COLECCIÓN ACADÉMICA

Biotecnología enfocada al Sector Agropecuario y Minero

con Guías de Laboratorio

Luis Miguel Borrás Sandoval
Leidy Y. Rache Cardenal
José J. Martínez
Gerardo Andrés Caicedo Pineda

Biotecnología enfocada al Sector Agropecuario y Minero con Guías de Laboratorio

Luis Miguel Borrás Sandoval
Leidy Y. Rache Cardenal
José J. Martínez
Gerardo Andrés Caicedo Pineda

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
2021

Biotecnología enfocada al sector agropecuario y minero con guías de laboratorio / Biotechnology in Agricultural and Mining Industries - Including Laboratory Guides / Borrás Sandoval, Luis Miguel; Rache Cardenal, Leidy Y.; Martínez, José J.; Caicedo Pineda, Gerardo Andrés. Tunja: Editorial UPTC, 2021. 174 p.

ISBN: 978-958-660-485-7

ISBN Digital: 978-958-660-486-4

1. Biotecnología aplicada a la producción animal. 2. Biotecnología aplicada a la propagación vegetal. 3. Biotecnología aplicada al procesamiento de minerales.

(Dewey 660.6/21). Thema TCB - Biotecnología

Primera Edición, 2020

50 ejemplares (impresos)

Biotecnología enfocada al sector agropecuario y minero con guías de laboratorio

Biotechnology in Agricultural and Mining Industries - Including Laboratory Guides

ISBN: 978-958-660-485-7

ISBN Digital: 978-958-660-486-4

Colección Académica UPTC N.° 31

Proceso de arbitraje doble ciego

Recepción: junio de 2020

Aprobación: septiembre de 2020

© Luis Miguel Borrás Sandoval, 2021

© Leidy Y. Rache Cardenal, 2021

© José J. Martínez, 2021

© Gerardo Andrés Caicedo Pineda, 2021

© Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, 2021

Editorial UPTC

Edificio Administrativo – Piso 4

Avenida Central del Norte 39-115,

Tunja, Boyacá

comite.editorial@uptc.edu.co

www.uptc.edu.co

Rector UPTC

Óscar Hernán Ramírez

Comité Editorial

Manuel Humberto Restrepo Domínguez, Ph. D.

Enrique Vera López, Ph. D.

Yolima Bolívar Suárez, Mg.

Sandra Gabriela Numpaque Piracoca, Mg.

Olga Yaneth Acuña Rodríguez, Ph. D.

María Eugenia Morales Puentes, Ph. D.

Edgar Nelson López López, Mg.

Zaida Zarely Ojeda Pérez, Ph. D.

Carlos Mauricio Moreno Téllez, Ph. D.

Editora en Jefe:

Lida Esperanza Riscanevo Espitia, Ph. D.

Coordinadora Editorial:

Andrea María Numpaque Acosta, Mg.

Corrección de Estilo
Claudia Helena Amarillo Forero

Libro financiado por la Dirección de Investigaciones de la UPTC. Se permite la reproducción parcial o total, con la autorización expresa de los titulares del derecho de autor. Este libro es registrado en Depósito Legal, según lo establecido en la Ley 44 de 1993, el Decreto 460 de 16 de marzo de 1995, el Decreto 2150 de 1995 y el Decreto 358 de 2000.

Libro resultado de investigación con SGI 2993

Citar este libro / Cite this book

Borrás Sandoval, L., Rache Cardenal, L., Martínez Zambrano, J. & Caicedo Pineda, G. (2021). *Biotecnología enfocada al sector agropecuario y minero con guías de laboratorio.* Tunja: Editorial UPTC.

https://doi.org/10.19053/9789586604857

Resumen

Este libro presenta de manera concisa los conceptos de la biotecnología aplicada al sector agropecuario y minero, dos de los renglones más importantes de Colombia, y permite comprender los alcances y perspectivas de esta ciencia, para lograr una mayor competitividad en estos sectores. Las guías de laboratorio podrán servir no solo en el ámbito académico, sino como protocolos base para la comunidad científica interesada en estos temas.

