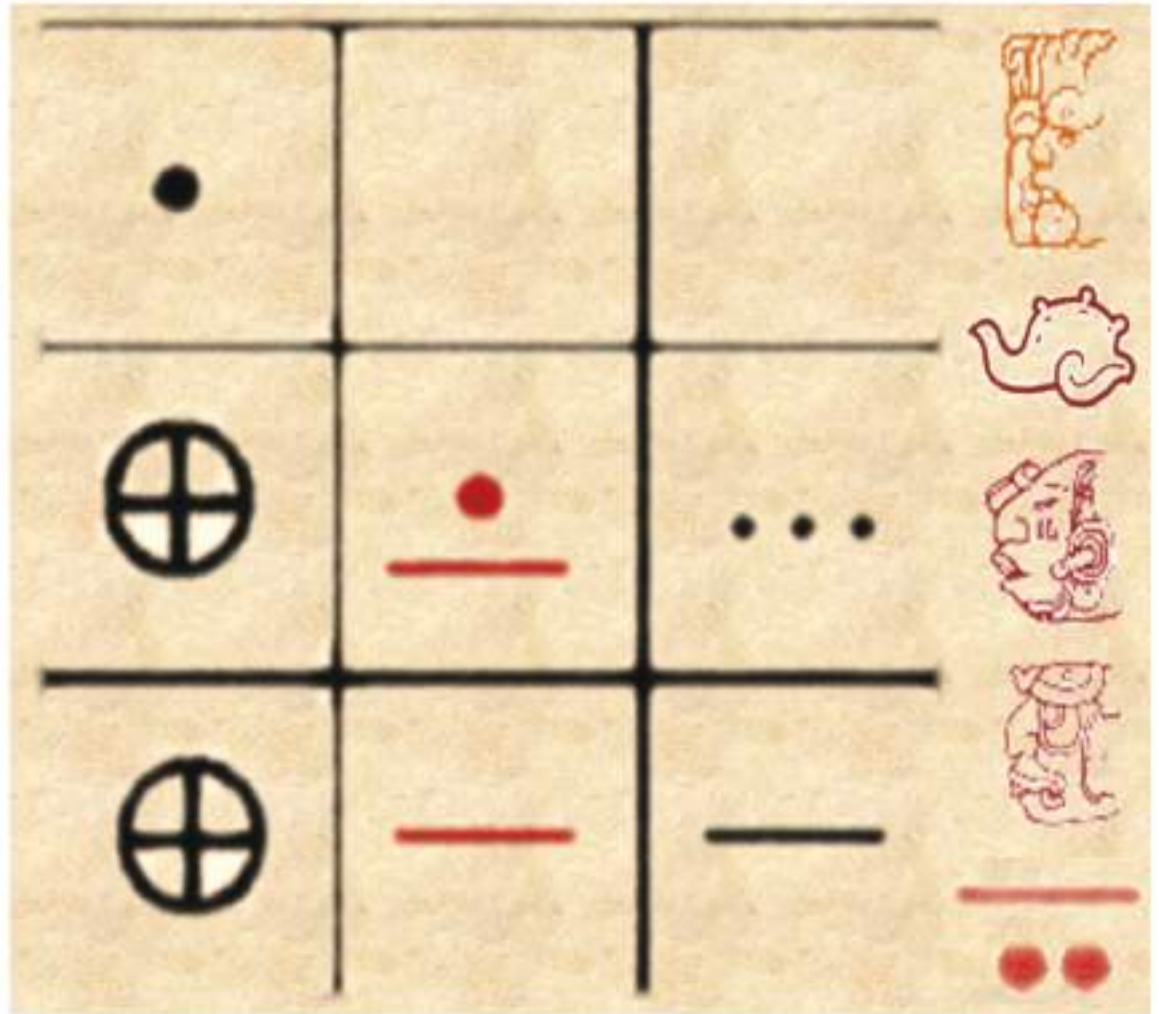


Revista **Tlalamati** Sabiduría



UAGro
Dirección General de
Posgrado e Investigación

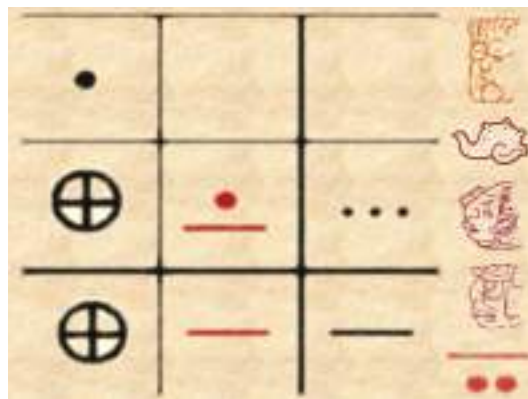
Comité Editorial

Consejo Editorial

Dr. Javier Saldaña Almazán (Presidente)
Dra. Berenice Illades Aguiar (Secretaria)
Dr. Justiniano González González (Vocal)
M. C. José Luis Aparicio López (Vocal)
Dr. Crisólogo Dolores Flores (Vocal)
Dr. Oscar Talavera Mendoza

Editor responsable

Dr. Oscar Talavera Mendoza



Fotografía de la portada: Representación de numerales Mayas en base decimal de la resta $100-65=35$, A la derecha, de arriba abajo, representación en glifos Mayas de los números 2,0,1,4 y los numerales 5 y 2. Autor: Juan Baltazar Cruz Ramírez.

Tomada del artículo: Aspectos didácticos de la aplicación de algoritmos básicos (suma, resta, división y multiplicación), usando numerales Mayas en base decimal en el conjunto de los números Naturales. Un estudio de caso. p. 31

Editores por áreas del conocimiento

Dr. Elías Hernández Castro
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Agropecuarias

Dr. José Legorreta Soberanis
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Dr. José Francisco Muñoz Valle
Universidad de Guadalajara

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Dr. José María Sigarreta Almira
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Exactas y Matemáticas

Dr. Rodrigo Carramiñana
Southern Illinois University

Ciencias Exactas y Matemáticas

Dra. Laura Sampedro Rosas
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Ambientales y Desarrollo Regional

Dr. Ricardo Sánchez García
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Dra. Luisa Concepción Ballester
Southern Illinois University

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Responsable de la Edición

Dr. C. Juan Baltazar Cruz Ramírez

Coordinación Editorial

Lic. Isabel Rivero Cors
MFA Moisés Reyes Román

Corrección de estilo

M. C. Magdalena Martínez Durán

Tlamati Sabiduría; Volumen 5, Número 2, Abril – Junio 2014 es una publicación trimestral editada por la Universidad Autónoma de Guerrero, a través de la Dirección General de Posgrado e Investigación.
Domicilio: Javier Méndez Aponte No. 1, Col. Servidor Agrario, C.P. 39070.
Tel: (01 747) 471 93 10 ext. 3091. Chilpancingo, Guerrero, México.
Site de la revista: <http://posgradoeinvestigacion.uagro.mx>
E-mail: tlamatisabiduria@outlook.com
Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2009-040817000000-102.
ISSN 2007-2066. Este número se publicó el 29 de Junio del 2014. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación para fines didácticos.

Comité Editorial de Revisores por Área de la Ciencia

BIOLOGÍA Y QUÍMICA

Dr. Eneas Alejandro Chavelas Adame

Dr. Oscar Del Moral Hernández

BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dr. Francisco Palemón Alberto

Dr. Gerardo Huerta Beristaín

Dr. Jaime Olivares Pérez

Dr. Luis Miguel Camacho Díaz

CIENCIAS SOCIALES

Dr. Ángel Ascencio Romero

Dra. América Libertad Rodríguez Herrera

Dra. Columba Rodríguez Alviso

Dra. Cristina Barroso Calderón

Dra. Dulce María Quintero Romero

Dra. Margarita Jiménez Badillo

Dra. Rocío López Velasco

FÍSICO MATEMÁTICAS Y CIENCIAS DE LA TIERRA

Dr. Francisco Julián Ariza Hernández

Dr. Jorge Sánchez Ortiz

Dr. Juan Carlos Hernández Gómez

Dr. Marco Antonio Taneco Hernández

Dr. Martín Patricio Árciga Alejandre

Dra. Ernestina Felicia Castells Gil

HUMANIDADES Y CIENCIAS DE LA CONDUCTA

Dr. Camilo Valqui Cachi

Dr. Osvaldo Ascencio López

Dra. Flor M. Rodríguez Vásquez

Dra. Ma. Gloria Toledo Espino

MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Dr. Sergio Paredes Solís

Dra. María Eugenia Flores Alfaro

Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán

Dra. Mónica Espinoza Rojo



Contenido	Pag.
Editorial	4
C iencias Agropecuarias	
Efecto de la contaminación en suelo por pilas domésticas desechadas sobre el desarrollo de <i>Phaseolus vulgaris</i>, parte 1: Estudio exploratorio. <i>Celso Moisés Bautista Rodríguez, Ángel Pérez Zempoaltecatl, Daniel Cruz González.</i>	5
Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba <i>Psidium guajava</i> L. <i>Dolores Vargas Alvarez, Marcos Soto Hernández, Víctor A. González Hernández, E. Mark Engleman</i>	18
C iencias Exactas, Ingenierías y Arquitectura	
Diagnóstico del Comportamiento observado en edificaciones durante el sismo de Zumpango, Guerrero, México, (Mw =6.5) del 11 de Diciembre de 2011 y propuestas para reducir la vulnerabilidad estructural <i>Roberto Arroyo Matus, Sulpicio Sánchez Tizapa, C. Patricia Téllez Tapia, E. Rogelio Guinto Herrera</i>	22
M atemática Educativa	
Aspectos didácticos de la aplicación de algoritmos básicos (suma, resta, división y multiplicación), usando numerales Mayas en base decimal en el conjunto de los números Naturales. Un estudio de caso. <i>Juan Baltazar Cruz Ramírez</i>	31
E cología Marina	
Cultivo del langostino <i>Macrobrachium tenellum</i>, alimentado con <i>Artemia franciscana</i> la cual a su vez fue alimentada con dietas unialgales y mixtas de microalgas <i>Donaciano Pérez-Castro, Oscar Talavera-Mendoza, Salomé Branly Olivier</i>	44
C iencias Sociales	
Las estrategias de marketing de las MiPYMES en las ciudades de Matchuala y Ríoverde, San Luis Potosí, México. Un análisis comparativo <i>José Luis Susano García, Marcos Francisco Martínez Aguilar, Juan Manuel Espinosa Delgado</i>	49
La comunicación interpersonal y el suicidio en los jóvenes de Chilpancingo, Gro. Un estudio de casos. <i>María del Socorro Cabrera Ríos, Norma Angélica Sevilla Muñoz, Anabela Latabán Campos, Martín Cornelio Nava</i>	56
R eseñas Científicas	
La genética reversa y el desarrollo de vacunas contra la garrapata del ganado vacuno <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> <i>D. Domínguez García, M. Ortiz Estrada, F. Torres Guzmán, R. Rosario Cruz</i>	60
<i>Pseudomonas</i> sp productoras de biosurfactantes <i>Jeiry Toribio Jiménez, Juan Carlos Velázquez Aradillas, Yanet Romero Ramírez, Miguel Ángel Rodríguez Barrera, José Daniel Chávez González, Joseph Guevera Luna, José Luis Aguirre Noyola, Arely Fierro Torres</i>	66

Editorial

A más de 30 años de esfuerzos editoriales en el área de Investigación Científica de la Universidad Autónoma de Guerrero, se hace necesario hacer un resumen y a la vez, un análisis de los esfuerzos realizados desde la entonces Coordinación de Investigación Científica, para la creación e institucionalización de una revista de divulgación del conocimiento generada al interior de la Universidad Autónoma de Guerrero.

La *Revista Ciencia* marcó el inicio de este esfuerzo en 1990. Promovida por el entonces Coordinador de Investigación Científica, el Dr. Jesús Samper Ahumada (+), la *Revista Ciencia*, como todo comienzo, indicó el rumbo a seguir y sobre todo, mostró los obstáculos a los que un proyecto de este tipo se enfrentaba. La carencia de un presupuesto institucional, la falla en el control de revisiones del producto final (la Fe de Erratas de esa revista era casi del tamaño de la misma), la nula distribución al interior y al exterior de la Universidad y sobre todo, la falta de una cultura de publicaciones formales en la comunidad académica de nuestra Universidad, fueron los principales obstáculos a los que se enfrentó este proyecto. Si a esto agregamos que, debido a problemas legales con los editores de la original *Revista Ciencia* publicada por la Academia Mexicana de Ciencias (AMC), se reformuló y replanteó tanto el formato de la revista, como la formalización de la misma mediante la constitución de un Comité Editorial de Investigación, dando origen a la *Revista de la Investigación Científica* (Marzo de 1991 a Diciembre de 1994), publicación que tomó el lugar de la *Revista Ciencia*.

La *Revista de la Investigación Científica* fue la primera revista de éste tipo que se diseñó al interior de la Universidad Autónoma de Guerrero, teniendo como resultado una supervisión más directa por parte de la comunidad académica sobre el contenido publicado. Desafortunadamente, la falta de un presupuesto institucional para su publicación en papel, ocasionó que la publicación no tuviera la continuidad necesaria para instituir un esfuerzo de éste tipo, lo que tuvo como consecuencia que se dejara de publicar después de algunos números.

Es en el año 2003 en donde se trata de retomar este esfuerzo, ahora con el nombre de *Revista de Investigación Científica CIENCIA*. Otra vez, fue la falta de un presupuesto institucional la que terminó con este proyecto, pero a la vez, permitió explorar otras opciones. Es en este periodo en donde se publica la *Revista Electrónica de Divulgación Científica, Tecnológica y Humanística Tenocelome* y posteriormente, el Boletín Electrónico *A Ciencia Cierta*. Estas publicaciones se entregaban mediante correo electrónico, ya que nunca se pudo formalizar el hospedaje en los servidores institucionales. El contenido estaba enfocado a la difusión científica y tuvieron una continuidad bimestral, publicándose de forma constante hasta el 2009.

Tlamati Sabiduría es el último esfuerzo que continúa con esta gesta. Publicada en papel desde 2009, su publicación ha sido intermitente pero hasta la fecha, casi constante. Sin un presupuesto formal e institucionalizado para su publicación en papel, y en una época en donde las publicaciones científicas deben responder a estrictas evaluaciones externas y cumplir con estándares académicos bien definidos, es que tomamos el reto de publicar *Tlamati Sabiduría* en formato electrónico.

Siendo ahora una publicación de la Dirección General de Posgrado e Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero, con un Comité Editorial conformado por reconocidas personalidades académicas de nivel internacional y con la formalización de un Comité Académico de Editores Evaluadores conformado por expertos reconocidos en su particular área de conocimiento, estamos publicando no solo a autores internos, sino que estamos promoviendo la publicación de autores externos a la UAGro, cumpliendo con los requisitos para que en un futuro próximo, sea considerada y evaluada para convertirse en una publicación indexada internacionalmente. Bajo este contexto, presentamos *Tlamati Sabiduría* 5.2.

A todos quienes en su momento han apoyado y revivido el esfuerzo para publicar una revista de difusión científica al interior de la Universidad Autónoma de Guerrero, hacemos un reconocimiento a 23 años de esfuerzo, tenacidad, obstinación y sobre todo, de nuevas propuestas enfocadas en enriquecer este proyecto académico, mismo que esperamos cumpla con la función de impulsar la divulgación del conocimiento, tanto al interior como al exterior de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez





Efecto de la contaminación en suelo por pilas domésticas desechadas sobre el desarrollo de *Phaseolus vulgaris*, parte 1: Estudio exploratorio

Celso Moisés Bautista-Rodríguez ^{1*}
 Ángel Pérez-Zempoaltecatl ²

¹ Alter-Energías Grupo. Tepetitlán No. 63, Col. Lomas del Sur, Puebla, 72470, México. Tel. +52 (55) 50293257.

² Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y San Claudio, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Cd. Puebla, México

*Autor de correspondencia

celso.bautista@sener.com.mx

Resumen

Estudios previos han demostrado que las pilas domésticas desechadas presentan algunas características CRETIB (Corrosivo, Reactivo, Explosivo, Tóxico, Inflamable y Biológico-Infeccioso) por lo cual generan contaminación ambiental y riesgos a la salud. Las pilas al estar en contacto con el suelo se corroen en sus carcasas, liberando contaminantes en el suelo, afectando el crecimiento y calidad de las plantas. En este trabajo se reporta un estudio visual y estadístico de los resultados obtenidos a partir de un diseño experimental desarrollado sobre los efectos que tienen los componentes tóxicos de las pilas domésticas "AA" con electrolito ácido (T) y alcalino (D) en cultivos de frijol *Phaseolus vulgaris* (aspecto de la planta y altura de tallos). El diseño experimental consistió en someter las plantas a tres grados de exposición de contaminación por pilas domésticas con tres replicas por exposición. Los resultados ponen en evidencia estadística, las diferencias de altura de tallos en los cultivos al 95% de confiabilidad, principalmente en las muestras contaminadas con pilas alcalinas mientras en las pilas contaminadas con pilas ácidas, los efectos varían desde no significativos hasta devastadores en función del nivel de exposición a la contaminación.

Palabras Clave: Pilas, Cultivos, *Phaseolus vulgaris*

Abstract

Previous studies have shown that discarded batteries have some characteristics which generate environmental pollution and health hazards. At the time that these stacks of discarded batteries stay in contact with soil, a process of corrosion starts, releasing its contaminants within soil and affecting growth and quality of plants. In this study, a visual and statistical analysis from results obtained by an experimental design about effects of toxic components of domestic batteries "AA" with acid electrolyte (T) and alkaline electrolyte (D) developed in harvested beans show that exposure of household batteries affects appearance and stem height of the plant. Experimental design consisted in exposing plants to three degrees of contamination by exposure with discarded domestic batteries with three replicates. Results show statistical evidence related with differences in stem height in crops with 95 % reliability. These differences are showed mainly in samples contaminated with alkaline batteries. Effects on samples contaminated with acid batteries vary from insignificant to devastating depending on the level of exposure to pollution.

Keywords: Cell, Crops, *Phaseolus vulgaris*

Como citar el artículo:

Bautista-Rodríguez, C. M., Pérez-Zempoaltecatl, A. y Cruz-González, D. (2014). Efecto de la contaminación en suelo por pilas domésticas desechadas sobre el desarrollo de *Phaseolus vulgaris*, parte 1: Estudio exploratorio. *Tlamati*, 5(2), 5-17.

Introducción

El desarrollo tecnológico ha generado una gran variedad de dispositivos eléctricos y electrónicos para satisfacer servicios portátiles y estacionarios. En consecuencia, se han desarrollado tecnologías que dependen de sistemas de almacenamiento de energía portátil basados en procesos electroquímicos con capacidad de convertir energía química directamente a energía eléctrica como son las pilas domésticas (Olvera Kádel y Saucedo Solorio, 2009).

Una pila es una unidad electroquímica contenida en carcasa metálica con dos terminales que representan un polo positivo y uno negativo, también conocidos como electrodos (cátodo y ánodo) y el medio de conducción interna llamado electrolito que puede ser de naturaleza ácida o alcalina (Bautista Rodríguez, Campos Pérez, Galicia Pineda, Rivera Márquez, Guevara García, Montiel Corona y Castillo Velázquez, 2007; Castro Díaz y Díaz Arias, M., 2004; Gaytán, Tapia, Bautista Rodríguez, Tapia, Gaytán, Rivera y Torres, 2009; Basurto González, 2006). El funcionamiento de una pila se desarrolla a partir de una reacción de óxido-reducción. Ésta reacción resulta de dos reacciones parciales (semirreacciones), donde un elemento químico se eleva a un estado de valencia superior (oxidación) mientras que otro se reduce a un estado de valencia inferior (reducción). El proceso de óxido-reducción implica la transferencia de electrones del elemento que se oxida al elemento que se reduce. Cada una de las semirreacciones se llevan a cabo de manera independiente en los electrodos de la pila y el medio que posibilita el transporte interno de carga eléctrica entre el cátodo y ánodo es el electrolito (Bautista et al., 2007; Camacho Aguilar, 2006). Cuando la energía de la pila se agota, esta es desechada no sólo en la basura doméstica, frecuentemente se desecha en jardines, suelo, drenaje, etc., todos estos considerados como lugares inapropiados por las características CRETIB de estos dispositivos. Ese acto que pareciera inofensivo representa un serio problema, pues las pilas contienen sustancias de elevada toxicidad. Las pilas, al ser desechadas y estar en contacto con el suelo y la humedad degradan su envoltura primaria, lo que provoca daños consecutivos a la carcasa y por consiguiente la liberación de sus componentes tóxicos al suelo circundante y/o a los cuerpos de agua superficiales o subterráneos por lixiviación (Galicia Pineda, 2007; Prieto Méndez, González Ramírez, Román Gutiérrez, Prieto García, 2009). El problema de las pilas domésticas como residuos es su constitución a base de metales pesados (como Cinc, Plomo, Mercurio, Litio, Cadmio, etc.) necesarios para su funcionamiento (Martin y Griswold, 2009). Por lo tanto, las plantas que se desarrollan en suelos contaminados son capaces de absorber metales. Estos metales pueden ser bioacumulados en las raíces, tallos, frutos y hojas, provocando la inhibición del crecimiento e incluso la muerte de la planta (Monu, Bala, Shweta, Anchal, Barinder y Neeraj, 2008). Debe considerarse que los metales contaminantes se pueden almacenar en cantidades considerables en el tallo aún antes de mostrar efectos visibles (Al-Suburu, Salim, Dou-

leh y Atallah, 1993).

Algunos parámetros del suelo tales como pH (medida de acidez o alcalinidad de una disolución), composición mineral y microorganismos intervienen en el grado final de toxicidad. El pH del suelo influye significativamente en la disponibilidad de los metales para la planta. En el caso de la mayoría de los metales como el cadmio y el plomo, a medida que disminuye el pH (< 7), los metales se separan de los compuestos, se solubilizan en la tierra y tienen mayor movilidad y disponibilidad para la planta. Cuando el pH aumenta (> 7), algunos metales se precipitan formando sales, sin embargo, en el caso de cinc y níquel, cuando el pH es básico o ligeramente alcalino ($7 < \text{pH} < 8$) se favorece la absorción de iones por la planta (Kiatgamjorn, Khanngern y Nitta, 2004).

En las últimas décadas se ha demostrado que la presencia de metales pesados inhibe considerablemente el crecimiento de la planta. Esto está asociado con la deficiencia de cinc, al uso de su energía en mecanismos necesarios para adaptarse a las altas concentraciones de metales en sus tejidos y además se puede relacionar con un efecto en la fotosíntesis a nivel estructural y metabólico. Los metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas dependiendo de su disponibilidad en el suelo y de los mecanismos de selectividad propios de cada especie, variedad o genotipo (Ludas Viñuela, 2008).

Por otra parte, el uso de agua residuales en la agricultura reporta una tendencia creciente en las concentraciones de metales en los suelos, las cantidades de metal que se extraen y se miden en estos suelos se han asociado positivamente con el tiempo de uso de agua residual; mostrando una mayor tasa anual de acumulación de Níquel (Ni) y Plomo (Pb) (Benavides, 2000; Vassilev, Koleva, Berova y Stoeva, 2007).

Un cultivo de interés económico es el *P. vulgaris*, el cual es de gran importancia en la cadena alimentaria en México. Nuestro país se coloca en el quinto lugar de países productores de esta leguminosa (Borja y García, 2008; Norma Mexicana Fabaceas-Frijol 038-SCFI-2002, 2011). En el periodo del año 2000 a 2010, México tuvo un rendimiento promedio inferior al promedio mundial, obteniendo 0.8 toneladas por hectárea de terreno. Así también, nuestro país se ubica en el tercer lugar de países consumidores y también tiene un consumo per cápita de 11 kg. en promedio anual. Cabe mencionar que México exporta en promedio 14, 684 Ton/año, representando sólo un 0.5 % del producto total exportado a nivel mundial, sin embargo, México se coloca en el séptimo lugar de países importadores, es decir, se consume más de lo que se produce (Secretaría de Economía, 2012). La contaminación en el suelo y en consecuencia de cultivos como el frijol, representa también un problema de economía nacional debido a la disminución de las exportaciones por la baja calidad del producto.

A nivel internacional, existen leyes que establecen la gestión de las pilas de desecho y sus niveles máximos de concentración de metales pesados, con la finalidad de reducir al mínimo su peligrosidad y de evitar la eliminación de las pilas, acumuladores y baterías usados en el flujo de

Tabla 1

Código para el Diseño Experimental Aplicado

T1E1	T2E1	T3E1	B1E1	B2E1	B3E1	D1E1	D2E1	D3E1
T1E2	T2E2	T3E2	B1E2	B2E2	B3E2	D1E2	D2E2	D3E2
T1E3	T2E3	T3E3	B1E3	B2E3	B3E3	D1E3	D2E3	D3E3

residuos sólidos urbanos no seleccionados (RIS Internacional, 2007; Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, 2006; Consejo Nacional de Medio Ambiente, 2008). Las regulaciones internacionales se han enfocado a establecer límites al contenido de metales en las pilas. En México, no existe actualmente una legislación ambiental que determine el uso adecuado de pilas como desecho. En el año 2006 se propuso a nivel federal un proyecto de norma que establece especificaciones para la clasificación e identificación de pilas y baterías para el manejo ambientalmente adecuado de estas, cuando sean desechadas, en donde se indica los límites máximos permisibles para el contenido de mercurio y cadmio (Proyecto de Norma Mexicana AA-104-SCFI, 2006). Este proyecto ha sufrido modificaciones, pero a la fecha continúa en proceso de revisión y aprobación, por lo que es necesaria la aplicación de diversos estudios para poder impulsar el desarrollo de ese proyecto para convertirse en una ley semejante a la europea y/o brasileña (Bautista et al. 2009; Gaytán et al., 2009; Marolia, 2007). Por otra parte, México requiere también una normatividad para regular la concentración de metales pesados en las leguminosas (alimentos en general) de importación, con el propósito de reducir impactos en salud pública.

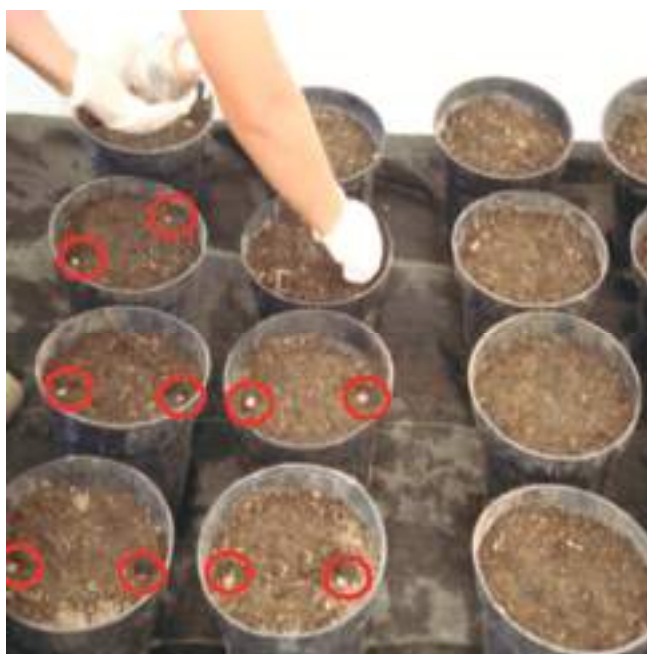


Figura 1. Siembra de pilas desechadas con carcasa cerrada

El presente trabajo reporta los resultados estadísticos obtenidos a partir de un diseño experimental 2^3 (Montgomery y Runger, 1996), aplicando inferencia estadística para identificar diferencias significativas al 95% de confiabilidad entre las muestras testigo versus las muestras con pilas ácidas o alcalinas a 3 niveles de exposición a la contaminación. Se presentan simultáneamente a los resultados, imágenes comparativas con el propósito de verificar cualitativamente los resultados estadísticos. Es importante mencionar la carencia de estudios de esta naturaleza en la bibliografía, encontrando solo disponible estudios sobre el efecto de aguas de riego contaminadas con metales pesados de carácter industrial sobre cultivos de interés económico. Por lo cual, los autores proponen el presente estudio con alcances exploratorios en su primera etapa.

Metodología

El desarrollo experimental se realizó en un invernadero ubicado dentro del jardín botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), se inició con la delimitación del terreno y la preparación de la tierra, se combinó tierra de hojas con suelo que se encontraba en el jardín botánico en una proporción 1:1; posteriormente se llevó a cabo el llenado de las macetas y la siembra de las semillas donde se utilizó la misma cantidad y calidad de agua como riego (Vidales Olivo, A., 2000) y suelo para cada una. Se realizó el Diseño Experimental 2^3 , ($DE2^3$) para el cual fueron considerados los siguientes factores: pH de la pila desechada y nivel de exposición; mientras que para cada factor se consideraron tres niveles: 1) Ácido, 2) Alcalino y 3) Control o Blanco para el factor pH; mientras que para el nivel de exposición se determinaron niveles como: 1) Pilas cerradas, 2) Pilas abiertas parcialmente y 3) Pilas despedazadas. EL $DE2^3$, comprende tres repeticiones para cada muestra (véase tabla 1). Los cultivos Testigo o Control fueron codificados con la letra B, las muestras ácidas utilizaron la letra T y las alcalinas la letra D, todas seguidas de un número que indica la secuencia de réplica, indicando la letra E el nivel de exposición en el que se encuentran. Así por ejemplo, el código T2E3 corresponde a la segunda repetición para la muestra ácida en el tercer nivel de exposición. El Diseño Experimental aplicado se representa codificado en la tabla 1.

Las pilas de desecho que se utilizaron como contaminantes (dos pilas por maceta), se sembraron en los cultivos en tres formas distintas y representan el grado de exposición: Exposición 1: Pila completa con carcasa cerrada (véase figura 1). Exposición 2: Pila completa con carcasa abierta en mal estado físico (véase figura 2a). Exposición



Figura 2. Siembra de pilas. a) Exposición 2 de pila ácida y b) exposición 3 de pila alcalina

3: Pila despedazada y dispersada (véase figura 2b).

Los cultivos se regaron cada tres días utilizando agua de mesa marca Junghans (150 ml en las 4 primeras semanas y 300 ml hasta el final del experimento) catalogada como de excelente calidad (Vidales, 2000), al no encontrar microorganismos (coliformes, microorganismos mesofílicos y estreptococos) presentes en el agua y por su bajo contenido de sales. Dichas características son benéficas en el estudio para evitar una posible interferencia en los resultados de la experimentación; de la misma forma se tomaron medidas de las dimensiones de cada cultivo tomando en cuenta los siguientes aspectos: largo del tallo, largo y ancho de las hojas, así como el análisis del aspecto de las plantas de acuerdo al grado de exposición en función del tiempo. Todas las mediciones iniciaron alrededor de las 10

AM para evitar alteraciones importantes debido al estado de los cultivos a lo largo del día.

Los métodos y técnicas estadísticas para el estudio fueron: inferencia estadística y la prueba de hipótesis (Montgomery y Runger, 1996) a un nivel de significancia del 95% (Spiegel y Stephens, 2002).

Resultados

Se registra de forma general el crecimiento de los tallos de todas las muestras en estudio durante los primeros 38 días del experimento (véase figura 3). El tiempo experimental total fue superior a los 60 días, sin embargo, por razones higiénicas locales en el campus, el registro de mediciones solo fue confiable para todas las muestras hasta el

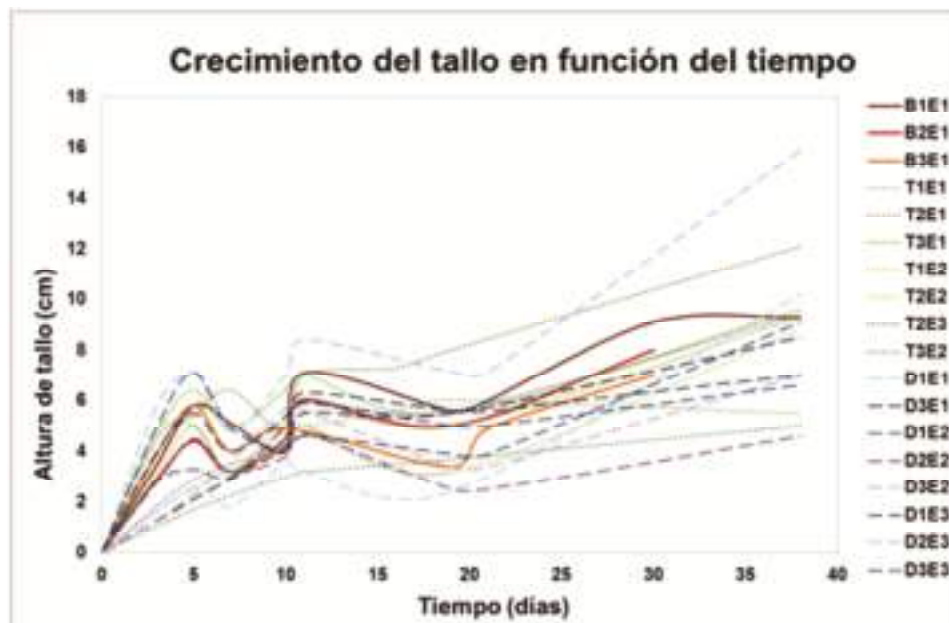


Figura 3. Longitud del tallo en función del tiempo para todas las muestras del DE2³

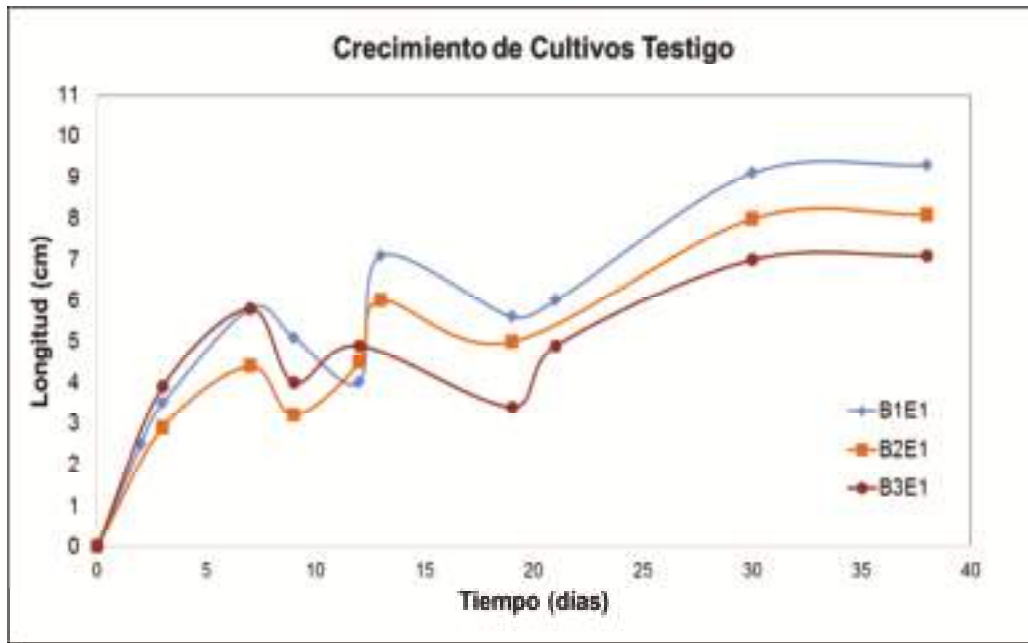


Figura 4. Comportamiento de crecimiento en testigos

día 38. La grafica muestra una variabilidad notable entre las alturas de los tallos de los cultivos por efecto probable de los tratamientos del experimento. Las curvas muestran en general 3 cambios de pendientes significativos y atribuibles a diferentes etapas en el desarrollo de los cultivos, siendo característicos del tipo de cultivo y su genoma. La disminución en altura observada en los días 7 y 21 se atribuyen a una caída natural de las puntas de los cultivos. Estos eventos parecen limitar cambios en el ciclo de vida de los cultivos, manifestándose también en un cambio en la pendiente de las curvas de crecimiento.

