos incrementa los riesgos de hambre para los más pobres. Por otro, los desafíos que suscita la actual revolución de los biocombustibles podrían ser aprovechados por algunos países hoy en desarrollo, y por la sociedad rural en general, para aumentar su bienestar económico. En Europa, siguiendo directrices de la Política Agraria Común, se han dejado en barbecho dos millones de hectáreas, que podrían

ponerse de nuevo en juego para cultivos agroenergéticos. El cumplimiento del vigente Plan de Energías Renovables en España demandaría dedicar en nuestro país más de un millón de hectáreas al cultivo de colza (o el equivalente de girasol) para biodiésel, junto a más de tres millones de hectáreas de cereal para la producción de etanol.

Una cuestión clave en relación a la productividad agrícola es si ésta puede crecer a tasas suficientes para responder a la demanda combinada de alimentos y combustibles, lo que se requeriría especialmente durante la prevista transición desde los biocombustibles denominados de primera generación, procedentes de fuentes con valor alimentario, a los de segunda generación, con origen en materia prima vegetal no apta para alimento (Somerville 2007), como sería el etanol generado a partir de materiales lignocelulósicos o el biodiésel de aceite no comestible de oleaginosas herbáceas alternativas, tales como jatrofa (*Jatropha curcas*) o pongamia (*Pongamia pinnata*). En esta transición se requieren aumentos de productividad de las principales cosechas en las que se basan actualmente los biocombustibles. A título de ejemplo, la productividad de las plantaciones de maíz en Estados Unidos ha aumentado durante los últimos cuarenta años, a un ritmo sostenido del 1,2% anual ($112 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$), sobrepasando en la actualidad las $9 \text{ ton ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Las actuales predicciones duplican esta tasa de aumento, para alcanzar de aquí a treinta años una productividad doble de la actual (Cassman y Liska 2007). Las mejoras de productividad mencionadas se han basado en una poderosa actividad de investigación y desarrollo tecnológico que ha alcanzado a las técnicas agronómicas en su conjunto, incluyendo mejora genética, irrigación, fertilización, manejo del suelo y tratamiento de plagas. Descontando la introducción, a mediados de los 90, de variedades transgénicas resistentes a insectos (maíz *Bt*), así como la incorporación de resistencia a herbicidas a través de un carácter específico, y a pesar de inversiones de cientos de millones de dólares en genómica e ingeniería genética, no parece que hayan existido otras grandes aportaciones de la biotecnología vegetal, si bien se mantienen considerable expectativa al respecto (Sasson 2006; Sticklen 2006; Torney et al. 2007)). De cualquier forma, el desafío no se limita a producir cosechas suficientes, al menos durante el periodo transitorio apuntado, para cubrir los requerimientos alimentarios de una población incrementada a la vez que la demanda de biocombustibles, sino que el objetivo debe lograrse en forma adecuada bajo la perspectiva medioambiental, protegiendo los recursos naturales, la calidad de suelos y aguas, y reduciendo las emisiones contaminantes. El reto para investigadores, empresas del sector y los propios agricultores es ciertamente colosal.

Ingentes son, asimismo, las oportunidades que se le presentan a la biotecnología, no ya en su influencia sobre la cantidad y calidad de las cosechas, sino en relación a su intervención en los procesos de transformación de la biomasa en combustibles, así como en la definición de estos últimos. Entre las actuaciones de la moderna biología aplicada se encuadran tanto la *ingeniería metabólica*, para desplazar el metabolismo de un organismo hacia la generación preferente de un producto específico, como la *biología sintética*, para modificar microorganismos bajo diseño, creando nuevas entidades biológicas que generen moléculas novedosas (Savage et al. 2008). Como ejemplo, existen actualmente iniciativas dirigidas a la producción de alcoholes de mayor densidad energética que el etanol y propiedades más compatibles con su conducción por tuberías,

tal como el 1-butanol. Se diseñan también bacterias y levaduras que produzcan hidrocarburos específicos o moléculas análogas a las constituyentes de la gasolina y el gasóleo. Como ya se ha mencionado, la conversión de celulosa y lignocelulosa en combustibles como el etanol, objetivo largamente pretendido que abriría la puerta a los combustibles de segunda generación, requiere del desarrollo de nuevos organismos y enzimas a través de una intensa actividad investigadora (Poterá 2006; Ragauskas et al. 2006).

El objetivo de propiciar la utilización de la celulosa para combustible se enlaza también con la necesidad de definir fuentes alternativas de celulosa con elevada productividad y bajos requerimientos de calidad de suelo y nutrientes, para futuras plantaciones energéticas. En este sentido, se han sugerido para ello plantas herbáceas como el mijo perenne (*Panicum virgatum* L.), que se desarrolla abundantemente en praderas o el *Miscanthus giganteus*, pariente de la caña de azúcar (Pimentel 2007; Schmer et al. 2008).

Ante la deriva hacia la generación de más suelo cultivable para nuevas plantaciones agrícolas, transformando bosques y praderas, se ha reclamado recientemente atención sobre el costo medioambiental que estas actuaciones conllevan (Fargione et al. 2008; Searchinger et al. 2008). Se estima que la puesta en uso agrícola para la generación de combustibles de terrenos en ecosistemas silvestres estabilizados conlleva un claro déficit de carbono. Dicho déficit sobrepasa ampliamente la reducción de emisiones asociada a la sustitución de combustible fósil por el correspondiente biocombustible, habiéndose valorado que se requieren entre 17 y 420 años para compensar tal “deuda de carbono”. En cambio, la producción de combustibles a partir de residuos vegetales o de cosechas cultivadas en tierras agrícolas abandonadas parece ofrecer ventajas inmediatas y sostenidas en relación al balance de carbono. En este contexto, la demanda en los mercados mundiales de aceite para la producción de biodiésel ha estimulado un inmenso esfuerzo en Indonesia y otros países del área para la transformación masiva de tierras en plantaciones agrícolas de palma aceitera, cuya producción ha de duplicarse en pocos años. En contraposición a las indudables ventajas para el progreso económico que esto implica para los países y zonas afectadas, la destrucción (mediante el fuego) de las áreas necesarias de bosque tropical, además de contrarrestar eventuales ventajas energéticas de la palma aceitera, amenaza la continuidad de una diversidad de fauna, ya en peligro de extinción.

No quisiera terminar este apartado sin referirme a recientes evaluaciones sobre la espectacular huella global del hombre en sus intervenciones sobre los ecosistemas terrestres, a la magnitud del espectacular impacto sobre la biosfera de una sola especie. La incidencia que el empleo de la tierra por el hombre tiene sobre la biomasa disponible, lo que se ha bautizado como “apropiación humana de la producción primaria neta”, se evalúa en más de 3×10^{16} g de biomasa por año ($15,6 \text{ Pg C año}^{-1}$, Haberl et al. 2007), esto es, alrededor de la cuarta parte de la productividad primaria terrestre neta.

Un 53 % de la ‘apropiación’ se identifica con la biomasa que el hombre retira del ecosistema, el 7% se adscribe a fuegos provocados por la actividad humana, correspondiendo el 40% restante a alteraciones de la productividad por cambio de uso del suelo. Estas modificaciones humanas de la utilización del suelo transforman la superficie terrestre y provocan cambios en los ciclos biogeoquímicos y un deterioro de la capacidad

de los ecosistemas para cubrir necesidades críticas para el bienestar humano. Teniendo en cuenta lo anterior, se hace necesario considerar cuidadosamente las sustituciones a gran escala de combustibles fósiles por biocombustibles, ya que el correspondiente aumento en la retirada de biomasa podría ocasionar una considerable presión adicional sobre los ecosistemas (Haberl et al. 2007; Righelato y Spracklen 2007).