Palabras clave: biotecnología aplicada a la producción animal, biotecnología aplicada a la propagación vegetal, biotecnología aplicada al procesamiento de minerales.

Abstract

This book presents in a concise way the concepts of biotechnology applied to the agricultural and mining sectors, two of the most important lines in Colombia, and allows us to understand the scope and perspectives of this science, to achieve greater competitiveness in these sectors. Laboratory guides may serve not only in the academic field, but also as base protocols for the scientific community interested in these topics.

Keywords: biotechnology applied to animal production, biotechnology applied to plant propagation, biotechnology applied to mineral processing.

Contenido

Prólogo

Capítulo
Biotecnología aplicada a la producción animal
1.1 Generalidades
1.2 Biotecnología reproductiva
1.3 Producción de alimentos para alimentación animal
1.4 Fermentación en estado sólido
1.5 Uso de enzimas en la producción animal
1.6 Otros usos de la biotecnología
1.8 Referencias
1.9 Prácticas de laboratorio

Capítulo 2
Biotecnología aplicada a la propagación vegetal
2.1 Generalidades
2.2 Conceptos básicos
2.3 Embriogénesis en tejidos vegetales
2.4 Organogénesis en tejidos vegetales
2.5 Micropropagación en tejidos vegetales
2.6 Cultivo in vitro para la producción de metabolitos secundarios en frutos tropicales
2.7 Referencias
2.8 Prácticas de laboratorio

Capítulo 3
Biotecnología aplicada al procesamiento de minerales
3.1 Generalidades
3.2 Aplicaciones en minería
3.3 Mecanismos para la lixiviación/oxidación bacteriana de sulfuros
3.4 Biomineralización mediada por microorganismos
3.5 Cinética microbiana en bioprocesos mineros
3.6 Metodología de planeación de bioprocesos mineros
3.7 Referencias
3.8 Prácticas de laboratorio

Prólogo

La biotecnología, tanto la de tipo convencional como la de última generación con manipulación del material genético de los organismos vivos, juega un rol inmejorable y se constituye en una verdadera alternativa de desarrollo y un gran aporte a la solución o, al menos, a la mitigación de la pobreza y la desnutrición.

Este libro, creado con entusiasmo y en contexto, es el mecanismo idóneo para poner a disposición tanto de la academia como del sector productivo y de los investigadores de Colombia y América Latina, una actualización y un marco referencial sobre el estado del tema y las reales posibilidades de aplicación de la biotecnología en tres áreas fundamentales:

1. La biotecnología aplicada a la producción animal: con un enfoque claro sobre las posibilidades de aplicación en la reproducción, en la producción de alimentos para animales de granja, basándose en nuevos estudios sobre preparados microbianos como aditivos biológicos, el uso de probióticos, prebióticos y simbióticos, así como la aplicación de la fermentación en estado sólido (FES) y el uso de enzimas para mejorar el aprovechamiento de los piensos. Se complementa esta fascinante ciencia con una actualización en la transgénesis animal y el uso de animales como biofábricas o biorreactores. La parte práctica es asumida mediante destrezas de laboratorio destinadas a la academia en universidades interesadas en las ciencias agropecuarias.

2. La biotecnología aplicada a la propagación vegetal: la parte introductoria es presentada con una conceptualización fluida, concreta y sencilla; luego hay una aproximación a la embriogénesis en tejidos vegetales, con la inclusión de ejemplos en una especie determinada. De igual manera, trata la organogénesis en tejidos vegetales, las técnicas de micropropagación en tejidos vegetales, demostradas de forma práctica, y cierra con una clara

y profunda explicación sobre el cultivo *in vitro* para la producción de metabolitos secundarios en frutos tropicales. Además, se concretan diferentes prácticas de laboratorio que permitan al estudiante asumir con mayor claridad la parte teórica.