El propósito de un estudio detallado ha requerido la agrupación de mediciones clasificadas en 3 periodos cronológicos consecutivos y delimitados por el cambio de pendiente en las curvas de crecimiento. El primer periodo corresponde a los datos entre los días 1 al 10 donde se observa un crecimiento acelerado. El segundo periodo del día

10 al 21 muestra una reducción significativa o nula en su índice de crecimiento, atribuible a la preparación del cultivo a la reproducción, siendo en este periodo donde aparecieron las primeras vainas de producto. El tercer periodo del día 3 al día 38 presenta un crecimiento menor al primer periodo con el visible incremento y desarrollo de las vainas de fruto, siendo la reproducción la causa más probable de la reducción el crecimiento del cultivo. En estas etapas de crecimiento se puede observar cambios en la tendencia de las curvas mostradas en la figura 3, la cual corresponde a las plantas testigo. Es importante tomar en cuenta estos cambios, debido a que la pendiente de la recta se puede interpretar como la velocidad o índice de crecimiento (IC) de la planta; de esta manera es posible determinar y discutir resultados concretos. En el día 7 se aprecia una caída significativa en la altura del tallo de las plantas. Esto se debe a la caída natural de la punta del cultivo, repitiéndose esta observación en los días 19 y 38, coincidiendo con los límites de los periodos propuestos.

El uso de cultivos testigo (véase figura 4) permite la comparación con los cultivos expuestos a contaminación por pilas; se realizaron tres repeticiones o replicas y se observó que uno de los cultivos se comportaba diferente, este comportamiento no es singular, mostrándose repetitivo en todos los casos de estudio; bajo esta observación se conformó el grupo 1 (G1) con los dos cultivos de comportamiento similar y el grupo 2 (G2) con el tercer cultivo de comportamiento diferente. El diagrama de caja muestra la comparación entre los IC de los cultivos testigo (véase figura 5). Así se demostró estadísticamente la diferencia en el IC entre el G1, observando significativamente una mayor velocidad en el crecimiento de los tallos en comparación con el G2. El valor P de 0.003, resultado de la comparación de grupos (inferencia estadística) indica que las

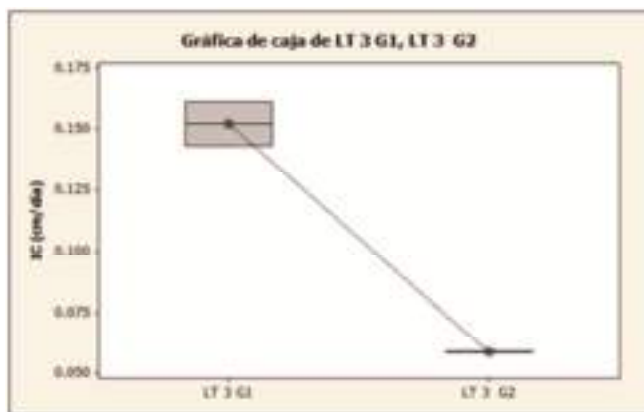


Figura 5. Comparación de IC entre G1 y G2

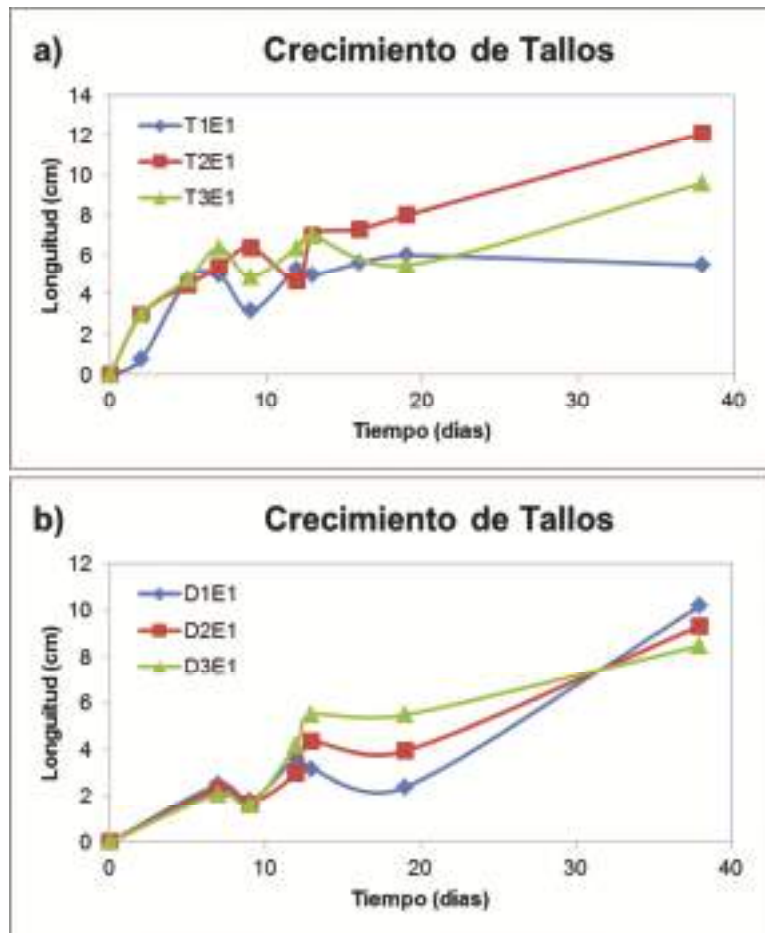


Figura 6. Crecimiento del tallo en función del tiempo de: a) Cultivos contaminados por pilas T y b) Cultivos contaminados por pilas D. Cada una con sus respectivas replicas

medias entre estos valores IC son diferentes. Esta diferencia de comportamientos en el crecimiento de los cultivos de frijol no es singular en la naturaleza. En los seres humanos, por ejemplo, tanto la altura, el tiempo y forma de crecimiento varía entre las personas de acuerdo a diversos factores como la raza o el género. Por ejemplo, las mujeres tienden a crecer por etapas, una etapa de crecimiento y una etapa de estabilidad alternadas; los hombres tienen un crecimiento lento pero constante. El aumento de peso y talla también es diferente entre niños y niñas, las niñas crecen más rápido pero los niños alcanzan mayor peso y talla (Valenzuela, Luengas y Marquet, 1993). Igual que los humanos, las plantas son seres vivos y su proceso de desarrollo es distinto de acuerdo a características propias de la semilla como la madurez, el equilibrio hormonal, la capacidad de germinar y la sexualidad de la semilla (Universidad Politécnica de Valencia [UPV], 2011; Universidad Autónoma de Madrid [UAM], 2011; Genomasur, 2011).

Exposición 1

En esta exposición, los metales pesados se almacenan

en el interior de las pilas cerradas. Se muestran cultivos de frijol expuestos a pilas T y D respectivamente en condiciones de carcasa completamente cerrada (véanse figuras 6a y 6b). Nótese que el tamaño de los tallos de los cultivos contaminados por pilas (T o D) presentan una altura promedio superior al cultivo testigo al final del experimento.

Las curvas de crecimiento (véase figura 6a) no muestran aparentemente, diferencias significativas con las muestras testigo (véase figura 4), en sus dos primeros periodos de estudio. Solo el tercer periodo observa como diferencia un crecimiento mayor en comparación con el mismo periodo (véase figura 4). Adicionalmente, se observa un crecimiento lento en las muestras (véase figura 6b) durante el primer periodo de estudio, sin embargo, en el tercer periodo experimental se observa un incremento en el IC importante de tal forma que al día 38, el crecimiento total es superior a las muestras testigo (véase figura 4).

Las pilas que se utilizaron en este trabajo, a pesar de que son de desecho, son capaces de producir energía y de acuerdo con la posición en que fueron ubicadas es posible la formación de un sistema electroquímico complejo, sobre todo si se considera que se encuentran circundados por

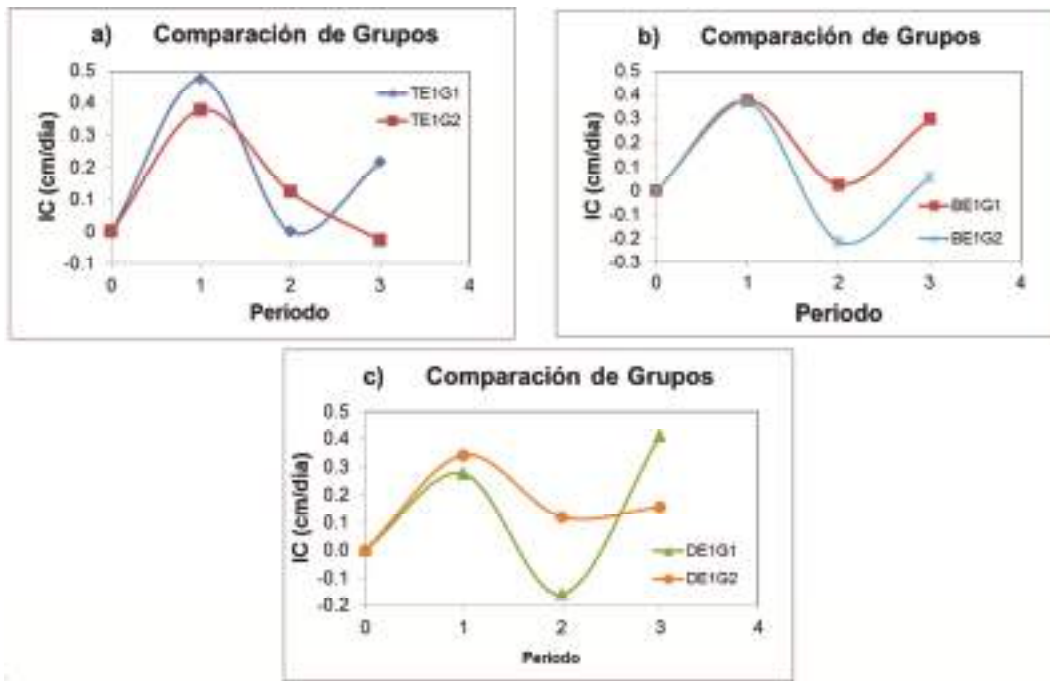


Figura 7. Comparación de IC por grupos: a) T, b) Testigo y c) D

tierra inundada bajo riego constante. Este campo electroquímico generaría una movilidad de iones capaz de afectar la absorción natural de micronutrientes metálicos por las raíces de los cultivos. Por consiguiente, la diferencia entre las curvas de crecimiento (véase figura 6) se puede atribuir a la naturaleza y el voltaje de las pilas D (alcalina con carcasa metálica) y T (ácida con carcasa de cartón). Kiatgamjorn et al (2004) demostraron que los cultivos de soya presentaban diferente desarrollo al estar sometidos durante cinco días a campos eléctricos con una intensidad de 10 y 25 kV/m, observándose un mayor desarrollo a la

mayor intensidad (Clijsters y Van Assche, 1985; Kiatgamjorn et al., 2004).

Se presenta una comparación de los IC (cm/día) para las muestras del nivel de exposición 1 y puede observarse una diferencia de comportamiento entre grupos (G1 y G2), así como la diferencia entre el efecto de pilas ácidas y alcalinas respectivamente (a y c vs b) (véase figura 7). En la contaminación ácida (véase figura 10a), el grupo 2 (curva azul) muestra cambios significativos en su IC para los 3 periodos (véase figura 9a), mientras que en la contaminación alcalina (véase figura 10c), se observa un efecto inverso en el IC de los grupos. Esto es; en G1 se incrementa significativamente mientras en G2 se reduce el IC e los cultivos. Por otra parte, se muestran los valores P del estudio comparativo de grupos por inferencia estadística para este nivel de exposición a la contaminación, teniendo como referencia los valores testigo, donde solo el valor P del G1 vs B1, indica que al 95% de confiabilidad que el IC de la muestra TE1G1 no es diferente con la muestra testigo (véase tabla 2). En todos los demás casos, existe diferencia significativa y atribuible a la diferencia de tratamientos a este nivel de exposición a la contaminación de suelo con pilas ácidas o alcalinas.

De izquierda a derecha se muestra una imagen comparativa de los cultivos: pila ácida, testigo y pila alcalina (véase figura 8). Las características de las hojas en la muestra testigo son abundantes con mejor aspecto y de mayor volumen, esto confunde la diferencia en la longitud de altura en los tallos al compararlas. Las curvas de crecimiento muestran a la muestra con pilas ácidas (véase figu-

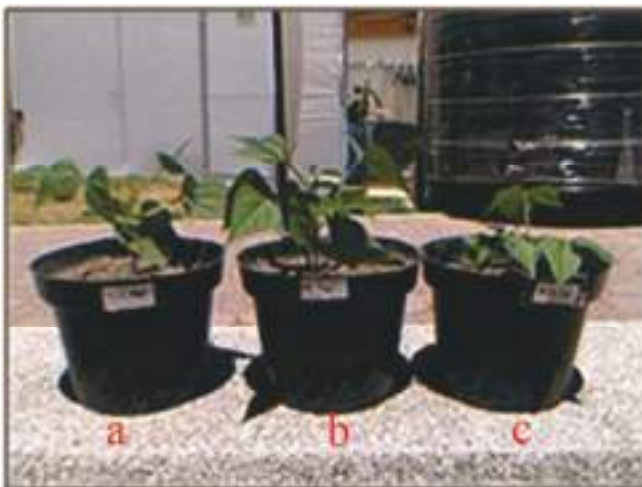


Figura 8. Imagen de la Exposición 1 correspondiente al día 39

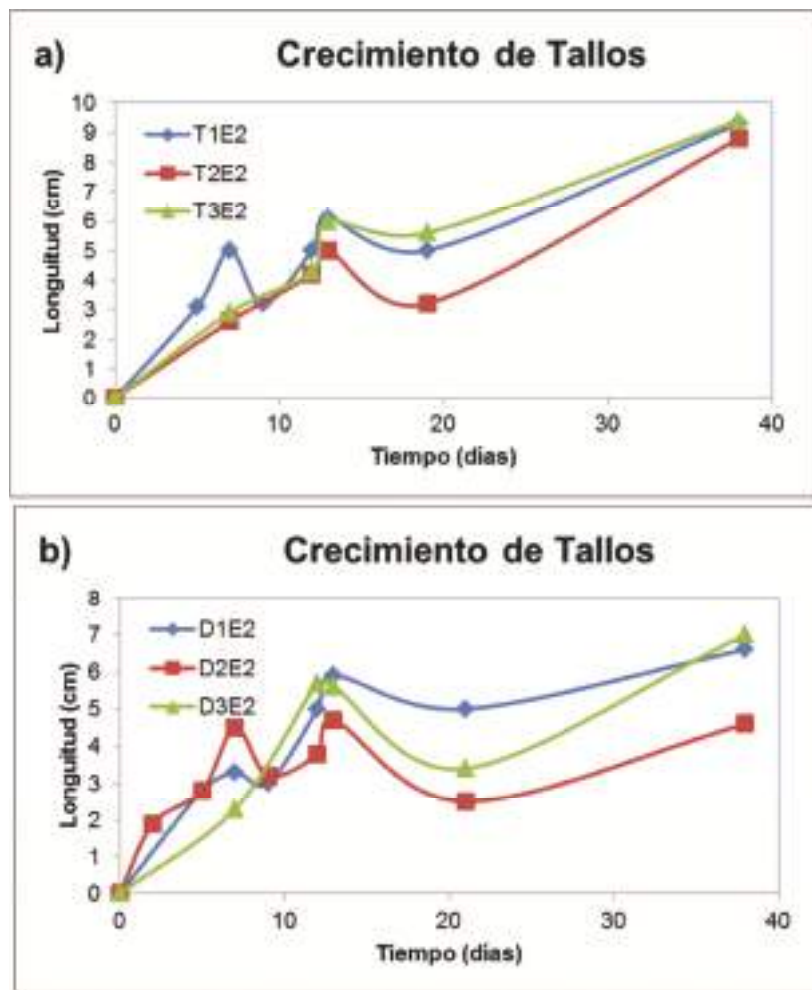


Figura 9. Crecimiento del tallo en función del tiempo de: a) Cultivos contaminados por pilas T y b) Cultivos contaminados por pilas D. Cada una con sus respectivas replicas

ra 8a) como el cultivo con mayor altura de tallo. Por volumen, la muestra testigo (véase figura 8b) muestra mejor aspecto en general.

Exposición 2

Se muestra el crecimiento de tallos en cultivos de frijol expuestos a pilas T y D respectivamente en condiciones de carcasa parcialmente abierta (corte longitudinal). Note que el tamaño de los tallos (al día 38) de los cultivos contaminados por pilas acidas presentan una altura promedio superior

Tabla 2

Inferencia Estadística Comparativa entre IC para tratamientos del DE2³ por Grupos de la E1

Fuente	Valor P		
	Primer periodo	Segundo periodo	Tercer periodo
pH	0.916	0.061	0.02
Exposición	0.441	0.092	0.307
Interacción	0	0.374	0.094

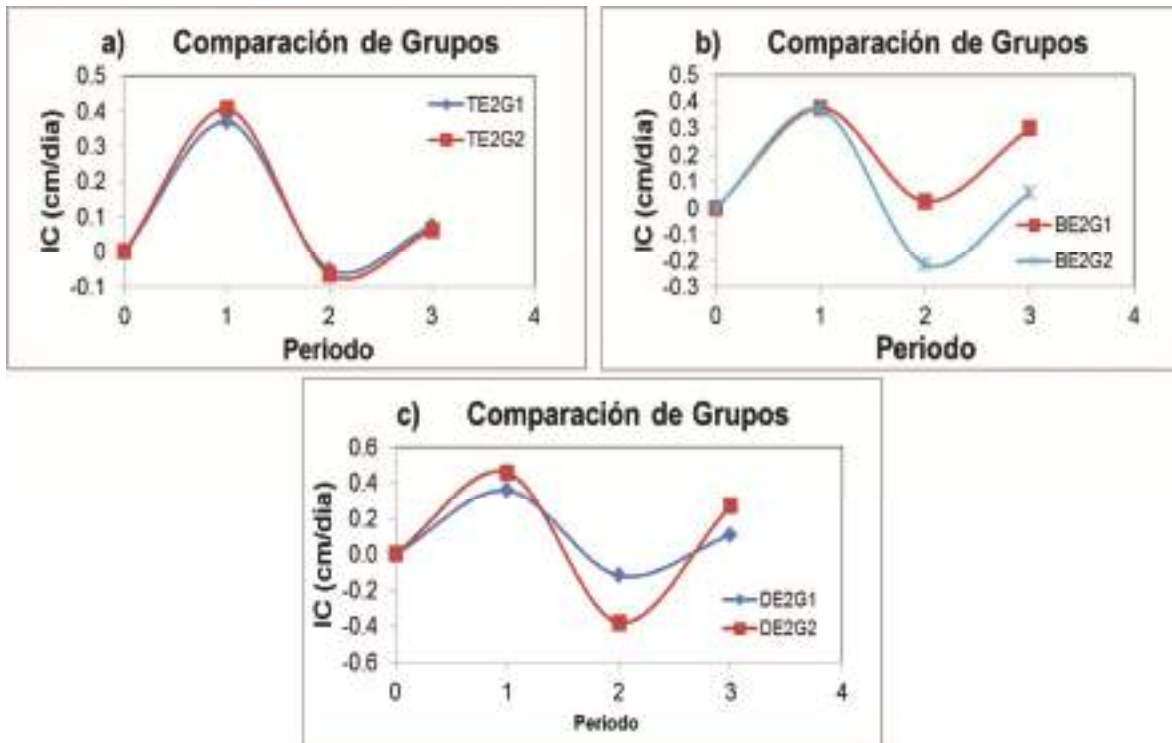


Figura 10. Comparación de IC por grupos: a) T, b) Testigo y c) D

al cultivo testigo. Por el contrario, en las muestras con pilas alcalinas, la altura de tallo es sensiblemente menor en comparación con las muestras control (véase figura 9). Por otra parte, las muestras contaminadas con pilas T observan un crecimiento casi lineal en comparación con los testigos (véase figura 6), mientras que la contaminación alcalina presenta comportamientos de crecimiento en tallos similares a el control en sus dos primeros periodos. En el tercero de ellos, el crecimiento de los tallos se nota sensiblemente disminuido en comparación con el control. En ambas figuras, las curvas en color rojo manifiestan comportamientos diferentes, marcando la diferencia de grupos.

En este caso, el efecto de la contaminación por metales pesados se debe a que la pila se encuentra abierta (sin carcasa), así como a la solubilidad de los metales pesados en la tierra y su absorción por los cultivos a través de sus raíces. Por otra parte, la naturaleza ácida o alcalina de las pilas afecta el pH natural del suelo implicando efectos im-

portantes en el crecimiento y desarrollo de los cultivos de frijol. Es importante señalar que algunos iones de metales pesados como el Fe, Cu, Mn y Zn no pueden ser absorbidos directamente por las plantas. La forma en que ingresan a estas es por medio de quelatos (sustancias que forman complejos con iones de metales pesados). La formación de quelatos usualmente se lleva a cabo en un pH entre 6 y 9; bajo estas condiciones la solubilidad de algunos iones metálicos aumenta o disminuye en función del pH final (Benavides, 2000). En los últimos días del periodo 2, se observa que el crecimiento de la planta es mayor para los cultivos contaminados con pilas alcalinas, este comportamiento se puede describir como sigue:

Robinson, Procter, Connolly y Guerinet, (1999), aislaron un gen llamado FRO2 que se expresa en raíces de *Arabidopsis Thaliana* en condiciones de deficiencia de Fe. Dicho gen FRO2 parece corresponder a una reductasa de Fe-quelato, y de acuerdo a los autores el aislamiento de FRO2 tiene implicaciones para la generación de cultivos con mayor cantidad nutricional y mejor crecimiento en suelos con bajo nivel de Fe disponible (Benavides, 2000; Robinson et al, 1999). Bajo este escenario, suponemos que en este medio alcalino, los iones de metales como el hierro, han desarrollado cierto tipo de genes o agentes quelantes que benefician la velocidad del crecimiento del tallo.

Como la pila está completa pero a carcasa abierta, es posible que la difusión de sus componentes activos sea moderada. En el caso de los cultivos expuestos a pilas T es probable que el pH del suelo sea ácido por lo cual la formación de quelatos es menor y como consecuencia la solu-

Tabla 3

Inferencia Estadística Comparativa entre IC para tratamientos del DE2³ por Grupos de la E2.

Periodo	Valor P			
	Grupo 1		Grupo 2	
	T	D	T	D
1	0.411	0.603	0.000	0.000
2	0.483	0.097	0.000	0.000
3	0.002	0.002	0.000	0.000

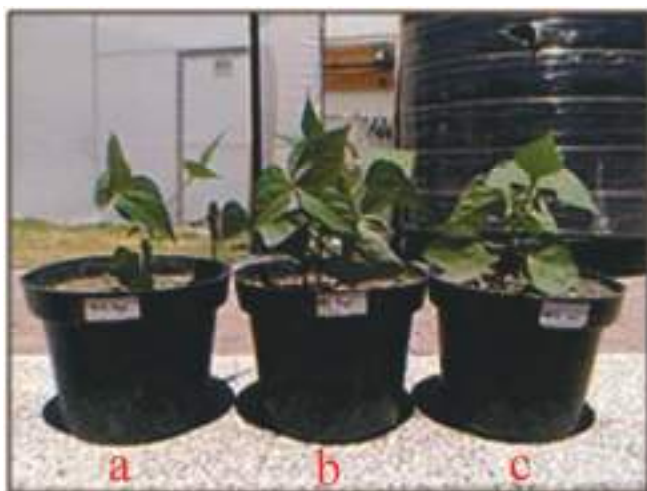


Figura 11. Imagen de la Exposición 2 correspondiente al

bilidad y transporte de los iones metálicos al interior de la planta es poca; sin embargo, para los cultivos expuestos a pilas D es probable que el pH del suelo oscile entre 6 y 9 (note que la pila es alcalina y tiene componentes activos como Zn y Mn), bajo estas condiciones, la formación de quelatos es ideal ya que estos transportarán iones metálicos -en gran cantidad- al interior de la planta, afectando de manera importante el crecimiento de la misma durante los 2 primeros periodos del estudio. Sin embargo, es probable que durante el tercer periodo, el constante riego desplaze la alcalinidad y con ello la estimulación a la formación de quelatos y la concentración de metales en el suelo, lo que podría explicar la diferencia en la altura de los tallos con respecto al control.

Se presenta una comparación de los IC para las muestras del nivel de exposición 2, donde la exposición a pilas acidas no presenta diferencias en los IC de ambos grupos (véase figura 9a), sin embargo, tomando como referencias las muestras no contaminadas, se podría considerar una alteración probable en las muestras expuestas a pH menores en al menos uno de sus grupos (véase figura 9b). En el caso de la contaminación con pilas alcalinas, la diferencia de grupos y el efecto de contaminación a un pH mayor a

Tabla 4

Inferencia Estadística Comparativa entre IC para tratamientos del DE2³ por Grupos de la E3.

Periodo	Valor P			
	Grupo 1		Grupo 2	
	T	D	T	D
1	N/D	0.109	N/D	0.000
2	N/D	0.177	N/D	0.000
3	N/D	0.627	N/D	0.000

las muestras testigo es notable, principalmente durante el tercer periodo en el estudio realizado (véase figura 9c).

Los valores P indican diferencia significativa al 95% de confiabilidad sobre la altura del tallos de los cultivos de Frijol entre las muestras del G2 *versus* las muestras testigo del mismo grupo, mientras para el G1 la diferencia se manifiesta de manera progresiva, siendo efectiva en ambas muestras hasta el 3er periodo experimental (véase tabla 3). Por otra parte, se aprecia al día 39 del experimento, una diferencia notable en la volumetría de la muestra con pilas T (véase figura 11a) y la muestra testigo (véase figura 11b), mientras esta diferencia puede no ser apreciada entre la testigo y la muestra con pilas D (véanse figuras 11b y 11c).

Exposición 3

Se muestra el crecimiento de tallos en cultivos de frijol expuestos a pilas T y D, respectivamente en condiciones de pila despedazada y dispersada, en donde solo una de las tres muestras contaminadas con pilas acidas sobrevivió (véase figura 12a). Probablemente el bajo pH alcanzado en el medio, dañó de forma significativa las raíces de los cultivos y la concentración de metales pesados desarrolló una toxicología capaz de llevar a la muerte a los cultivos.

La curva muestra la eliminación del segundo proceso en el ciclo de vida de la planta; aparentemente en el periodo de reproducción se fusiona el primero de crecimiento con el tercero de desarrollo (véase figura 12b). Por el contrario, las muestras contaminadas con pilas alcalinas muestran un desarrollo superior en la altura de sus tallos en comparación con las muestras testigo al día 38 del experimento y es particularmente notable durante los dos primeros periodos, sin embargo, el tercer periodo contrasta con una reducción en su crecimiento en dos de las muestras mientras en la tercera (curva roja) se desarrolla en IC prominente.

El IC en la planta de frijol sobreviviente de las muestras contaminadas con pilas T muestra un decremento prominente durante todo el periodo experimental, así el alto nivel de toxicidad al cual fueron sometidas las muestras es evidente (véase figura 12a). Contrariamente, el IC en las muestras contaminadas con pilas D se observan favorecidas durante los dos primeros periodos de estudio y particularmente en el G1, sin embargo, durante el tercer periodo existe nuevamente un contraste entre G1 y G2; el primero se reduce mientras en segundo se ve estimulado de forma prominente.

Se observa como las pilas T causan problemas en el crecimiento del tallo de la planta de frijol (cultivo de menor tamaño), en esta exposición las pilas se encuentran despedazadas y es muy probable que exista una mayor concentración disponible de metales pesados y efectos importantes en el pH del suelo (véase figura 13). El efecto en los cultivos contaminados por pilas ácidas es devastador debido muy probablemente a la absorción de metales pesados; con un pH ácido los metales no requieren de mecanismos complejos como la quelación y pueden ingresar a la planta como iones o formando sales. Debido a que la

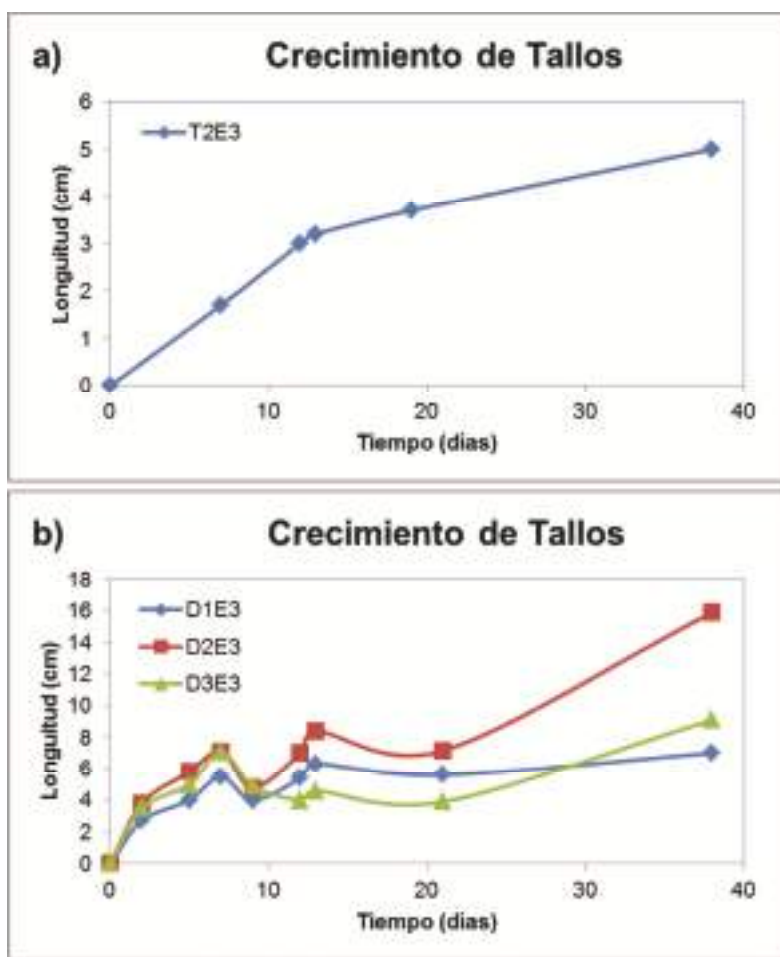


Figura 12. Crecimiento del tallo en función del tiempo de: a) Cultivos contaminados por pilas T y b) Cultivos contaminados por pilas D. Cada una con sus respectivas replicas

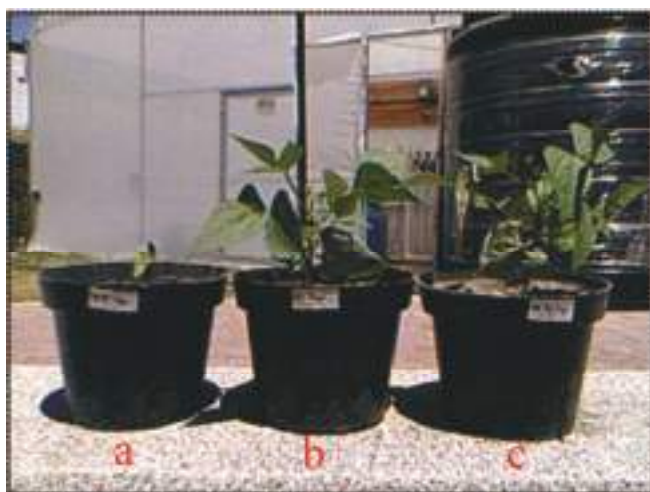


Figura 14. Imagen de la Exposición 3 correspondiente al día 39

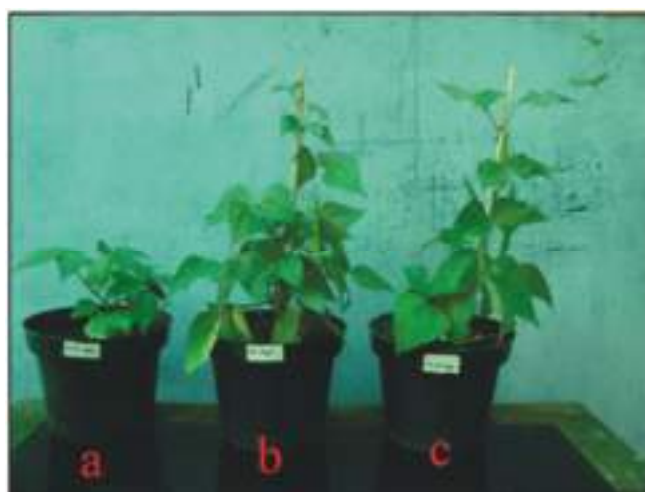


Figura 15. Imagen de la Exposición 3 al 65º día experimental

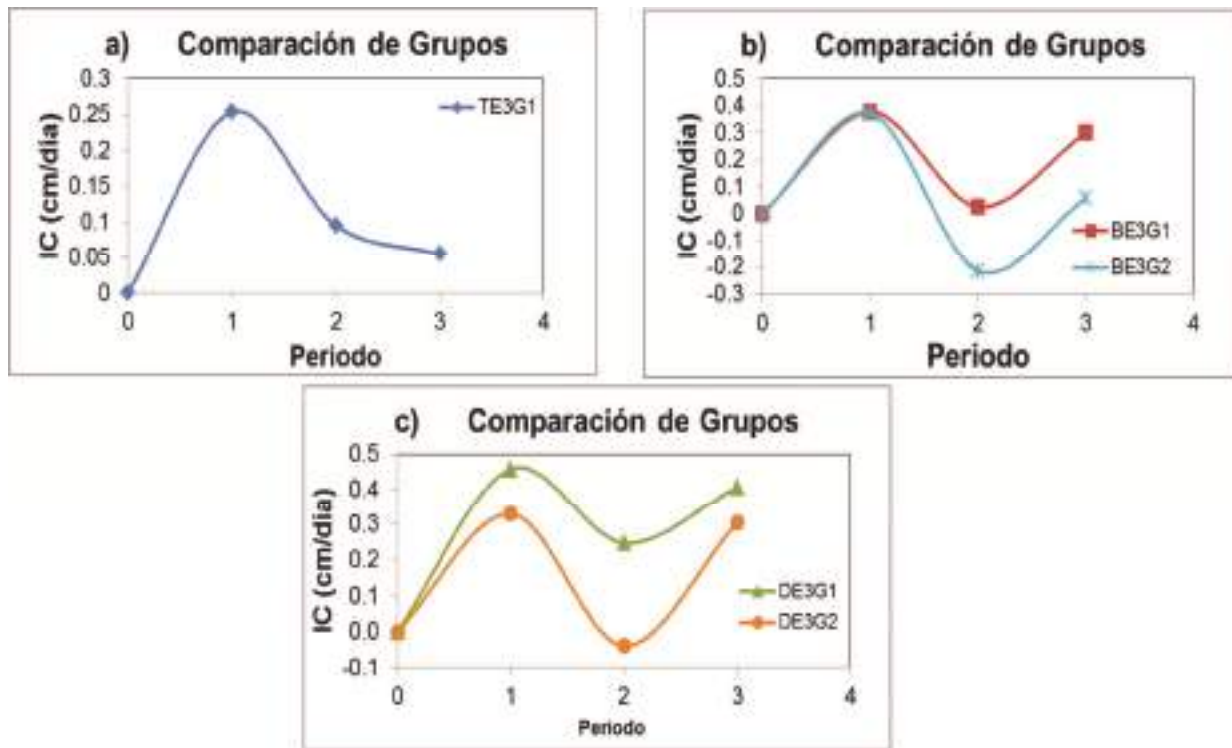


Figura 13. Comparación de IC por grupos: a) T, b) Testigo y c) D

pila está completamente despedazada, existe mayor disposición de estos iones metálicos provocando efectos más drásticos en la planta (poca biomasa, germinación anormal, e inhibición en su crecimiento por el uso de su energía en la adaptación a suelos contaminados). Existen otros factores que influyen en la absorción y acumulación de metales tóxicos, como por ejemplo: la naturaleza del metal, microorganismos de suelo, la competencia de los metales en su absorción y la misma genética de la semilla. Es posible que los metales pesados alteren los procesos metabólicos de la planta desencadenando la inhibición de crecimiento, envejecimiento y muerte de las hojas o la planta. Además, las pilas T son parte del mercado informal y podría contener metales como el mercurio y cadmio, de ser así, el mercurio posiblemente estaría causando problemas en la germinación de la planta. El hecho de que el tercer periodo haya sido la etapa en la cual se dieron los frutos de las plantas también puede intervenir en el estudio. Probablemente, las hormonas presentes en el cultivo, se centren en la producción de vainas y su respuesta sea la de producir energía para la reproducción y el crecimiento se vea afectado por la absorción de metales (Romero, 2011; Curtis y Barnes, 2008). Por otra parte, las pilas D generan un efecto opuesto en la planta, ya que sus tallos alcanzaron longitudes mayores a lo normal, considerando normal el crecimiento del cultivo testigo. Es posible que este hecho se deba al pH ligeramente alcalino del suelo y con el hecho de que la planta se centra en el desarrollo del fruto, se encuentre vulnerable a posibles cambios generados por las pilas. En este caso, el Zinc es fácilmente absorbido por la planta y éste

contribuye al desarrollo de la misma. En lo que respecta al IC, los valores de P menores a 0.05 confirman que este parámetro fue afectado en los cultivos contaminados.