5.4. *Microalgas y biocombustibles*

La consideración de los cultivos de microalgas como fuente potencial de combustibles se encuentra en los orígenes de la biotecnología de microalgas, siempre vinculada a la posibilidad del establecimiento de dichos cultivos en terrenos desérticos o baldíos, prácticamente inertes bajo el punto de vista de la productividad agrícola.

Carbohidratos y lípidos son dos de los principales constituyentes de las de microalgas. Por ello, la biomasa de estos microorganismos constituye también una potencial materia prima para la producción de biocombustibles, tras extraer, separar y transformar adecuadamente los correspondientes principios inmediatos. Mientras que no se enfatizado la opción de generar bioetanol por fermentación de sus componentes glucídicos, la posibilidad de emplear biomasa de microalgas para la generación de biodiésel se ha promovido recientemente con gran fuerza y reclama considerable atención e interés por parte de los sectores científico, industrial y económico.

La consideración de las microalgas a este fin se basa esencialmente en la constatación de la baja productividad de las plantas oleaginosas y de su consecuente bajo rendimiento referido a aceite, que oscila desde unos 400 l ha⁻¹ para la soja hasta 4.000-6.000 l ha⁻¹ para la palma aceitera. Comparativamente, teniendo en cuenta los elevados valores de productividad potencial que algunos estiman para los cultivos de microalgas, así como que algunas estirpes contienen lípidos en proporción superior al 30% de la biomasa seca, se han proyectado tasas de producción para aceite de microalgas superiores a 100.000 l ha⁻¹ (Chisti 2007, 2008; Gross 2007; Haag 2007). Otros apoyos a la opción “microalgas para biodiésel” vienen de la posibilidad de emplear terrenos baldíos para su cultivo y de la oportunidad de cubrir los requerimientos de CO₂ a partir del contenido en los gases de escape de centrales de generación de energía eléctrica o de otras plantas industriales, tales como cementeras o instalaciones productoras de etanol. De acuerdo con estas estimaciones, las microalgas representarían la única fuente de biodiésel con potencial para desplazar al gasóleo, ya que la superficie de terreno necesaria para generar una producción de aceite de microalgas que garantice la sustitución de la mitad del combustible para automoción en un país de elevado consumo, como Estados Unidos, representaría sólo alrededor del 2% de la superficie que actualmente se emplea en agricultura. De mantenerse el aceite de soja como la fuente de biodiésel, se necesitaría una superficie doscientas cincuenta veces mayor. El biodiésel generado a partir del aceite de microalgas, por otra parte, corresponde al modelo de biocombustible de segunda generación, ya que la materia prima no constituye actualmente un alimento.

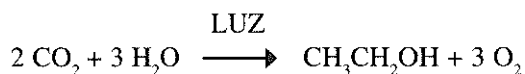
Dependiendo de la estirpe, las microalgas producen una variedad de lípidos, hidrocarburos y otros aceites complejos. No todo el aceite de microalgas sería adecuado para su transformación en biodiésel, aunque sí una parte considerable del mismo. En general, los ácidos grasos poliinsaturados, frecuentes entre los lípidos de microalgas no están entre los preferidos para la generación de biodiésel, requiriéndose probablemente un paso previo de hidrogenación catalítica parcial del aceite.

La producción de aceite de microalgas requiere el desarrollo de las capacidades para producir, a costo moderado, grandes cantidades de biomasa rica en ácidos grasos. Ciertamente los cálculos empleados para estimar el antes mencionado potencial de las microalgas se basan en valores optimistas, todavía por demostrar, tanto para la productividad media anual de los cultivos como para el nivel celular de ácidos grasos convertibles en biodiésel en poblaciones creciendo activamente. De cualquier forma, la materialización de una productividad calculada en base a estimaciones más realistas, que reducirían los señalados a su quinta parte (20.000 l aceite ha⁻¹ año⁻¹), sigue presentando gran atractivo, si bien la reducción sustancial de los costos de producción representa también un importante objetivo estratégico. Muestra del interés que ha suscitado la idea de emplear algas para generar biodiésel es la creación de un importante número de empresas, y la movilización de capital en cantidades considerables con este fin, en los dos últimos años. Algunas de estas nuevas compañías invocan la posesión de novedosas tecnologías exclusivas, que comportan valores de productividad tan elevados que incluso sobrepasan los límites de eficiencia del proceso fotosintético. A este respecto, es importante señalar que el desarrollo de una tecnología de microalgas como la considerada, de indudable potencial que hay que contrastar adecuadamente, corre el riesgo de desacreditarse por no llegar a cubrir expectativas inalcanzables, débilmente fundamentadas.

A la hora del establecimiento de un proceso de producción de microalgas como fuente de lípidos para biodiésel ha de considerarse un conjunto de factores y parámetros, todavía por definir con precisión, y que probablemente hayan de variar de acuerdo con la localización y condiciones de la instalación de cultivo. Así, los factores a concretar se extienden desde la cepa o estirpe idónea al sistema de cultivo y las condiciones de operación. En principio, las cianobacterias no serían los organismos más adecuados al fin propuesto, ya que sus niveles de lípidos no suelen superar el 10% de la biomasa seca (Vargas et al. 1998), mientras que para algunas microalgas eucarióticas se han citado contenidos superiores al 50% (Chisti 2007). De cualquier forma, tanto o más que rica en lípidos, la microalga debe ser productiva en las condiciones adversas propias del cultivo a la intemperie, por lo que a este último criterio debería asignársele la debida relevancia y prioridad. Nuestro grupo se encuentra actualmente precisando y definiendo caracteres básicos relativos a la microalga y al proceso. La nutrición nitrogenada tiene notable influencia sobre el nivel, e incluso el perfil, de ácidos grasos de las microalgas. Su contenido en lípidos suele aumentar en respuesta a la carencia o deficiencia de nitrógeno en el medio de cultivo, una faceta que será sin duda relevante a la hora de diseñar estrategias para maximizar la producción de aceite y optimizar su perfil lipídico.

Un objetivo de productividad anual que pudiera considerarse realista para las condiciones climáticas de Sevilla y las tecnologías actualmente disponibles, estaría en torno a 20 toneladas de aceite por hectárea, lo que corresponde a una producción media de 25 g de biomasa seca $\text{m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ con un contenido en ácidos grasos entre 25 y 30%, y para una operación efectiva de 300 días al año. De conseguirse tal productividad, podría aspirarse a aumentarla a través de los correspondientes desarrollos. Quedarían por verificar la adecuada economía de la producción, así como el balance energético positivo de la misma, considerando los necesarios aportes de energía fósil en relación al contenido energético de los productos. La bondad de estos balances dependería en gran medida de una adecuada gestión integral de los nutrientes (utilización de CO_2 de gases de escape como fuente de carbono, reciclaje del medio de cultivo, etc.), así como de un aprovechamiento integral de la biomasa producida, que contemple la utilización del material resultante de la extracción del aceite como materia prima para otros productos o procesos. La digestión anaeróbica de los residuos podría generar energía en forma de gas metano, convertible en electricidad, para su uso en la operación del sistema.