3. La biotecnología aplicada al procesamiento de minerales: se inicia con los fundamentos que permiten entender con facilidad como la biotecnología extiende sus límites y se convierte en aliada estratégica de ciencias como la mineralogía; se demuestran sus actuales aplicaciones, que son una verdadera alternativa tecnológica al uso de las técnicas y metodologías tradicionales contaminantes; se aborda meticulosamente la biolixiviación de metales, la biooxidación de menas refractarias, la bioflotación de minerales, el biomejoramiento de materiales y la recuperación de metales de residuos electrónicos, entre otros procesos de interés. Se lleva a cabo un valioso análisis de los mecanismos para la lixiviación/oxidación bacteriana de sulfuros, los microorganismos involucrados, los mecanismos de reacción y las rutas oxidativas. Se profundiza además en la importancia del hierro en la biooxidación, su metabolismo y los factores fisicoquímicos que afectan esta biooxidación. Adicionalmente, se presentan datos científicos sobre la biomineralización mediada por microorganismos y se usa como ejemplo la biosíntesis del carbonato de calcio y de la nanomagnetita. Este capítulo cierra con un análisis y una explicación clara de la cinética microbiana en bioprocesos mineros, el crecimiento celular, el consumo de sustrato, la formación de productos, la metodología de planeación de bioprocesos mineros, principalmente la mineralogía de procesos, los sistemas biológicos y los tipos de procesos. Toda esta amplia e interesante información tecnológica y científica es complementada con prácticas de laboratorio que mejorarán su entendimiento y aplicabilidad; y con seguridad despertará en el lector la pasión por la biotecnología.

Byron Díaz Monroy
Doctor en Ciencias Veterinarias
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Ecuador

Capítulo 1

Biotecnología aplicada a la Producción Animal

Luis Miguel Borrás Sandoval

1.1 Generalidades

La biotecnología animal ha desbordado su desarrollo tecnológico, necesariamente de la mano de los grandes avances de la biología molecular, la bioinformática, la genómica y la ingeniería genética. Todo esto ha pasado por el progreso innegable de la inseminación artificial en el mejoramiento animal, por la trasferencia de embriones, los animales transgénicos, la clonación animal y grandes desarrollos como el empleo de animales como biofábricas, en la generación de nuevas vacunas y sustancias antimicrobianas, alimentos funcionales (prebióticos, probióticos y simbióticos), entre otros.

Aunque la investigación en el área biotecnológica en la actualidad está liderada por los países en desarrollo (especialmente en el sector privado), en los países no desarrollados suele emplearse en situaciones que no requieren de equipos especializados −con procesos de fácil adopción por los pequeños productores, si cuentan con moderada infraestructura y con material disponible en la localidad− para mejorar el valor nutricional de alimentos toscos y no fibrosos, con bajo contenido de nitrógeno, por medio de procesos de fermentación en estado sólido (FES) [1].

La cantidad y calidad nutricional de los alimentos (disponibilidad de carbohidratos y proteínas) pueden ser alteradas por procesos biotecnológicos, así como mejorar la digestibilidad de la materia orgánica [2]. Además, en la nutrición animal, a partir de las investigaciones en el

área se han producido proteína unicelular, enzimas, probióticos, aditivos y antibióticos, lo que ha aumentado la disponibilidad de nutrientes de los alimentos e intensificado la producción animal.

1.2 Biotecnología reproductiva

El mejoramiento genético se ha basado en el cruzamiento selectivo, el cual, gracias al aporte genético de cada uno de los animales, da origen a especímenes con condiciones y características derivadas de los genes de sus padres. Aunque lo anterior es la base para el mejoramiento tradicional en las granjas animales, estos procesos naturales dan respuestas lentas y no siempre resulta lo esperado, ya que, así como se expresan genes deseables, también pueden dar origen a muchos otros fenómenos, los cuales no siempre son deseables en la producción animal.

La biotecnología aplicada a la reproducción animal comprende técnicas como la inseminación artificial y la clonación animal.

La inseminación artificial ha recorrido un largo camino, que va desde la utilización de semen fresco, hasta la congelación y selección de este. Con el avance de la técnica se han hecho valiosos aportes a la producción animal, la prevención de enfermedades reproductivas, la estimación del valor genético de los animales y, con ello, la multiplicación de las descendencias de animales considerados de alto valor genético.