Los valores P (véase tabla 4) indican diferencia significativa al 95% de confiabilidad sobre la altura del tallos de los cultivos de frijol entre las muestras con pilas D del G2 *versus* las muestras testigo del mismo grupo, mientras que para las muestras con pilas D del G1, la diferencia no es significativa en ninguno de sus casos. La inferencia estadística de grupos no fue posible para las muestras contaminadas con pilas T por la razón que solo una muestra sobrevivió al efecto devastador de la contaminación. Dicho efecto puede observarse en la imagen del cultivo a la izquierda (véase figura 14), mientras una comparación de los cultivos al centro y derecha favorecen en altura y volumetría a la muestra con pilas D.

Finalmente, se observa una altura superior en la muestra de cultivo de frijol contaminada con pilas alcalinas (véase figura 15c) en el 65° día experimental en comparación con el testigo (véase figura 15b). Adicionalmente es notable una anchura mayor en las hojas y aparentemente la longitud en las hojas es también mayor en comparación con las muestras testigo, sin embargo, es apreciable también un menor número de hojas en la muestra alcalina. Por otra parte, es ampliamente notable el efecto nocivo por contaminación con pilas ácidas (véase figura 15a).

Resultados y discusión

Estadísticamente es posible diferenciar los 2 grupos genéricos existentes en los cultivos de frijol, observándose

las diferencias en el desarrollo de sus tallos. Por otra parte, estos grupos observan diferencias con un nivel de significancia variable durante sus periodos de desarrollo, en función de una contaminación del suelo con pilas ácidas o alcalinas. El efecto de una contaminación con pilas ácidas se observa progresivo desde un efecto ligeramente favorable en bajos niveles de exposición hasta devastadora en exposición directa, no solo en la altura de los tallos como objeto de este estudio, también en la volumetría del cultivo. Por otra parte, la contaminación de suelos con pilas alcalinas muestra efectos progresivos desde un efecto ligeramente desfavorable hasta un efecto significativamente favorable en función del nivel de exposición a la contaminación y al ciclo de vida (tiempo) del cultivo, sin embargo la significancia favorable en la altura del tallo, contrasta con el efecto desfavorable en la volumetría del cultivo.

Agradecimientos

Se agradece a la Facultad de Ingeniería Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y al Grupo Alter-Energías por el financiamiento al presente proyecto.

Referencias

- Al-Suburu, M. M., Salim, R., Douleh, A. y Atallah, A. (1993). Combined effects of cadmium, lead and copper on the growth and on metal uptake of broad beans, carrots, radishes and marrow vegetable [*Efectos combinados del cadmio, plomo y cobre en el crecimiento y absorción de metal en frijol, zanahoria, rábano y calabacín*]. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 9, 1-9.
- Basurto González, D. (2006, Marzo, 23). *Mitos y realidades de productos y materiales: pilas y baterías, II seminario sobre residuos*. Obtenido de http://www.gemi.org.mx/files/02_basurtoamexpilas190406.pdf.
- Bautista Rodríguez, C. M., Campos Pérez, J. M., Galicia Pineda, M. M., Rivera Márquez, J. A., Guevara García, J. A., Montiel Corona, V. y Castillo Velázquez, J. I. (2007). Estudio sobre la energía residual presente en las pilas doméstica "AA" recolectadas por el programa GAE-Cellbatt-05. *VII Congreso de la DSM. III Jornadas Iberoamericanas de pilas de combustible e hidrógeno*, México.
- Bautista Rodríguez C. M., Tapia, P. A. B., Gaytán, C. V., Rivera, M. J. A. y Torres, J. L. (2009). Implicaciones de la reforma sobre la legislación mexicana con respecto a tecnologías energéticas nuevas y convencionales. *IX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana del Hidrógeno*, México.
- Benavides, A. (2000). Absorción y asimilación de hierro en las plantas. *Revista de Difusión Científica y Tecnológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León*, 3, 50-57.
- Borja, B. M. y García, S. J. A. (2008). Políticas para disminuir las importaciones de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México: Un análisis por tipo de variedad, *Agrociencia*, 42, 949-958.
- Camacho Aguilar, K. I. (2006). Importancia del tratamiento de pilas descartadas, *Conciencia Tecnológica*, 32, 79-84.
- Castro Díaz, J. y Díaz Arias, M. (2004). La contaminación por pilas y baterías en México. *Gaceta Ecológica. Instituto Nacional de Ecología*, 72, 53-74.
- Clijsters, H. y Van Assche, F. (1985). Inhibition of photosynthesis by heavy metals [*Inhibición de la fotosíntesis por metales pesados*]. *Photosynthesis Research*, 7(1), 31-40.
- Consejo Nacional de Medio Ambiente (CONAMA) (2008, Noviembre, 17). *Resolución Brasileña No 257. Ministerio de Medio Ambiente. Brasil*. Obtenido de <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res99/res25799.html>
- Curtis, H. y Barnes, N. S., (2008). *Biología*. Buenos Aires, ARG: Editorial Médica Panamericana, 1160p.
- Galicia Pineda, M. M. (2007). *Manual de procedimientos GAE-CellBatt-05 aplicado en la BUAP para la gestión de pilas domésticas desechadas*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Gaytán, C. V. Tapia, P. A., Bautista, R. C. M., Rivera, M. J. A. y Marín, T. J. L. (2009). La legislación mexicana frente al tema de las pilas domésticas desechadas. *XVI Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencia Ambientales*, México.
- Genomasur (2011, Marzo, 15). *La Herencia*. Obtenido de: <http://www.genomasur.com/lecturas/Guia13.htm>.
- Kiatgamjorn, P., Khan-ngern, W. y Nitta, S. (2004). The study of electric field treatment affects on the growing based on electric field intensity and direction. *Asia-Pacific Conference Electromagnetic Fields*, THA.
- Ludas Viñuela, E. (2008). Metales pesados en los cultivos. *Boletín electrónico informativo sobre productos y residuos químicos*, 37, 1-4.
- Marolia, K. (2007). Evolución de la colección y reciclaje de pilas en Europa. *Asociación Europea de Pilas, Foro de pilas*, MEX.
- Martin, S. y Griswold, W. (2009). *Human health effects of heavy metals [Efectos de los metales pesados en la salud humana]*. Obtenido de <http://www.engg.ksu.edu/chsr/outreach/resources/docs/15HumanHealthEffectsofHeavyMetals.pdf>.
- Montgomery, D. C. y Runger, G.C. (1996). *Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería*. México: Mc Graw Hill Interamericana, 486p.
- Monu, A., Bala, K., Shweta, R., Anchal, R., Barinder, K. y Neeraj, M. (2008). Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources [*Acumulación de metales pesados en vegetales irrigados con diferentes fuentes de agua*]. *Food Chemistry*, 111, 811-815.
- Norma Mexicana Fabaceas-Frijol 038-SCFI-2002. (2011). *Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- Frijol (Phaseolus vulgaris L.)- Especificaciones y métodos de prueba*. Secretaría de Economía,



Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L.

Dolores Vargas-Alvarez^{1*}
Marcos Soto-Hernández²
Víctor Arturo González-Hernández³

¹Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Avenida Lázaro Cárdenas s/n, Colonia La Haciendita, Chilpancingo, Guerrero, México.

²Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 carretera México-Texcoco C. P. 56230, Montecillo, Edo. de México, México.

³Instituto de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 carretera México-Texcoco C. P. 56230, Montecillo, Edo. de México, México.

*Autor de correspondencia

Resumen

Con el objeto de ubicar anatómicamente los flavonoles en guayaba (*Psidium guajava* L.), se hicieron cortes en fresco, y se observó al microscopio de fluorescencia con un filtro de 520 nm de excitación y 490 nm de emisión. La fluorescencia fue positiva en la epidermis adaxial, abaxial y glándulas en hoja madura, en hoja joven solo presentó en la epidermis adaxial, en el fruto fue positivo en la epidermis y en espacios esquizógenos, y en tallo en espacios esquizógenos, en protofloema y tricomas.

Palabras clave: tallo, fruto, hoja, flavonoides, *Psidium guajava* L.

Abstract

This study is focused on finding (*Psidium guajava* L.) guava's flavonols. Fresh cuts were obtained in order to observe the orange fluorescence, using a microscope with 520 nm excitation and 490 nm emission. Fluorescence was positive in adaxial epidermis, abaxial and glands of mature leaves. In young leaves, fluorescence was only found in adaxial epidermis. In fruit, fluorescence was positive in epidermis and schizogenetic spaces. In stem, fluorescence was found in schizogenetic spaces, and protophloem, and trichomes.

Como citar el artículo:

Vargas-Alvarez, D., Soto-Hernández, M. González-Hernández, V. A. y Engleman, M. E. (2014). Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L. *Tlamati*, 5(2), 18-21.

Introducción

Los flavonoides son una clase de compuestos fenólicos, que virtualmente se encuentran en todas las plantas verdes de la superficie de la tierra. Se les atribuye una serie de funciones en las plantas, como protección contra la incidencia de radiación ultravioleta (UV), desarrollo de coloración, atrapar radicales libres, defensa contra microorganismos e insectos, acción en la polinización y crecimiento del tubo polínico, formación de nódulos, y alelopatía (Harborne, 1984). Así, la localización y compartimentalización de estos compuestos dentro de la planta es de significancia con respecto a sus funciones. Por ejemplo, los flavonoides conjugados en la pared celular, pueden ser raramente vistos en funciones fuera de estos tejidos. Su presencia puede ser detectada, porque pueden ser extraídos por medio de sus características de solubilidad.

Como protectores de la radiación UV, en las hojas, los flavonoides actúan como moléculas internas que tamizan los rayos de luz UV para proteger los tejidos fotosintéticos (Koes y Quattrocchio, 1994; Shirley, 1996). Los flavonoides normalmente se encuentran conjugados con glicósidos, como en eucalipto (Conde, Cadahía y García-Vallejo, 1997), cebolla (Bilyk, Cooper y Sapers, 1984), guayaba (Seshadri y Vasishtha, 1965).

Abundante evidencia sugiere que los flavonoides vegetales son sintetizados en el retículo endoplásmico (Hrazdina, Marx y Hoch, 1982; Stafford, 1990), y luego trasladados hacia una variedad de sitios específicos, particularmente a las cutículas y vacuolas epidérmicas (Stafford, 1990). Algunas evidencias sugieren que los flavonoides pueden ser compartimentalizados en o sobre una variedad de organelos, como núcleo y citoplasma (Markham, Ryan, Gould y Rickards, 2000).

La deposición de los flavonoides en la pared celular fue originalmente propuesta al considerar la escasa solubilidad en algunas plantas, o por la obtención de flavonoides conjugados con polisacáridos o azúcares. Un ejemplo es la extracción de kaempferol-3-O-glucósido de la pared celular de *Picea abies* (Strack, Heulemann y Klinkott, 1988). Algunos flavonoides fueron extraídos directamente con metanol, y muchas veces fueron pre-extraídos de material vegetal previamente tratado con un álcali caliente. En este caso, los flavonoides parecen no estar ligados con la pectina y hemicelulosa, sino con la lignina.

En algunos trabajos con gimnospermas observados con microscopía de luz, la corteza presentó fluorescencia con $AlCl_3$ en secciones analizadas debido a la presencia de flavonoides verificados por cromatografía en capa fina. Los flavonoides constituidos están delimitados en la cutícula y en la región cutinizada de la pared celular (Gadek et al., 1984 citado por Markham et al. 2000). Su localización en la pared celular ha sido propuesta sólo para los glucósidos de flavonoides de *Chysoylenium americanum* parcialmente metilados (Markham et al. 2000), con base en su localización por inmunofluorescencia. Markham et al. (2000) detectaron fluorescencia inducida por ácido difenilborico 2-aminoetil éster (reactivo de Naturestoff A o reac-

tivo NA y/o Np) (Kartning y Göbel, 1996), para evidenciar la ubicación de flavonoides en la pared celular de tejido fresco.

Weiss, Mikolajewski, Peipp, Schmitt, Schmidt, Wray y Strack (1997) utilizaron otros compuestos (glutardialdehído embebido con glicolmetacrilato) para obtener fluorescencia natural en el material que se observó al microscopio. La excitación que pasó por las bandas del filtro fue de 330-380 nm y la emisión fue de 435 nm.

Markham et al. (2000) encontraron flavonoides en los pétalos de *Lisianthus*, localizados en la pared celular en la epidermis. Con el reactivo Np (Kartning y Göbel, 1996); los flavonoides dan un color naranja, por lo que en cortes anatómicos el color naranja corresponde a flavonoides libres y conjugados.

En el caso de materiales de *P. guajava*, no hay antecedentes que indiquen la localización anatómica de flavonoides. Por ello en este trabajo se planteó el objetivo de ubicar anatómicamente a flavonoles en hojas jóvenes y maduras, tallo joven y fruto.

Materiales y métodos

Con base en el método de Markham et al. (2000), las muestras fueron tomadas de material fresco, colectadas de árboles bajo invernadero del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Para hacer cortes transversales se utilizó un micrótopo manual, para un grosor de 30 micras en hoja joven, hoja madura, tallo joven, y fruto. A los cortes así obtenidos se les aplicó la solución saturada de NP con 10% de azúcar en solución acuosa durante 2 horas, y luego fueron montados en porta objetos. Se observaron con un microscopio invertido Axiovert 25 marca Zeiss, con un objetivo de 40 x, provisto con una lámpara HBO 50 220/240 V y un filtro número uno que emite 490 -520 nm. Como testigos se usaron muestras sin el reactivo NP.

Resultados y discusión

Las hojas jóvenes y las hojas maduras presentaron diferencias en la acumulación de flavonoles. La hoja madura presentó una franja fluorescente en el envés, en donde se cree que están presentes estos compuestos; también se encontró una ligera franja más delgada, con fluorescencia amarillo-naranja.

En la hoja joven sólo hubo fluorescencia naranja en la epidermis del haz, mientras que en las células de la epidermis del envés se encontró otro tipo de compuesto, que fluoreció de color violeta tenue. En los respectivos testigos sin la aplicación del NP no presentaron estas características en ambas epidermis (véase figura 1).

Este resultado indica que en las hojas jóvenes, la epidermis posee células almacenadoras de flavonoles, además de las glándulas que almacenan o sintetizan estos compuestos. La epidermis del envés da fluorescencia de diferente color, debido a diferencias en tipo y cantidad de flavonoles. Se puede resumir entonces que las hojas jóvenes presentan menores proporciones de flavonoides, como la quercetina o quercetina conjugada, lo que coincide con los resultados de Seshadri y Vasishtha, (1965), quienes

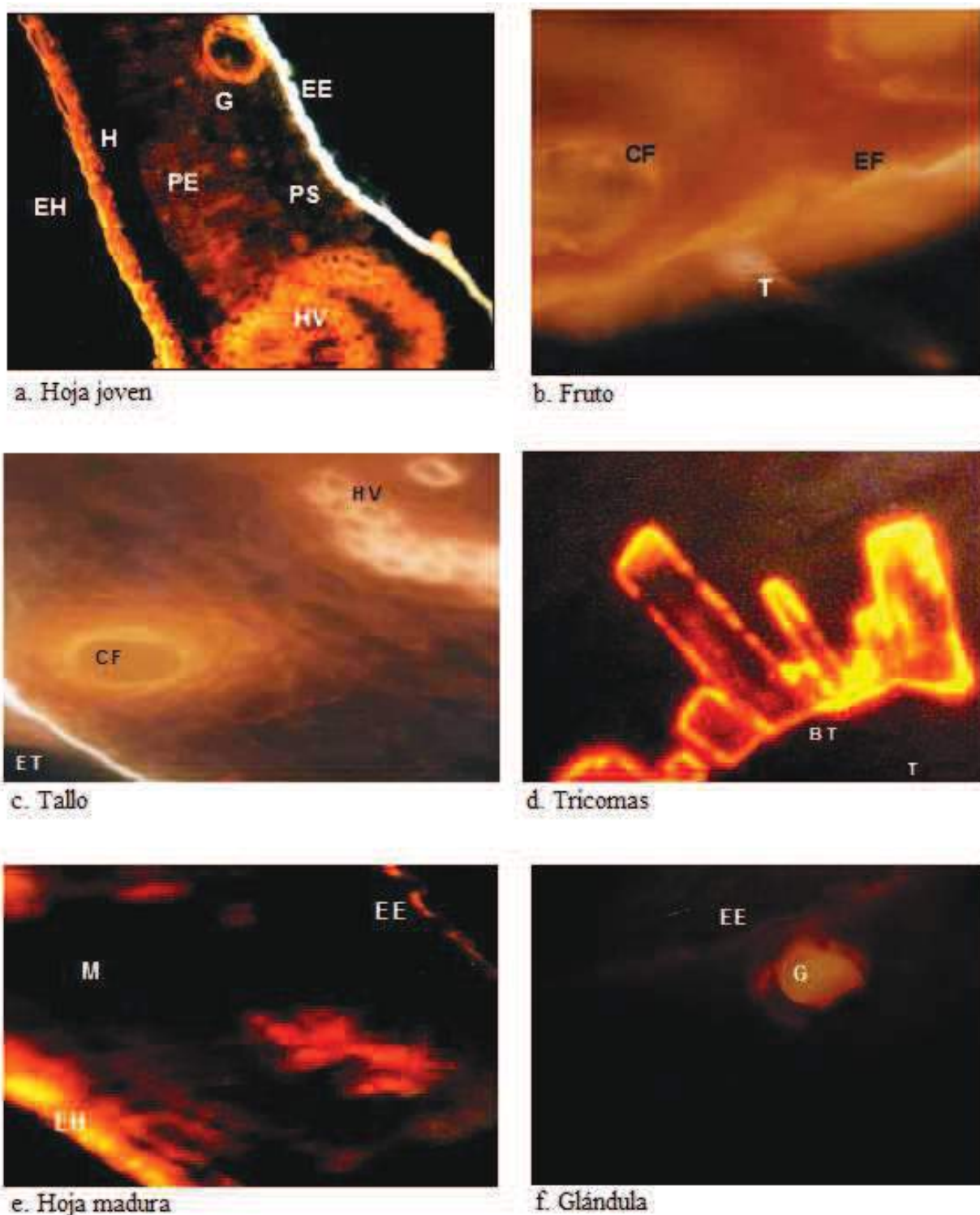


Figura 1. a). Hoja joven con fluorescencia en epidermis del haz (EH), epidermis del envés (EE), glándula (G), parénquima esponjoso (PS) y parénquima empalizado (PE); la parte que no presenta fluorescencia es la banda de la hipodermis (H). b). la fluorescencia se presenta en la epidermis del fruto (EF) y en círculos fluorescentes (CF) cercanos a la epidermis. c). en el tallo joven se presenta fluorescencia azul en la epidermis (ET) y fluorescencia naranja en círculos (CF) junto a la epidermis; en el protofloema se puede observar un conjunto de haces vasculares (HV). d). tricomas (T), la fluorescencia se presenta en bases de tricoma de tallo joven (BT). e). hoja madura presenta fluorescencia en la epidermis del haz (EH) y del envés (EE), además del mesó filo (M). f). glándula fluorescente (G) de hoja madura en junto

también detectaron estos flavonoles en hojas de guayaba.

El fruto presentó en la parte exterior de su epidermis, fluorescencia amarillo-naranja, que indica la presencia de flavonoides; hacia la parte interior, mostró círculos con fluorescencia, lo que coincide con la anatomía descrita por Esau (1977).

El tallo joven también presentó esta fluorescencia en los haces vasculares del protofloema, en su corteza nuevamente presentó la misma fluorescencia ya caracterizada en el envés de la hoja joven, lo que indica que en órganos jóvenes están presentes los flavonoides en espacios esquizógenos. Adicionalmente en un corte de este mismo tallo se encontró tricomas con la fluorescencia de naranja. Lo que coincide con Harborne y Williams (2000) quienes mencionan que estos tejidos protegen de alguna forma al material vegetal.

Conclusiones

De manera general podemos concluir que los flavonoles están presente en mayor proporción en hoja madura que en hoja inmadura, porque en el envés presenta otro componente que presenta una fluorescencia lila.

Los flavonoides también están presentes en el protofloema del tallo, en glándulas de la epidermis, en tricomas y en epidermis de fruto.

Referencias

- Bilyk, A., Cooper, L. P. y Sapers G. M. 1984. Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (*Allium cepa* L.) tissue [*Diferencias de variedades en la distribución de la quercetina y kaempferol en tejido de cebolla (Allium cepa L.)*]. *Journal of Food Chemistry*, 32, 274-276.
- Conde E., Cadahía, E. y Garcia-Vallejo, M. C. (1997). Low molecular weight polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globules* and *E. rudis* [*Bajo peso molecular de polifenoles en hojas de Eucalyptus camaldulensis, E. globules y E. rudis*]. *Phytochemicals analysis*, 8, 186-193.
- Esau, K. (1977). *Anatomía vegetal*. Editorial Omega. Barcelona, España. 779p.
- Harborne J. B. (1984). *Phytochemical methods [Métodos fitoquímicos]*. Chapman and Hall, London and New York, Second edition.
- Harborne, J. B. y Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoids research since 1992 [*Avances de investigación en flavonoides desde 1992*]. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Hrazdina, G., Marx, G. A. y Hoch, H. C. (1982). Distribution of secondary plant metabolites and their biosynthetic enzymes in pea (*Pisum sativum* L.) leaves [*Distribución de los metabolitos de plantas secundarias y sus enzimas biosintéticas en hojas de chícharo Pisum sativum L.*]. *Plant physiology*, 70, 745-748.
- Kartning, T. y Göbel, I. (1996). Effect of fluorescence intensifiers on the fluorodensitometric determination of flavones and flavonols after detection with diphenylboric acid 2-aminoethyl ester [*Efecto de intensificadores de fluorescencia en la determinación fluorodensimétrica de flavones y flavonoles después de la detección con ácido difenilbórico 2-aminoetil ester*]. *Journal of Chromatography A*, 740, 99-107.
- Koes, R. E. y Quattrocchio, F. (1994). The flavonoid biosynthetic pathway: function and evolution [*La vía del flavonoide biosintético: función y evolución*]. *Bioassays*, 16, 123-132.
- Markham, K. R., Ryan, K. G., Gould, S. K. y Rickards, K. G. (2000). Cell wall sited flavonoid in lisianthus flower petals [*Flavonoides situados en la pared celular de los pétalos de flor de lisianthus*]. *Phytochemistry* 54,681-687.
- Seshadri, R.T. Vasishta, K. (1965). Polyphenols of the leaves of *Psidium guajava*: quercetin, guaijaverin, leucocyanidin and amritoside [*Polifenoles de las hojas de Psidium guajava: quercetina, guaijaverina, leucocyanidina y amritosida*]. *Phytochemistry*, 4 989-992.
- Shirley, B. W. (1996). Flavonoid biosynthesis: new functions for old pathway [*Biosíntesis de flavonoide: Nuevas funciones para viejas vías*]. *Plant Science*. 1, 377-382.
- Stafford, H. A. (1990). *Flavonoid metabolism [Metabolismo del flavonoide]*. CRC press, Boca Raton, Florida. pp. 202-208.
- Strack D., Heulemann, J. y Klinkott, E. S. (1988). Cell wall bound phenolics from Norway spruce (*Picea abies*) needles [*Fenólicos ligados a la pared celular de agujas de abeto rojo Picea abies*]. *Z. Naturforschung*, 43, 37-41.
- Weiss, M., Mikolajewski, S., Peipp, H., Schmitt, U., Schmidt, J., Wray, V. y Strack, D. (1997). Tissue-specific and development accumulation of phenylpropanoids in larch micorrhizae [*Tejido específico y desarrollo de acumulación de fenilpropanoides en micorrizas de alerce*]. *Plant physiology*. 114, 15-27.



Diagnóstico del comportamiento observado en edificaciones durante el sismo de Zumpango, Guerrero, México, (Mw =6.5) del 11 de Diciembre de 2011 y propuestas para reducir la vulnerabilidad estructural

Roberto Arroyo Matus^{1*}
Sulpicio Sánchez Tizapa¹
Celia Patricia Téllez Tapia²
Esteban Rogelio Guinto Herrera¹

¹Unidad Académica de Ingeniería. Universidad Autónoma de Guerrero, Cd. Universitaria, Chilpancingo, Guerrero, C. P. 39001, Tel. 01 747 47 1 20 87, Ext. 114.

²Área Estructural, Sistema Estatal de Protección Civil, Secretaría de Seguridad Pública y Protección Civil, Gobierno del estado de Guerrero, Chilpancingo, Guerrero 39022

*Autor de correspondencia
arroyomatus@hotmail.com

Resumen

En este artículo se presenta una revisión del comportamiento observado en edificaciones durante el sismo del 11 de diciembre de 2011 en Guerrero, México (Mw =6.5) que afectó sus regiones Central y Norte, incluyendo centros urbanos importantes pero principalmente poblaciones rurales aledañas al epicentro. Aun cuando la magnitud del sismo puede ser considerada como mediana, se produjo daño estructural severo en algunas edificaciones históricas, en viviendas de adobe y sobre todo, en edificaciones recientes. Se establece la imperiosa necesidad de instituir un programa de rehabilitación y refuerzo, tanto en zonas urbanas como en zonas rurales de alto nivel de rezago social; así como la implementación de acciones en las obras en proceso de construcción.

Palabras Clave: Sismo-resistencia, diseño estructural, terremotos.

Abstract

This article reviews observed behavior in buildings during the earthquake of December 11, 2011 at State of Guerrero, Mexico (Mw = 6.5). This earthquake affected Central and Northern regions of State of Guerrero, including major urban centers, but mainly rural populations surrounding earthquake's epicenter. Although magnitude of earthquake can be considered medium, there were severe structural damages to some historic buildings constructed with adobe bricks, and specifically in newly constructed buildings. There is an urgent need to institute a program of rehabilitation and strengthening of urban, and rural areas, and areas of high social gap. In the same way, an implementation of actions focused on strengthening works under construction is required

Key Words: Earthquake-proof structures, structural design, earthquakes.

Como citar el artículo:

Arroyo-Matus, R., Sánchez-Tizapa, S., Téllez-Tapia, C. y Guinto-Herrera, R. E. (2014). Diagnóstico del comportamiento observado en edificaciones durante el sismo de Zumpango, Guerrero, México, (Mw =6.5) del 11 de Diciembre de 2011 y propuestas para reducir la vulnerabilidad estructural. *Tlamati*, 5(2), 22-30.

Introducción

Por su ubicación geográfica en una de las brechas sísmicas de mayor peligro a nivel mundial, el estado de Guerrero se considera uno de los estados mexicanos con gran potencial de liberar súbitamente la energía sísmica acumulada por más de un siglo. Dicho estado se encuentra expuesto a sismos no sólo por la subducción debido al movimiento relativo de la placa de Cocos por debajo de la placa Norteamericana, sino también a sismos corticales de pequeña y mediana profundidad. De acuerdo a Hanks y Kanamori (1979), la escala sismológica de magnitud de momento (M_w) es una escala logarítmica usada para medir y comparar sismos y está basada en la medición de la energía total que se libera en un terremoto. En un lapso de 60 años, los sismos del 28 de julio de 1957 ($M_w = 7.7$), 14 de marzo

de 1979 ($M_w = 7.6$), 25 de octubre de 1981 ($M_w = 7.4$), 7 de junio de 1982 ($M_w = 7.7$), 21 de septiembre de 1985 ($M_w = 7.6$) y 14 de septiembre de 1995 ($M_w = 7.4$), ocurrieron dentro del territorio guerrerense, todos con magnitudes de momento (M_w) superiores a 7.

Una de las poblaciones urbanas que presenta el mayor riesgo sísmico es precisamente Chilpancingo, Guerrero, México con coordenadas $17^{\circ}09'25''N$ $99^{\circ}22'16''$, en donde las aceleraciones del terreno se esperan pudieran ser superiores al 70% de la aceleración de la gravedad (Comisión Federal de Electricidad [CFE], 2008) y en la que se ha detectado vulnerabilidad estructural elevada (Arroyo Matus, 2011). Históricamente, el sismo que provocó los mayores daños en esta ciudad fue el del año de 1957 (véase figura 1).



Figura 1. Edificios colapsados en Chilpancingo, Guerrero tras el sismo de 1957. Fuente: Fototeca UAGro, 2011

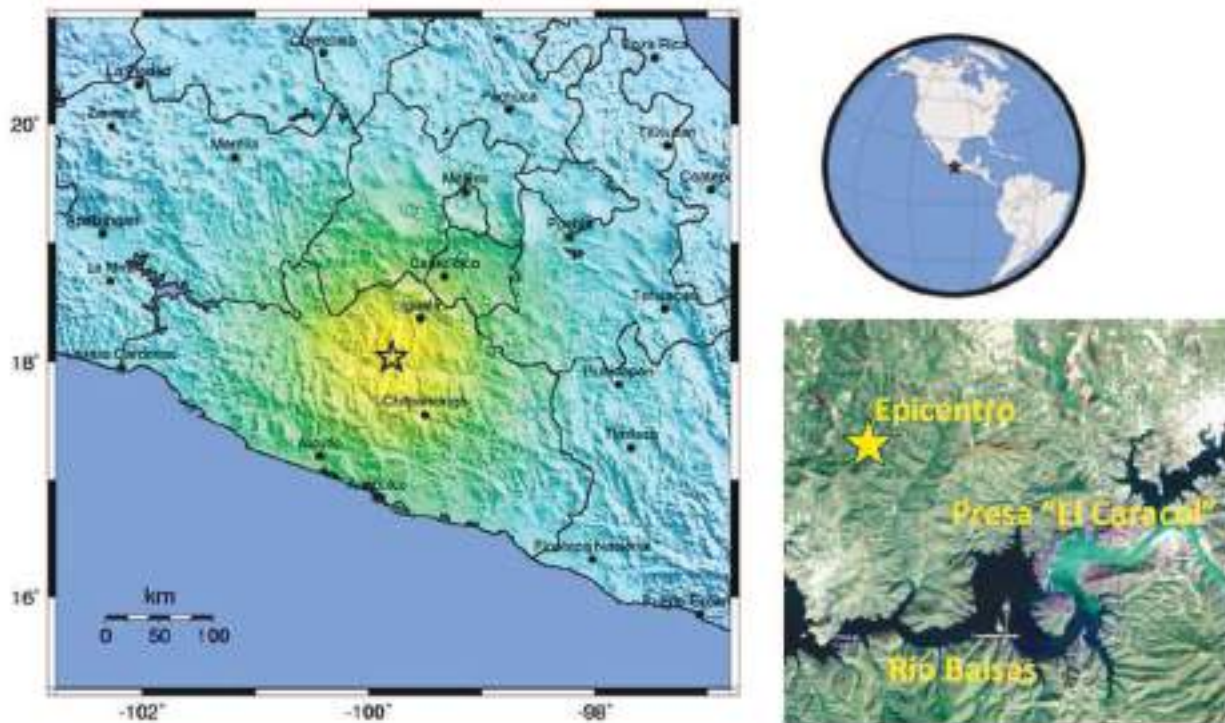


Figura 2. Ubicación del evento principal del sismo del 11 de diciembre de 2011 (USGC, 2011)

Tabla 1

Estimación de daños en la infraestructura física del Estado de Guerrero (SEPC, 2012)

Sector	Afectaciones	Costo de la reconstrucción ¹ (Miles de pesos)	Aportación federal (%)	Aportación estatal (%)	Observaciones
Vivienda	685	\$18,600	50	50	Cuenta con seguro para desastres
Educativo	30 escuelas federales y 10 estatales	\$9,400	95.74	4.26	No está asegurado
Salud	9 unidades médicas, 5 centros de salud y 4 hospitales	\$16,000	50	50	No está asegurado
Monumentos Históricos	3 Museos y 33 templos	\$26,000 ²	100	0	60% no está asegurado

¹ Monto estimado² Los proyectos ejecutivos y presupuestos continúan en proceso de elaboración.

El día sábado 10 de diciembre de 2011, a las 19:47:26 hora local (UTC-6) ocurrió un sismo en los alrededores de la hidroeléctrica “El Caracol” ubicada a 62 km al noroeste de Chilpancingo, Guerrero, México (véase figura 2).

De acuerdo con la Agencia Geológica de los Estados Unidos [United States Geological Survey] (USGS, 2011), el epicentro se ubicó a 18.04° latitud norte y 99.80° longitud oeste, teniendo una profundidad focal de 64.9 km con una magnitud sísmica (Mw) de 6.5 (sismo de magnitud mediana). De acuerdo al Sistema Estatal de Protección Civil (SEPC, 2012), este sismo produjo la muerte de 4 personas. Además, de un total de 81 municipios, 22 presentaron afectaciones de infraestructura en los sectores de vivienda, educativo, salud y monumentos históricos (véase tabla 1).

El costo estimado de las reconstrucciones ascendió a 70 millones de pesos (SEPC, 2012). En el caso de Chil-

pancingo, los daños moderados y severos se concentraron principalmente a lo largo de una franja de zonas aledañas al cauce del Huacapa, río que atraviesa la ciudad del noroeste al sureste (véase figura 3).