En cuanto a los alcoholes, éstos no son producto frecuente del metabolismo de microalgas o cianobacterias, si bien se ha constatado su producción fermentativa por algunas estirpes en condiciones anaeróbicas o microaeróbicas, escasamente compatibles con un metabolismo fotoautotrófico. La posibilidad de su generación fotosintética en condiciones aeróbicas se encuentra confirmada por la acumulación y liberación de glicerol en respuesta a estrés salino puesta de manifiesto para algunas especies, como *Dunaliella* o *Chlamydomonas*, si bien el alcohol producido en este caso es de bajo valor y nula demanda. Sin embargo, la producción por vía fotosintética de etanol (o butanol) a partir de carbono inorgánico por microalgas, de acuerdo con la siguiente reacción global para el primer caso, representa un fascinante objetivo.



Por un lado, con energía solar y dióxido de carbono se sintetiza directamente un biocombustible con variedad de aplicaciones prácticas. Por otra parte, el proceso elimina CO_2 . El metabolismo biosintético del carbono en estos organismos se basa en la fijación del CO_2 catalizada por la enzima RubisCO, integrada en el ciclo reductivo de las pentosas fosfato, capaz de regenerar ribulosa 1,5 bisfosfato, sustrato de la RubisCO. En general, a partir de triosas (o hexosas) fosfato, las cianobacterias y microalgas diversifican el metabolismo del carbono hacia una amplia gama de reacciones metabólicas, entre las que cabe destacar, por un lado, la síntesis de polisacáridos de reserva (como glucógeno o almidón) y, por otro, la utilización y conversión de las triosas y hexosas en acetil-CoA, compuesto esencial para la síntesis de 2-oxoglutarato, cetoácido crucial y básico en la integración de los metabolismos de carbono y nitrógeno. La vía metabólica más eficiente para la síntesis de etanol a partir de carbono fijado utiliza el piruvato como metabolito de partida, el cual, por acción de la enzima piruvato decarboxilasa, se transforma en acetaldehído. Este metabolito es, a su vez, reducido a etanol

por la acción de la alcohol deshidrogenasa (ADH), que utiliza poder reductor en forma de NAD(P)H.

La consecución de microorganismos fotoproductores de etanol requiere, en primer término, conocer el funcionamiento y regulación de la expresión de genes y proteínas ya operativos implicados en las rutas fermentativas. La modificación de la regulación de dichos genes mediante promotores adecuados permitiría su modulación, al objeto de conseguir su operatividad en condiciones de luz y aerobiosis. Adicionalmente, a través de la transferencia de genes de otros organismos, podría dotarse a cianobacterias y microalgas que no lo posean del equipamiento enzimático adecuado para la generación de etanol, así como de elementos de control idóneos.

Existe un precedente en relación a manipulación genética de cianobacterias enfocada a la producción de etanol (Deng y Coleman 1999), en que se transformó a *Synechococcus* sp. PCC 7942 utilizando el plásmido autorreplicativo pCB4, conteniendo los genes *pdh* y *adhB* de la bacteria fermentativa *Zymomonas mobilis* bajo el control de un promotor constitutivo. Los valores de producción de etanol por los transformantes obtenidos eran extremadamente reducidos, muy por debajo de lo normal en bacterias fermentativas, por lo que no resultó viable la utilización de dicha estirpe de *Synechococcus* para la producción de etanol. El trabajo que ahora desarrollamos en nuestro grupo con la cianobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803 supone un avance significativo en alcance respecto a este antecedente, ya que se ha conseguido integrar en el genoma de *Synechocystis* genes de *Zymomonas* que codifican enzimas necesarias para completar el equipo enzimático necesario para la producción de etanol a partir de piruvato, junto a promotores endógenos efectivos, que permiten la adecuada modulación y control de la expresión de dichos genes.

En diversos transformantes de *Synechocystis* hemos verificado la correcta integración en el genoma de los genes introducidos y de su adecuada expresión en un único ARNm bajo condiciones de inducción, habiendo constatado, asimismo, actividad de las enzimas clave en extractos. Permanecen por verificar las tasas de producción de etanol por los transformantes, aunque los valores inicialmente evaluados superan ampliamente a los que se obtuvieron en *Synechococcus*. A partir de ese punto se intentará mejorar la productividad, optimizando condiciones y sistemas de producción, así como emprender actuaciones de ingeniería metabólica que se traduzcan en la canalización preferente del carbono fijado fotosintéticamente hacia piruvato, al objeto de maximizar en lo posible la efectividad de la fotoproducción de etanol a partir de CO₂.

De manera que se dibuja un prometedor, a la vez que desafiante, futuro para la investigación aplicada en microorganismos fotosintéticos, que ahora se polariza también a la resolución de problemas de alcance global, como son la producción de biocombustibles y la reducción de gases de efecto invernadero. Esta nueva perspectiva supone un importante cambio de orientación y escala de la Biotecnología de microalgas, pasando de la producción de cantidades significativas, pero modestas, de compuestos específicos de alto valor añadido a la de toneladas de materiales con el carácter de mercancía (commodity), a la que responden el grano de cereal o las semillas oleaginosas a las que sustituir o complementar.

Desde hace unos tres mil millones de años, las cianobacterias, primero solas y más tarde en conjunción con las microalgas, oxigenan la atmósfera del planeta. De hecho, la fotosíntesis oxigénica microbiana posibilitó la aparición y el desarrollo del metabolismo aeróbico, una verdadera revolución bioenergética, que conmocionó la biosfera, posibilitando la aparición y evolución de un sinnúmero de formas multicelulares de vida que pasaron a dominar la Tierra. Puede que cianobacterias y microalgas estén ahora llamadas a participar en una nueva revolución, en simbiosis con el hombre, colaborando a la resolución de la triple crisis, alimentaria, energética y medioambiental, que afrontamos. Aunque no me atreva a pronosticar en que medida, ni en cuanto tiempo, sí estoy plenamente convencido de que valdrá la pena participar en la aventura que supone intentarlo desde la ciencia. Para ello sigo siendo afortunado, ya que cuento con la inestimable compañía de Pepe Moreno, Mercedes García González, Javier Florencio, Esperanza del Río, Rebeca Vidal y Marta Esteban, a quienes agradezco su trabajo, entrega y entusiasmo.

Gracias también a todos ustedes por su atención y por haberme acompañado en este momento y lugar.

He dicho.