Posteriormente, se dio un gran desarrollo que permitió aumentar la eficiencia productiva y reproductiva de los hatos y, con ello, la eficiencia en la producción de terneros con la sincronización e inducción de la ovulación. Todo esto derivó en la superovulación en la transferencia y congelación embrionaria, que logró el uso intensivo de animales, especialmente de hembras de alto valor biológico, y el surgimiento de un gran negocio de exportación e importación de material genético, al igual que abrió la posibilidad de recuperación genética de animales exóticos y de razas en peligro de extinción.

Los avances se han centrado en la manipulación de embriones, con lo cual se ha podido no solo aumentar el número de animales nacidos por embrión, sino también la manipulación de su sexo y espermas, hecho que ha

mejorado la eficiencia genética. La recolección *in vitro* de embriones y el cultivo de estos abren la posibilidad de utilizar hembras con problemas reproductivos, así como embriones provenientes de ovarios de cadáveres [3].

Finalmente, se ha logrado la clonación de animales, la cual ofrece la posibilidad de perpetuar animales genéticamente idénticos, técnica aplicada especialmente en producción de bovinos, equinos, ovinos, entre otros. Adicionalmente, con esta técnica es factible recuperar especies y animales en vía de extinción. Uno de los experimentos más difundidos fue la creación de la oveja Dolly (Figura 1.1), con el que se obtuvo un animal genéticamente idéntico al deseado.

En otro experimento se consiguió la primera ternera clonada en el mundo, llamada Pampa, con un protocolo igual al de Dolly, llevado a cabo por la empresa BioSidus en Argentina. Esta práctica es cada vez más usual en los animales de producción, mascotas y fauna silvestre, como alternativa para la conservación.

1.3 Producción de alimentos para alimentación animal

Históricamente, el uso de materias primas en la alimentación animal, como maíz, soya, sorgo, entre otras, tiene competencia directa con la alimentación humana. Esto conduce a situaciones de escasez, que inciden en un incremento en los costos de manutención, los cuales, a su vez, se reflejan en un aumento de los precios de los productos derivados de actividades pecuarias (litro de leche, kilogramo de carne, huevo, etc.). Este escenario es más complejo desde el surgimiento de los biocombustibles en los últimos años, los cuales toman casi las mismas fuentes para su producción. Por lo tanto, la competencia se vuelve cada vez mayor.

Es por eso, que se requiere utilizar recursos no convencionales en la alimentación animal (residuos poscosecha, frutas, hortalizas, raíces y tubérculos, y materiales fibrosos residuales de cosecha, tamos, cañas, rastrojos, recursos agroforestales, entre otros), los cuales, gracias a la ayuda de procesos biotecnológicos sencillos (preparados microbianos, fermentaciones, enzimas), se podrán transformar en materias primas

óptimas para el consumo de los animales, a bajo costo y ambientalmente sostenibles, al dar uso a esos residuos que de forma directa no son utilizados y suelen convertirse en potenciales contaminantes y dispersores de problemas sanitarios, cuando no son utilizados.

En la producción alimentaria, la fermentación ha utilizado cultivos microbianos para conseguir cambios deseables en las propiedades de los alimentos, mediante procesos anaeróbicos y aeróbicos, con modificaciones bioquímicas que dan lugar a transformaciones de la calidad de ingredientes de bebidas y alimentos [4].