Metodología

A raíz de este sismo, diversos grupos de investigadores, técnicos e ingenieros de la práctica del estado de Guerrero, realizaron visitas de campo durante el mes de diciembre de 2011 a febrero de 2012 para evaluar el comportamiento de varias estructuras después del evento. Los tipos de daños que se presentan a continuación, corresponden a registros efectuados en la región centro y norte del estado de Guerrero, México (Chilpancingo, Apaxtla, Zumpango e Iguala), así como comunidades rurales aledañas al epicentro. En el desarrollo de este trabajo se aplicó una metodología mixta en la que se empleó la observación directa, el análisis



Figura 3. Manzanas en las que las edificaciones presentaron daño estructural moderado y severo en la Ciudad de Chilpancingo, Guerrero (Arroyo Matus, 2011)

sis y síntesis de la información así como la búsqueda de la convergencia y la corroboración de los resultados obtenidos.

Resultados

En la comunidad de Apaxtla de Castrejón, Gro; con coordenadas 18°08' 00"N 99°56' 05"O y situada a 20 km del epicentro, se detectaron daños severos en 5 viviendas de mampostería y 63 viviendas de adobe. De estas últimas, 35% presentó agrietamiento en esquinas debido al amarre deficiente entre los muros, con grietas desde el techo hasta la cimentación (véase figura 4a). Además, 24% presentó grietas en esquinas de aberturas (véase figura 4b). El 9% tuvo grietas verticales en el centro de los muros (véase figura 4c).

El edificio del Museo Regional de Chilpancingo, de un

solo entrepiso, posee una escasa densidad de muros en la dirección norte-sur, y un terremoto en 1906 provocó el colapso parcial de la unión que conforma la esquina noroeste; en el encuentro de las alas norte y poniente (véanse figuras 5a y 5b).

Tras el recorrido de las instalaciones del museo, se pudo corroborar daño significativo en esta zona (véase figura 6a), pero también algunos graves en otras partes del edificio (véanse figuras 6b y 6c).

El edificio del Palacio de la Cultura, fue construido a principios de la década de los setenta al poniente del zócalo de la Ciudad de Chilpancingo (véase figura 7a). La estructura original, de estilo modernista, fue concebida con flexibilidad elevada. En 1984 se iniciaron las obras para modificar el estilo arquitectónico original por un estilo romano más robusto y acorde con la arquitectura de los edificios



Figura 4. Agrietamientos: a) esquinas de muros, b) esquinas de vanos, y c) zona central de muros. Fotografías: R. Arroyo Matus

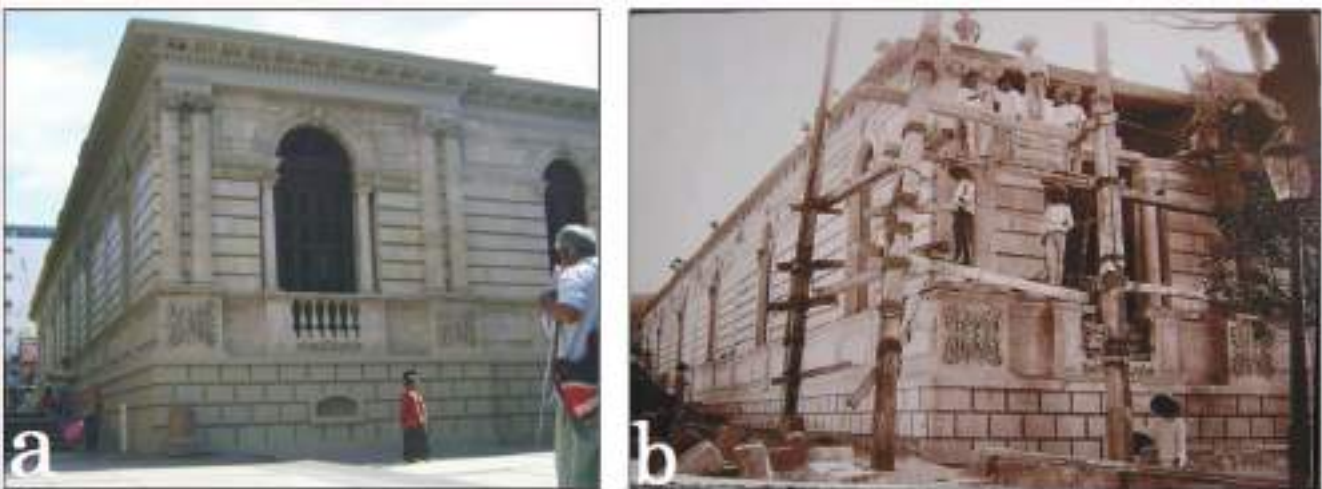


Figura 5. a) Museo Regional de Guerrero, Zócalo de Chilpancingo, Gro. Fotografía: R. Arroyo Matus y b) Obreros participantes en la reconstrucción de la esquina noreste, colapsada parcialmente durante el terremoto de 1906. Fotografía: Exposición temporal de William Niven "Explorador y aventurero", Coordinación Nacional de Antropología, INAH



Figura 6. Daños en el Museo Regional de Guerrero: a) Agrietamiento severo por cortante en dinteles y muros de mampostería. Esquina noreste, muro interior. b) Agrietamiento severo por cortante, con pérdida de recubrimiento, en traveses del corredor noreste, y c) Agrietamiento severo de cortante en la fachada norte, producido por el desacoplamiento de sus alas oriente y norte. Fotografías: R. Arroyo Matus.



Figura 7. Fachada principal del Palacio de la Cultura; a) 1990. Fotografía: H. Suástegui Salmerón, b) 2012. Fotografía: R. Arroyo Matus y c) Agrietamiento por torsión de traveses de la fachada norte, inducidas por la flexión excesiva de losas planas, Palacio de la Cultura. Fotografía: R. Arroyo Matus.

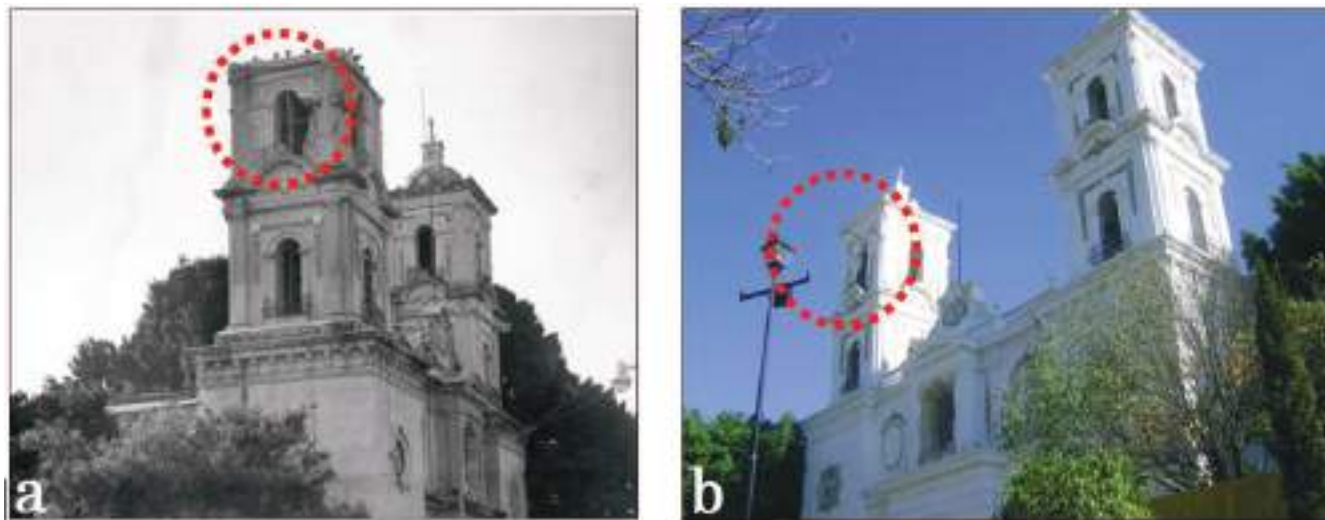


Figura 8. Catedral de Sta. María de la Asunción, en el Zócalo de Chilpancingo, Gro. a) Daños en la torre norte tras los sismos de 1957. Fotografía: Fototeca UAGro, y b) 2011. Fotografía R. Arroyo Matus.

contiguos al zócalo (véase figura 7b). A raíz de los terremotos de 1985 y 1995, y debido a su alta flexibilidad, los daños de la estructura fueron severos, recomendándose la demolición de los tres últimos entresijos y la reparación integral de todos los daños. Sin embargo, aun cuando la masa de la estructura disminuyó drásticamente, el sismo de diciembre de 2011 volvió a evidenciar su vulnerabilidad: Algunas de las traveses principales perimetrales del tercer entresijo experimentaron un daño severo por torsión, con anchos de grietas de entre 0.8 y 2.4 mm (véase figura 7c).

El templo católico de Santa María de la Asunción (véase figura 8), fue construido a mediados del siglo XVI. Tiene un gran valor histórico pues fue sede del Primer Congreso de Anáhuac, encabezado por el Gral. José María Morelos y Pavón. La estructura original, a base de adobe,

se colapsó de manera parcial y se demolió tras el terremoto de 1902. Algunos años después se inició la construcción, en el mismo lugar, del templo (véase figura 8). La torre izquierda se derrumbó parcialmente con el sismo de 1957 y con el sismo de 1985, la torre derecha sufrió daños graves, por lo que fueron reparadas tras esos eventos.

Con el sismo de diciembre de 2011 se presentaron agrietamientos en las bases y en las claves de los arcos de los dos campanarios; severos en la torre derecha y moderados en la torre norte. Aparecieron fuertes agrietamientos en el frontispicio, en la parte superior de los arcos y en la parte frontal de la bóveda de la nave principal (véase figura 9a y 9b). También se presentaron daños graves en la base de las torres de los templos de los barrios de San Antonio y San Mateo, ambos construidos hacia la segunda década del siglo XIX (véase figura 9c).



Figura 9. Templo de la Asunción a) Detalles de daño en los recubrimientos de la torre norte. Fotografía: P. Catalán Quiroz, b) en la cubierta abovedada. Fotografía: R. Arroyo Matus y c) Templo de San Antonio con daño por flexión en la base de las columnas de los arcos. Fotografía: SEPC



Figura 10. Edificio del Palacio de Justicia, a) año 1972. Fotografía: Fototeca UAGro, y b) año 2012. Fotografía: R. Arroyo Matus

El caso del edificio del Palacio de Justicia, localizado en el norte del Zócalo de Chilpancingo es un claro ejemplo, muy representativo, de que edificios similares concebidos a principios de los setenta del siglo pasado, eran y siguen siendo a la fecha muy vulnerables y excesivamente flexibles (véase figura 10a).

Aun cuando su apariencia exterior fue modificada a mediados de la década de los ochenta con columnas circulares con el doble del diámetro original, el desempeño de este edificio durante el sismo de diciembre de 2011 no fue satisfactorio pues presentó daños severos. Por otro lado, en varios edificios de Chilpancingo se observaron daños generalmente asociados a entrepisos con baja densidad de muros, principalmente en planta baja; o a entrepisos excesivamente débiles, así como a los efectos del golpeteo entre estructuras colindantes.

Se observan los detalles y se



Figura 11. a) Agrietamientos por cortante en planta baja con baja densidad de muro, b) golpeteo entre estructuras colindantes con separación inadecuada en Chilpancingo. Fotografías: Elidio Hernández, c) y d) daños por cortante y torsión en vivienda en esquina con baja densidad de muros en planta baja en Chilpancingo, Gro. Fotografías: SEPC



Figura 12. a) y b) Daños por cortante en muros de mampostería en vivienda típica de mampostería, y en columnas cortas. Edificio de la Secretaría de Desarrollo Social Federal en la ciudad de Chilpancingo. Fotografías: Elidio Hernández, c) Mampostería deficientemente confinada y d) con instalaciones sanitarias al interior de los castillos, en Chilpancingo, Gro. Fotografías: José Luis Hernández Rodríguez



Figura 13. a) Separaciones de muros divisorios de los marcos de concreto, b) fisuras por cortante, c) Daño moderado por tensión diagonal en muros de mampostería y d) por desprendimiento del extremo superior en muros divisorios, en el Centro de Chilpancingo, Gro. Fotografías: SEPC

muestran algunos daños estructurales detectados en diferentes edificios de Chilpancingo (véase figuras 11 a 16).

Conclusiones

El análisis de la información recabada permite concluir la urgencia de implementar un programa de tipo social a nivel federal que abata la alta vulnerabilidad de la vivienda de adobe a través de un programa de refuerzo y rehabilitación de bajo costo pero de alta efectividad, que garantice una mayor ductilidad y resistencia en los muros de este tipo de vivienda. El empleo de mallas a base de tela de gallinero y aplanados de alta calidad puede lograr este objetivo. En el caso de las estructuras con elementos de concreto reforzado o a base de mampostería confinada, se detectaron algunas deficiencias estructurales y procesos constructivos deficientes. Por estos motivos, es sumamente importante garantizar que las dependencias municipales encargadas de la autorización de las nuevas construcciones o de la rehabilitación y refuerzo de las existentes, sometan a una revisión estricta a la información técnica que acompaña a las solicitudes de licencia de construcción. En el

caso de las edificaciones existentes, debe aplicarse una evaluación básica preventiva que permita definir su nivel de seguridad estructural actual y la necesidad de emprender o no un proceso de rehabilitación y/o refuerzo. El pobre desempeño sísmico de algunas edificaciones, construidas principalmente de forma reciente, sugiere adecuaciones no precisamente a la normatividad sino a la forma en que ésta se aplica y se le da seguimiento. Entre los cambios necesarios que se proponen se encuentran:

- 1) Acatar, durante el proceso de diseño, análisis, construcción y mantenimiento de las edificaciones, las recomendaciones de la norma de construcción vigente;
- 2) Incorporar, por parte de las autoridades de desarrollo urbano municipal y estatal, la exigencia de una supervisión detallada, registrada en bitácora, durante la construcción de todo tipo de edificación;
- 3) Exigir adicionalmente, al término de una obra -y como requisito para autorizar su ocupación-, una póliza de seguro ante sismo. De esta forma, el personal técnico de las aseguradoras verificaría adicionalmente que la edificación cumpla con estándares de calidad y seguridad estructural mínimos.



Figura 14. a) Acumulación excesiva de material y archivos en entresijos, b) daño en muro de mampostería, y c) junta inadecuada entre piezas de mampostería. Edificio Telecomm, Chilpancingo. Fotografías: Tizoc Calleja



Figura 15. a) y b) Colapso de muro de fachada del cuarto entresijo deficientemente confinado, sobre un vehículo del servicio público. (Fotografías: Wenceslao Hernández, y c) daños en mampostería sin confinar (Fotografía: J. L. Hernández R.)

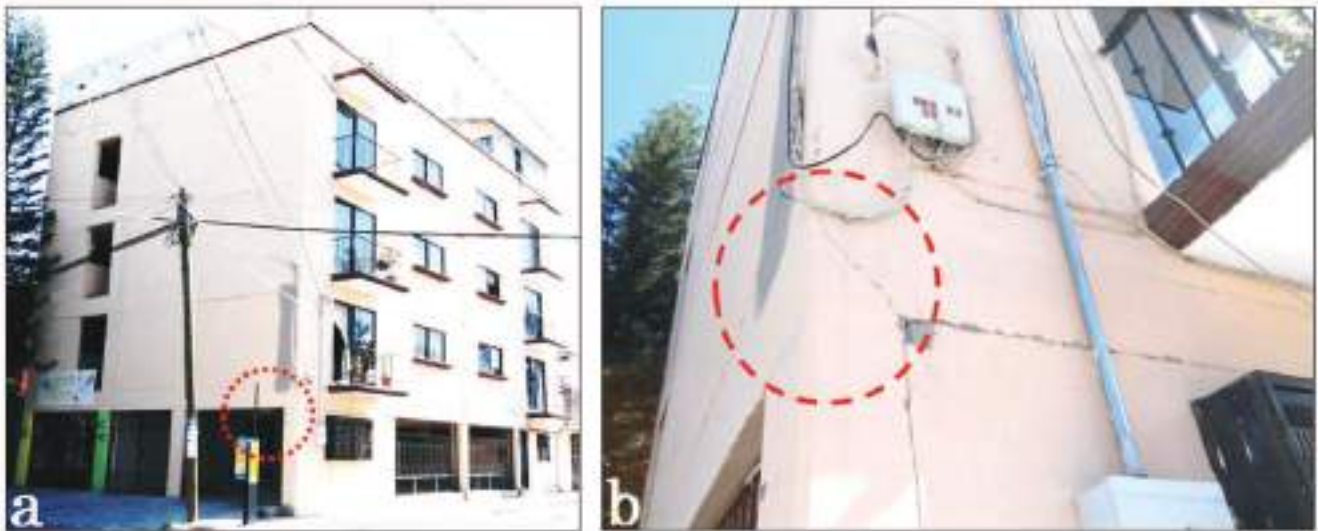


Figura 16. Falla en unión viga columna en edificio reciente con planta baja flexible. Fotografías: Jesús Santos Bautista

Agradecimientos

Las inspecciones realizadas fueron realizadas de manera conjunta por el Colegio de Ingenieros Civiles Guerrerenses, A. C., profesores de la Unidad Académica de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAI-UAGro) y personal de los sistemas estatal y municipal de Protección Civil de Chilpancingo, Iguala y Acapulco, Guerrero. A todos ellos, expresamos nuestro más sincero agradecimiento.

Referencias

Arroyo Matus, R. (2011), Reporte preliminar de daños del sismo de Zumpango, Gro. del 10 de diciembre de 2011. *Serie: Reportes internos de investigación*. Unidad Académica de Ingeniería, Universidad Autónoma de Guerrero. Chilpancingo, México.

Comisión Federal de Electricidad. (2008). *Manual de Obras Civiles. Diseño por sismo*. México.

Hanks, T. C., Kanamori, H. (1979). A moment magnitude scale. *Journal of Geophysical Research*. 84(B5), 2348-50

Sistema Estatal de Protección Civil. (2012). *Reporte de daños producidos a la infraestructura del estado de Guerrero por el sismo de Diciembre de 2011*. Sistema Estatal de Protección Civil. Secretaría de Seguridad Pública y Protección Civil, Gobierno del Estado de Guerrero, México.

United States Geological Survey [*Encuesta Geológica de los Estados Unidos de América*]. (2013, Marzo, 2). *Sismo de Zumpango, México 11 de diciembre de 2011*. Obtenido de http://comcat.cr.usgs.gov/earthquakes/eventpage/pde20111211014725900_54#technical



Aspectos didácticos de la aplicación de algoritmos básicos (suma, resta, división y multiplicación), usando numerales Mayas en base decimal en el conjunto de los números Naturales. Un estudio de caso

Juan Baltazar Cruz Ramírez^{1*}

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. UAGro Virtual. Av. Lázaro Cárdenas s/n, Cd. Universitaria Sur, Chilpancingo, Guerrero, México. C. P. 39090. Tel. +52 (01 747) 471 93 10 Extensión 3216

*Autor de correspondencia
 cruzramirez@uagrovirtual.mx

Resumen

Las investigaciones sobre las contribuciones culturales y sociales de diferentes civilizaciones se centran fundamentalmente en enfoques antropológicos. Aun y cuando estos estudios pueden ayudar a entender el desarrollo de la humanidad, por lo general están más centrados en un contexto social y no en disciplinas específicas como las matemáticas. El uso de representaciones alternativas y diferentes enfoques centrados en un proceso de enseñanza-aprendizaje, en lugar de rigurosas y formales matemáticas tradicionales, podría ayudar a desarrollar un pensamiento crítico centrado en romper las viejas tradiciones y proporcionar nuevas forma de razonamiento matemático.

Los numerales mayas y sus operaciones matemáticas básicas no son, en este momento, un tema muy conocido en USA. Aun y cuando en las zonas Mayas de México y Guatemala se han utilizado algoritmos como suma, resta, multiplicación y división a lo largo del tiempo, estos algoritmos mayas y sus representaciones numéricas no se enseñan en las escuelas estadounidenses.

Actualmente, las matemáticas en la escuela están estrechamente relacionadas con los números arábigos y sus algoritmos tradicionales básicos como la única realidad dentro el contexto escolar de las Matemáticas. A los estudiantes no se les enseña ninguna otra representación o algoritmos alternativos, fuera de las que está marcados por la tradición o el plan de estudios. Como resultado, los números arábigos y los algoritmos tradicionales son el único método utilizado dentro de la escuela y la sociedad. Aún y cuando las matemáticas mayas utilizan un sistema numérico de base 20, es posible traducir estas representaciones numéricas y algoritmos a una base decimal que es más usual, aplicando un sistema matemático completo y equivalente al tradicional en el conjunto de los números Naturales. Como resultado, las representaciones mayas de los números y sus algoritmos podrían ser utilizados como una forma alternativa para la comprensión y el desarrollo de conceptos matemáticos. Para este estudio, se utilizarán sólo números Naturales, considerando al numeral cero como parte de éste conjunto numérico.

Palabras clave: Algoritmos básicos, Suma, Resta, División, Multiplicación, Matemáticas Mayas.

Abstract

Studies about cultural and social contributions from different civilizations are essentially focused on anthropological approaches. Even when these studies could help to understand the development of mankind, usually are more centered on a social context, rather than specific disciplines as Mathematics. Use of alternative representations and differ-

Como citar el artículo:

Cruz-Ramírez, J. B. (2014). Aspectos didácticos de la aplicación de algoritmos básicos (suma, resta, división y multiplicación), usando numerales Mayas en base decimal en el conjunto de los números Naturales. Un estudio de caso. *Tlamati*, 5(2), 31-43.

ent approaches focused on a teaching-learning process, rather than rigorous and pure traditional Mathematics, could help to develop a critical way of thinking centered on breaking old traditions, and provide new ways of reasoning Mathematics.

Mayan numerals and their basic mathematical operations are not, at this time, a well-known issue in U.S. Even when algorithms as addition, subtraction, multiplication and division had been used through time in Mayan zones at Mexico and Guatemala, these Mayan algorithms and their number representations are not taught in American schools.

At this time, mathematics are closely related with Arabic numerals and basic traditional algorithms as the only reality within the Mathematical school context. Students are not taught in any other representations or alternative algorithms, out of that marked by tradition or curriculum. As a result, Arabic numerals and traditional algorithms are the only approach used within the school and society. Even when Mayan mathematics use a base 20 numeric system, it is possible to translate these number representations and algorithms to a more usual decimal base as a complete and equivalent Mathematical system. As a result, Mayan representations of numbers and their algorithms could be used as an alternative way for understanding and development of Mathematical concepts. For this study, only the set of Whole numbers will be used.

Key words: Basic Algorithms, Addition, Subtraction, Division, Multiplication, Mayan mathematics.

Introducción

Según el Consejo Nacional de Maestros de Matemáticas [*National Council of Teachers of Mathematics*], es fundamental que los estudiantes conozcan los hechos numéricos básicos para los algoritmos de suma, resta, multiplicación y división (NCTM, 2009). De la misma manera, el Consejo Nacional de Investigación [*National Research Council*], indica la habilidad del cálculo numérico como como un componente principal en matemáticas (NRC, 2002). Algunos otros estudios consideran que el dominio de las habilidades básicas del cálculo numérico no se puede separar de la comprensión conceptual global y constituye la base para el desarrollo del pensamiento matemático (Sfard, 1991; Wu, 1999).

Es necesario clarificar los conceptos de los conjuntos de *Counting numbers* [Números para contar] y *Whole numbers* [Números completos] utilizados en USA (Center for Mathematics Education Project [CMED], 2007; NCTM, 2009). *Counting numbers* es el conjunto de números Naturales definido por los Postulados de Peano (el conjunto \mathbb{N}) y *Whole numbers* es el conjunto de números naturales en unión con el conjunto vacío ($0=\{\}$ o $0=\emptyset$) o número cero. El símbolo para este conjunto ($\mathbb{N} \cup \emptyset$) es \mathbb{N}^0 . Podemos relacionar este contexto con la concepción de convención matemática propuesto por Martínez (2003), ya que sus diferentes propiedades y concepciones han sido integradas sistemáticamente dentro de un conjunto de conocimientos y su aplicación no entra en conflicto con los sistemas axiomáticos en los que es usada, además de completar los vacíos en las definiciones propuestas.

De la misma manera, es necesario precisar los conceptos de *Número* como el concepto matemático y *Numeral* como el símbolo o símbolos que representan al número (School Mathematics History Group [SMHG], 1960).

En los numerales hindú-arábigos, cuando hablamos de un dígito o un conjunto de dígitos como representación de un número, reconocemos el valor relativo de la posición de los numerales utilizados y su valor nominal en la misma cifra. Por ejemplo, en el número 6,666, observamos que cada dígito tiene el mismo valor nominal de 6, pero un

valor relativo posicional diferente, como sigue: 6 en el extremo izquierdo tiene el valor relativo de 6000 (6 millares); el siguiente 6 tiene el valor de 600 (6 centenas); el sucesivo 6 tiene un valor de 60 (6 decenas) y el último tiene un valor de 6 unidades. En el desarrollo de algoritmos, el valor relativo es substituido por el valor nominal unitario, siguiendo el proceso algorítmico utilizando los dígitos como unidades.

Podemos observar que los algoritmos matemáticos básicos para suma, resta, multiplicación y división son casi procedimientos estándar en todo el mundo, en donde observamos varias similitudes en las operaciones desarrolladas (Baroody, Torbeyns, y Verschaffel, 2009; Delprato, 2005; Lu, 2009; Robinson y LeFevre, 2011; Rocha y Menino, 2009; Valdemoros y Ruiz, 2008). Como resultado significativo, se observa que los dígitos son vaciados de su valor relativo al desarrollar el algoritmo; esto es, las decenas y centenas se consideran y calculan como si fueran unidades (Baroody, Torbeyns, y Verschaffel, 2009; Robinson y LeFevre, 2011; Rocha y Menino, 2009), por lo que la forma de representar los números durante la ejecución de algoritmos casi nunca está relacionada con su valor relativo o posicional. En el momento en que los estudiantes resuelven un algoritmo en la escuela, el valor relativo es codificado independientemente de la posición del dígito y a continuación, se resuelve el algoritmo caracterizando los valores numéricos como unidades, sin tomar en cuenta la representación del numeral como un número completo.

Al momento que los estudiantes terminan el algoritmo, la intención es recuperar la solución obtenida como un número completo, pero esta simbolización, aunque sea comprendida por el estudiante, es usualmente despreciada al realizar el procedimiento algorítmico, debido al cálculo por unidades indicado por los procedimientos tradicionales (Lu, 2009; Delprato, 2005; Valdemoros y Ruiz, 2008). Derivado de esta práctica, observamos que los estudiantes no reconocen si el procedimiento utilizado conduce a la solución correcta del problema y muchas veces no son capaces de corregir estos errores.

Existen numerosos estudios que informan varios patrones y conceptos erróneos relacionados con la solución de los algoritmos tradicionales básicos (suma, resta, multiplicación y división) con números Naturales (Ashlock, 2010;

Wu, 1999; Mercer y Mercer, 1998). Algunos tipos comunes de patrones de error para las operaciones principales son: los errores de datos obtenidos, errores cometidos debido a errores en la memorización por parte del estudiante o por falta de precisión y uso sistemático de un procedimiento o estrategia inexacta/ineficiente (Ashlock, 2010).

Varios errores aparecen porque un estudiante no ha dominado los detalles matemáticos básicos. Usualmente, estos errores en general no indican una falta de comprensión del concepto, lo que muestran es una falta de profundidad en el conocimiento matemático. Por lo general, se producen debido a las características particulares de aprendizaje que posee el estudiante. De la misma manera, los errores cometidos por fallas en la memorización o debido a la falta de exactitud están relacionados con estas mismas características de aprendizaje. El patrón más grave se relaciona con un uso sistemático de un procedimiento o estrategia inexacta/ineficiente, porque generalmente este tipo de patrón de error indica que no se hay comprensión de un concepto matemático importante (Mercer y Mercer, 1998).

Los logros matemáticos desarrollados por los mayas son uno de los más avanzados de las civilizaciones antiguas. Estos conocimientos fueron el resultado de un proceso de concientización, concebido como el movimiento del espacio que parece ser el centro de su cultura. Para ellos, el universo no es una realidad estática, sino un movimiento constante, con una gran capacidad para evolucionar y estas características están representados en su sistema matemático (Calderón, 1996; Lam, Magaña y De Oteyza, 2008). Debido a la falta de una teoría científica relacionada con el conocimiento matemático maya y a que no hay suficientes estudios relacionados con este enfoque en el proceso enseñanza/aprendizaje en la escuela, se hace necesario reconstruir este conocimiento con el fin de identificar y adaptar nuevos códigos, representaciones y algoritmos relacionados con estos procesos de pensamiento y entendimiento de las matemáticas.

Con el fin de investigar una representación numérica diferente desarrollada como un sistema matemático paralelo al tradicionalmente enseñado en la escuela (Schiro, 2004), se propone un enfoque basado en los numerales mayas y sus algoritmos en el conjunto de los números Naturales en base 10 o decimal. Éste enfoque podría ayudar a mejorar y rectificar algunos patrones de error detectados en el desarrollo de algoritmos básicos para suma resta, multiplicación y división.

Es de hacer notar que esta propuesta está desarrollada como una propuesta didáctica, no como un sustituto de la matemática tradicional y rigorista enseñada en la escuela.

Materiales y Métodos

La Universidad de Southern Illinois en Carbondale, Illinois, USA se guía por los principios éticos establecidos en el Informe Belmont y por los requisitos del Código de Regulaciones Federales (45 CFR 46) en los Estados Unidos de América. De acuerdo con estos principios, este proyecto ha sido revisado y aprobado por el Comité de Investigación con Sujetos Humanos de la Universidad de Southern Illinois.

Planteamos una metodología centrada en analizar e identificar las diferencias y similitudes entre los algoritmos tradicionales que se enseñan en la escuela y los algoritmos

mayas propuestos. Esta comparación entre estos dos enfoques es útil para proponer nuevas ideas con el fin de encontrar soluciones a algunos problemas relacionados con los patrones de error (Cantoral, 2000, Cantoral y Montiel, 2001, Cruz, 2009) y las falsas ideas relacionadas con la solución de los algoritmos para suma, resta, multiplicación y división.

Debido a la falta de referencias y resultados acerca del paradigma matemático de los mayas y con el fin de generar teorías que nos permitan analizar, identificar y explicar como un posible desarrollo de una teoría emergente relacionado con este enfoque podría ayudar a mejorar el pensamiento matemático, se desarrolló una propuesta basada en el enfoque de investigación propuesto por la Teoría Fundamentada [*Grounded Theory*] (Glaser y Strauss, 1967). Este enfoque fue desarrollado con el fin de permitir conectar el análisis ulterior de los resultados con una teoría que podría ayudar a explicar y fundamentar los resultados obtenidos.

De la misma manera, aún y cuando la Teoría Fundamentada puede utilizar el diseño emergente, el muestreo teórico, el análisis comparativo constante, la saturación teórica y la sensibilidad teórica como metodologías de investigación, para este estudio se aplicó el método comparativo constante (Glaser y Strauss, 1967) como metodología de investigación en este estudio. Esta metodología permitió también identificar un fenómeno, objeto, evento o ajuste de intereses y conceptos localizados, así como principios, características estructurales o de procesos relacionados con el área de estudio. Para este estudio, los métodos de recolección de datos incluyeron la escritura de diarios, observación, análisis de documentos y entrevistas.

El participante en este estudio fue un hombre adulto, hablante nativo del idioma Español y estudiante de primer año en una universidad en el estado de Illinois, USA. Todo el estudio fue desarrollado en el idioma Inglés. Como se indicó antes, la falta de estudios formales y resultados relacionados con las matemáticas mayas utilizando números enteros en base decimal, nos permite observar y analizar los hallazgos en este estudio, incluso cuando no hay una gran población que analizar.

Una primera aproximación al participante se centró en actividades introductorias desarrolladas expresamente para él. Estas actividades estaban relacionadas con la demostración de los algoritmos Mayas, con el fin de demostrar de forma matemática, la validez y la fiabilidad de este conocimiento.

Se programó la escritura de un diario de trabajo como una herramienta para la observación y análisis. Al inicio del estudio, se planearon cuidadosamente actividades centradas en recopilar los datos primarios que podrían hacer nos observar las creencias generales sobre el uso de algoritmos mayas. Estas observaciones se documentaron de forma cronológica en cinco sesiones.

Después de aprender a los usar algoritmos mayas, fueron transcritas en el diario las experiencias pertinentes. De acuerdo con Strauss y Corbin (1990), los códigos de procesamiento de datos (tales como Abierto, Axial y Selectivo) fueron desarrollados con el fin de analizar el proceso de investigación, además de servir de guía para las decisiones teóricas posteriores. La codificación de las respuestas dadas por el estudiante a partir de preguntas previstas de antemano, fueron útiles para mejorar la recogida y análisis de los datos obtenidos. Otras entrevistas se centraron en las

10^3					MILLARES
10^2					CENTENAS
10^1					DECENAS
10^0					UNIDADES

Figura 1. Tablero maya para los cálculos

experiencias y percepciones relacionadas con los algoritmos tradicionales enseñados en la escuela.

Otra fuente de datos fue la observación del sujeto en la aplicación de los conocimientos adquiridos, mediante el planteamiento de problemas matemáticos diseñados específicamente para su uso con estos algoritmos.

Mediante el análisis de los documentos, fuentes de datos y entrevistas con el participante, nos enfocamos en determinar reflexiones generales de toda la experiencia de aprendizaje, ayudando a facilitar y a afinar la comprensión de los ejercicios propuestos. Esto nos permitió obtener información adicional acerca de actividades específicas, afinando los resultados obtenidos.

El análisis de datos fue apoyado con las notas de campo y observaciones, con un orden cronológico de las actividades y enfocándonos específicamente en los códigos de contenido pedagógico.

Las entrevistas y otras fuentes de datos fueron también codificadas y analizadas. Algunas de las reglas de decisión seguidas para la entrada de datos y la selección de respuestas analizadas incluyen: (1) el uso de códigos relacionados con los cuatro tipos básicos de algoritmos reportados en los resultados; (2) la consideración de explicaciones contradictorias observadas, a pesar de que no fueron mencionados en todos los tipos de datos y (3) la selección y registro de los tipos de reflexión y/o comunicativas observadas en el participante.

Se utilizó la triangulación de datos con tres profesores para garantizar la fiabilidad de este estudio. Las respuestas analizadas dentro del proceso de triangulación, durante y después del desarrollo de las sesiones didácticas tuvieron el propósito de avalar la comprensión de significados previstos del participante, así como la fidelidad en el análisis



Figura 2. Números mayas y su equivalencia en base decimal

de datos.

Dos representaciones son materiales básicos en este estudio: un arreglo de doce cuadrados distribuidos como un tablero organizados en un arreglo cuadrado de filas y columnas, mismo que utilizamos para la representación del valor relativo para las unidades, decenas, centenas y millares, en donde la fila superior indica la posición relativa máxima (véase figura 1) y los Numerales mayas, que solo sólo tienen dos símbolos numéricos, un punto con un valor nominal de uno y una línea con un valor nominal de cinco, con la equivalencia de cinco puntos (véase figura 2).

En lugar de usar cualquiera de las representaciones mayas para el número cero y con el fin de evitar confusiones con este tradicional sistema numérico, utilizamos un nuevo símbolo (un círculo con una cruz en el interior) con la equivalencia de dos líneas o diez puntos. Denominaremos a este símbolo como "Completo" ya que al momento en que se utiliza, es necesario remarcar que este símbolo no se escribe solo, siempre se representa con al menos un punto en el nivel superior (véase figura 3).