6. REFERENCIAS

- ABALDE, J., CID, A., FIDALGO, P., TORRES, E., HERRERO, C. (1995). Microalgas: cultivo y aplicaciones. Universidade da Coruña, Coruña.
- ACIÉN-FERNÁNDEZ, F.G., FERNÁNDEZ-SEVILLA, J.M., SÁNCHEZ-PÉREZ, J.A. (2007). Photosynthetic microorganisms and valuable products. En Encyclopedia of life support systems. EOLSS Publ Co.
- AFLALO, C., MESHULAM, Y., ZRKA, A., BOUSSIBA, S. (2007). On the relative efficiency of two- vs one-stage production of astaxanthin by the green alga *Haematococcus pluvialis*. Biotechnol Bioeng 98:300-305.
- AGARWAL, A.K. (2007). Biofuels (alcohols and biodiesel applications as fuels for internal combustion engines). Prog Energy Comb Sci 33:233-271.
- AMUNTS, A., DRORY, O., NELSON, N. (2007). The structure of a plant photosystem I supercomplex at 3.4 Å resolution. Nature 447:58-63.
- ARNON, D.I. (1992). Investidura como doctor honoris causa. Universidad de Sevilla, Sevilla.
- BARBER, J. (2006). Photosystem II: an enzyme of global significance. Novartis Medal Lecture. The Biochemical Society 619-631.
- BENEMANN, J.R. (1993). Utilization of carbon dioxide from fossil fuel-burning power plants with biological systems. Energy Convers Mgmt 34:9-11.
- BENEMANN, J.R. (1997). CO₂ mitigation with microalgae systems. Energy Convers Mgmt 38:S475-S479.
- BLANCO, A.M., MORENO, J., DEL CAMPO, J.A., RIVAS, J., GUERRERO, M.G. (2007). Outdoor cultivation of lutein-rich cells of *Muriellopsis* sp. in open ponds. Appl Microbiol Biotechnol 73:1259-1266.
- BOROWITZKA, M.A., BOROWITZKA, L.J., eds. (1988). Micro-algal biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- BUNGAY, H.R. (2004). Confessions of a bioenergy advocate. Trends Biotechnol 22: 67-71.
- CASSMAN, K.G., LISKA, A.J. (2007). Food and fuel for all: realistic or foolish?. Biofuels Bioprod Bioref 1:18-23.

- CERÓN-GARCÍA, M.C., GARCÍA-MALEA, M.C. RIVAS, J., ACIÉN, F.G., FERNÁNDEZ-SEVILLA, J.M., DEL RÍO, E., GUERRERO, M.G., MOLINA-GRIMA, M.C. (2007). Antioxidant activity of *Haematococcus pluvialis* cells grown in continuous culture as a function of their carotenoid and fatty acid content. *Appl Microbiol Biotechnol* 74:1112-1119.
- CHISTI, Y. (2006). Microalgae as sustainable cell factories. *Environm Eng Mgmt J* 5: 261-274.
- CHISTI, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25:294-306.
- CHISTI, Y. (2008). Biodiesel from microalgae beats ethanol. *Trends Biotechnol* 26: 126-131.
- DALE, B.E. (2007). Editorial: Why this new journal? *Biofuels Bioprod Bioref* 1:1-2.
- DE LA ROSA, M., GUERRERO, M.G., LOSADA, M. (1993). Fotosíntesis: sol, agua, tierra y aire. *Mundo Científico* 13:744-755.
- DEL CAMPO, J.A., RODRÍGUEZ, H., MORENO, J., VARGAS, M.A., RIVAS, J., GUERRERO, M.G. (2001). Lutein production by *Muriellopsis* sp. in an outdoor tubular photobioreactor. *J. Biotechnol* 85: 289-295.
- DEL CAMPO, J.A., GARCÍA-GONZÁLEZ, M., GUERRERO, M.G. (2007). Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 74:1163-1174.
- DEL RÍO, E., ACIÉN, F.G., GARCÍA-MALEA, M.C., RIVAS, J., MOLINA-GRIMA, E., GUERRERO, M.G. (2005). Efficient one-step production of astaxanthin by the microalga *Haematococcus pluvialis* in continuous culture. *Biotechnol Bioeng* 91:808-815.
- DEL RÍO, E., ACIÉN, F.G., GARCÍA-MALEA, M.C., RIVAS, J., MOLINA-GRIMA, E., GUERRERO, M.G. (2008). Efficiency assessment of the one-step production of astaxanthin by the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnol Bioeng* 100:397-402.
- DENG, M-D., COLEMAN, J.R. (1999). Ethanol synthesis by genetic engineering in cyanobacteria. *Appl Environm Microbiol* 65:523-528.
- FARGIONE, J., HILL, J., TILMAN, D., POLASKY, S., HAWTHORNE, P. (2008) Land clearing and the biofuel carbon debt. *Science* 319:1235-1238.
- FLORES, E., GUERRERO, M.G., LOSADA, M. (1983a). Photosynthetic nature of nitrate uptake and reduction in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. *Biochim Biophys Acta* 722:408-416.
- FLORES, E., RAMOS, J.L., HERRERO, A., GUERRERO, M.G. (1983b). Nitrate assimilation in cyanobacteria. En *Photosynthetic prokaryotes: cell differentiation and function* (Papageorgiou GC, Packer L, eds.). Elsevier North Holland, Amsterdam, pp. 363-387.
- FLORES, E., ROMERO, J.M., GUERRERO, M.G., LOSADA, M. (1983c). Regulatory interactions of photosynthetic nitrate utilization and carbon dioxide fixation in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. *Biochim Biophys Acta* 725: 529-532.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, M., MORENO, J., CAÑAVATE, J.P., ANGUIS, V., PRIETO, A., MANZANO, C., FLORENCIO, F.J., GUERRERO, M.G. (2003). Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. *J Appl Phycol* 15:177-184.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, M., MORENO, J., MANZANO, J.C., FLORENCIO, F.J., GUERRERO, M.G. (2005). Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-*cis*- β -carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor. *J Biotechnol* 115:81-90.
- GROSS, M. (2007). Algal biofuel hopes. *Current Biol* 18.R46.
- GUERRERO, M.G. (1982). Aprovechamiento de la energía solar mediante su conversión biológica. En *Energías renovables y medio ambiente* (García Gallado M, coord.). CEOTMA, Ministerio Obras Públicas y Urbanismo, Madrid, pp. 23-34.
- Guerrero, M.G., Lara, C. (1987). Assimilation of inorganic nitrogen. En *The Cyanobacteria* (Fay P, Van Baalen C, eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 79-85.
- GUERRERO, M.G., LOSADA, M. (1983). Conversión biológica de la energía solar. *Mundo Científico* 3: 616-630.
- GUERRERO, M.G., LOSADA, M. (1991). producción fotosintética de compuestos de interés práctico por microalgas. En *Fijación y movilización biológica de nutrientes*, vol 1: Fotosíntesis aspectos