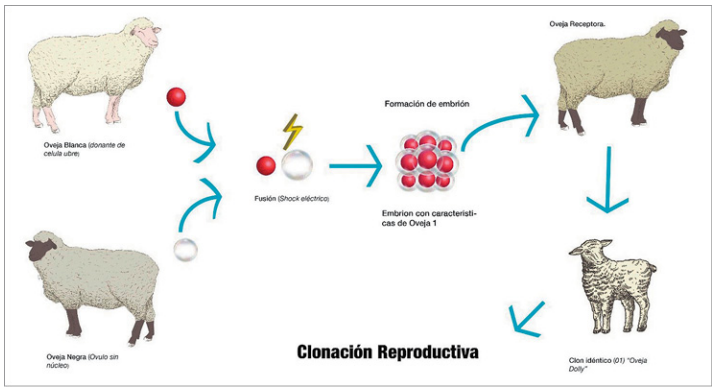

Figura 1.1. Esquema del proceso de clonación animal, el cual tiene como objeto la obtención de un animal genéticamente idéntico (transferencia nuclear), como en el caso de la oveja Dolly. El procedimiento comienza cuando, a partir de un animal adulto (1 oveja blanca), se extrae una célula somática (para este caso particular fue de la ubre). Posteriormente, la oveja 2 (negra) dona un óvulo, al cual se le extrae su núcleo y es reemplazado por el de la célula de la oveja (1), que contiene todo el material genético de la misma. Este nuevo óvulo se lleva a un cultivo *in vitro*, donde se dan las divisiones mitóticas, hasta lograr que se convierta en un embrión, el cual se llevará a una tercera oveja (3 oveja) llamada receptora, donde se implantará dicho embrión. Esta llevará a término la gestación para obtener como producto un individuo genéticamente exacto (clon) a la oveja (1).

Fuente: el autor.

1.3.1 Preparados microbianos: aditivos biológicos

Se considera que los inóculos y los preparados microbianos y enzimáticos son productos naturales sin riesgo en su manipulación, no corrosivos y que no causan problemas ambientales [5]. Su uso se ha difundido apreciablemente en los últimos años y se dispone de una gran variedad de

productos comerciales que varían en su eficiencia. Para alcanzar la eficacia prevista, cada uno de estos productos debe ajustarse a las dosis indicadas y seguir juiciosamente los métodos de aplicación definidos.

Aguavil [6] afirma que son muchos los microorganismos (bacterias y levaduras) que pueden usarse de forma beneficiosa para mantener un sano equilibrio en flora digestiva. Las especies de mayor uso son *Lactobacillus sp., Bacillus subtilis, Sreptococcus faeccium, Saccharomyces cerevisiae, Bacillus cereus, Bacillus licheniformis* y *Bacillus stearothermophyllus.* De este grupo, las bacterias del género *Lactobacillus* quizás son las más conocidas, ya que transforman lactosa en ácido láctico, son de rápido crecimiento y con potencial probiótico.

Muck [7] se basó en una encuesta sobre trabajos con inoculantes para concluir que estos eran exitosos, principalmente con ensilajes de pastos y alfalfas. Sin embargo, trabajos con ensilajes de maíz mostraban un efecto limitado. Frente a lo anterior, Bolsen [5] recomienda insistentemente el uso de inóculos bacterianos para todo tipo de forraje ensilado, basándose en muchos resultados de laboratorio y de campo, donde este tipo de aditivos microbianos mejoraron consistentemente la eficiencia de la fermentación en el ensilaje, la recuperación de la materia seca, la eficiencia alimenticia y la ganancia de peso por tonelada de ensilaje de maíz y sorgo forrajero.

El Instituto de Ciencia Animal en Cuba desarrolló un nuevo producto, denominado VITAFERT® [1], obtenido por un proceso biotecnológico sencillo, compuesto por lactobacilos, levaduras, ácidos orgánicos de cadenas cortas y a bajo pH, que ha resultado muy eficiente en el control y mitigación de *Escherichia coli*, lo cual se refleja en la baja incidencia de animales con diarreas, aumento de las ganancias de peso en el animal e incluso retención de energía y nitrógeno.

La utilización de aditivos en la alimentación animal es numerosa y heterogénea. En términos generales, se refiere a la colocación de un producto en la formulación de la dieta con un bajo nivel de inclusión, cuya finalidad es acrecentar el valor nutricional del alimento, además de aumentar la calidad en el bienestar y la salud del animal.

Ravindran [8] aporta una definición más puntual, cuando estos se emplean

para los alimentos; los considera como sustancias, microorganismos o preparados microbianos diferentes a las materias primas y premezclas, que son adicionadas intencionalmente al alimento o al agua de bebida para incidir favorablemente en su composición organoléptica. Por otro lado, la FAO/OMS en el *Codex Alimentarius* se refiere como aditivo a cualquier sustancia que independientemente de su valor nutricional, se añade con intención a un alimento con fines tecnológicos, en cantidades controladas [9].