Para representar un número, podemos combinar estos símbolos y sus representaciones posicionales escribiendo los números mayas en las celdas correspondientes en el tablero. Cada columna siempre se destaca por la posición asignada (unidades, decenas, centenas y más) y cada punto o línea dentro de estas filas, representa a su valor multiplicado por el valor de la posición en base diez, independientemente de cuantos puntos o rayas existan dentro de la celda. Como resultado, tenemos un sistema numérico posicional con sólo tres símbolos (véase figura 4).

Hay tres características básicas relacionadas con estos numerales:

1. **Equivalencia de valor:** los números puede representarse de varias maneras y el valor no cambia. Como resultado, el estudiante puede usar una estrategia de conteo con una comprensión posterior del concepto de agrupación (véase figura 5).

2. **Agrupar:** Informalmente, esta acción se conoce como "prestar" (*borrow* en idioma Inglés) al desarrollar un algoritmo básico y está basada en la propiedad asociativa de la suma de números Naturales. Esta estrategia es generalmente el último paso del algoritmo de la suma, pero se puede utilizar según sea necesario (véase figura 6).

3. **Desagrupar:** Informalmente, esta acción se conoce como "llevar" (*carry* en idioma Inglés). Debido a la equivalencia de los valores antes señalados, esta estrategia se utiliza con el fin de evitar algunos conceptos erróneos relacionados con la dualidad del valor de cero. Utilizando el símbolo "completo" y desagrupando los numerales, podemos obtener una representación equivalente sin ningún cambio en el valor del número.

Con el fin de identificar y analizar los patrones de error, así como observar algunos conceptos erróneos (Ashlock, 2010; Wu, 1999; Mercer y Mercer, 1998), cuatro cuestionarios relacionados con sumas, restas, multiplicaciones y división (40 problemas en total con diez problemas de cada algoritmo básico) basados en estos patrones erróneos se aplicaron en el desarrollo del estudio. A partir de estos cuestionarios, hemos seleccionado algunos de los resultados con el fin de utilizar estos problemas con algoritmos mayas para un análisis y discusión de los patrones de error codificados. Un resumen de los patrones de error conocidos y posterior codificación fue desarrollado para este estu-

Tabla 1

Definición de códigos de patrones de error relacionados con los algoritmos básicos.

Código	Patrón erróneo
A.Add	Las sumas de las unidades y decenas se calculan sin reagrupar.
B.Add	Los dígitos se añaden de izquierda a derecha.
A.Sub	El número menor siempre se resta del número mayor.
B.Sub	La sustracción de cero tiene como resultado el valor del número mayor.
C.Sub	Cuando se necesita reagrupar más de una vez, el valor correcto no se resta de la columna "prestada" en el segundo reagrupamiento.
A.Mul	El número reagrupado se añade al multiplicando en la columna antes de realizar la operación de multiplicación de las decenas.
A.Div	El cero en el cociente se omite en la división.

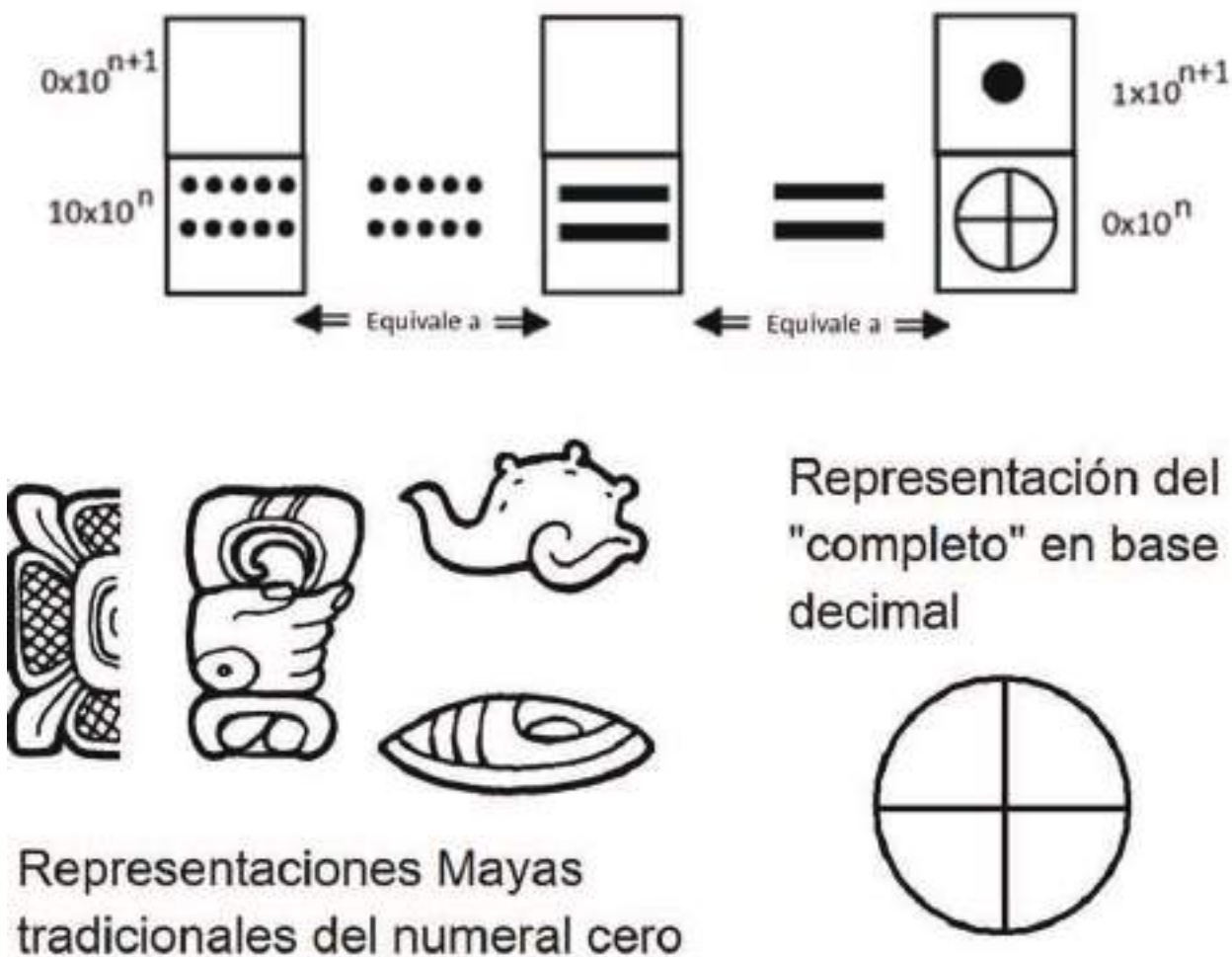


Figura 3. Representaciones de símbolos mayas para el número cero y el símbolo "completo"

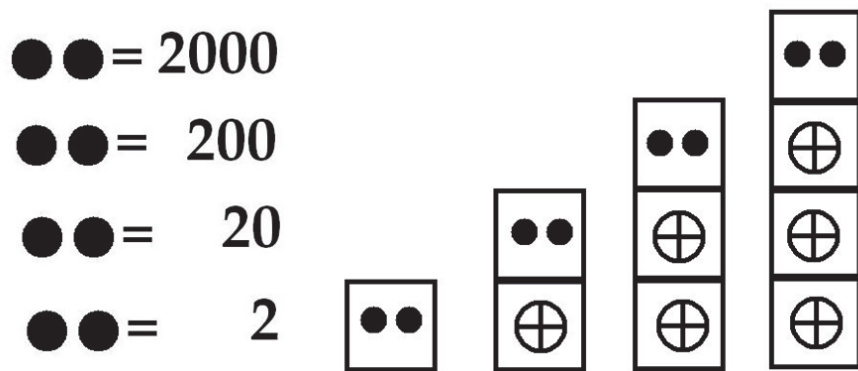


Figura 4. Sistema posicional en el tablero Maya

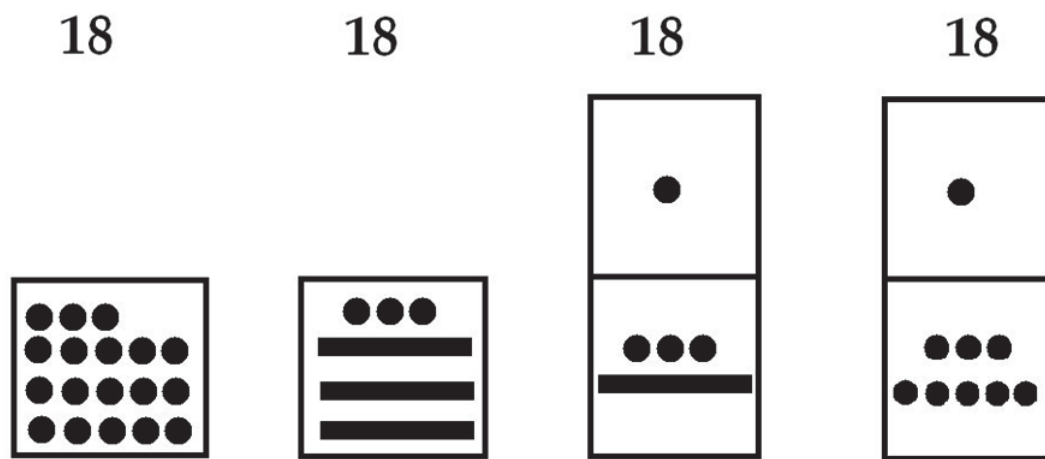


Figura 5. Diferentes representaciones del mismo número

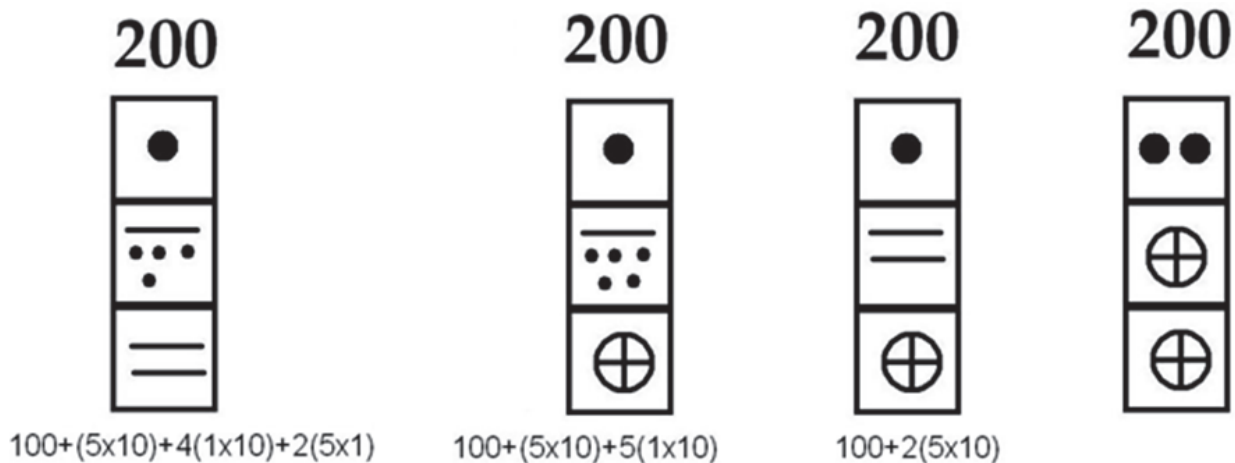


Figura 6. Equivalencias numéricas de los valores posicionales

$$\begin{array}{r}
 75 \\
 + 66 \\
 \hline
 1311
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{l}
 5+6=11 \\
 7+6=13
 \end{array}$$

Figura 7. Suma sin agrupación (patrón erróneo A.Add)

dio (véase tabla 1).

Resultados

Con el fin de precisar los resultados, sólo se reportan los problemas más representativos como ejemplos de los patrones de error. De la misma manera, los patrones observados son más una combinación de patrones y conceptos erróneos que eventos aislados de los patrones analizados. Debido a esta situación, aun y cuando se observó que no todos los patrones de error codificados se presentaron a través del desarrollo de los problemas planteados, un análisis posterior relacionado con la forma en que estos patrones de error y los conceptos erróneos implicados pueden afectar a la solución de los problemas planteados se analizan a continuación.

Análisis de patrón de error A.Add

Este patrón refleja una idea falsa relacionada con los valores de posición de números (véase figura 7). Además, se ha desarrollado como unidades independientes del valor numérico relativo y el resultado no es exacto, debido a la falta de agrupación de los resultados parciales.

El algoritmo Maya para esta adición se desarrolla de la misma manera. Observamos en el resultado parcial los mismos números obtenidos como resultado en el algoritmo anterior, dos líneas y un punto de la celda de las unidades (con un valor de once), y dos líneas y tres puntos en la celda de las decenas (con un valor de ciento treinta). Debido a la equivalencia de valores del sistema maya este resultado parcial es aceptable, pero con el fin de obtener un

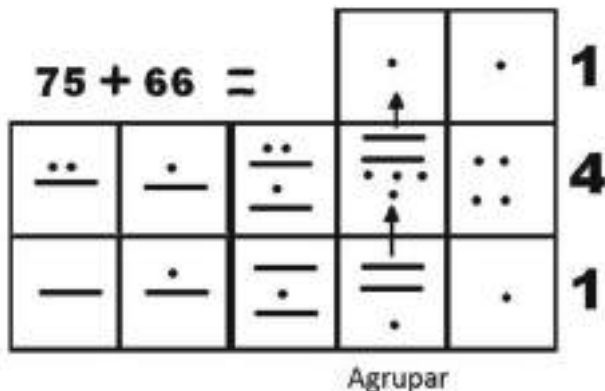


Figura 8. Suma y Agrupación

resultado preciso, una acción posterior de agrupación es necesaria (véase la Figura 8).

Análisis de patrón de error B.Add

Una de las principales características en el algoritmo tradicional de la suma de números Naturales es la necesidad de un orden específico en el desarrollo del algoritmo. En este patrón, la adición se desarrolló a partir de la columna de las centenas con una acción de "llevar" a las columnas de las decenas y las unidades, finalizando con un resultado inexacto (véase figura 9).

Debido a la barrera que las celdas en el tablero maya de cálculo presentan, realmente no importa dónde se inicia el

$$\begin{array}{r}
 375 \\
 +925 \\
 \hline
 11
 \end{array}
 \quad
 \begin{array}{l}
 9+3=12 \\
 1+5+5=11
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{r}
 21 \\
 375 \\
 +925 \\
 \hline
 11
 \end{array}
 \quad
 \boxed{
 \begin{array}{r}
 375 \\
 +925 \\
 \hline
 1111
 \end{array}
 }$$

Figura 9. Patrón de error relacionado con el orden en una adición tradicional

algoritmo. Además, este procedimiento es desarrollado por filas y los valores obtenidos mantienen su valor relativo indicado por la celda en que se encuentran, hasta que estos números son reagrupados (Véase figura 10).

Análisis de combinación de patrones de error A.Sub y B.Sub.

Como se observa, el patrón de error A.Sub se produce debido a que un número más pequeño siempre se resta de un número más grande, sin tomar en cuenta el valor posicional del número o si se trata del minuendo o del sustraendo (véase figura 11). De la misma manera, el patrón B.Sub se observa cuando una resta de cero tiene como resultado el valor del número más grande. Este patrón puede estar relacionado con la falta de conocimiento de los números negativos y se usará sólo como un ejemplo en este estudio (véase figura 12).

El uso de la estrategia de agrupar con numerales mayas nos permitirá observar que el número entero en el minuendo es siempre más grande que el sustraendo, ya que se encuentra dentro de la celda superior (véase figura 13). En otro resultado, observamos que después del proceso de desagrupar, el concepto del numeral cero como "nada" es independiente del concepto del numeral cero como "completo", ya que este numeral indica un valor mayor desde donde restar o en su caso sumar un número menor y no un conjunto vacío (véase figura 14).

La dualidad de valores para el número cero en esta representación matemática se sustituye en una primera representación con el nuevo símbolo de "completo" cuando se representa un valor de una potencia de diez, y en una

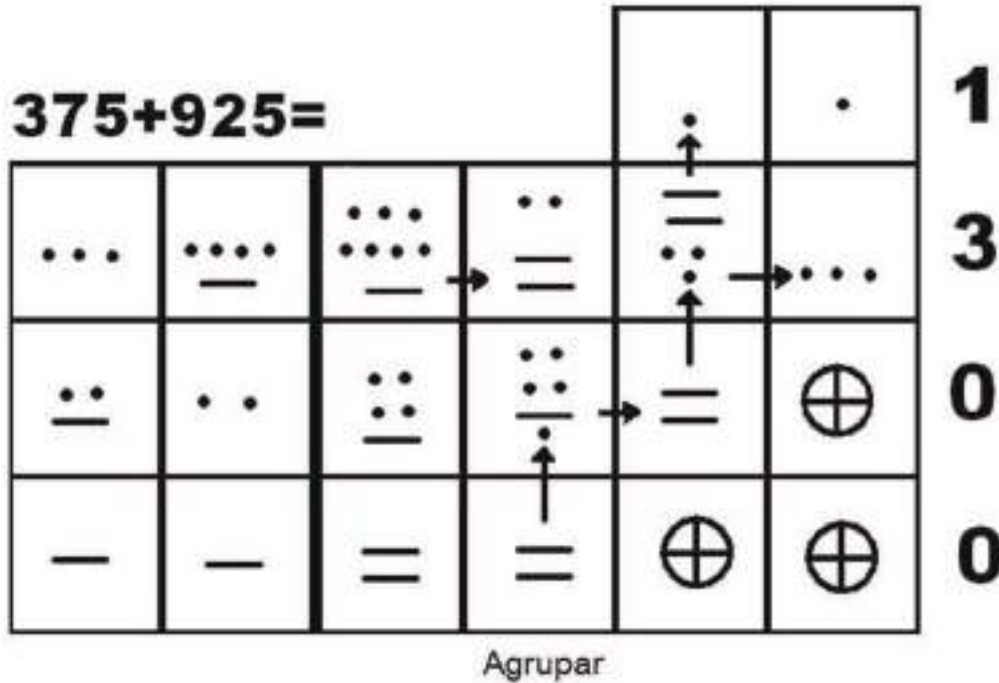


Figura 10. Representación del algoritmo maya de la suma empezando por cualquier fila

$\begin{array}{r} 423 \\ - 368 \\ \hline \end{array}$	$8-3=5$	$\begin{array}{r} 423 \\ - 368 \\ \hline 145 \end{array}$
	$6-2=4$	
	$4-3=1$	

Figura 11. La sustracción de un número menor (patrón erróneo A.Sub)

segunda, con una celda vacía cuando no hay un número para representar. Es necesario recalcar que cuando el símbolo de "completo" se muestra en una celda, este símbolo se utiliza siempre con al menos un punto en el siguiente nivel, lo que indica un valor de una potencia de diez (véase figura 15).

Esta separación del concepto dual del número cero podría ayudar a comprender el concepto tradicional en los números arábigos y en los algoritmos tradicionales para números Naturales.

Análisis de combinación de patrones de error B.Sub y C.Sub.

Una de las definiciones informales que más confusión causa en los estudiantes está relacionado con la acción de "tomar prestado", "llevar" ("carry" o "borrow" en idioma

Inglés) en el desarrollo tradicional de los algoritmos de suma y resta. Observamos que una combinación de estos dos patrones se presenta en la solución de una resta. Cuando se necesita agrupar más de una vez, el valor correcto no se resta de la columna "prestada", y en la última parte del algoritmo, se utiliza otro "préstamo" cuando no se necesita (véase figura 16).

Al momento de resolver la resta en la fila de las centenas restamos una celda vacía de dos puntos, sin presentar ningún problema debido al valor de "nada" de la celda vacía. Los otros valores son restados después de desagrupar la fila de las decenas, llegando a la solución final sin

$\begin{array}{r} 100 \\ - 65 \\ \hline \end{array}$	$0-5=5$
	$0-6=6$
	$1-0=1$

$$\begin{array}{r} 100 \\ - 65 \\ \hline 165 \end{array}$$

Figura 12. Sustracción de un número mayor al cero (patrón erróneo B.Sub)

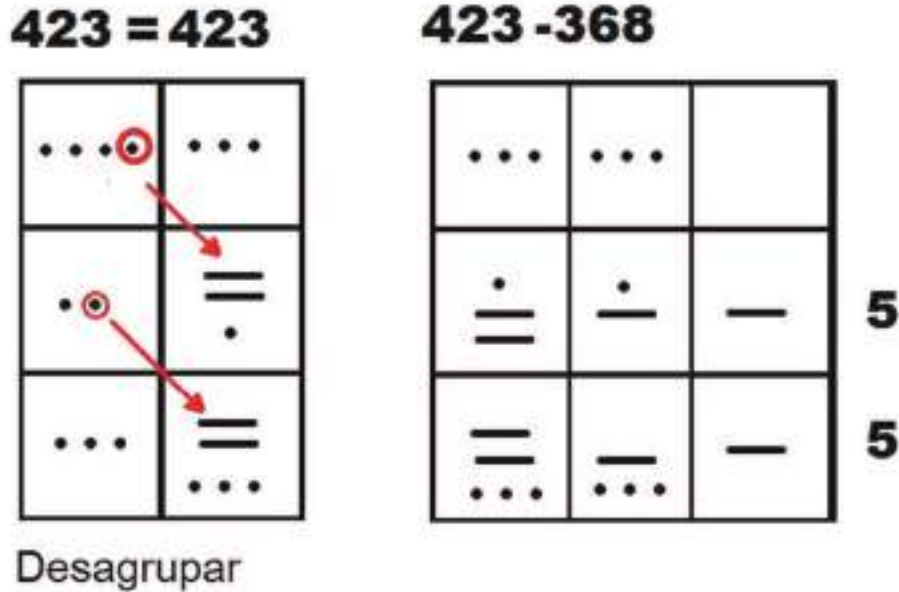


Figura 13. Resta con una estrategia de desagrupar y agrupar

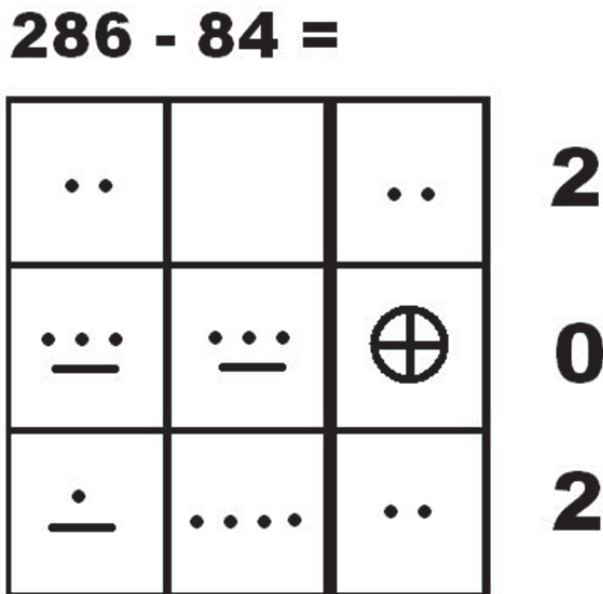


Figura 14. Resta con resultado de cero en numerales hindú-arábigos y con símbolo de "completo" en representación maya

importar en que celda se empiece el algoritmo (véase figura 17).

Análisis de patrón de error A.Mul.

En el análisis de este patrón erróneo en la multiplicación, se observa que en lugar de añadir el número "llevado" al resultado de la multiplicación parcial de las decenas, este se suma al multiplicando en la columna de

las decenas, antes de realizar la operación de multiplicación. Este patrón erróneo se repite hasta completar el algoritmo (véase figura 18).

La multiplicación en algoritmos mayas se define como una adición repetida del mismo número, desarrollada por línea. Se observa que después de la adición repetida indicada por el multiplicador, se desarrolla una agrupación posterior, primero por filas y después por columnas (véase figura 19). Como resultado, la multiplicación se resuelve como una adición, en lugar de memorizar tablas de multiplicar.

Análisis de patrón de error A.Div

El análisis de este patrón de error, se observa que en el momento de dividir el número cero en el cociente, este se omite (véase figura 20). Durante el desarrollo del algoritmo maya para la división, como primer paso, se desagrupa un punto en la fila de los millares en dos líneas en la fila de las centenas y se desagrupan cuatro puntos en la fila de las centenas en ocho líneas en la fila de decenas. Esta estrategia nos permitirá tener una cantidad equivalente, pero más manejable para una posterior sustracción repetida (véase figura 21).

Conclusiones

Tradicionalmente, el proceso de enseñanza-aprendizaje de los algoritmos básicos en la escuela es desarrollado como un proceso de memorización e instrucción mecanicista. De la misma manera, es importante señalar que los algoritmos tradicionales nunca fueron desarrollados para un proceso de enseñanza-aprendizaje, ya que estos procesos fueron la solución a situaciones problemáticas específicas. Como resultado, hay una falta de construcción de significados y profundización de conceptos matemáticos relacionados con el aprendizaje y comprensión del concepto matemático que da sustento a estos algoritmos. En lugar de

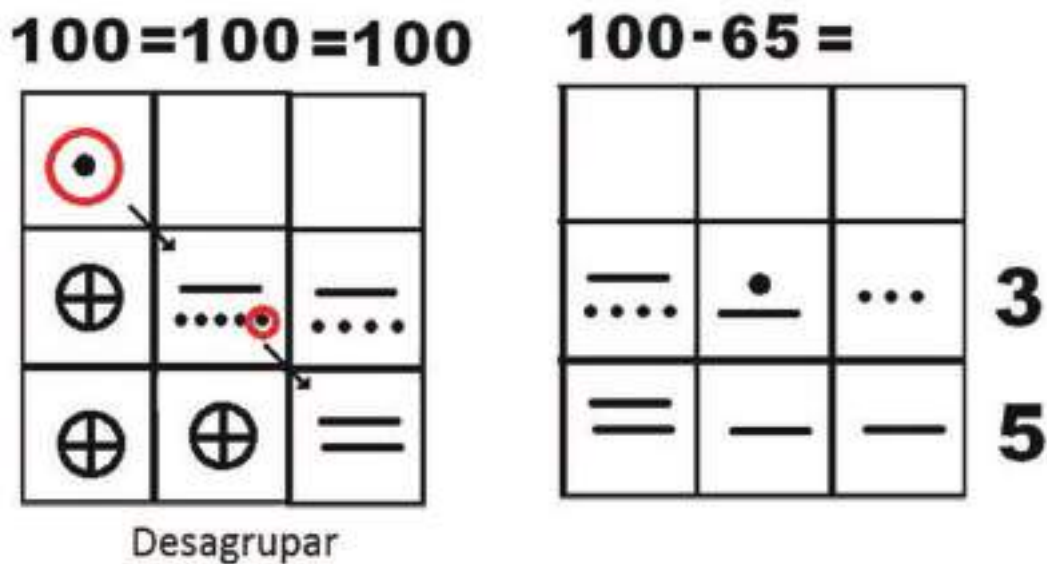


Figura 15. Desagrupamiento en sustracción con el símbolo de “completo”

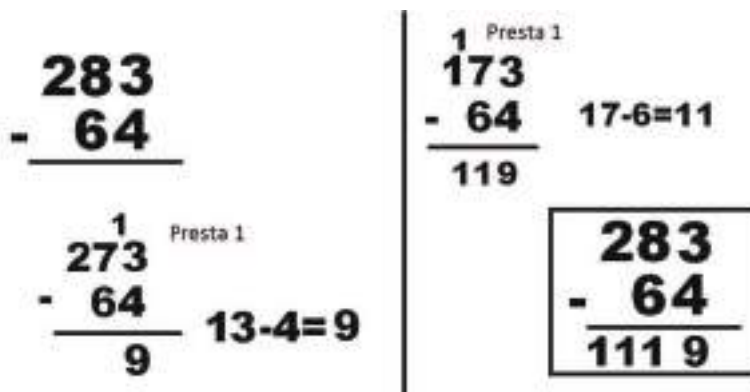


Figura 16. Desagrupamiento innecesario en la sustracción con resultado erróneo

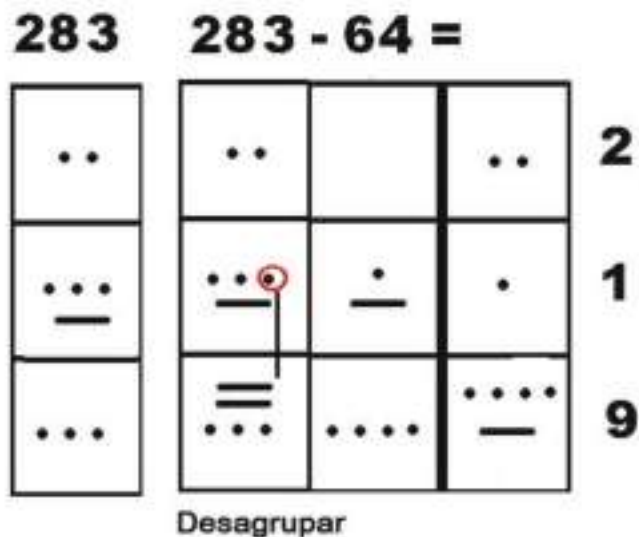


Figura 17. Desagrupar antes de realizar la sustracción

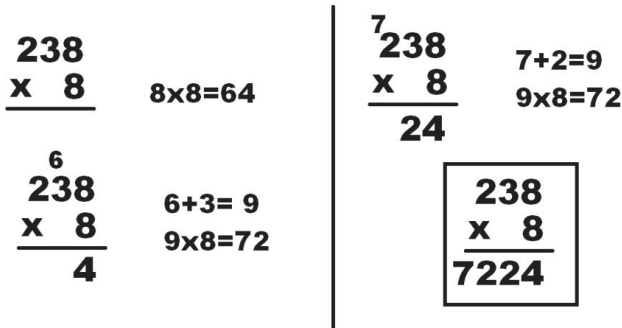


Figura 18. El resultado parcial de la multiplicación se añade al multiplicando en la posición de las decenas y en la posición de las centenas

enseñar cómo fueron desarrolladas estas ideas a través de siglos de esfuerzos matemáticos, la enseñanza tradicional conserva estas construcciones y mantienen el mismo formato desde hace mucho tiempo, por lo que su enseñanza y comprensión derivan en una situación problemática para los alumnos.

Aprender los números arábigos implica reconocer y conceptualizar diez símbolos diferentes, a la vez que hay que aprender cómo estos símbolos pueden representar las unidades, decenas, centenas, etc. De la misma manera, los numerales árabes como la representación de un número, no proporcionan ninguna información visual o referencia que pueda ser recuperada de la observación de estas representaciones, a fin de identificar y comparar la cantidad que estos números representan. Como resultado, la enseñanza de estos números es siempre un reto para los profesores y difícil de entender para los estudiantes, ya que al momento de intentar conectar estos conceptos intuitivamente, no se encuentra ninguna marco de comparación hasta que los sím-

bolos numéricos son memorizados y reconocidos. El uso de los números arábigos no proporciona una manera fácil de comprender, aprender y aplicar estos conceptos.

Uno de los principales hallazgos en este estudio se relaciona con la precisión de los resultados matemáticos y su posterior traducción al idioma Inglés. Estos resultados eran correctos de forma matemática, pero en el momento en que el sujeto traducía estos resultados matemáticamente correctos al idioma Inglés, se detectaron algunas confusiones. El sujeto nombraba décimas por decenas (*tenths* en lugar de *tens*) o centésimas por centenas (*hundredths* en lugar de *hundreds*). Este hallazgo podría indicar que el lenguaje matemático y su comprensión son independientes del lenguaje oral. Es importante recordar que las traducciones de un registro semiótico diferente (tal como la algebraica o la tabular) a la lengua oral podrían representar un problema para los profesores de enseñanza de las matemáticas en entornos multiculturales, debido a la falta de conocimiento de otras lenguas orales y algunos procedimientos y estrategias diferentes aplicadas por los estudiantes cuando se centran en la solución de estos problemas.

La enseñanza de las Matemáticas se relaciona con un proceso significativo de descubrimiento y construcción de ideas. En otros términos, tenemos que aprender no solo las reglas o procedimientos algorítmicos o la memorización y rutinas que no somos capaces de discutir o mejorar, sino desarrollar el pensamiento matemático sustentado por el análisis y comprensión del mismo. Utilizando sólo tres símbolos dentro de una información más estructurada y manejable, evitando la memorización y proporcionando un contexto visual relacionado con el mundo real, podría ayudar a construir y desarrollar conceptos matemáticos relacionados con la suma, resta, multiplicación y división, en lugar de aceptar estos conceptos tal cual son enseñados tradicionalmente. De la misma manera, los algoritmos mayas se basan sólo en conceptos de adición o sustracción, debido a que la multiplicación y la división son una conse-

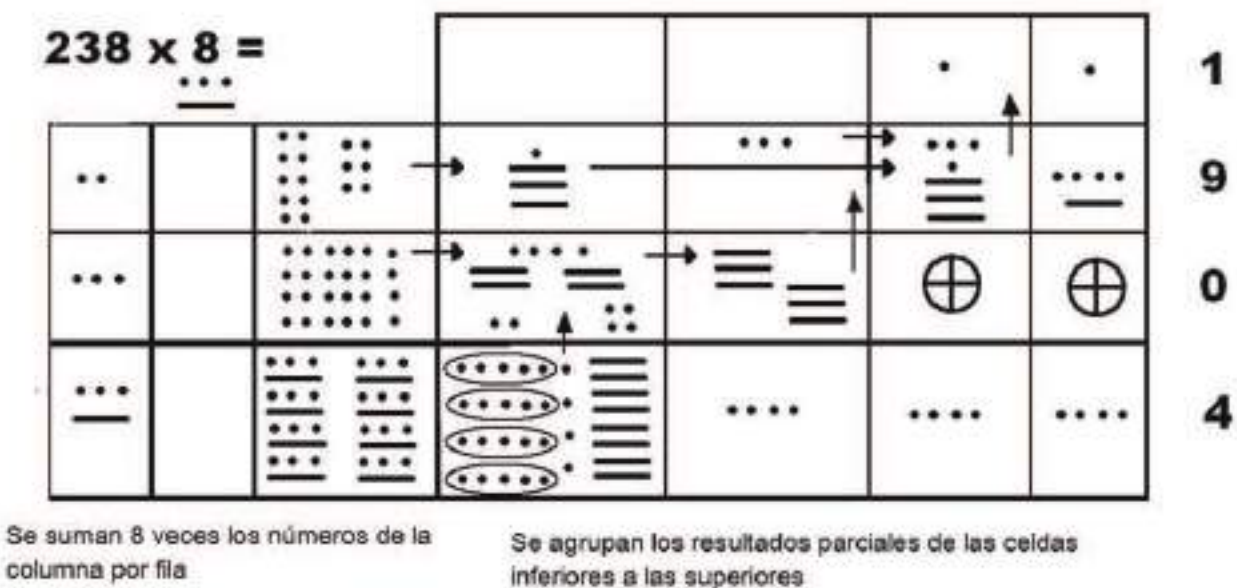


Figura 19. Multiplicación como adiciones sucesivas

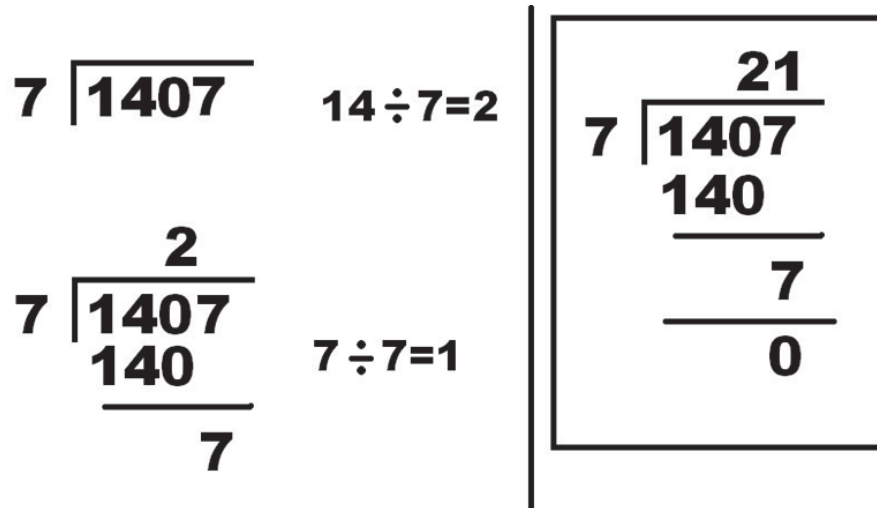


Figura 20. Patrón erróneo en la división del número cero en el cociente

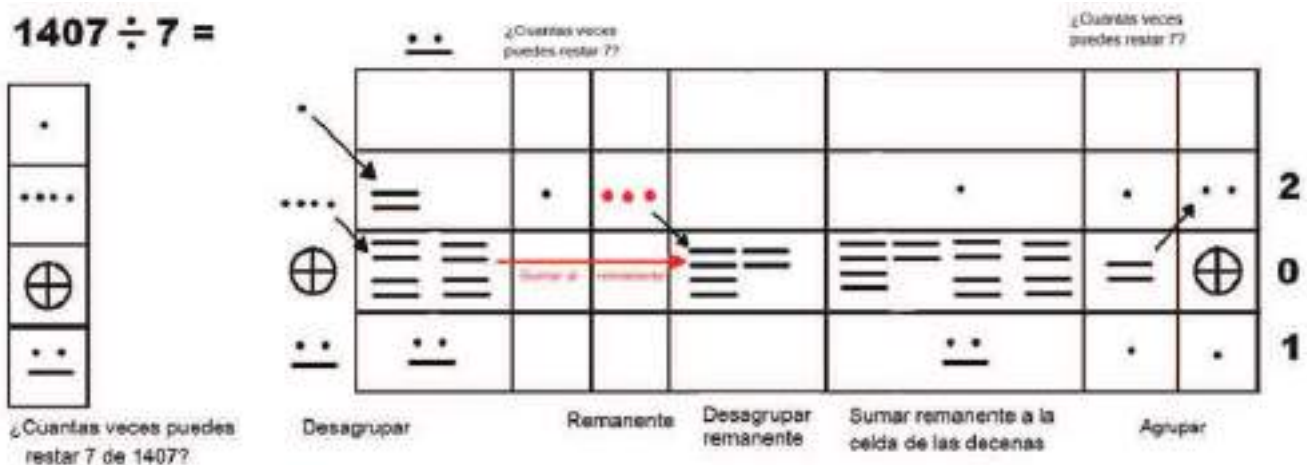


Figura 21. División como sucesivas sustracciones

cuencia de la aplicación de estas ideas relevantes y prácticas.