- fisiológicos y de estrés (Lopez Gorjé J, coord.). Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, pp. 169-182.
- GUERRERO, M.G., VEGA, J.M., LOSADA, M. (1981). The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. *Annu Rev Plant Physiol* 32:169-204.
- HAAG, A.L. (2007). Algae bloom again. *Nature* 447:520-521.
- HABERL, H., ERB, H., KRAUSMANN, F., GAUBE, V., BONDEAU, A., PLUTZAR, C., GINGRICH, S., LUCHT, W., FISCHER-KOWALSKI, M. (2007). Quantifying and mapping the human appropriation of net primary production in earth's terrestrial ecosystems. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:12942-12947.
- HALL, D.O. (1995). Providing energy and food for all. *People and the planet* 4, 15-17.
- HALL, D.O. (1997). Biomass energy in industrialized countries –a view of the future. *Forest Ecol Manag* 91:17-45.
- HALL, D.O., COOMBS, J., HIGGINS, I.J. (1985). Energy and biotechnology. En *Biotechnology. Principles and applications* (Higgins IJ, Best DJ, Jones J, eds.). Blackwell, Oxford, pp. 24-72.
- HALL, D.O., RAO, K.K. (1999). *Photosynthesis*, 6th ed. Cambridge University Press.
- HILL, J., NELSON, E., TILMAN, D., POLASKY, S., TIFFANY, D. (2006). Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:11206-11210.
- KHESHGI, H.S., PRINCE, R.C., MARLAND, G. (2000). The potential of biomass fuels in the context of global climate change: focus on transportation fuels. *Annu Rev Energy Environm* 25: 199-204.
- KERN, J., RENGGER, G. (2007). Photosystem II: Structure and mechanism of the water:plastoquinone oxidoreductase. *Photosynth Res* 94:183-202.
- LARA, C., GUERRERO, M.G. (1989). The photosynthetic assimilation of nitrate and its interactions with CO₂ fixation. En *Techniques and new developments in photosynthesis research* (Barber J, Malkin R, eds.). Plenum, New York, pp. 393-411.
- LARA, C., GUERRERO, M.G. (1997). Interactions between carbon and nitrogen metabolism. En *Cyanobacterial nitrogen metabolism and environmental biotechnology* (Rai AR, ed.). Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 131-153.
- LARA, C., DE LA TORRE, A., GUERRERO, M.G., LOSADA, M. (1986). Fotosíntesis. En *Bioquímica* (Herrera E, ed.). Interamericana, México, pp. 445-476.
- LARSON, E.D. (1993). Technology for electricity and fuels from biomass. *Annu Rev Energy Environm* 18: 567-630.
- LIN, Y., TANAKA, S. (2006). Ethanol fermentation from biomass resources. *Appl Microbiol Biotechnol* 69:627-642.
- LOSADA, M., GUERRERO, M.G., DE LA ROSA, M., SERRANO, A., HERVÁS, M., ORTEGA, J.M. (1990). Sequential transduction of light into redox and acid-base energy in photosynthesis. *Bioelectrochem Bioenerg* 23:105-128.
- MADUEÑO, F., BORRIAS, W.E., VAN ARKEL, G.A., GUERRERO, M.G. (1988). Isolation and characterization of *Anacystis nidulans* R2 mutants affected in nitrate assimilation: establishment of two new mutant types. *Mol Gen Genet* 213:223-228.
- MOHEIMANI, N.R., BOROWITZKA, M.A. (2006). Limits to productivity of the alga *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. *Biotechnol Bioeng* 96:27-36.
- MORENO, J., VARGAS, M.A., OLIVARES, H., RIVAS, J., GUERRERO, M.G. (1998). Exopolysaccharide production by the cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047 in batch and continuous culture. *J Biotechnol* 60:175-182.
- MORENO, J., VARGAS, M.A., MADIEDO, J.M., MUÑOZ, J., RIVAS, J., GUERRERO, M.G. (2000). Chemical and rheological properties of an extracellular polysaccharide produced by the cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047. *Biotechnol Bioeng* 29:566-571.
- MORENO, J., VARGAS, M.A., RODRÍGUEZ, H., RIVAS, J., GUERRERO, M.G. (2003). Outdoor cultivation of a nitrogen-fixing marine cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047. *Biomol Eng* 20: 191-197.

- NELSON, N., BEN-SHEM, A. (2004). The complex architecture of oxygenic photosynthesis. *Nature Rev Mol Cell Biol* 5:1-12.
- NELSON, N., YOCUM, C.F. (2006). Structure and functions of photosystems I and II. *Annu Rev Plant Biol* 57:521-565.
- OMATA, T., KOBAYASHI, M., RODRÍGUEZ, R., GUERRERO, M.G., LARA, C. (1995). Molecular studies on the regulation of the nitrate/nitrite transporter of *Synechococcus* sp. PCC7942. En *Photosynthesis: from light to biosphere* (Mathis P, ed.). Kluwer, Amsterdam, vol 5, pp. 487-490.
- PADRONI, P.M., LAMENTI, G., PROSPERI, G., RITORTO, L., SCOLLA, G., CAPUANO, F., VALDISERRI, M. (2005). En *Greenhouse gas control technologies*, vol II (Wilson M, Morris T, Gale J, Thambimuthu, eds.), pp. 1037-1042.
- PIMENTEL, D., PATZEK, T.W. (2005). Ethanol production using corn, switchgrass, and wood; biodiesel production using soybean and sunflower. *Natural Resource Res* 14:65-76.
- POTERA, C. (2006). Progress with biofuels will depend on, drive microbiology research. *Microbe* 1:317-322.
- RAGAUSKAS, A.J., WILLIAMS, C.K., DAVIDSON, B.H., BRITOVSEK, G., CAIRNEY, J., ECKERT, C.A., FREDERICK, J.R. W.J., HALLET, J.P., LEAK, D.J., LIOTTA, C.L., MIELENZ, J.R., MURPHY, R., TEMPLER, TSCHAPLINSKI, T. (2006). The path forward for biofuels and biomaterials. *Science* 311:484-489.
- RICHMOND, A. (2004). *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*. Blackwell, Oxford, UK.
- RIGHELATO, R., SPRACKLEN, D.V. (2007). Carbon mitigation by biofuels or by saving and restoring forests? *Science* 317:902.
- RODRÍGUEZ, H., GUERRERO, M.G. (1992). Products and uses of cyanobacteria (blue-green algae). En *Profiles on biotechnology* (Villa TG, Abalde J, eds.), Universidade de Santiago, pp. 247-260.
- RODRÍGUEZ, R., GUERRERO, M.G., LARA, C. (1994). Mechanism of sodium/nitrate symport in *Anacystis nidulans* R2. *Biochim Biophys Acta* 1187: 250-254.
- RODRÍGUEZ, R., LARA, C, GUERRERO, M.G. (1992). Nitrate transport in the cyanobacterium *Anacystis nidulans* R2. Kinetic and energetic aspects. *Biochem J* 282:639-643.
- ROMERO, J.M., CORONIL, T., LARA, C., GUERRERO, M.G. (1987). Modulation of nitrate uptake by the balance between ammonium assimilation and CO₂ fixation. *Arch Biochem Biophys* 256:578-584.
- SASSON, A. (2006). *Plant and agricultural biotechnology. Achievements, prospects and perceptions*. COCyTe, Nuevo León, México.
- SAVAGE, D.F., WAY, J., SILVER, P.A. (2008). Defossilizing fuel: how synthetic biology can transform biofuel production. *ACS Chem Biol* 3:13-16.
- SCHMER, M.R., VOGEL, K.P., MITCHELL, R.B., PERRIN, R.K. (2008). Net energy of cellulosic ethanol from switchgrass. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:464-469.
- SEARCHINGER, T., HEIMLICH, R., HOUGHTON, R.A., DONG, F., ELOBEID, A., FABIOSA, J., TOKGOZ, S., HAYES, D., YU, T-H. (2008). Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emission from land use change. *Science* 319:1238-1240.
- SOMERVILLE, C. (2007). Biofuels. *Current Biol* 17:R115-R119.
- STICKLEN, M. (2006). Plant genetic engineering to improve biomass characteristics for biofuels. *Curr Opin Biotechnol* 17:315-319.
- TOLLEFSON, J. (2008). Not your father's biofuel. *Nature* 415:880-883.
- TORNEY, F., MOELLER, L., SCARPA, A., WANG KAN (2007). Genetic engineering approaches to improve bioethanol production from maize. *Curr Opin Biotechnol* 18:193-199.
- VARGAS, M.A., RODRÍGUEZ, H., MORENO, J., OLIVARES, H., DEL CAMPO, J.A., RIVAS, J., GUERRERO, M.G. (1998). Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria. *J Phycol* 34:812-817.