Adicionalmente, Ravindran [8] clasifica los aditivos dependiendo de sus propiedades y funciones, entre ellas: aditivos nutricionales como vitaminas, minerales traza, aminoácidos y aditivos zootécnicos (potenciadores de digestión, estabilizadores de flora intestinal y coccidiostatos o histomonostatos), aditivos tecnológicos (antioxidantes, emulsificantes o acidificantes) y aditivos sensoriales como (aromas y pigmentos).

Actualmente, la OMS define los aditivos como "sustancias que añadidas a los alimentos mantienen o mejoran su inocuidad, sabor, frescura, textura o aspecto" [10].

1.3.2 Probióticos, prebióticos y simbióticos

Fuller [11] definió a los probióticos como "suplementos alimenticios vivos que afectan benéficamente al animal hospedero por el mejoramiento del balance microbiano intestinal". En el año 2001, en la FAO y la WHO este concepto evolucionó, pues se creó una comisión de expertos para la definición de dicho término, debido a la rápida introducción de este tipo de productos en el mercado y su distribución internacional, sin la previa existencia de normativa al respecto aceptada [12]. En esta ocasión, se redefinió el concepto como "microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, otorgan un efecto benéfico en la salud del hospedero". Actualmente, este es el más aceptado por la comunidad científica, porque además del mejoramiento del balance microbiano intestinal, se incluyen otros aspectos que influyen en el estado de salud del hospedero.

La eficacia de los preparados probióticos se puede incrementar cuando se seleccionan cepas más eficientes, se emplean mezclas de cepas, se manipula

genéticamente o se combinan probióticos y componentes sinérgicos, como los prebióticos [13], [14].

La mezcla de los prebióticos y probióticos son los simbióticos, que afectan de forma benéfica al hospedero mediante el mejoramiento de la colonización y supervivencia de aditivos microbianos viables en el tracto gastrointestinal [15]. La Tabla 1.1. muestra el desarrollo de probióticos en diferentes especies.

Tabla 1.1. Uso de probióticos en la producción animal

Especie	Mecanismo	Referencias
Bovinos y pequeños rumiantes	• Reducción de la incidencia/severidad de la diarrea, el transporte de microorganismos patógenos. • Favorecimiento de la digestión de los polímeros complejos ingeridos (celulosa, hemicelulosa, almidón y proteínas) y otorgan beneficios para la salud del huésped. • Manipulación de la población microbiana del rumen y la fermentación ruminal. • Ganancia significativa en peso corporal, disminución enfermedades gastrointestinales (diarreas). • *Saccharomyces cerevisiae* como aditivo nutricional, expresado a través del incremento en los parámetros hemáticos y metabólicos. • Mejora en la producción de leche y las sustancias funcionales, así como también reducen el SCC (conteo de células somáticas). • Aumento de la capacidad antimutagénica podría responder a la modificación observada del contenido de grasa, mejorando la calidad láctea en cabras.	[16] – [24]

Especie	Mecanismo	Referencias
Porcinos	• Sustitución de promotores tradicionales de crecimiento (antibióticos). • Se aportan tres beneficios principales: apoyar una microbiota intestinal, un tracto digestivo y un sistema inmune saludable. • Incremento en los valores de los indicadores de proteínas totales y en la concentración de inmunoglobulinas G en el grupo de cerdas tratadas. • Reducción del recuento de *E. coli* y clostridios fecales que son los causantes de enfermedades con manifestación de diarrea en cerdos. • Favorece la producción de mucinas en vellosidades y criptas de íleon. • Mayor ganancia de peso diario y una mejor conversión alimentaria.	[25]-[30]
Aves	• Sustitución de promotores de crecimiento (antibióticos), mejorar los parámetros productivos, fisiológicos, y nutricionales. • Mejor respuesta en cuanto a su peso final y ganancia de peso diaria. • Mayor peso en los órganos en animales alimentados con cepas probióticas, especialmente la cepa *Enterococcus faecium*. • El uso de probióticos en la dieta respecto al antibiótico tuvo mejores resultados en todos los parámetros productivos.	[31]-[36]
Equinos	• Superación de estrés, deficiencia en el consumo de calostro y durante el proceso de destete.	[37]