Referencias

Ashlock, R. B. (2002). *Error patterns in computation*. [Patrones de error en cálculo] (8th ed.). New York: Merrill.

Baroody, A. J., Torbeyns, J., y Verschaffel, L. (2009). Young children's understanding and application of subtraction-related principles. [Comprensión y aplicación que poseen los niños acerca de los principios relacionados con la resta]. *Mathematical Thinking and Learning*, 11, doi: 10.1080/10986060802583873.

Calderón, H. M. (1996). *La ciencia matemática de los Mayas*. México: Editorial Órion.

Campbell, P. F., Rowan, T. E. y Suarez, A. E. (1998). In L. Morrow y M. Kenney (Eds.), *The Teaching and Learning of Algorithms in School Mathematics, 1998 NCTM year-book* (pp. 49-55) [La enseñanza y aprendizaje de algoritmos

en la clase de matemáticas, 1998, Anuario de la NCTM]. Reston, Va.: National Council of Teachers of Mathematics.

Center for Mathematics Education Project (2007) *Algebra 2, Illinois*. USA. Center for Mathematics Education Project. Prentice Hall.

Cantoral, R. y Montiel, G. (2001). *Funciones: Visualización y Pensamiento Matemático*. México: Pearson Education de México.

Cantoral, R. (2000). *Desarrollo del Pensamiento Matemático*. México: Trillas.

Cruz, J. (2009). *Diversas concepciones de asíntotas como elementos didácticos en la conceptualización del límite a nivel precálculo*. Argentina: El Cid Editores.

Delprato, M. F. (2005). Educación de adultos. ¿Saberes Matemáticos previos o saberes previos a los Matemáticos? *Revista Latinoamericana de Investigación en Matemática Educativa*, 2(8), 129-144.

Even, R., y Kvatanski, T. (2009). Approaches to teaching mathematics in lower-achieving classes [Acercamientos sobre la enseñanza de las matemáticas en clases de bajo

- rendimiento]. *International Journal of Science and Mathematics Education*, 7, 957-985.
- Glaser, B. G. y Strauss, A. L. (1967). *The Discovery of Grounded Theory: Strategies for Qualitative Research [El descubrimiento de la Teoría Fundamentada: Estrategias para la investigación cualitativa]*. New York: Transaction Publishers.
- Kamii, C., y Dominick, A. (1998). The harmful effects of algorithms in grades 1-4 [Efectos dañinos en la enseñanza de algoritmos en los grados 1-4]. En L. Morrow y M. Kenney (Eds.), *The Teaching and Learning of Algorithms in School Mathematics, 1998 NCTM yearbook* (pp. 130-140). Reston, Va.: National Council of Teachers of Mathematics.
- Lam, E., Magaña, L. F., y De Oteyza, E. (2008). *Puntos, rayas y caracoles. Matemáticas rápidas y divertidas con ayuda de los mayas*. (p. 97). Mexico: Distribuciones Litoral, S.A. de C.V.
- Lu, S. (2009). How to prevent from regarding mathematics as algorithm: A study on the beliefs of mathematics learning by clinical interview [Como evitar considerar los algoritmos como matemáticas. Un estudio de las creencias sobre el aprendizaje de las matemáticas mediante una entrevista clínica]. *Journal of Mathematics Education*, 2(2), 38-51.
- Martínez, G. (2003). *Caracterización de la convención matemática como un mecanismo de construcción del conocimiento. El caso de su funcionamiento en los exponentes*. Tesis de Doctorado no publicada. Centro de Investigación en Ciencia Avanzada y Tecnología Aplicada. IPN, México.
- Mercer, C.D., y Mercer, A.R. (1998). *Teaching students with learning problems [Enseñando a estudiantes con problemas de aprendizaje]* (5th ed., pp. 171-225). Upper Saddle, NJ: Merrill.
- National Council of Teachers of Mathematics. (2009). *Principles and standards for school mathematics [Principios y estándares para las clases de matemáticas]*. Reston, VA: Author.
- National Research Council. (2002). *Helping children learn mathematics. [Ayudando a los niños a aprender matemáticas]* Washington, DC: National Academy Press.
- Peters, G., De Smedt, B., Torbeys, J., Ghesquière, P., y Verschaffel, L. (2011). Children's use of subtraction by addition on large single-digit subtractions. [Empleo por los niños de la resta por adición en restas largas de un solo dígito] *Educational Studies in Mathematics*, doi: 10.1007/s10649-011-9308-3.
- Pitta-Pantazi, D., y Christou, C. (2011). The structure of prospective kindergarten teachers' proportional reasoning [La estructura acerca del pensamiento proporcional en maestros en entrenamiento]. *Journal of Mathematics Teacher Education*, 14(2), 149-169.
- Ramakrishnan, M. (2011, February, 20). Exploring preservice teachers' understanding of two-digit multiplication [Explorando la comprensión de la multiplicación de dos dígitos en maestros en entrenamiento]. *International Journal for Mathematics Teaching and Learning*, Retrieved from <http://www.cimt.plymouth.ac.uk/journal/ramakrishnanmenon.pdf>
- Robinson, K., y LeFevre, J. (2011). The inverse relation between multiplication and division: Concepts, procedures, and a cognitive framework [La relación inversa entre la multiplicación y la división: Conceptos, procedimientos y un marco cognitivo]. *Educational Studies in Mathematics*, doi: 10.1007/s10649-011-9330-5.
- Rocha, M. I., y Menino, H. A. (2009). Desenvolvimento do sentido do número na multiplicação. um estudo de caso com crianças de 7 /8 anos [Desarrollo del sentido de número en la multiplicación, un estudio con niños de 7/8 años]. *Revista Latinoamericana de Investigación en Matemática Educativa*, 12(1), 103-134.
- Sfard, A. (1991). On the dual nature of mathematical conceptions: reflections on processes and objects as different sides of the same coin [Sobre la dualidad de los conceptos matemáticos. Reflexiones sobre los procesos y objetos como lados opuestos de la misma moneda]. *Educational Studies in Mathematics*, 22(1), 1-36.
- Strauss, A. y Corbin, J. (1990). *Basics of qualitative research: grounded theory procedures and techniques [Fundamentos de la investigación cualitativa: procedimientos y técnicas de la teoría fundamentada]*. Newbury Park, CA: Sage Publications.
- Schiro, M. (2004). *Oral storytelling and teaching mathematics: pedagogical and multicultural perspectives [Narración oral y enseñanza de las matemáticas: Perspectivas pedagógicas y multiculturales]*. USA: SAGE.
- Torbeys, J., De Smedt, B., Stassens, N., Ghesquière, P., y Verschaffel, L. (2009). Solving subtraction problems by means of indirect addition [Resolviendo problemas de resta por medio de la suma indirecta]. *Mathematical Thinking and Learning*, 11, 79-91.
- Valdemoros, M. E. y Ruiz E. F. (2008). El caso de Lucina para el estudio de las fracciones en la escuela de adultos. *Revista Latinoamericana de Investigación en Matemática Educativa*, 11(1), 127-157.
- Wang, L. (2011). Chinese students' basic computation ability: an assessment on third grade students [Habilidad de cálculo básico de estudiantes chinos: una evaluación de estudiantes de tercer grado]. *Journal of Mathematics Education*, 4(1), 57-66.



Cultivo del langostino *Macrobrachium tenellum*, alimentado con *Artemia franciscana* la cual a su vez fue alimentada con dietas unialgales y mixtas de microalgas

Donaciano Pérez Castro^{1*}
Oscar Talavera Mendoza²
Salomé Branly Olivier¹

¹ Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Ambientales. Carretera Cayaco Puerto Márquez s/n, Campus Llano Largo, Acapulco, Guerrero, México. Tel. +52(744) 1641526

² Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias de la Tierra. Ex hacienda de San Juan Bautista s/n. Taxco el Viejo, Guerrero, México. Tel: +52(762) 6220741 .

*Autor de correspondencia
perezdon2000@hotmail.com

Resumen

En el presente estudio, se analizó el crecimiento de larvas de *Macrobrachium tenellum* colectadas en la laguna de Juluapan de Manzanillo, Estado de Colima, México. Estas larvas fueron alimentadas con *Artemia franciscana* que fue cultivada de acuerdo a dos métodos utilizados en los laboratorios de producción larvaria. El primero es el de “agua clara” y el segundo el de “agua verde”. Para el método de “agua verde”, *A. franciscana* se alimentó con dietas unialgales y mixtas a partir de los clones de microalgas marinas *Asterionella japonica*, *Cryptomonas sp.*, *Platymonas suecica*, *Chaetoceros diversus*, *Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis suecica*. El peso ganado del langostino *M. Tenellum*, al ser alimentado con *A. franciscana* quien fue alimentada con dieta unialgal a base de *P. suecica* es mucho más eficiente que la dieta mixta a base de *C. diversus* y *P. suecica*. La dieta para el langostino *Macrobrachium tenellum* alimentado con nauplios recién eclosionados de *Artemia franciscana* resultó ser más baja (en el caso de agua clara) en relación al crecimiento, que con las dietas unialgales para *A. franciscana* a base de *Chaetoceros diversus* y *Platymonas cf suecica*.

Palabras clave: *Macrobrachium tenellum*, cultivo, *Artemia franciscana*, microalgas

Abstract

This study is focused on analyze growth of *Macrobrachium tenellum*'s larvae that were fed by *Artemia franciscana*. *M. tenellum* was collected in the Juluapan lagoon, at Manzanillo, State of Colima, México. *M. tenellum* larvae were fed with *A. franciscana* that was grown according to two methods used in laboratories of larval production. First method is called the "clear water method", and the second method is known as "green water method." For "green water method", *A. franciscana* were fed by unialgal and mixed diets from clones of marine microalgae *Asterionella japonica*, *Crypto-*

Como citar el artículo:

Pérez-Castro, D., Talavera-Mendoza, O. y Branly-Olivier, S. (2014). Cultivo del langostino *Macrobrachium tenellum*, alimentado con *Artemia franciscana* la cual a su vez fue alimentada con dietas unialgales y mixtas de microalgas. *Tlamati*, 5(2), 44-48.

monas sp., *Platymonas suecica*, *Chaetoceros diversus*, *Chaetoceros gracillis* and *Tetraselmis suecica*. Weight gained by shrimp *M. tenellum* fed by *A. franciscana* who was fed by unialgal diet of *P. suecica* is greater than weight gained by *M. tenellum* using *A. franciscana* who was fed by mixed diet of *C. diversus* and *P. suecica*. Weight gained by *M. tenellum* fed by newly hatched nauplii of *A. franciscana* was lower (in the case of “clear water method”) than weight gained by *M. tenellum* fed by *A. franciscana* grown with unialgal diets of *C. diversus* and *P. suecica*.

Keywords: *Macrobrachium tenellum*, culture, *Artemia franciscana*, microalgae

Introducción

El grupo Palaemon agrupa al denominado camarón de agua dulce, el género *Macrobrachium*, que a su vez integra varias especies que se distribuyen en América; como *Macrobrachium carcinus*, *Macrobrachium americanum* y *Macrobrachium tenellum*; sin embargo la especie más utilizada en actividades acuaculturales es *Macrobrachium rosebergii*, llamado el langostino Asiático por su origen. De este último se tienen las mayores referencias, por ejemplo, una hembra en plena madurez produce entre 80,000-100,000 huevos, los cuales son incubados a 28° C, durante 20 días. La larva que nace del huevo pasa por 11 diferentes estadios y su característica más importante es que nada con la parte ventral hacia arriba, se alimenta en condiciones naturales de microcrustáceos, lombrices y pequeños protozoarios (es totalmente carnívora). En condiciones de laboratorio normalmente se le proporciona nauplios de *Artemia*. De acuerdo a New y Singholka (1992), una larva consume aproximadamente 50 nauplios, pero debe de existir una mayor proporción, ya que las larvas no son capaces de buscar los nauplios y solo los atrapan cuando están cerca.

En la actualidad, la falta de previsión y de investigaciones han minimizado la producción de larvas y/o postlarvas de este langostino, lo cual hace posible proponer el uso de

otras especies, una de ellas muy abundante en el Estado de Guerrero, México, el *M. tenellum*, que de acuerdo a los estudios realizados por Román-Contreras (1979), en los cuerpos de agua de las lagunas de Tres Palos, Mitla y Chautengo del Estado de Guerrero, la biología de la población, durante un año de crecimiento, las hembras y machos llegan a una longitud promedio de 132 mm y un peso de 28.6 g; posteriormente, Martínez, Chávez y Palomo (1980), cultivaron larvas silvestres a una densidad de 25 animales/m², alimentándolos con alimento de pollo con un porcentaje de 16% de proteína, obteniendo organismos con una longitud de 24.25 cm y un peso de 440 g, después de 5 meses de cultivo. Estas referencias proporcionan evidencia para que este organismo pueda ser utilizado como un sustituto de *M. rosebergii* en monocultivo o como lo hicieron Navarro y Godínez (1999) en un trabajo de policultivo. El objetivo del presente trabajo fue determinar el desarrollo de larvas en condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

Para este trabajo de investigación, se usaron postlarvas silvestres de langostino *M. tenellum*, colectadas en el canal de la barra de la Laguna de Juluapan en el Estado de Colima, México, con coordenadas medias al Norte 19°06 18 72



Figura 1. La Boquita, barra de salida de la Laguna de Juluapan y localización de la estación de muestreo (●) de las postlarvas del langostino *Macrobrachium tenellum*

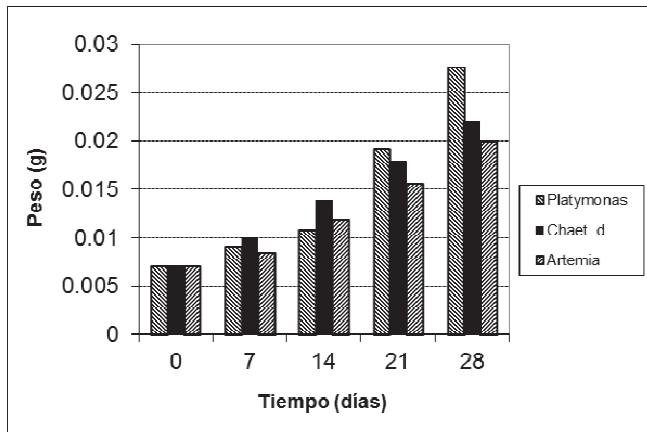


Figura 2. Incremento de peso de *Macrobrachium tenellum* alimentados con *Artemia franciscana*, la cual a su vez fue alimentada con dietas unialgales comparándola con nauplios recién eclosionados.

y Oeste 104°234704, y previamente adaptadas a las condiciones experimentales con una salinidad de 15 g/l y una temperatura de $27 \pm 0.2^\circ\text{C}$. Posteriormente, las larvas fueron transportadas al laboratorio, para realizarse los trabajos posteriores (véase figura 1).

En el laboratorio, las postlarvas fueron aclimatadas durante 2 horas adicionándoles el 10% del volumen de agua salada, 30 g/l cada 20 minutos durante 2 horas para alcanzar una salinidad de 25 g/l, y alimentándolas 24 horas después de su ingreso.

Posteriormente, se repartieron en acuarios de 60 X 40 X 40 cm (largo: ancho: altura) con una densidad de 30 individuos por tratamiento, pesando en promedio 0.0070 g. Una vez repartidos los langostinos, se inició el ensayo alimentándolos con *Artemia*, la cual podía ser consumida “*ad libitum*” por las larvas del langostino.

Para la alimentación, de *Artemia franciscana* se usaron cepas de microalgas marinas *Asterionella japonica*, *Platymonas suecica*, y *Chaetoceros diversus*, *Tetraselmis suecica*, *Chaetoceros gracilis*, obteniéndolas mediante cultivos semicontinuos y usándolas como raciones de dietas unial-

gales y mixtas (dos cepas), la segunda dieta fue a base de nauplios de *A. franciscana* recién eclosionadas.

La *Artemia* utilizada como alimento para el langostino se preparó a diario, partiendo de 3.5 g de quistes, mismos que una vez eclosionados, se alimentaron con dietas unialgales o mixtas durante 48 h, proporcionando la mitad de la porción a las 24 h y finalmente a las 48 h, mientras que para el tratamiento sin alimentación con microalgas, se eclosionó cada 24 h 0.7 g, dándolos a diario.

Las biometrías, se realizaron a los 0, 7, 14, 21, y 28 días. Los organismos se atraparon con el auxilio de una malla de 500 μm de abertura de poro en cada unidad del tratamiento, se pesaron en una balanza analítica con capacidad de $200 \text{ g} \pm 0.0001\text{g}$, posteriormente se regresaron a su acuario y se alimentaron.

Se realizó, la prueba estadística ANOVA de una sola vía, para analizar si existían diferencias significativas con $P=95\%$ entre los diferentes tratamientos, tomando como referencia el peso de los individuos y usándose el paquete programa SPSS 10.0 para Microsoft Windows XP, para el procesamiento de los datos estadísticamente.

Resultados

Los resultados obtenidos durante la fase experimental del presente trabajo se exponen: a continuación, para dicha evaluación se usó el incremento de peso durante 28 días de experimentación, los tratamientos se realizaron por cuadruplicado; para evaluar el crecimiento de *M. tenellum*, se usó el peso de los individuos, como se puede observar en la figura 2, los incrementos de las larvas, fue el resultado de la alimentación, usando dietas unialgales de las microalgas *P. suecica* y *C. diversus*. Al mismo tiempo se expone en (véase figura 2) los resultados de la alimentación con nauplios de *A. franciscana* recién eclosionados sin alimentación a base de microalgas.

La tabla 1 presenta el análisis estadístico practicado a los datos obtenidos para comparar sus respectivos crecimientos.

Además se observa en la figura 3 los resultados de las biometrías de los organismos, evaluando la alimentación al usar dietas mixtas, de las microalgas 1. *C. gracilis* y *T. suecica* Ch.g+Tetra), 2. *C. diversus* y *P. suecica*

Tabla 1

El Análisis estadístico mediante la prueba de ANOVA, mostró que existen diferencias en la comparación de los pesos individuales de *Macrobrachium tenellum* alimentados con dietas individuales con una $P=95\%$.

FV	Suma de cuadrados	Gl	Media de cuadrados	Razón F	Probabilidad F
Entre grupos	5.023	2	2.511	5.784	.004
Dentro de grupos	7.685	177	4.342		
Total	8.187	179			

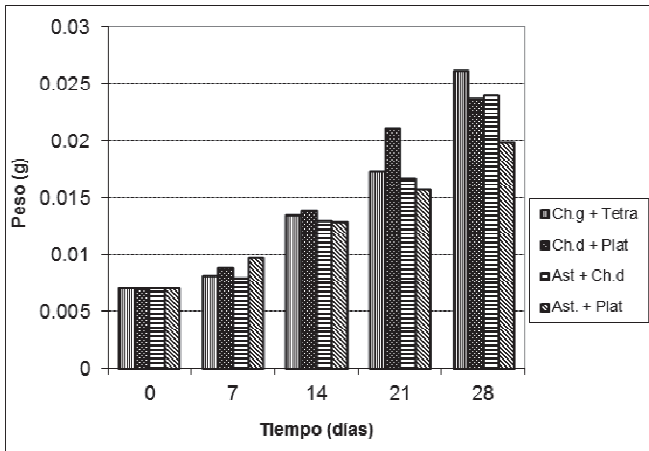


Figura 3. Incremento de peso de *Macrobrachium tenellum*, alimentados con *Artemia franciscana* durante 28 días, *Artemia* que a su vez fue alimentada con dietas mixtas

(Ch.d+Plat), 3. *Asterionella japonica* y *Chaetoceros diversus*(Ast+Ch.d, d), 4. *A. japonica* y *P. suecica* (Ast+Plat).

Discusión

La alimentación del langostino en sus fases larvarias, después de haber consumido las reservas vitelinas del huevo, al tercer día son organismos vivos animales, estos son totalmente carnívoros, no consumen microalgas en su dieta, por lo tanto el cultivo tradicionalmente de las larvas, se realiza usando dos métodos el de agua clara que incluye el uso de nauplios de *A. franciscana* recién eclosionados, y

para el segundo método, se usan microalgas, esto tiene varios efectos importantes, algunos de ellos es de proveer vitaminas y minerales, mantener el cultivo sin sustancias tóxicas, y la acumulación de productos de desecho como catabolitos de la alimentación, principalmente urea, la cual es transformada por las bacterias en nitratos, las microalgas los absorben para formar sustancias orgánicas funcionales en sus tejidos.

Pérez (2004) observó que las microalgas permiten un buen desarrollo al usar dietas, unialgales, donde se combina dos cepas, para organismos herbívoros, como *A. franciscana* y *Eutерpe acutifrons*, principalmente *P. suecica* y la combinación de *C. diversus* y *P. suecica*, reduciendo de manera importante el tiempo de desarrollo y la mortalidad de *A. franciscana* de manera notable.

La figura 4 muestra los datos del peso ganado del langostino, al ser alimentado con dietas unialgales y dietas mixtas, en ella se observa que los mejores resultados de las biometrías fueron para la dieta unialgal a base de *P. suecica*, mucho más eficiente que la dieta a base de *C. diversus* y *P. suecica*, y la dieta usada para alimentación en muchos de laboratorios nacionales e internacionales de producción de larvas de camarones a base de *C. gracilis* y *T. suecica*, las de menor ganancia de peso fueron para la dietas a base de nauplios recién eclosionados y de *A. japonica* y *P. suecica*, esto permite opinar que no todas las dietas mixtas funcionan de la misma manera, por lo cual algunas permiten el buen uso de sustancias alimenticias como son carbohidratos, proteínas y ácidos grasos.

Es muy probable que algunas cepas en vez de aportar condiciones ricas en nutrientes interfieran con los componentes de las diferentes especies, además observamos que las dietas donde se usa microalgas como dietas unialgales

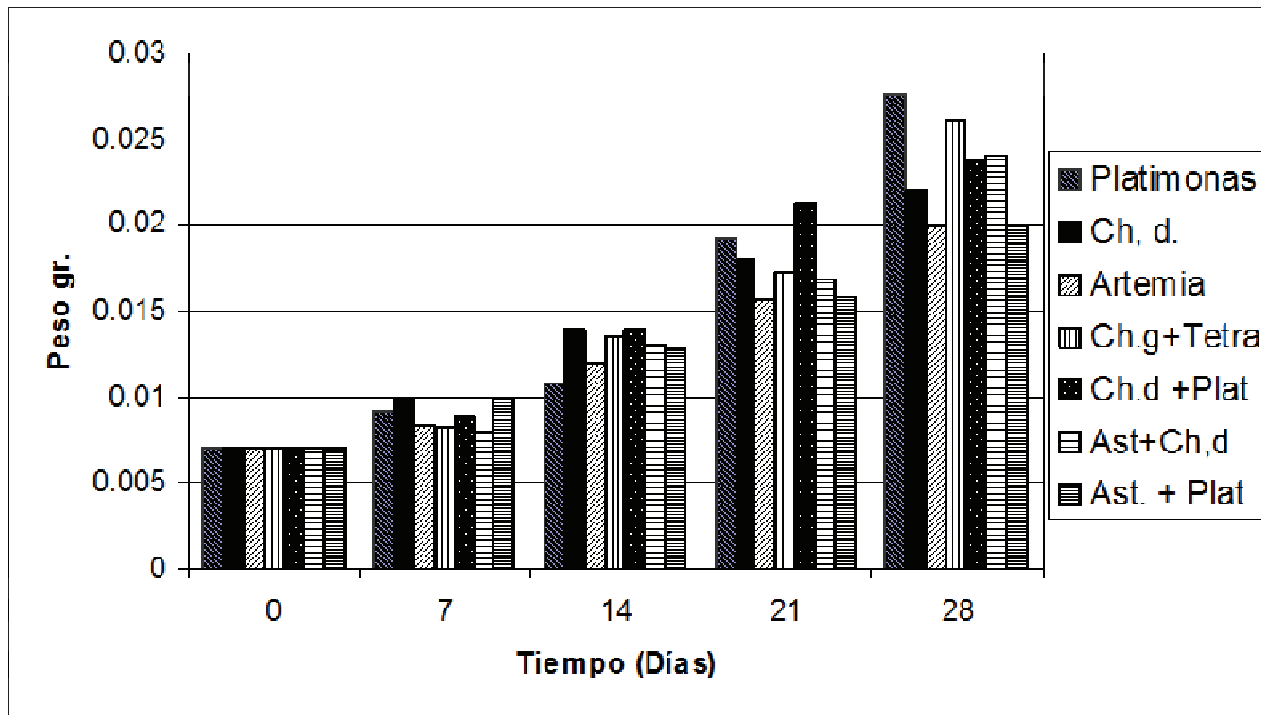


Figura 4. Muestra las dietas unialgales, utilizadas para alimentar a *Artemia franciscana*, que a su vez fue usada para alimentar al langostino *M. tenellum*

Tabla 2

El Análisis estadístico mediante la prueba de ANOVA, mostró que no existen diferencias en la comparación de los pesos individuales de *Macrobrachium tenellum* alimentados con dietas mixtas con una P=95%.

FV	Suma de cuadrados	Gl	Media de cuadrados	Razón F	Probabilidad F
Entre grupos	8.00	2	3.000	.853	.468
Dentro de grupos	4.080	116	3.517		
Total	4.170	119			

y/o mixtas, dieron mejores rendimientos en otros microcrustáceos. Por lo tanto el cultivo con agua verde es más eficiente para lograr mejor crecimiento, lo que es analizado en las tablas 1 y 2, del análisis estadístico.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al CONACYT, por el apoyo otorgado para la realización del presente trabajo.

Referencias

- Martínez, P. C. A., Chávez M. A. C. C. y Palomo G. M. (1980). *Avances Sobre el semicultivo del Langostino Macrobrachium tenellum (Smith)*. Dirección General de Acuicultura, Departamento de Pesca, México, 643-657.
- Navarro H. A. y Godinez J. P. (1999). Ensayo de dos modelos de policultivo empleando bagre (*Ictalurus punctatus*, Tilapia roja, *Oreochromis mossambicus* y langostino *Macrobrachium tenellum*), en estanques semi-rusticos, caso Jocotepec, Jal., *VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar*, 56.
- New B.M. y Singhka S. (1992). *Cultivo del camarón de agua dulce, Manual para el cultivo de Macrobrachium rosebergii*, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación, FAO 1-108.
- Pérez C. D. (2004). *Nutrición y cultivo de zooplancton con microalgas extraídos del medio natural para fines acua-culturales*, Tesis para obtener el doctorado, Universidad de Colima, México, 84p.
- Román-Contreras R. (1979). *Contribución al conocimiento de la Biología y Ecología de Macrobrachium tenellum (Smith) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae)*. An. Centro Cienc. Del Mar y Limnol. UNAM 6, 137-160.



Las estrategias de marketing de las MiPYMES en las ciudades de Matehuala y Ríoverde, San Luis Potosí, México. Un análisis comparativo

José Luis Susano García^{1*}
Marco Francisco Martínez Aguilar¹

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Coordinación Académica Región Altiplano. Carretera a Cedral, KM 5+600, Ejido San José de las Trojes, Matehuala, San Luis Potosí, México. CP 78700. Tel . +52(488)8827 15.

*Autor de correspondencia
pepeluissg@hotmail.com

Resumen

El presente es un análisis comparativo sobre la participación que tienen las Micros, Pequeñas y Medianas Empresas (MiPYMES) del sector comercial en dos ciudades del estado de San Luis Potosí, México, en específico las ciudades de Matehuala y Ríoverde.

En las unidades de negocios al interior de estas ciudades existen necesidades que de manera urgente que se deben atender, entre ellas están: capacitación en materia de Administración, Mercadotecnia, Contabilidad y uso de tecnologías entre otras, enfocadas en mejorar la competitividad, buscando procesos de mejora continua, creatividad e innovación dentro de un marco estratégico.

Con este estudio se busca identificar cuáles son las verdaderas necesidades de las MiPYMES de ambas ciudades, para establecer las estrategias pertinentes para incidir y tratar de solventar dicha problemática. Para la obtención de la información se recurrió a la realización de entrevistas, encuestas y observaciones en los establecimientos comerciales y de servicios que se ubican en la ciudad de Matehuala y Ríoverde del estado de San Luis Potosí, México.

Palabras clave: MiPYMES, Mercadotecnia, Negocios.

Abstract

This is a comparative analysis of participation of Micro, Small and Medium Enterprises (MSME) within commercial sector in the cities of Matehuala and Ríoverde at the State of San Luis Potosí, Mexico. These business units have urgent needs that should be attended. These needs include, as follows: training in management, marketing, accounting and use of technologies, among others. In the same way, there is a requirement for develop competitiveness, seeking continuous improvement processes, creativity and innovation within a strategic framework. This study seeks to identify some real needs of SME's in both cities, and recognize and establish some appropriate strategies to influence and to try solving these problems. Information for this study was gathered using interviews, surveys and observations in commercial and service institutions that are located at the cities of Matehuala and Ríoverde, State of San Luis Potosí, Mexico.

Keywords: MSME, marketing, business

Como citar el artículo:

Susano-García, J. L. y Martínez-Aguilar, M. F. (2014). Las estrategias de marketing de las MiPYMES en las ciudades de Matehuala y Ríoverde, San Luis Potosí, México. *Tlamati*, 5(2), 49-55.

Introducción

El presente es un estudio que se realiza en el estado de San Luis Potosí, México, a uno de los principales motores económicos en el área, como es el comercio. Específicamente, este estudio se llevó a cabo en las ciudades de Matehuala y Ríoverde del estado de San Luis Potosí. Ambas poblaciones presentan características similares, desde el aspecto urbano, desarrollo económico y población, entre otras. Se analizarán estas características con la finalidad de identificar el grado de competitividad de las MiPyMES de ambas ciudades.

De acuerdo a datos de la Secretaría de Economía (Secretaría de Desarrollo Económico de San Luis Potosí [SDESLP], 2004) el Estado de San Luis Potosí aportó en 2013 el 1.9% del Producto Interno Bruto de México. Es de hacer notar que también la actividad económica del estado tiene como principal potencial a la minería, ya que el Estado de San Luis Potosí es rico en minerales tales como el cobre, plata, zinc, antimonio, mercurio y estaño, así como las industrias, entre las que se encuentran: plantas de beneficios minerales, entre las que se encuentran el antimonio; hilados y tejidos y conservas alimenticias, entre otros. Destaca la industria manufacturera y la metal-mecánica. Sus principales sectores económicos son: el Agropecuario que representa el 21.30% de la Población Económicamente Activa (PEA), el Sector Industrial que representa el 27% y el Sector de Comercio y Servicios que representan el 51.70%.

Por ello, es importante conocer los determinantes del desempeño y la competitividad regional de las MiPyMES desde una perspectiva mercadológica, con el objetivo de identificar las necesidades y con ello establecer sinergias de vinculación entre la academia y el sector comercial-empresarial de las ciudades involucradas.

Contexto geoeconómico de las regiones de San Luis Potosí

La región del Altiplano potosino se ubica al noroeste del Estado de San Luis Potosí, México y está conformada

por 15 municipios. Esta región es considerada como una de las más pobres y rezagadas en la entidad debido a diferentes factores tales como: pocas inversiones y las condiciones climáticas y geográficas, por solo mencionar algunas. En la región se ubica la ciudad de Matehuala que se encuentra en las siguientes coordenadas: 100° 39' de longitud oeste y 23° 39' de latitud norte, con una altura de 1,570 metros sobre el nivel del mar. Matehuala es la principal población en la región, tiene una población de 95,297 habitantes de acuerdo al Censo 2010 realizado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2010) y la cuarta en importancia en la entidad. Esta ciudad además es el principal centro de abastecimiento de las poblaciones de Cedral, Villa de la Paz, Catorce, Vanegas y la población de Dr. Arroyo, ubicada en del estado de Nuevo León. Es precisamente debido a esta importancia de tipo comercial, que se realiza esta investigación, enfocada en analizar el desempeño y competitividad de las MiPYMES en la ciudad de Matehuala (véanse figuras 1 y 2).

La zona Media del estado de San Luis Potosí, México, está constituida por 12 municipios y es una zona es fundamentalmente agrícola, de acuerdo a datos de la Secretaría de Economía del Gobierno del Estado (SDESLP, 2004). Aquí se genera el 2.0% del valor bruto de la producción manufacturera y el principal subsector manufacturero es la industria alimentaria. En esta zona se encuentra la ciudad de Ríoverde, ubicada en las coordenadas geográficas 21° 55' 22 latitud Norte y 99° 59' 38 longitud Oeste. Esta ciudad es la principal población de la región antes citada, tiene una población de 148.536 habitantes (INEGI, 2010), ubicándose como la tercera ciudad en importancia después de San Luis Potosí capital y Ciudad Valles, siendo el paso obligado de la capital del estado hacia la zona de la Huasteca y otros estados como el sur de Tamaulipas y el norte de Veracruz (véanse figuras 1 y 2). La actividad principal de la ciudad es el comercio, derivado de la actividad turística y de la agricultura (véase tabla 1).