DISCURSO PRONUNCIADO POR EL EXCMO. SR. D. ENRIQUE CERDÁ OLMEDO

*Académico Numerario,
en contestación al leído por el
Ilmo. Sr. D. Miguel García Guerrero,
en el Acto de su recepción como Académico Numerario
celebrado el día 1 de abril de 2008.*

Incorpora hoy esta Real Academia Sevillana de Ciencias a una persona que reúne profundos conocimientos de la ciencia ajena, una notabilísima producción propia y un carácter a la vez afable, modesto y firme. Estos rasgos le han hecho desempeñar papeles esenciales en varias instituciones y le harán ser uno de los miembros más activos de nuestra Academia.

Resuenan en las palabras de Miguel García Guerrero los ecos de su maestro, nuestro colega el académico Manuel Losada Villasante. La evolución cultural, como la evolución biológica, necesita combinar la conservación de la información preexistente, sometida a verificación continua, con la innovación y aun la ruptura. La Universidad de Sevilla tuvo la suerte de tener a Losada entre los primeros profesores de los nuevos estudios de Biología. Miguel García Guerrero es el primer académico que ha hecho casi toda su carrera de biólogo en la Universidad de Sevilla; los anteriores no tenemos títulos sevillanos, salvo Carlos Herrera Maliani, que ha pasado casi toda su vida lejos de la Universidad.

La fotosíntesis es el principal sostén de la vida en la Tierra. La vida puede desarrollarse con fuentes de energía química independientes de la luz y podría existir en un planeta que tuviera agua líquida aunque estuviera muy lejos de un sol, pero no podría alcanzar la extensión que tiene en la Tierra. Manuel Losada estuvo en primera fila de las investigaciones que demostraron que, hablando con propiedad, la fotosíntesis no existe. Como explica el nuevo académico en su Discurso, la energía de la luz causa la fotólisis del agua y se convierte en energía química aplicable a muchos usos. Losada, cuando se instaló en Sevilla e inició el desarrollo de un grupo de investigación junto con Antonio Paneque, rehuyó la síntesis de carbohidratos, que era el uso que dio su nombre a la fotosíntesis, y se concentró en la reducción de nitrato a amonio, una actividad esencial para la producción de compuestos nitrogenados en la biosfera. El entusiasmo de Losada por la ciencia, que hacía pensar en el de un niño por su mejor juguete nuevo, su experiencia en laboratorios de cuatro países distintos y los resultados que ya había aportado llamaron la atención de sus alumnos. Los más brillantes compitieron por ser sus discípulos.

Estos discípulos, junto con los del granadino José Olivares, que por la misma época abordó la fijación de nitrógeno atmosférico en el suelo, han convertido a Andalucía en una potencia destacada en el metabolismo del nitrógeno.

La elección de un biólogo para la Real Academia Sevillana de Ciencias es un problema muy difícil y lo hubiera sido incluso si se hubiera limitado a considerar a los discípulos de Manuel Losada activos en el ámbito de la Academia, que es la provincia de Sevilla. Es muy fácil demostrar el acierto de la elección de García Guerrero. Ya lo ha demostrado él mismo con el Discurso que acaban de escuchar, aunque no ha presentado su biografía científica sino de forma muy parcial.

Nacido en Campillos (Málaga), estudió Biología en la Universidad de Sevilla. Yo le admiro desde que fue el alumno más brillante entre los que sufrieron mi primer curso como profesor de Genética general. Se doctoró con Manuel Losada y aceptó de buen grado la exigencia de alejamiento, entonces sorprendente, que impuso su jefe a sus doctorandos. Amplió su formación en los laboratorios de B. Vennesland en la Sociedad Max Planck en Berlín, donde pasó dos años y medio, y los buenos resultados que fue acumulando facilitaron su regreso a Sevilla, donde ha ocupado sucesivamente varios empleos temporales y los permanentes de colaborador científico e investigador científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Sevilla.

García Guerrero tiene muy buenas condiciones personales para la organización y la gestión de instituciones científicas. Ha sido director de departamento universitario y de instituto del Consejo, ha ocupado puestos de responsabilidad en sociedades españolas e internacionales y ahora dirige el Centro de Investigaciones Científicas Isla de la Cartuja, una institución muy real sita en una isla imaginaria. Me parece que García Guerrero ha aprendido mucho de Sancho, el gobernador de otra ínsula imaginaria, a pesar de las obvias diferencias en genio y figura entre ambos. Durante cerca de cinco años García Guerrero fue Vicepresidente de Organización y Relaciones Institucionales del Consejo, un cargo muy difícil, ya que exige una gran habilidad para tratar individual y colectivamente con personalidades muy variadas y con frecuencia poco maleables. Personalmente le agradezco que me ofreciera ocuparme de organizar un centro en la Cartuja, aunque no tenía la menor posibilidad de que aceptara, porque yo estaba quemado por la organización de otro centro en la carretera de Utrera. La labor de García Guerrero en Madrid mereció un artículo encomiástico que le dedicó su presidente, César Nombela, y seguramente fue tenida en cuenta para la concesión de la Encomienda de la Orden del Mérito Civil.

García Guerrero ha dedicado la mayor parte de su tiempo a la labor callada de su grupo de investigación, donde ha dirigido catorce tesis doctorales y ha firmado más de ciento treinta publicaciones de todo tipo, en la mayoría de las cuales aparece como primero o último autor. La mitad de sus publicaciones son monografías primarias que comunican nuevos resultados científicos en revistas internacionales. Ha colaborado estrechamente con Manuel Losada durante muchos años, como se observa en la cincuentena de publicaciones de todo tipo firmadas por ambos. Ha intervenido en la formación de nuevos investigadores muy brillantes, entre los que me permito recordar a Antonia Herrero, Enrique Flores y Juan Luis Ramos.

Me llama la atención la experiencia de García Guerrero con muchos organismos fotosintéticos, como las plantas *Spinacia* y *Oryza*, las cianobacterias *Anacystis*, *Anabaena*, *Scenedesmus* y *Synechococcus* y las algas *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Muriellopsis*, *Dunaliella* y *Haematococcus*, y heterótrofos, como la bacteria *Azotobacter* y el hongo *Torulopsis*. Durante mucho tiempo aplicó su esfuerzo a la línea de investigación propuesta por su maestro y se ocupó de describir las reductasas de nitrato y de nitrito, sus mecanismos de acción y su regulación. Se decantó luego por las cianobacterias y las microalgas, por los problemas prácticos de su cultivo y por su contenido en diversas sustancias de interés aplicado inmediato o potencial. A este tema ha dedicado lo esencial de su Discurso y a él me gustaría añadir algunos comentarios.

Empezaré presentando el consumo energético desde una perspectiva poco frecuente, convirtiendo los barriles de petróleo, metros cúbicos de gas, toneladas de carbón y kilovatios hora nucleares o hidráulicos consumidos cada año en el mundo a potencia en vatios. Uso los datos de una fuente respetada, la "BP Statistical Review of World Energy" publicada en junio de 2007, que no incluye las fuentes biológicas, eólicas y otras cuya suma representa una pequeña parte del total. Nuestro cerebro maneja mal los grandes números, de manera que divido la potencia total por el número de habitantes y me salen 2.300 W/habitante. Esta potencia es 23 veces la que consumimos como seres vivos y recibimos de los alimentos (100 W equivalen a 2.000 kilocalorías diarias). La agricultura proporciona cerca del triple de esa potencia biológica humana, pero hay que tener en cuenta sus aplicaciones no alimenticias y el bajo rendimiento energético de su uso para producir carne y pescado. No parece posible duplicar la superficie agrícola y el posible aumento debe reservarse para atender el aumento de la población, que aún no se ha estabilizado. No se pueden esperar grandes aumentos de rendimiento, dados los factores limitantes que ya se están haciendo notar. En conclusión: no tenemos la menor esperanza de que la agricultura cubra el consumo actual de energía, ni nada lejanamente parecido.

La repetición de los mismos cálculos con los datos para España dice que nuestro consumo de energía es de unas 42 veces la potencia biológica humana, próximo a la media de la Europa Unida actual y al doble de la media mundial. Los extremos pueden estar representados por USA, con unas 130 veces, y Bangladesh, con unas 3 veces. Este último nivel coincide aproximadamente con el del Imperio Romano, que lo alcanzaba con los animales de tiro, la leña, la navegación a vela y otras fuentes menores. Las enormes diferencias de consumo entre distintas poblaciones indican que el consumo mundial no bajaría aunque nosotros renunciáramos al derroche y a ciertos lujos, si los más pobres alcanzaran el nivel digno que indudablemente merecen.

Para atender el consumo mundial no tenemos ahora más perspectiva que los combustibles fósiles. Esta situación no es peligrosa a corto plazo: el petróleo no es ahora más caro que hace treinta años, si se corrige el precio nominal con el poder adquisitivo del dólar. Las reservas se estiman, con bastante incertidumbre, en 40 veces la extracción anual, pero aumentarán con el precio, puesto que quedan muchos lugares por explorar y se tienen en cuenta solo los yacimientos rentables en cada momento. Del gas natural y del carbón se puede decir algo parecido, con reservas unas 65 y 150 veces la producción anual, respectivamente.

Las otras dos fuentes que he considerado, la nuclear y la hidráulica, no pueden sustituir a las fósiles, al menos con el nivel actual de conocimientos. Nuestro colega el académico Antonio Barrero es muy optimista sobre las perspectivas de obtención masiva de energía por fusión nuclear, y espero que lleve razón, porque sería la panacea de nuestros males.

La electricidad por fisión nuclear no representa una alternativa seria. La producción actual mundial representa solo el tres por ciento de la energía de los combustibles fósiles; este valor sube al ocho por ciento si no se tiene en cuenta la energía obtenida de las fuentes fósiles cuando se queman, sino solo la electricidad que podrían producir en una central. Estos valores no pueden subir mucho, sino más bien bajar, porque las reservas de uranio son fáciles de detectar, bien conocidas y mucho menores que las de combustibles fósiles. La energía por fusión nuclear sufrió una derrota decisiva con el fracaso de los proyectos Superphénix, en Francia, y Schneller Brüter, en Alemania, que pretendían generar más combustible nuclear que el que producían; USA y URSS ni siquiera lo intentaron. Antes de seguir la discusión, los partidarios que no tengan grandes intereses personales en la energía nuclear deberían visitar la ciudad fantasma de Prípiat y su distrito, si les deja el gobierno ucranio, o por lo menos considerar los daños sanitarios y genéticos que produce el mayor envenenamiento de la historia, comparable al del agente naranja que el presidente Kennedy y sus sucesores mandaron arrojar sobre Vietnam, y mucho más duradero en el futuro.

La energía hidroeléctrica es la más barata y tiene muchas otras ventajas apreciadas por todos, menos por los que encuentran bellísimo un lago natural y feísimo un lago artificial. Cuantitativamente similar a la nuclear, tampoco presenta perspectivas de gran crecimiento. Por cierto, España y Marruecos podrían desarrollar un proyecto gigantesco: cerrar el estrecho de Gibraltar para aprovechar su flujo.

Como el Sol es la principal fuente de energía en nuestro planeta y la fotólisis del agua su principal vía de aprovechamiento, no sorprende que intentemos sobrepasar los usos energéticos que recuerdo de mi infancia, como los candiles de aceite y las chimeneas de leña. El nuevo académico ha presentado una vía naciente, pero con futuro: los cultivos de organismos fotosintéticos unicelulares. Vale la pena comparar sus posibilidades con las de los cultivos de organismos fotosintéticos multicelulares, la agricultura.

Bastan unas pocas capas de células fotosintéticas para absorber casi toda la luz y por eso las hojas son planas y se reparten en pocos niveles superpuestos. El rendimiento energético por unidad de superficie es necesariamente bajo y las instalaciones, como quiera que sean, están condenadas a ser muy extensas.

El mejor campo de caña de azúcar en el mejor lugar tropical permitiría cosechar 10 terajulios por hectárea y año, que corresponde a una potencia de $3,2 \text{ W/m}^2$. Este rendimiento excepcional y otros menores con este y otros cultivos compiten en precio con los combustibles fósiles.

La agricultura proporciona biocombustibles desde hace muchos años. Los más viejos del lugar recordarán el armatoste llamado gasógeno colocado en los coches de la posguerra para permitirles usar leña en vez de gasolina. En España es tradicional convertir los excedentes de vino y papas en etanol que se añade a la gasolina; los aceites

de mala calidad se pueden añadir al gasóleo. La agricultura de biocombustibles, aunque no sea muy productiva, puede resultar muy conveniente en algunas circunstancias: para no dejar en barbecho tierras agrícolas excedentarias, como ha venido haciendo la Unión Europea; para emplear mano de obra agrícola; para sustituir importaciones; para favorecer el desarrollo de zonas rurales pobres. Además, una cosecha puede dar productos distintos con mercados separados y no necesariamente equilibrados. Del maíz, por ejemplo, se obtienen a la vez proteínas útiles para producir carne, aceite que se puede comer o convertir en biodiesel y almidón convertible en fructosa para dulces o en bioetanol.

Al presidente Fidel Castro no le gusta la producción agrícola de biocombustibles. Hace un año publicó en *"Granma"* y colgó en la Red unas "reflexiones" suyas bajo el título *"Condenados a muerte prematura por hambre y sed más de 3 mil millones de personas en el mundo"*. No es este el momento de discutir a fondo ese artículo, que aparentaba ignorar las consideraciones anteriores, los bajos precios de algunos productos agrícolas, la distribución de subvenciones y la influencia política de los estados maiceros de USA, entre otros puntos pertinentes.

Los cultivos de organismos fotosintéticos unicelulares que presenta nuestro nuevo académico compiten en rendimiento con la mejor agricultura. De la producción de biodiesel que cita calculo una potencia media de $1,5 \text{ W/m}^2$. Los costos de producción, sin embargo, son muy superiores. La biotecnología de algas exige instalaciones artificiales donde colocar las células y mecanismos para el suministro de nutrientes sólidos y gaseosos. Además, esas instalaciones tienen que ser translúcidas. Las plantas se pueden considerar como cultivos de células que producen su propio "fotobiorreactor" (tallos, troncos, ramas, cutícula, bombas de circulación), lo mantienen, lo reparan y lo defienden contra parásitos, todo a sus propias expensas. Así los maizales y los cañaverales pueden ser vistos como análogos a los cilindros verticales para cultivos de algas y los campos de césped e incluso los trigales, a los estanques planos.

Entre los factores limitantes de la producción agrícola están el agua y el fosfato. Una ventaja de los cultivos microbianos es que la producción en espacios confinados facilita la recuperación y reutilización de estos y de otros insumos. Además se pueden elegir microbios que toleren o aun prefieran agua salada, mucho más abundante que la dulce. De esta manera cabe pensar que los cultivos microbianos, aunque llegaran a ocupar extensiones considerables, no retirarían muchos recursos a la agricultura, particularmente en los países en que la tierra agrícola representa una parte pequeña de la superficie total.