Figura 1. Estado de San Luis Potosí y sus divisiones geoeconómicas (SDESLP, 2009).

Tabla 1

Comparativo de actividades

Zonas del Estado	Principal actividad
Zona Centro	Aquí se genera el 89.5% del valor bruto de la producción manufacturera. Los principales subsectores manufactureros son: industrias metálicas básicas; fabricación de equipo de transporte, equipo de generación eléctrica y aparatos y accesorios eléctricos e industria alimenticia.
Zona Huasteca	Esta zona es fundamentalmente agropecuaria y frutícola. Aquí se genera el 5.6% del valor bruto de la producción manufacturera. El principal subsector manufacturero es: industria alimentaria.
Zona Altiplano	Esta zona es tradicionalmente minera y comercial. Aquí se genera el 2.9% del valor bruto de la producción manufacturera. Los principales subsectores manufactureros son: industria alimentaria, fabricación de productos a base de minerales no metálicos y fabricación de prendas de vestir.
Zona Media	Esta zona es fundamentalmente agrícola. Aquí se genera el 2.0% del valor bruto de la producción manufacturera. El principal subsector manufacturero es la industria alimentaria.

Fuente: SDESLP (2009)

El INEGI en 2012 publicó los resultados del Indicador Trimestral de la Actividad Económica Estatal (ITAEE) para el trimestre enero-marzo de ese año. Este indicador muestra los resultados de los tres grandes grupos de actividades (Primarias, Secundarias y Terciarias) y da un panorama sobre la evolución económica de las entidades federativas.

En este contexto el ITAEE, indica que dentro de las actividades terciarias el estado que más creció fue Baja California Sur con 5.4%, el que menos creció fue Chiapas con un -0.8%. En el caso de San Luis Potosí, se ubicó en la cuarta posición con un 2.7%. Este dato es importante debido a que el estado sobresale en la actividad comercial,

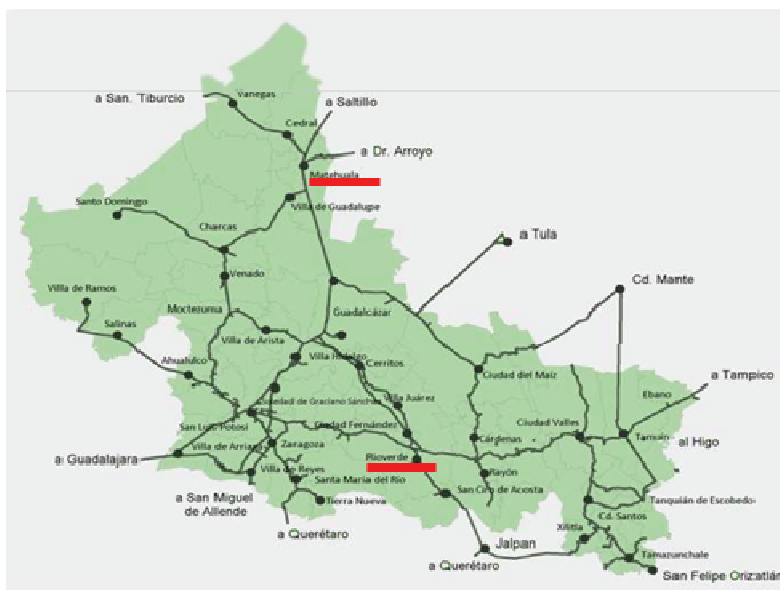


Figura 2. Ubicación de las ciudades de Matehuala y Ríoverde

Tabla 2

Clasificación de las PYMES en México

Tamaño	Sector	Número de trabajadores	Monto de ventas anuales (mdp)
Micro	Todas	Hasta 10	Hasta \$4
Pequeña	Comercio	Desde 11 hasta 30	Desde \$4.01 hasta \$100
	Industria y Servicios	Desde 11 hasta 50	Desde \$4.01 hasta \$100
	Comercio	Desde 31 hasta 100	Desde \$100.01 hasta \$250
Mediana	Servicios	Desde 51 hasta 100	
	Industria	Desde 51 hasta 250	Desde \$100.01 hasta \$250

Fuente: SDESPL (2009)

contribuyendo con ello la competitividad de las MiPYMES como principales unidades de negocios.

En este sentido se requiere identificar cuáles son las principales necesidades que las MiPYMES presentan en la región altiplano y como a través de la intervención de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP)-Campus Altiplano, se puede incidir de manera significativa en el mejoramiento de su desempeño y competitividad.

Las MiPYMES y su importancia económica

En México existe una clasificación de las diferentes unidades de negocios, (Diario Oficial de la Federación, 2014), cuyas características están relacionadas de acuerdo al tamaño, tales como micro, pequeña o mediana empresa (MiPYME) y categorizadas de acuerdo al sector (comercio, industria y servicio), entre otras (véase tabla 2).

La importancia del estudio de las MiPYMES tanto nivel nacional como local o regional es debido a que de acuerdo al INEGI (2012, 2014a, 2014b), en México existen aproximadamente 4 millones 15 mil unidades empresariales, de las cuales 99.8% son MiPYMES, y generan 52% del Producto Interno Bruto (PIB) y el 72% del empleo en el país.

Sin embargo dichas unidades de negocios presentan una serie de problemas, mismos que afectan de manera significativa a su desarrollo y por consecuencia a su competitividad (Morales, 2011). De acuerdo con Alcántara, Cerón y Goytortúa (2011), se han identificado ocho problemáticas que afectan al desarrollo y crecimiento de las MiPYMES.

Materiales y métodos

El tipo de estudio es cuantitativo debido a que se usa la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico descriptivo elaborado para establecer patrones de comportamiento. La técnica que se utilizó fue la encuesta autoadministrada, misma que requiere de la participación del encuestado llenando el cuestionario o respondiendo a las preguntas de un entrevistador (Zikmund, 1998). El cuestionario fue de 20 preguntas, estructuradas en 7 bloques (véase tabla 3).

Preguntas de Investigación

¿Cuál es el perfil de las microempresas del sector comercial?

¿Los comercios detallistas incorporan prácticas de mercadotecnia?

Tabla 3

Características del cuestionario aplicado

BLOQUE	TEMA	Nº de pregunta
1	Datos generales de la empresa	1,2,3,4 y 5
2	Estrategia de precios	6
3	Estrategia de plaza	7
4	Estrategia de promoción	8,9 y 13
5	Plan de negocios	10, 11 y 12
6	Ventajas diferenciales/ necesidad de manual	14, 16 , 19 y 20
7	Investigación de mercados	15, 17 y 18

Tabla 4

Nivel de estudios de quien toma las decisiones en el negocio

Nivel de estudios	Matehuala	Ríoverde
Sin estudios	5.00%	2.0%
Primaria	8.30%	10%
Secundaria	22.50%	18%
Media Superior o carrera técnica	18.33%	38.7%
Licenciatura incompleta	5.80%	8.7%
Licenciatura completa	36%	20%
Posgrado	4.07%	0.7%

¿Las MiPyMEs aplican en la misma proporción la Estrategia de Precios?

¿Las MiPyMEs aplican en la misma proporción la Estrategia de Distribución?

Las variables independientes

- * Número de empleados
- * Edad del microempresario o encargado del negocio
- * Años completos de tiempo en el mercado
- * Ingreso semanal de la empresa
- * Giro de la empresa

Las variables dependientes

- * Estrategia de precios
- * Estrategia de plaza
- * Estrategia de promoción
- * Planeación del negocio
- * Investigación de mercados

Para evitar sesgos en la recolección de información se aceptó un levantamiento de datos de 2 entrevistas por manzana habiendo cumplido filtros de ser el encargado o dueño de negocio y disposición a aplicación del instrumento.

El análisis de los datos se realizó codificando y capturando en Excel y realizando análisis de información cruzada. Los datos aquí reportados fueron levantados entre noviembre y enero de 2012 / 2013.

Las unidades de negocios que se seleccionaron fueron: Abarrotes y perecederos, materiales y ferretería, papelería y regalos, ropa y calzado, muebles y enseres

Resultados

El estudio arroja datos importantes que desde la visión empresarial y mercadológica resultan importantes para ser considerados en la toma de decisiones.

Uno de los primeros resultados tiene que ver con el nivel de estudios de los dueños o administradores de las PYMES. En el caso de Matehuala, la mayoría de ellos no cuenta con estudios (5%), pero también un 36% de ellos

Tabla 5

Estrategia para atraer al consumidor

Categorías	Rioverde	Matehuala
Precio	36,0%	31,7%
Variedad	10,0%	13,3%
Calidad	9,3%	14,2%
Atención al cliente	28,0%	28,3%
Ubicación	9,3%	5,0%
Horario	6,0%	1,7%

Tabla 6

Pregunta a sus clientes sus necesidades

	Rioverde	Matehuala
SI	54,0%	50,0%
NO	44,7%	50,0%
NR	1,3%	0,0%

cuenta con niveles de licenciatura. En el caso de Rioverde, la mayoría de los encuestados indicó que cuenta con estudios de nivel medio superior (38%) y solo el 0.7% tiene estudios de posgrados.

Estos datos nos proporcionan una idea respecto al nivel de preparación que se tiene y como esta situación puede beneficiar o afectar la toma de decisiones, sobre todo si estos estudios están ligados a un área relacionada con la administración, mercadotecnia o negocios (véase tabla 4).

Por otra parte, en el caso específico de las estrategias de mercadotecnia que en las MiPYMES se implementan, se observa que en ambas plazas la estrategia de precio con más de un 30%, es una táctica muy importante para la captación de clientes, seguida por la atención al cliente, cuyos resultados son un poco más del 28%. En este caso, en ambas ciudades existe una similitud en el tipo de importancia de las estrategias de mercadotecnia (véase tabla 5).

Otro elemento fundamental en la toma de decisiones relacionadas con el marketing, es el conocimiento que se tiene de las necesidades de los consumidores con respecto a productos, precios y necesidades específicas, entre otras. Este indicador en las dos plazas, advierte la intención de conocer dichas necesidades, ya que los resultados indican que la mitad de ellos si los considera importante y la otra mitad no (véase tabla 6).

En materia de Sistema de Información de Marketing, se observa en los resultados que la participación es muy baja en las unidades de negocios. Más del 50% en ambas ciudades no contestaron, indicando que no registran a sus

clientes y quienes si lo hacen, lo realizan de manera tradicional en papel y no se apoyan del uso de la tecnología (véase tabla 7).

Finalmente, en la categoría de ventas, que es uno de los elementos fundamentales de los negocios, se observa una semejanza en lo que respecta al volumen de ventas. Es importante detectar que no existe una divergencia entre el tipo de plaza, lo que puede deberse a la situación socioeconómica de las regiones y características del mercado (véase tabla 8).

Conclusión

Entre los resultados que se han encontrado se hace evidente que los dueños de los negocios carecen de conocimientos en materia de administración, marketing y contabilidad. Usualmente, tienen la idea de que las estrategias que realizan en sus negocios son las indicadas, no obstante, estas prácticas no tienen buenos resultados.

Es evidente que en ambas plazas hace falta de manera muy significativa, la implementación de estrategias conjuntas entre los gobiernos, sectores económicos y académicos, para potencializar el desarrollo de las MiPYMES y con ello incidir en un mejor desempeño y competitividad a través de un vínculo permanente entre estas entidades.

La importancia no solo radica en el beneficio de los pequeños y medianos empresarios, si no que va más allá, es decir, se pueden potencializar las estrategias del marketing en las ciudades de Matehuala y Rioverde, como un polo de desarrollo económico en la región.

Otro aspecto importante es la participación de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, a través de sus dos campus: Altiplano y Zona Media, sobre todo a través de su Licenciatura en Mercadotecnia y el Centro de Negocios, en donde se pueden diseñar una serie de capacitaciones o cursos que vayan enfocados a tratar de minimizar la problemática presentada.

Las estrategias también pueden implementarse mediante la docencia, en donde se pueden generar proyectos académicos con la participación de docentes y alumnos, ya sea a través del servicio social o mediante prácticas profesionales, entre otras.

Tabla 7

Medio por el que registra a sus clientes

Categoría	Rioverde	Matehuala
Electrónica	18,7%	9,2%
Papel	28,7%	35,0%
Externo	0,0%	0,0%
Otra	0,0%	0,0%
NC	52,7%	55,8%
No	0,0%	0,0%

Tabla 8

Ventas semanales

Venta semanal	Rioverde	Matehuala
NR	3,3%	4,2%
Menos \$3000	35,3%	36,7%
\$ 3001 a 6000	26,0%	26,7%
\$ 6001 a 9000	12,0%	11,7%
\$ 9001 a 12000	9,3%	2,5%
\$12001 a 15000	4,7%	5,0%
Más \$ 15000	9,3%	13,3%

Con estos resultados, se puede justificar la factibilidad del programa de Licenciatura en Mercadotecnia en las dos regiones, para atender problemas regionales que requieren la intervención de los expertos en el área.

Referencias

- Alcántara R., Cerón A., y Goytortúa C. (2010). Mercadotecnia para las MIPyMES: el reto de estrategias efectivas, innovadoras y a bajo costo, *Memoria de la Quinta Cátedra CUMEX 2010 Segunda Sesión*. Villahermosa, Tabasco, MEX.
- Diario Oficial de la Federación (2014, Marzo, 20). *Ley para el Desarrollo de la Competitividad de la Micro, Pequeña y Mediana Empresa*. Obtenido de <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/247.pdf>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). *Principales resultados del censo de población y vivienda 2010, San Luis Potosí*. INEGI.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2012). *Sistema de Cuentas Nacionales de México (SCNM): Indicador trimestral de la actividad económica estatal, 2003-2012 : Año base 2003*. INEGI.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2014a, Marzo 25). *Indicador Trimestral de la Actividad Económica Estatal*. Obtenido de <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/biblioteca/detalle.aspx?c=17349&upc=0&s=est&tg=285&f=2&pf=Cue>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2014b, Marzo 25) *Micro, pequeña, mediana y gran empresa. Estratificación de los establecimientos*. Obtenido de http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/proyectos/censos/ce2009/pdf/Mono_Micro_peque_mediana.pdf
- Morales I. (2011) Las Pymes en México, entre la creación fallida y la destrucción creadora. *Revista de Economía Informa de la UNAM*. 39-46.
- Secretaría de Desarrollo Económico del Gobierno del Estado de San Luis Potosí. (2009). *Ley para el Desarrollo de la Competitividad de la Micro, Pequeña y Mediana Empresa*. Gobierno del Estado de San Luis Potosí. México.
- Secretaría de Desarrollo Económico de San Luis Potosí. (2004, Abril,25) *Panorama Económico del Estado de San Luis Potosí*. Obtenido de <http://www.sdeslp.gob.mx/estudios/Panorama%20Economico.pdf>
- Zikmund, G. (1998). *Investigación de mercados* (6th. ed.). Prentice Hall, México.



La comunicación interpersonal y el suicidio en los jóvenes de Chilpancingo, Estado de Guerrero, México. Un estudio de casos

María del Socorro Cabrera Ríos^{1*}
Norma Angélica Sevilla Muñoz¹
Anabela Latabán Campos¹
Martín Cornelio Nava¹

¹ Universidad Autónoma de Guerrero, Unidad Académica de Comunicación y Mercadotecnia. Av. Bachilleres, esq. con Vía Láctea, Fracc. Villas Camino del Sur. Chilpancingo, Guerrero. C. p. 39000. Tel: (52+)747 4722770.

*Autor de correspondencia
drilito_cab@yahoo.com.mx

Resumen

El objetivo de esta investigación fue el de determinar la relación que existe entre la comunicación en el ámbito familiar y el suicidio de jóvenes adolescentes en la ciudad de Chilpancingo, Estado de Guerrero, México. El estudio tiene su base teórica en la comunicación y los estudios sobre el suicidio como fenómeno social. A través de una metodología cualitativa se obtiene información acerca de las circunstancias comunicativas familiares que un joven suicida vivía en el momento de tomar la decisión de quitarse la vida, narradas por personas que compartían su núcleo familiar.

Palabras clave: Comunicación interpersonal, familia, interacción, suicidio.

Abstract

This study is focused on determine what kind of relationships are developed between family and adolescents with intentions to commit suicide at the city of Chilpancingo, State of Guerrero, Mexico. This study has its theoretical basis in communication and studies about suicide as a social phenomenon. Through a qualitative methodology, information was collected about family communicative circumstances that a young suicide was living at the time of making the decision to take his own life, narrated by people who shared his family context.

Keywords: Comunicación interpersonal, familia, interacción, suicidio.

Como citar el artículo:

Cabrera-Ríos, M. del S., Sevilla-Muñoz, N. A., Latabán-Campos, A. y Cornelio-Nava, M. (2014). La comunicación interpersonal y el suicidio en los jóvenes de Chilpancingo, Gro. Un estudio de casos. *Tlamati*, 5(2), 56-59.

Introducción

El suicidio es una problemática de las sociedades que se ha agudizado en las últimas décadas y aqueja cada vez con mayor frecuencia a jóvenes y adolescentes. El índice de personas de 14 a 21 años que deciden quitarse la vida ha presentado un crecimiento del 31% durante la primera década del siglo XXI en la República Mexicana (Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEGI], 2012).

El resultado del suicidio es destructivo, no sólo termina con la vida del joven sino que tiene serias repercusiones en la familia y personas cercanas a él o ella. A partir de su relevancia es que se valoró la necesidad de una investigación formal que permitiera recabar datos importantes sobre este tema más allá de las estadísticas, profundizando en casos particulares. Esta información puede constituir una base para la creación de las estrategias pertinentes enfocadas a disminuir la frecuencia con que se presentan estos casos.

Los jóvenes forman un sector de la población que en las clases medias suele ser dependiente de sus padres y vivir en la casa familiar. Algunos de los problemas más comunes que enfrentan estos adolescentes que se encuentran en plena formación de su personalidad y carácter, tienen lugar en la escuela, con sus grupos de convivencia y núcleo familiar.

El hogar es el ámbito donde se moldea el carácter y se aprenden los valores, ahí se gestan algunos de los problemas más graves de las personas y también contribuye a definir la forma en que se enfrentan a los problemas de sus ambientes externos, por lo que se infiere que es desde el entorno familiar donde es posible tomar medidas que contribuyan a frenar el suicidio juvenil en nuestro Estado.

El estudio sobre esta temática en la capital de Guerrero está realizado desde la perspectiva de la comunicación, cuyo papel es determinante en todo grupo humano. La eficacia de la comunicación entre los jóvenes, sus familias y los integrantes de su entorno social puede ser determinante para descubrir el estado emocional existente entre los jóvenes con intenciones suicidas y poder ayudarlos a tiempo.

La ausencia de una buena comunicación puede incidir negativamente en los jóvenes provocando que se retraigan con sus inquietudes al no saber expresarlas o no contar con alguien que los escuche; o bien, si en la familia no se ha formado un clima de confianza y colaboración entre sus miembros, enfrentarán en aislamiento cualquier problemática.

Los estadios que los suicidas potenciales atraviesan podrían ser detectados por sus familiares si durante la práctica diaria de los procesos comunicativos éstos fueran asertivos. De ahí que este estudio es relevante para las familias guerrerenses, y por ende, de la sociedad en general.

Concepto y tipos de suicidio

El suicidio puede ser conceptualizado como la acción de quitarse la vida de forma voluntaria. Este acto aparece en todas las sociedades desde los tiempos más remotos sin embargo, a lo largo de la historia y a través de las diferencias culturales ha variado la actitud de la sociedad frente a sus formas, sus circunstancias y su frecuencia.

En 1897 Émile Durkheim (sociólogo francés) postuló

que el suicidio era un fenómeno sociológico más que un puro acto individualista; propone que hay tres tipos sociales de suicidio que se constituyen de acuerdo con las causas que los producen.

El suicidio egoísta es aquel motivado en individuos que sólo piensan en sí mismos sin sentido de pertenencia a un grupo social o con lazos muy débiles entre ambos. La fuerza que éste ejerce sobre el individuo no es suficiente para sacarlo de su ensimismamiento y esta individualización lo lleva a la tristeza y a la melancolía.

Por lo contrario, el segundo tipo de suicidio, denominado suicidio altruista, se produce cuando un individuo tiene tan en alto a su grupo de pertenencia que es capaz de anular su instinto de conservación por el bien de ese grupo y da la vida por él.

El suicidio anómico es el tercer tipo propuesto por Durkheim, es el que se relaciona con las fases del ciclo económico. Según las estadísticas existe una tendencia al aumento de la frecuencia de los suicidios en los períodos de crisis económica y en las fases de gran prosperidad (Durkheim, 1912).

Fases del suicidio

Esta investigación busca hacer aportaciones para la prevención del suicidio, por lo que resulta pertinente identificar las distintas fases entre la primera intención y el acto mismo (Ortuno Sánchez, 2010), como sigue:

a).- Fase ideativa: Tiene la idea que aparece y desaparece, como una ocurrencia. Siguen apareciendo vivencias que motivan la aparición de la idea.

b).- Fase deliberativa: Analiza los pros y los contras de esa idea. Comienza a considerar la idea. Esta fase puede durar días, meses o años. Lo habitual es de semanas a meses.

c).- Fase decisiva: El sujeto toma la decisión de suicidarse. Ha evaluado todo y llega a la conclusión "yo me quiero suicidar". Luego que tomó la decisión de suicidarse entra en un periodo de calma. Las tres primeras fases son de mucha angustia hasta que llega la decisión, una vez decidido, se tranquiliza.

d).- Fase dilatoria: Corresponde al periodo de calma, cuando se tranquiliza, ya sabe lo que va a hacer. Esta fase es de duración variable, habiendo hechos que lo adelantan a la siguiente fase.

e).- Fase operativa: Es toda la maniobra que hace el sujeto para ejecutar el suicidio. Es todo lo previo que hace al acto suicida, como prever que va a hacer con sus bienes y cómo hacerlo para que no se den cuenta de su decisión de suicidio e intenten disuadirlo o impedirlo.

f).- Fase ejecutiva: Ejecuta la acción concreta.

Comunicación

Comunicación es el proceso de transmisión y recepción de información que responde a una necesidad del hombre para dar a conocer sus experiencias, sentimientos, emociones y de esta manera convertirse en un ser social, no aislado.

La palabra *comunicación* viene del latín *communis* = común, de aquí se deriva que el comunicador desee establecer una comunidad de información con otro receptor.

Existen diferentes conceptualizaciones del término comunicación, los recogeremos de forma sencilla y diremos

que la comunicación: “*es la transmisión de información y entendimiento, mediante el uso de símbolos comunes. Estos símbolos comunes pueden ser verbales o no verbales*”. (Gibson: 2000).

El éxito de la transferencia de información depende, en gran medida, de la naturaleza y de la calidad de la información recibida y esto, a su vez, depende de la naturaleza y la calidad de la relación entre las personas implicadas.

Vander propone que las características que deberían formar parte de una definición del concepto de comunicación deberían ser:

a) se trata de un proceso intencional, interactivo y dinámico;

b) que pretende transmitir un mensaje desde un emisor que codifica una idea un receptor que es susceptible de decodificarla;

c) que para la transmisión del mensaje utiliza una enorme diversidad de estímulos tanto verbales como físicos;

d) que se trata de un proceso enormemente mediatizado por las experiencias de aprendizaje tanto del emisor como del receptor del mensaje y e) que es susceptible de verse modificado en función de la situación en que se transmite el mensaje (Vander, 1986).

Comunicación interpersonal

De forma muy resumida, se puede definir la comunicación interpersonal como el contacto verbal o no verbal que se establece entre dos o más personas donde se produce un intercambio humano de información, ideas, actitudes y emociones (Vander, 1986).

En una relación asertiva los participantes hablan abierta y honestamente de situaciones cotidianas, asuntos personales o que atañen a todos o a alguno en particular, etc.

Comunicarse entre los integrantes de un grupo no es solo transmitir palabras sin una razón aparente, es dedicar una parte del tiempo para compartir momentos e instantes, es escuchar al otro y tratar de comprenderlo, animarlo, orientarlo, sorprenderlo, etc.

Dos de las diferencias básicas entre los individuos son la personalidad y la percepción. Estas diferencias hacen que las personas se comporten de manera distinta ante los demás en situaciones diferentes, lo que puede conducir a desacuerdos, pero un flujo de comunicación constante puede lograr una solución antes de que afecten la relación.

En un estudio de psicología social, estrechamente relacionado con la comunicación, Heider (1958) analiza las formas en que las personas infieren o atribuyen las causas de la conducta de los otros durante la comunicación interpersonal, y cómo esto los afectados por ello.

Metodología

Esta investigación se propuso determinar la relación entre la comunicación que un joven sostenía en su entorno más cercano y la determinación de quitarse la vida, partiendo de la premisa de que el nivel de asertividad de esa comunicación era bajo o nulo, por lo que las personas de su entorno no pudieron identificar el malestar y la depresión por la que atravesaba. Es de corte cualitativo, es decir, no pretende medir numéricamente los datos para hacer generalizaciones; las investigaciones cualitativas exploran y describen el fenómeno estudiado, pretenden explicarlo (Hernández Sampieri, 2010) Para la recolección de los se

realizaron las siguientes actividades y técnicas:

Investigación documental

A través de la revisión bibliográfica, se buscó información clave para la investigación, en libros, internet y otros documentos.

Investigación de campo

Se realizaron 5 entrevistas a profundidad. Las unidades de análisis fueron dos: integrantes del núcleo familiar del joven suicida, y adolescentes amigos de los suicidas. La familia no fue seleccionada por los investigadores, fue la única que estuvo dispuesta a hablar sobre el tema.

Para llegar a ella, se identificó a un total de 52 jóvenes y adolescentes de nivel medio superior, 29 mujeres y 23 varones, que dijeron conocer el caso de suicidio de una persona joven y cercana. De los casos relatados, en 8 hubo más de una persona hablando sobre el mismo suicidio. El total de casos sobre los que se habló fueron 26. De éstos, 16 fueron mujeres y 10, varones. La hermana de uno de los varones fue una de las personas que se interesaron por participar en una entrevista. Al final, sólo su familia y tres adolescentes permitieron la entrevista.

Resultados

En las entrevistas a profundidad realizadas a los tres adolescentes se llegó a obtener la descripción de situaciones comunes entre los casos, aunque ninguna situación fue común a todos. Destaca lo siguiente:

Los espacios en que había una mayor interacción entre los miembros de la familia, estaban ligados a los horarios en que acostumbraban tomar los alimentos. Las conversaciones giraban en torno a las actividades de uno o de los dos padres, noticias y críticas a otros familiares y llamadas de atención, aún en presencia de amigos y no se acostumbraba hablar sobre temas concernientes a los hijos de la familia. No existían momentos de interacción familiar por cuestiones laborales de ambos padres o actividades de los hijos fuera del hogar. Los momentos de discusión eran frecuentes y se terminaba con altos volúmenes de voz, actitud agresiva y palabras altisonantes.

Los jóvenes entrevistados que formaban parte del grupo de convivencia cercano al suicida aseguraron que los sentimientos de vergüenza, tristeza, rechazo y decepción no eran comentados abiertamente, pero en muchas ocasiones eran evidentes o detectables. En dos de ellos se apreciaron fuertes sentimientos de culpa por no haberse involucrado más en los problemas emocionales de sus amigos. El tercero dijo que siempre insistió en que le dijera qué sentía, pero nunca pudo lograrlo, y por el contrario, comenzó a alejarse hasta pocos días antes de su muerte en que lo percibía de buen ánimo.

Se contactaron seis de las familias que perdieron a un integrante por este motivo y se logró entrevista con una de ellas, la de un varón de 16 años. Se obtuvo la siguiente información.

En el caso del varón, se entrevistó a la madre y a una hermana dos años mayor. La madre dijo que tanto ella como su esposo se negaron a dialogar con su hijo cuando él les pidió hablar, porque estaban seguros de que iba a confesarles que era homosexual y no querían que lo externara con la esperanza de que fuera una confusión pasajera y que

nunca imaginaron que la situación lo llevara a tomar esa decisión. La hermana dijo que lo supo desde que eran muy pequeños pero nunca habló con su hermano al respecto porque no sabía qué decirle.

La comunicación al interior de la familia era, en palabras de las entrevistadas, “normal”, por esa normalidad se entendía un tipo de comunicación funcional que se llevaba a cabo para las tareas diarias, para comentar alguna noticia, pero no mencionaron temas como sentimientos, estados de ánimo, deseos, temores o cualquier otro de tipo personal. Incluso después del fallecimiento, el punto de vista es que fue su homosexualidad la que lo llevó a tomar esa decisión, no conceden importancia a factores como el manejo que él hacía de su orientación sexual, su necesidad de ser escuchado o de apoyo y consejo.

Conclusiones

El desconocimiento que las personas allegadas a los suicidas tienen sobre las causas particulares que llevaron a cada uno de los jóvenes a quitarse la vida, o la falta de certeza sobre las mismas, permite concluir que no pudieron o supieron cómo comunicar aquello que los aquejaba, o bien, no tuvieron con quien hacerlo y por lo mismo se perdió la posibilidad de que recibieran ayuda.

A través de la información obtenida en las entrevistas a profundidad, es posible inferir que la premisa planteada resulta positiva, dado que los problemas que se pudieran presentar en la vida del adolescente, se ven agravados por una comunicación deficiente o nula en el hogar, un sentimiento de ser ignorado o rechazado por los integrantes de su núcleo familiar.

En la propuesta de Durkheim tendríamos que ubicarlos como suicidios egoístas debido a la desvinculación de ellos como individuos frente a sus grupos sociales. En nuestro contexto la palabra egoísta tiene una connotación negativa que nos lleva a pensar en individuos desinteresados de su familia, grupo de amigos, compañeros, etc., no obstante, se debe considerar que los sujetos en cuestión son adolescentes cuya personalidad aún se encuentra definida, y cabe preguntarse por quién y cómo se inicia esa desvinculación que está en todo relacionada con la comunicación entre las personas de esos grupos.

La mala comunicación con los adultos de la familia puede llevar al joven a ser más vulnerable a las agresiones de sus otros grupos de convivencia. Heizer observa que las personas infieren las causas de la conducta de los otros durante su comunicación, por lo tanto, si el joven es ignorado y en su comunicación no hay interés en lo que él tenga que decir, es probable que lo interprete como falta de amor,

de aprecio y de interés en su persona, por lo que puede entrar en aislamiento y tener menos oportunidades de recibir ayuda.

Partiendo de que la comunicación no se limita a la expresión de las ideas a través de las palabras, el lenguaje no verbal puede ser decodificado por un padre alerta: “lo que no se dice, se expresa”, sin embargo, debe haber conciencia de parte de los padres de que deben buscar en sus actitudes, gestos y movimientos, lo que ellos no se atreven o no desean expresar.

El suicidio es un hecho que se puede prevenir si se detecta a tiempo, la comunicación con la familia puede ayudar en estas situaciones, pero como vimos, la falta de ésta provocó que sus familias no identificaran el cuadro depresivo que suele acompañar a las tendencias suicidas en sus primeros estadios.

Una propuesta sería una campaña informativa-preventiva en la que se dieran a conocer:

- * Los síntomas que presenta un suicida potencial
- * La importancia de la comunicación intrafamiliar
- * Los índices de suicidio juvenil a partir de las últimas 3 décadas.

El objetivo es que esta información sensibilice a las familias para que presten mayor interés en la conducta de sus hijos, busquen el diálogo y estrechen sus vínculos con ellos, a fin de prevenir un evento tan desafortunado.

Referencias

- Durkheim, E. (2012). El suicidio. México: Ediciones Coyoacán. 5ta. Edición.
- Gibson, J. L. (2000). *Organizations : behavior, structure, processes*. Illinois, USA. Irwin, 802 p.
- Heider, F. (1958). *The psychology of interpersonal relations*. New York, N.Y. Wiley.
- Hernández Sampieri, R. (2010). *Metodología de la Investigación*. 5ª. Edición, Ed. McGraw Hill, México. 613 p.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática, (2012). *Estadística de suicidios de los Estados Unidos Mexicanos 2010*. México, INEGI 142 p. Obtenido de : http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/continuas/sociales/suicidio/2010/suicidios_2010.pdf
- Ortuno Sánchez, (2010). Lecciones de psiquiatría. México, Ed. Med. Panamericana. 644p.
- Vander Zanden, J.W. (1986). *Manual de Psicología Social*. Barcelona, Ed. Paidós.



La genética reversa y el desarrollo de vacunas contra la garrapata del ganado vacuno *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Delia Inés Domínguez García¹
 Martín Ortiz Estrada³
 Félix Torres Guzmán¹
 Rodrigo Rosario Cruz^{2,1*}

¹Universidad Autónoma de Guerrero, Unidad Académica de Ciencias Ambientales y Agropecuarias. Periférico Poniente S/N Colonia Villa de Guadalupe Iguala de la Independencia, Gro. C.P. 40033 /Unidad Académica de Ciencias Naturales. Chilpancingo., Gro. México. Tel. (+52) 733 33 3-47-76

²Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla 8534.Col Progreso., Jiutepec, Morelos, México. CP 62550.

³Laboratorios LaPisa, salud animal, Carretera La Piedad-Guadalajara Km. 5.5 Col. Camelinas, C.P. 59375. La Piedad Michoacán, Mexico.

*Autor de correspondencia
 rockdrig@yahoo.com.mx

Resumen

El inicio de la era genómica ha conducido a la investigación por el camino del desarrollo de vacunas contra garrapatas y como resultado, se han conducido una gran variedad de estudios enfocados a la identificación de nuevos antígenos blanco para el desarrollo de vacunas. El análisis computacional ha facilitado esta labor, ya que las herramientas bioinformáticas y la disponibilidad de las bases de datos públicas, como la del *National Center for Biotechnology Information* [Centro Nacional de Información en Biotecnología] (NCBI), ha concentrado la información dispersa en una red sistematizada, con lo que es posible invertir el proceso de identificación de las proteínas antigénicas a una estrategia directa de vacunología reversa.

Los retos actuales también incluyen el desarrollo de nuevas vacunas a partir de péptidos recombinantes y sintéticos, derivados del análisis *in silico* de las secuencias de genes, en lo que un enfoque genómico, nos proporcionará una nueva perspectiva y una mejor maquinaria de análisis para el mejoramiento de antígenos existentes y el descubrimiento de nuevas moléculas blanco para el desarrollo de vacunas contra las infestaciones por garrapatas, que nos ayuden a proteger al ganado vacuno de las infestaciones, a mitigar el fenómeno de la resistencia a los acaricidas, a reducir el uso de ixodicidas, a disminuir los decesos producidos por las enfermedades que transmiten y la contaminación ambiental y además, contribuir a la producción de alimentos inocuos.

Palabras clave: Resistencia a acaricidas; *Boophilus microplus*; vacunas contra garrapatas

Abstract

Emergence of Genomic age has led research into the path for tick vaccine development. As a result, a large variety of studies have been carried out in order to identify new target antigens for vaccine development. Computational analysis have made this work easier, since bioinformatics tools and availability of public databases, such as *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), have help to spread out data into a systemic network, where it is possible to reverse the process of antigenic protein identification, as an straightforward strategy of reverse vaccinology. Current

Como citar el artículo:

Domínguez-García, D. I, Ortiz-Estrada M., Torres-Guzmán, F. y Rosario-Cruz, R. (2014). La genética reversa y el desarrollo de vacunas contra la garrapata del ganado vacuno *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Tlamati*, 5(2),60-65.

challenges also includes new vaccine developments based on synthetic or recombinant peptides, derived from the *in silico* analysis of gene sequences. Therefore, genomic approaches will provide a new perspective and a better screening engine for improving existing antigens and discovering new targets for vaccine development. Vaccination of cattle in order to prevent cattle tick infestations is a feasible and promising approach to protect animals against ticks and tick borne diseases, as well as reduction of environmental pollution and production of safe food for human consumption.