En la alternativa entre agricultura y biotecnología con microbios fotosintéticos habrá que prestar especial atención a otros factores, y muy especialmente a los productos adicionales de cada uno. García Guerrero se ha ocupado de algunos, sobre todo de carotenoides, y ha publicado el año pasado una buena revisión sobre ese tema. También el maíz y otras plantas son una fuente importante de carotenoides para la alimentación animal y humana.

Estamos en una fase muy prematura de la producción industrial de biocombustibles. La fase inmediata, que García Guerrero anuncia en su Discurso, es la modificación genética, pero no solo de los microbios, sino de las plantas. Las posibilidades son in-

mensas. Cabe pensar que se puedan evitar muchas de las dificultades actuales y que se puedan introducir muchos nuevos beneficios. No debe ser imposible modificar especies tropicales para que vivan en países fríos, aumentar la tolerancia a la sal y la resistencia a la desecación, reorientar el metabolismo para acumular grandes concentraciones de sustancias deseables. El futuro está abierto y está próximo.

También se debe tener en cuenta a los organismos heterótrofos, particularmente los saprofitos, porque pueden convertir materiales indeseables en fuentes de energía. La digestión anaerobia permite aprovechar muchos subproductos. También el hongo *Phycomyces blakesleeanus* y algunos de sus parientes próximos podrían convertir con buen rendimiento carbohidratos de desecho en aceite comestible y utilizable como bio-combustible, porque lo acumulan hasta la mitad de su masa seca. Algunas levaduras acumulan aceite hasta más de dos tercios de su masa seca.

Se alinea García Guerrero con la preocupación difundida por los medios de comunicación por el anhídrido carbónico. A nadie le gusta respirar escapes de coches o humos de chimeneas. A muchos nos parece una barbaridad que la energía sea tan barata que se considere normal viajar miles de kilómetros para asistir a un partido de fútbol, transportar agua embotellada a distancias aún mayores, o mantener nuestras habitaciones más calientes en invierno que en verano. Pero con la obsesión por el cambio climático corremos el riesgo de quedarnos en una nueva versión del cuento "Pedro y el lobo" en la que unos aprovechados venden a Pedro alambradas y escopetas contra unos lobos inexistentes mientras sus ovejas mueren de carbunco. La gran mayoría de la Humanidad sufre problemas alimentarios, sanitarios y educativos graves e inmediatos cuya solución requiere aumentar, no disminuir, el consumo de energía. Muchas mediciones, entre ellas las que presenta García Guerrero, indican que el anhídrido carbónico que producimos cada año quemando combustibles fósiles representa una ínfima parte del presente en la atmósfera e incluso del fijado cada año en nueva biomasa. Dentro de mi ignorancia, no creo que se sepa bastante de los flujos entre los distintos reservorios del ciclo del carbono, entre los que la atmósfera es muy minoritaria, para anticipar los aumentos de concentración en la atmósfera atribuibles a la quema de combustibles fósiles, para predecir si el aumento calentaría o enfriaría la biosfera e incluso para saber si tendría efectos globalmente negativos. La concentración de anhídrido carbónico y las temperaturas medias de la atmósfera sufrieron grandes cambios en épocas geológicas pretéritas y esos cambios no parecen haber presentado una correlación clara. Recuérdese que el anhídrido carbónico es un gas inocuo y que el aumento de su concentración tendría un efecto beneficioso seguro: aumentaría la producción vegetal y aliviaría las dificultades alimentarias.

Me gustaría que la preocupación por el calentamiento global fuera precedida por una masiva petición de perdón por los científicos, los periodistas y los ecologistas que propalaron la gran patraña de la destrucción masiva de los bosques por la lluvia ácida, que tanto preocupó en muchos países, sobre todo en Europa central, hace unos años. El éxito de aquella patraña se debió al sentimiento admirable de preocupación por el ambiente que tenemos casi todos, a la apreciación de indicios circunstanciales, al desprecio de otros indicios y aun de pruebas contrarias y a los intereses concretos de algunos.

Fracasó porque los asustadores hicieron predicciones a pocos años, que pronto fueron contradichas por el estado esplendoroso que alcanzaron los bosques cuando cesó una serie, nada excepcional, de unos años de relativa sequía. Los nuevos asustadores han aprendido y profetizan para dentro de cincuenta o cien años. Invito a la Academia a organizar una presentación desprejuiciada de los conocimientos sobre el clima.

Cuando nos aprestamos a vivir del Sol no debemos ignorar dos alternativas para producir electricidad, la fotovoltaica y la termosolar. La primera viene muy bien para algunas necesidades menores y aisladas, como iluminar un punto de una carretera, pero, mientras no se produzcan grandes mejoras, no conviene su uso masivo, dado su precio y las necesidades energéticas y materiales de su instalación. Se exploran desde hace años algunos diseños diferentes para energía termosolar en Tabernas, cerca de Almería, y en otros lugares del mundo. La empresa sevillana Abengoa ha puesto en marcha la primera instalación comercial del mundo en Sanlúcar la Mayor, muy cerca de Sevilla, y tiene otras en construcción en distintos países. Tampoco compete en precio con la electricidad producida a partir de combustibles fósiles, pero es más barata que la fotovoltaica. La primera instalación comercial, llamada PS10, ocupa sesenta hectáreas, incluyendo todos los servicios periféricos, alcanza una potencia máxima de 11 MW y debe producir 80 terajulios al año. Con estos datos se puede calcular un rendimiento de $4,3 \text{ W/m}^2$, que supera a la mejor agricultura y además no amenaza a las reservas de fosfato, nitrógeno y agua. Para producir tanta energía como obtiene ahora de combustibles fósiles y centrales nucleares España tendría que llenar de torres, espejos e instalaciones auxiliares para la producción termosolar una superficie total de 40 mil km^2 , comparable a la que ocupan ahora todas sus ciudades y mucho menor que la dedicada a la agricultura.

La electricidad de origen termosolar, fotovoltaico y eólico tiene la dificultad de que la producción no está acoplada al consumo. Cuando la producción es pequeña su aparición en la red eléctrica se puede compensar cerrando instalaciones más regulables, entre las que son ideales las hidroeléctricas. Un aumento considerable de la producción exige almacenar energía. En la isla de El Hierro se está construyendo una instalación que debe hacer de su red eléctrica la primera del mundo alimentada solo por energía eólica. Los vientos alisios garantizan el suministro, pero no sincronizan la producción con el consumo. Por ello se pretende usar la energía eólica para desalar agua de mar y elevarla unos seiscientos metros a un cono volcánico; una central hidráulica suministrará electricidad a la red según sea la demanda.

Desde hace decenios almacenamos energía en depósitos situados en la cumbre de una montaña, por ejemplo, en El Chorro, cerca de Málaga, pero es evidente que la capacidad de ese sistema es limitada. También son buenos almacenes de energía las soluciones muy calientes de algunas sales. Las baterías eléctricas representan una esperanza, y ni siquiera tendrían que fabricarse especialmente para ese fin. Si los actuales coches eléctricos mejoraran hasta generalizarse, sus baterías podrían servir de almacén. Bastaría que los coches pudieran vender energía a la red a un precio algo más alto que el de compra.

Como ustedes habrán observado, o por lo menos sospechado, yo no soy un experto en las materias que he tratado, pero la experiencia demuestra que es peligroso limitar la discusión de los aspectos sociales de la ciencia a los presuntos expertos.

Muchas gracias por vuestra atención.

He dicho.