Key words: Acaricide resistance; *Boophilus microplus*; Tick vaccines

Introducción

Las enfermedades parasitarias representan un problema de importancia global en el contexto de un mercado globalizado, debido a que la apertura comercial y los tratados de libre comercio han traído como consecuencia la libre exportación e importación de animales y productos derivados de ellos y de manera concomitante, la libre circulación de patógenos, mismos que afectan la salud animal y humana, afectando la inocuidad alimentaria (Food and Agriculture Organization [FAO], 2003).

Los parásitos pueden ser internos (endoparásitos) ó externos (ectoparásitos), por ahora, solo haremos referencia a los ectoparásitos, específicamente a la garrapata *Rhipicephalus microplus*, debido a los recientes problemas de resistencia múltiple a los ixodicidas. Ante esta situación, los diferentes grupos de investigación en México y en el mundo, se han interesado en la búsqueda de alternativas tales como: los extractos de plantas con actividad ixodicida (Martinez, Rosario-Cruz, Castillo Herrera, Flores Fernandez, Alvarez y Lugo Cervantez, 2011), proteínas recombinantes potencialmente útiles para el desarrollo de vacunas que ofrezcan una alternativa para el control de las infestaciones causadas por *R. microplus* (Prudencio, Marra, Cardoso y Goulart, 2010).

La búsqueda y el descubrimiento de nuevas proteínas potencialmente útiles para el desarrollo de vacunas recombinantes han sido el resultado del descubrimiento de nuevas tecnologías, así como el nacimiento de nuevas áreas del conocimiento que se han desarrollado de manera paralela como la Bioinformática y la genómica funcional (Jensen, de Miranda Santos y Glass, 2007). En el caso específico de *R. microplus*, la integración de estas áreas del conocimiento han permitido innovar y redescubrir nuevas líneas de investigación, así como realizar grandes avances en los enfoques de genética y vacunología reversa, lo cual ha facilitado el uso de los genomas de diversos organismos con la finalidad de encontrar nuevas alternativas útiles para el desarrollo de vacunas (Kongsuwan, Josh, Zhu, Pearson, Gough y Colgrave, 2010).

Importancia de las garrapatas *R. microplus*

Las garrapatas son el grupo de vectores de patógenos más importante que causan enfermedades a animales salvajes y domésticos (de la Fuente, Estrada-Pena, Venzal, Kocan y Sonenshine, 2008). Específicamente, la garrapata del ganado vacuno *R. microplus* es endémica y daña a la producción ganadera en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Estrada-Peña, García y Sánchez, 2006). Es la especie de mayor importancia económica y sanitaria debido a su amplia distribución, capacidad vectorial, sus hábitos hematófagos y la cantidad de bovinos que afectan (Guerrero, Bendele, Chen, Li, Miller, Pleasance, Varhol,

Rousseau y Nene, 2007).

El control de las poblaciones de garrapatas y las enfermedades que transmiten en los países con economías emergentes de América Latina, es una necesidad imperante debido a las millonarias pérdidas económicas que ocasionan (de la Fuente et al., 2008). El uso de compuestos químicos con efecto garrapaticida es la principal herramienta disponible para el combate de las garrapatas (George, Pound y Davey, 2004). Los garrapaticidas han sido utilizados de manera intensiva, esto combinado con la plasticidad de los genomas de los ácaros, ha conducido de manera inevitable al desarrollo de la resistencia a las diferentes familias de acaricidas (Rosario-Cruz, Almazan, Miller, Domínguez-García, Hernández-Ortiz y de la Fuente, 2009), y en muchos de los casos a la aparición de la resistencia múltiple, aunado al impacto ambiental producido por la contaminación del suelo, subsuelo y del manto freático, así como el efecto sobre otras especies de artrópodos benéficos y la contaminación de los productos como leche y carne para consumo humano (Jongejan y Uilenberg, 2004).

El desarrollo de la selección de líneas de garrapatas resistentes ha puesto de relieve la mayor inconveniencia del uso indiscriminado y el uso de mezclas de acaricidas (Rosario-Cruz et al. 2009). Como consecuencia, la vida útil de los productos en algunas regiones del norte de México se ha reducido a tal grado que ya no representan una alternativa de control, por lo que nuevos enfoques han sido utilizados para la búsqueda de inmunógenos potencialmente útiles para el control de las poblaciones de *R. microplus* (Almazán, Lagunes, Villar, Canales, Rosario-Cruz, Jongejan y de la Fuente, 2010).

Vacunas contra *R. microplus*

El desarrollo de vacunas durante la era pre-genómica estuvo basada en el uso de organismos muertos, vivos ó atenuados y/ó el uso de proteínas sub-unitarias purificadas a partir de extractos obtenidos de los organismos de interés (Kay y Kemp, 1994).

Para desarrollar este tipo de vacunas es necesario un paso crítico, la identificación y la purificación de las proteínas de interés. En este caso en particular se reconoce a un antígeno como protector, siempre que al ser suministrado al huésped, sea capaz de inducir protección contra el desafío subsecuente en contra del microorganismo, parásito ó plaga en cuestión (Willadsen, 2008).

El enfoque empírico para el desarrollo de vacunas subunitarias incluye varios pasos: a) el cultivo del parásito, microorganismo ó plaga que se quiere controlar, b) El análisis y purificación de sus componentes, c) la identificación de los antígenos que posean las características inmunogénicas requeridas para el desarrollo del producto y d) El

desafío subsecuente con el agente infeccioso ó plaga contra la cual se quiere elaborar la vacuna, en un modelo animal apropiado, para evaluar las características inmunogénicas de esta tecnología (Mulenga, 2000; Willadsen, 2004).

Esta metodología tiene dificultades inherentes al proceso de purificación e identificación de las fracciones que poseen las características antigénicas óptimas para el desarrollo de la vacuna, y la disponibilidad del macro ó microorganismo que se quiere controlar mediante esta herramienta biotecnológica, ya que la producción de la vacuna se ve seriamente limitada cuando el organismo blanco no se puede cultivar fácilmente (Willadsen, 2008). Existen otros inconvenientes que tienen que ver también con la Biología del organismo blanco, por ejemplo, en algunos casos las proteínas más abundantes no necesariamente son inmunoprotectoras, ó es posible que los antígenos expresados durante la infección *in vivo* ó la infestación según sea el caso, no sean las mismas que las que se expresan durante el cultivo *in vitro*. El cultivo puede no ser el caso de la garrapata *R. microplus* ya que en este caso, la garrapata no se puede cultivar *in vitro* pero se puede reproducir con relativa facilidad (Nuttall, Trimnell, Kazimirova y Labuda, 2006).

La genética reversa y el desarrollo de vacunas recombinantes

La era post-genómica ha traído nuevos enfoques en la investigación y estudio de los genomas de organismos de interés en diversas áreas de la salud humana y veterinaria, uno de estos nuevos enfoques es la vacunología reversa, la cual está basada en la búsqueda de genes depositados en las bases de datos generadas por los grupos de investigación dedicados al desciframiento de los genomas de organismos diversos (Jensen et al., 2007; de la Fuente et al., 2008).

La búsqueda de nuevos antígenos vacunales en la era post-genómica, comienza con la investigación *in silico* de la información del genoma del organismo de interés ó de genes específicos, a los cuales mediante el uso de programas bioinformáticos especializados se les puede asignar desde la función putativa de la proteína hasta la predicción de las características de las secuencias antigénicas potencialmente útiles para el desarrollo de vacunas (Prudencio, Marra, Cardoso y Goulart, 2009). Estas secuencias de genes pueden ser analizadas para posteriormente ser amplificadas mediante técnicas de síntesis *in vitro* de ácidos nucleicos, comúnmente conocidas como Reacción en Cadena de la Polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* [PCR]). Los productos de amplificación por PCR a partir de plantillas de ácidos nucleicos (DNA genómico ó cDNA) provenientes del organismo de interés, pueden ser clonados y expresados en vectores cuyas características pueden variar dependiendo del interés del estudio ó investigación (Nijhof, Balk, Postigo y Jongejan, 2009). Este enfoque denota las bondades del sistema en su conjunto, ya que no se requiere hasta este punto, el mantenimiento del organismo vivo, lo cual es ya un ahorro en términos del tiempo y del trabajo invertido, aunque el éxito del proceso, todavía depende de la exactitud con la que se pueden predecir las características del antígeno, lo cual depende del algoritmo utilizado por el programa

(Andreotti, Pedroso, Caetano y Martins, 2008). Esto es un problema, ya que algunas proteínas aun cuando comparten las características estructurales y biológicas, carecen de una semejanza obvia en la secuencia y por esta razón el descubrimiento de antígenos verdaderamente nuevos puede frustrarse ya que la antigenicidad de una secuencia se puede codificar de una manera tan sutil que puede no ser identificada por la sola alineación de la secuencia, debido a esa carencia de semejanza con los antígenos de procedencia conocida (Freeman, Davey, Kappmeyer, Kammlah y Olafson, 2010). Este problema están siendo subsanado por el desarrollo de la bioinformática y se han inventado nuevos algoritmos capaces de identificar y predecir cuales son las regiones más antigénicas codificadas en la secuencia de un gen, con esta información se puede amplificar, clonar y expresar solo la región de interés del gen, reduciendo significativamente el tiempo que se dedicaría a la investigación, para identificar un antígeno nuevo.

Perspectivas del desarrollo de vacunas contra R. microplus

El desarrollo de vacunas contra las garrapatas que afectan al ganado vacuno en las unidades de producción orientadas a la producción de carne, leche y de doble propósito, se vislumbra como un método de control que promete, ser una alternativa viable para mejorar la salud animal, abatir la contaminación ambiental y contribuir con la inocuidad de los alimentos derivados de este tipo de unidades de producción (Prudencio et al., 2010).

Históricamente el estudio de las proteínas de garrapatas para desarrollar inmunógenos, han sido los antígenos que participan en la interfase hospedador-parásito y que actualmente están siendo redescubiertos a partir del análisis de los mapas proteómicos de la saliva (Zivkovic, Esteves, Almazán, Daffre, Nijhof y Kocan, 2010). Sin embargo la experiencia observada en la interacción entre la garrapata y su hospedador, no parece arrojar evidencias de protección ya que las infestaciones naturales en condiciones de campo, no inducen una respuesta inmune sólida, aun cuando se infestan reiteradamente, hasta tres veces por año durante toda la vida del animal.

El desarrollo de vacunas que ha tenido más éxito son las vacunas que han sido derivadas de los intestinos de la garrapata (de la Fuente et al., 2007), a partir de los cuales se han analizado las proteínas ancladas a la membrana de las células intestinales, los ejemplos clásicos son las vacunas *Tickgard* producida en Australia (Odongo, Kamau, Skilton, Mwaura, Nitsch, Musoke, Taracha, Daubenberger y Bishop, 2009) y la vacuna *Gavac* producida en Cuba (Vargas, Montero, Sánchez, Pérez, Valdés, Alfonso, Jøglar, Machado..., 2010) las cuales son elaboradas a partir de los genes homólogos de una cepa de *R. microplus* australiana y cubana respectivamente denominados como Bm86, en Australia y Cuba y como Bm95 en Argentina (de la Fuente et al., 2000; Canales, de la Lastra, Naranjo, Nijhof, Hope, Jongejan y de la Fuente, 2008). A partir de estas observaciones se publicaron diferentes grados de susceptibilidad a la vacunación asociados con las variaciones en la secuencia del gen Bm86 (Kopp, Diaz, Amacker, Odongo, Beier, Nitsch, Bishop y Daubenberger, 2009; Canales, Almazán, Naranjo, Jongejan y de la Fuente, 2009).

Conclusiones

Los resultados de los experimentos utilizando el gen Bm95, sugirieron que era un antígeno universal que resolvió el problema de las poblaciones susceptibles y resistentes a la vacunación con el antígeno original, sin embargo lo que es claro es que la diferencia realmente fue el uso de un gen nativo local, ya que el alineamiento de la secuencia del gen Bm95 con las secuencias de Bm86, demuestran que se trata de una variante del mismo gen. De esto se desprende la importancia de utilizar antígenos nativos para mejorar la eficiencia de las vacunas contra infestaciones por garrapatas, especialmente cuando se trata de vacunas basadas en la secuencia de un solo gen.

La vacunología reversa es el área del conocimiento que más ha contribuido al descubrimiento y la innovación de nuevos enfoques en la investigación de nuevos antígenos vacunales para el control de las garrapatas que afectan a la ganadería bovina. Sin embargo, el conocimiento de los genomas de garrapatas aun es limitado ya que en el caso particular del genoma de *R. microplus* aun no se ha completado y el acceso a los bancos de información se limita a lo que se ha descifrado de manera parcial. Por esta razón es necesario impulsar proyectos para descifrar el genoma de las garrapatas ya que este tipo de avances en la investigación, impactará de manera directa el descubrimiento de nuevos genes útiles para el desarrollo de vacunas recombinantes.

La integración de la Bioinformática, la Genética Molecular y la Genómica Funcional han innovado y redescubierto nuevas líneas de investigación que han permitido realizar grandes avances con base en la minería de datos mediante los enfoques de genética y vacunología reversa, lo cual ha permitido hacer uso de los genomas de diversos organismos con la finalidad de desarrollar nuevos productos útiles para el desarrollo de vacunas y de sistemas diagnóstico.

El uso de la bioinformática y la genómica nos permitirá utilizar la secuencia de los genes que ya se encuentran en las bases de datos para el desarrollo biotecnológico de nuevas vacunas recombinantes, rediseñadas por ingeniería genética, para el mejoramiento de las vacunas ya existentes. La elaboración de vacunas utilizando cepas nacionales y/o locales, establecerá la diferencia de un excelente sistema de control integrado en un futuro cercano.

El futuro en el campo del desarrollo de las vacunas cada vez es más corto, y los alcances de la tecnología moderna en el campo de la genómica cada vez mayores, el aterrizaje del conocimiento con respecto al desarrollo de esta herramienta para el control de garrapatas está muy cerca de rendir frutos por la lista creciente de nuevos antígenos descubiertos, aunque el campo aun representa un reto para la comunidad científica de México y del mundo.

El uso de vacunas contra las garrapatas se vislumbra como un método de control que promete ser una alternativa factible para mejorar la salud animal, abatir la contaminación ambiental, y promover la producción de alimentos inocuos con lo cual se contribuye al desarrollo de una ganadería sustentable, amigable con el ambiente y con la salud humana.

Referencias

Almazán, C., Lagunes, R., Villar, M., Canales, M., Rosa-

rio-Cruz, R., Jongejan, F. y de la Fuente, J. (2010). Identification and characterization of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* candidate protective antigens for the control of cattle tick infestations [*Identificación y caracterización de Rhipicephalus (Boophilus) microplus como candidato para antígeno protector en el control de infestaciones de garrapata en ganado vacuno*]. *Parasitology Research*. 106, 471-479.

Andreotti, R., Pedroso, M.S., Caetano, A.R., Martins, N. (2008). Comparison of predicted binders in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* intestine protein variants bm86 Campo Grande strain, Bm86 and Bm95 [*Comparación del aglutinante previsto de variantes de proteína del intestino de Rhipicephalus (Boophilus) microplus cepa Bm86-Campo-Grande, Bm86 y Bm95*]. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*. 17, 93-8.

Canales, M., de la Lastra, J.M., Naranjo, V., Nijhof, A.M., Hope, M., Jongejan, F., de la Fuente, J. (2008). Expression of recombinant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *R. annulatus* and *R. decoloratus* Bm86 orthologs as secreted proteins in *Pichia pastoris* [*Expresión de recombinante ortólogo Bm86 de Rhipicephalus (Boophilus) microplus, R. annulatus y R. decoloratus como proteínas secretadas en Pichia pastoris*]. *BMC Biotechnology*. 14, 8:14.

Canales, M., Almazán, C., Naranjo, V., Jongejan, F., de la Fuente, J. (2009). Vaccination with recombinant *Boophilus annulatus* Bm86 ortholog protein, Ba86, protects cattle against *B. annulatus* and *B. microplus* infestations [*Vacunación con proteína ortóloga recombinante Bm86, Ba86 de Boophilus annulatus para protección contra infestación del ganado vacuno por B. annulatus y B. microplus*]. *BMC Biotechnology*. 31, 9:29.

Estrada-Peña, A., García, Z., Sánchez, H.F. (2006). The distribution and ecological preferences of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexico [*Distribución y preferencia ecológica de Boophilus microplus (Acari: Ixodidae) en México*]. *Experimental and Applied Acarology*. 38 (4), 307-16.

de la Fuente, J., Estrada-Peña, A., Venzal, J.M., Kocan, K.M. y Sonenshine, D.E. (2008). Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals [*Recapitulación: Las garrapatas como vectores de patógenos que causan enfermedades en seres humanos y animales*]. *Frontiers in Bioscience*. 13, 6938-6946.

de la Fuente, J., Kocan, K.M., Blouin, E.F. (2007). Tick vaccines and the transmission of tick-borne pathogens [*Vacunas contra garrapatas y la transmisión de patógenos ocasionados por garrapatas*]. *Veterinary Research Communications*. 31(Suppl. 1), 85-90.

de La Fuente, J., Rodríguez, M., García-García, J.C. (2000). Immunological control of ticks through vaccination with *Boophilus microplus* gut antigens [*Control inmunológico de garrapatas a través de la vacunación con antígenos de vísceras de Boophilus microplus*]. *Annals of New York Academy of Sciences*. 916, 617-621.

Food and Agriculture Organization, (2003). Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. *Serie Producción Animal y Sanidad Animal*. No 157. FAO. Roma. 51.

Freeman, J.M., Davey, R.B., Kappmeyer, L.S., Kammlah, D.M. y Olafson, P.U. (2010). Bm86 midgut protein se-

- quence variation in South Texas cattle fever ticks [*Variación de secuencia de proteína de visceras Bm86 en fiebre del ganado vacuno producida por garrapatas en el Sur de Texas*]. *Parasites and Vectors*. 3, 101-108.
- George, J.E., Pound, J.M. y Davey, R.B. (2004). Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides [*Control químico de garrapatas en el ganado vacuno y la resistencia de estos parásitos a los acaricidas*]. *Parasitology*. 129, S353-366.
- Guerrero, F.D., Bendele, K.G., Chen, A.C., Li, A.Y., Miller, R.J., Pleasance, E., Varhol, R., Rousseau, M.E. y Nene, V.M. (2007). Serial analysis of gene expression in the southern cattle tick following acaricide treatment of larvae from organophosphate resistant and susceptible strains [*Análisis serial de una expresión genética de la garrapata de ganado vacuno del Sur después de un tratamiento acaricida mediante larvas resistentes a los organofosfatos y cepas susceptibles*]. *Insect Molecular Biology*. 16, 49-60.
- Jensen, K., de Miranda Santos, I.K. y Glass, E.J. (2007). Using genomic approaches to unravel livestock (host)-tick-pathogen interactions [*Usando acercamientos genómicos a las interacciones (hospedero)-garrapata-patógeno en ganado vacuno en libertad*]. *Trends in Parasitology*. 23, 439-44.
- Jongejan, F. y Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks [*La importancia global de las garrapatas*]. *Parasitology*.; 129, S3-14.
- Kay, B.H., Kemp, D.H. (1994). Vaccines against arthropods [*Vacunas contra artrópodos*]. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 50, 87-96.
- Kongsuwan, K., Josh, P., Zhu, Y., Pearson, R., Gough, J. y Colgrave, M.L. (2010). Exploring the midgut proteome of partially fed female cattle tick (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) [*Explorando el proteoma del intestino medio de la garrapata femenina de ganado vacuno (Rhipicephalus (Boophilus) microplus) parcialmente alimentada*]. *Journal of Insect Physiology*. 56, 212-226.
- Kopp, N., Diaz, D., Amacker, M., Odongo, D.O., Beier, K., Nitsch, C., Bishop, R.P. y Daubenberg, C.A. (2009). Identification of a synthetic peptide inducing cross-reactive antibodies binding to *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Hyalomma anatolicum anatolicum* and *Rhipicephalus appendiculatus* BM86 homologues [*Identificación de un péptido sintético induciendo anticuerpos reactivos-cruzados enlazados a homólogos BM86 de Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus, Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Hyalomma anatolicum anatolicum y Rhipicephalus appendiculatus*]. *Vaccine*. 28, 261-269.
- Martinez, V.M., Rosario-Cruz, R., Castillo Herrera, G., Flores Fernandez, J.M., Alvarez, A.H. y Lugo Cervantez, E. (2011). Acaricidal effect of essential oils from *Lipia graveolens* (Lamiales: Vervaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) [*Efecto acaricida de aceites esenciales provenientes de Lipia graveolens (Lamiales: Vervaceae), Rosmarinus officinalis (Lamiales: Lamiaceae) y Allium sativum (Liliales: Liliaceae) contra Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae)*]. *Journal of Medical Entomology*. 48, 822-827.
- Mulenga, A., Sugimoto, C. y Onuma, M. (2000). Issues in tick vaccine development: identification and characterization of potential candidate vaccine antigens [Tópicos sobre el desarrollo de vacunas contra garrapatas: Identificación y caracterización como candidatos potenciales de vacunas antígenas]. *Microbes and Infection*. 2, 1353-61.
- Nijhof, A.M., Balk, J.A., Postigo, M. y Jongejan, F. (2009). Selection of reference genes for quantitative RT-PCR studies in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Rhipicephalus appendiculatus* ticks and determination of the expression profile of Bm86 [Selección de genes de referencia para estudios cuantitativos RT-PCR en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *Rhipicephalus appendiculatus* y determinación de la expresión del perfil Bm86]. *BMC Molecular Biology*. 29, 10:112.
- Nuttall, P.A., Trimmell, A.R., Kazimirova, M. y Labuda, M. (2006). Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases [Antígenos expuestos y ocultos como proyecto de vacunas para el control de garrapatas y enfermedades transmitidas por garrapatas]. *Parasites and immunology*. 28, 155-63.
- Odongo, D., Kamau, L., Skilton, R., Mwaura, S., Nitsch, C., Musoke, A., Taracha, E., Daubenberg, C. y Bishop, R. (2007). Vaccination of cattle with TickGARD induces cross-reactive antibodies binding to conserved linear peptides of Bm86 homologues in *Boophilus decoloratus* [*La vacunación de ganado vacuno con TickGARD induce anticuerpos de reactividad-cruzada enlazado a los péptidos lineales conservados de homólogos Bm86 en Boophilus decoloratus*]. *Vaccine*. 25, 1287-96.
- Prudencio, C.R., Nascimento, R., Filho, M.M., Marra A.O., de Souza, G.R., Almeida JF, Cardoso R, Szabó MP, Goulart LR. (2009). *In silico* analysis for identification of tick phagotopes selected by phage-displayed libraries [*Análisis In Silico para la identificación de fagotopos de garrapatas seleccionadas por bibliotecas de Phage-Display*]. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*. 18, 39-41.
- Prudencio, C.R., Marra, A.O., Cardoso, R. y Goulart, L.R. (2010). Recombinant peptides as new immunogens for the control of the bovine tick [Péptidos recombinantes como nuevos inmunógenos para el control de la garrapata de ganado vacuno]. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*. 172, 122-131.
- Rosario-Cruz, R., Almazan, C., Miller, R.J., Domínguez-García, D.I., Hernandez-Ortiz, R. y de la Fuente, J. (2009). Genetic basis and impact of tick acaricide resistance [Fundamento genético y el impacto de la resistencia de las garrapatas a los acaricidas]. *Frontiers in Bioscience*. 14, 2657-2665.
- Vargas, M., Montero, C., Sánchez, D., Pérez, D., Valdés, M., Alfonso, A., Joglar, M., Machado, H., Rodríguez, E., Méndez, L., Leonart, R., Suárez, M., Fernández, E., Estrada, M.P., Rodríguez-Mallón, A. y Farnós, O. (2010). Two initial vaccinations with the Bm86-based Gavacplus vaccine against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* induce similar reproductive suppression to three initial vaccinations under production conditions [Dos vacunas iniciales con la vacuna Gavacplus a base de Bm86 contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* induce similar

- supresión reproductiva a tres vacunas iniciales bajo condiciones de producción*]. *BMC Veterinary Research*. 6, 43-50.
- Willadsen, P. (2004). Anti-tick vaccines [*Vacunas anti-garrapatas*]. *Parasitology*.129, S367-87.
- Willadsen, P. (2008). Antigen cocktails: Valid hypothesis or unsubstantiated hope? [*Cocteles antígenos: ¿Hipótesis validas o esperanzas sin fundamento?*]. *Trends in Parasitology*. 24, 164-167.
- Zivkovic, Z., Esteves, E., Almazán, C., Daffre, S., Nijhof, A.M. y Kocan, K.M. (2010). Differential expression of genes in salivary glands of male *Rhipicephalus (boophilus) microplus* in response to infection with *Anaplasma marginale* [*Expresión diferencial de genes en glándulas salivales de Rhipicephalus (boophilus) microplus macho en respuesta a infección con Anaplasma marginale*]. *BMC Genomics*. 1149, 27-35.



Pseudomonas sp productoras de biosurfactantes

Jeiry Toribio-Jiménez^{1*}
 Juan Carlos Velázquez Aradillas²
 Yanet Romero Ramírez¹
 Miguel Ángel Rodríguez Barrera¹
 José Daniel Chávez González¹
 Joseph Guevara Luna¹
 José Luis Aguirre Noyola¹

¹Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas, Laboratorio de Investigación en Biotecnología y Genética Microbiana, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázara Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur.

Chilpancingo, Gro. Teléfono: (+52) 747 4725503 Chilpancingo, Gro. México

²Posgrado en Diseño de Bioprocesos, Universidad Politécnica de Puebla., Puebla.

³Preparatoria No. 1., Universidad Autónoma de Guerrero., Chilpancingo, Gro.

**Autor de correspondencia*

Resumen

Los biosurfactantes (BS) son moléculas anfifílicas de origen biológico con propiedades similares a los surfactantes sintéticos, es decir, con capacidad de reducir la tensión superficial del agua en la interface y llegan a formar estructuras agregadas denominadas micelas. Existe una gran diversidad de BS en la naturaleza, de los cuales se destacan los producidos por el género *Pseudomonas sp*. Este grupo de bacterias tienen la capacidad de sintetizar diferentes tipos de biosurfactantes. Se han aislado y reportado diversas especies de *Pseudomonas sp* en diversos nichos ecológicos con la capacidad de producir BS, los más producidos por este género son los glicolípidos y los lipopéptidos cíclicos (CLP's), entre otros. Es por ello que en este trabajo se presenta una revisión actualizada sobre la producción, biosíntesis, métodos de obtención, purificación y usos potenciales de los biosurfactantes producidos por las diferentes especies del género *Pseudomonas*.

Palabras claves: biosurfactantes, *Pseudomonas sp*, producción y regulación

Abstract

Biosurfactants are amphiphilic molecules from biological origin with similar properties as the synthetic surfactants with the capacity of reducing surface tension from water at the interface and they are able to form structures of aggregation called micelles. A wide diversity of biosurfactants (BS) are found in nature. From this diversity, *Pseudomonas sp*. genre are highlighted as a producer of BS. This group of bacteria has the capacity of synthesizing different types of biosurfactants. Different *Pseudomonas sp*. species has been isolated from different ecological niches. Glicolipids and cyclic lipopeptides (CLP) among others, are produced by these genera. This is a review about production, biosynthesis, extraction and purification methods, and potential uses of produced biosurfactants from different species from *Pseudomonas*.

Como citar el artículo:

Toribio-Jiménez, J., Velázquez-Aradillas, J. C., Romero-Ramírez, Y., Rodríguez-Barrera, M. A. Chávez-González, J. D., Guevara-Luna, J., Aguirre-Noyola, J. L., Fierro-Torres, A. (2014). *Pseudomonas sp* productoras de biosurfactantes. *Tlamati*, 5(2), 66-82

Introducción

Los biosurfactantes son moléculas anfífilas de origen biológico con propiedades similares a los surfactantes sintéticos, es decir, con capacidad de reducir la tensión superficial del agua en la interface y a concentraciones mayores a la concentración micelar crítica producen agregados denominados micelas (Rosen, 2004). Debido a estas propiedades, las moléculas de los biosurfactantes se ubican en la interface de fluidos como son los sistemas aceite-agua y aire-agua (Stoyanov, Rehage y Paunov, 2003). Además, la presencia de biosurfactantes en un medio acuoso favorece la solubilidad y la biodisponibilidad de compuestos orgánicos, siendo ésta una de sus principales propiedades para su aplicación en el área de la biotecnología ambiental en el campo de la biodegradación de contaminantes (Liu, Laha y Luthy, 1991). Además se ha reportado también que poseen actividad antibacterial, anti-fúngica, anti-tumoral, antimicoplasmica y anti-viral (Makkar y Cameotra, 2002; Singh y Cameotra, 2004). Son producidos extracelularmente o forman parte de la membrana celular de una amplia variedad de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) (Gautam y Tyagi, 2006, Rhaman et al., 2009) mostrando una amplia variedad en su estructura química, entre las cuales destacan los glicolípidos, lipopéptidos, lipoproteínas, ácidos grasos, fosfolípidos, lípidos particulados y poliméricos (Lang, 2002., Mulligan, 2009). Los biosurfactantes difieren de los surfactantes químicos (generalmente derivados del petróleo) por su baja toxicidad, presentan mayor compatibilidad con el ambiente y son altamente específicos en su acción (Nitschke, Costa, Haddad, Gonçalves, Eberlin y Contreiro., 2005ab., Gautam y Tiagy, 2006, Mukherjee, Das y Sen, 2006). Varios de los biosurfactantes como los ramnolípidos presentan carga de tipo aniónica o neutra, y muy pocos presentan carga catiónica. Tal es el caso de los que poseen en su estructura química grupos amino (Mulligan, 2009). Los BS pueden ser producidos usando una amplia variedad de materiales a bajo costo o materias primas de residuos agroindustriales, son estables en condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad a diferencia de los sintetizados químicamente (Jiménez, 2010). El interés en los biosurfactantes se ha incrementado considerablemente en años recientes por sus potenciales aplicaciones en la industria y en la remediación de sitios contaminados. Por ello, el registro en el número de patentes internacionales para la aplicación de biotensoactivos en los sectores de alimentos, limpieza doméstica, cosméticos, recuperación de crudo, remediación de suelos y aplicaciones en agricultura, crece de manera significativa año con año (Abdel-Mawgoud et al., 2010). No obstante, uno de los factores que limita la comercialización de biosurfactantes en algunos casos, son los costos elevados de los sustratos, del proceso de producción y purificación, y baja productividad de las especies microbianas utilizadas, lo que limita su producción en gran escala (Jiménez, 2010). Por esta razón, las investigaciones recientes se han enfocado tanto a la optimización de los procesos

de producción como a la búsqueda de sustratos económicos, con la finalidad de incrementar la rentabilidad de su producción a nivel comercial (Mukherjee et al., 2006).

Existe una amplia variedad de microorganismos que tienen la capacidad de producir biosurfactantes, entre éstos destaca el género *Pseudomonas*. Este es uno de los más grupos bacterianos más diversos, y su taxonomía ha sufrido varios cambios desde su descripción temprana (Palleroni, 1984). Los miembros de este género son *sensu stricto* al grupo I RNA, dentro del grupo de las *Gamma proteobacterias* (Mulet, Lalucat y García-Valdés, 2010). Se han reportado diversas especies de este género con capacidad de producir biosurfactantes y sus diversas aplicaciones biotecnológicas. Es por ello que en este capítulo se plantea un panorama actual de las *Pseudomonas sp* como productoras de biosurfactantes, sus propiedades, condiciones de producción, biosíntesis, estructura química y sus aplicaciones biológicas, con la finalidad de ofrecer una revisión actualizada de los diferentes biosurfactantes producidos por este género.

Especies de pseudomonas productoras de biosurfactantes:

Las especies de *Pseudomonas* forman un gran grupo de bacterias productoras de BS. Muchos de los aislamientos de *Pseudomonas* han sido reportados por su capacidad de producir glicolípidos, especialmente ramnolípidos. Además se han reportado cepas de *Pseudomonas*, como *Pseudomonas sp* (Lim et al., 2007 and 2009; D'aes et al., 2011) con capacidad de producir artrofactina del grupo de los lipopéptidos (Lim et al., 2007; Washio et al., 2010), biosurfactante -PM, producido por *P. maltophilia* (Phale et al., 1995), corrugatina producido por *P. corrugate* (Risse et al., 1998), lipopéptidos cíclicos (Janek et al., 2010; Rokni-zadeh et al., 2012), lipodepsipéptidos (Laycock et al., 1999, Monti et al., 2001), biosurfactantes particulados producidos por *Pseudomonas sp* (Burd and Ward, 1997), pseudomicina A producida por *P. syringae* MSU 16H (Coiro et al., 1998). Otros de ellos incluyen a la viscosina y el depsipéptido viscosinamina producida por *P. fluorescens* DR54 (Rokni-zadeh et al., 2013; Alsohim et al., 2014), putisolvina I y II producidos por *P. putida* PCL1445 (Kruijtit et al., 2009; Rokni-zadeh et al., 2013), polipeptina (Ui et al., 1997), siringomicina y siringopeptina producidas por *P. syringae* pv. *syringae* B301D (Burch et al., 2014), amphisina producida por *Pseudomonas sp* DSS73 (Sørensen et al., 2001, Koch et al., 2002), lokisina producida por *P. koreensis* 2.74 (Hultberg et al., 2010) y entolisina producida por *P. entomophila* (Vallet-Gely et al., 2010). La producción de surfactina, fenhicina y lichenisina se reportó en una cepa de *Pseudomonas sp* WJ6 (Xia et al., 2014). A continuación se describe una breve discusión de los tipos de biosurfactantes producidos por las diferentes especies de *Pseudomonas*.

Ramnolípidos producidos por Pseudomonas sp.

Diversas especies de *Pseudomonas* destacan por su capacidad para producir ramnolípidos (Maier y Soberón-

Chávez, 2000; Abdel-Mawgoud et al., 2011; Muller et al., 2012). Los primeros en reportar la estructura de un glicolípido de tipo ramnolípido fueron Bergström et al. (1946), sintetizado por *P. pyocyanea* (ahora *P. aeruginosa*), conformado por ramnosa y ácido β -hidroxidecanoico. Tres años después, Jarvis y Johnson (1949), empleando medios de cultivo con 3% de glicerol, también aislaron al biosurfactante ramnolípido producido por *P. aeruginosa*, y determinaron que estos compuestos estaban formados por un glucósido de β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato y dos moléculas de ramnosa. Cabe mencionar que antes de elucidar con certeza la estructura de los ramnolípidos, en la década de 1950 ya eran usados en procesos de biorremediación de suelos contaminados con aceites y metales pesados (Hemminger, 2005).

La primera estructura claramente elucidada de los ramnolípidos fue encontrada por Edwards y Hayashi (1965), quienes demostraron la unión glicosídica del disacárido de ramnosa al β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato y cuya estructura se ha denominado como R2 (véase figura 1). Esta misma estructura también fue observada por Hisatsuka et al. (1971), utilizando *P. aeruginosa* S7B1 cultivada en hexa *n*-decano y parafinas. Un año después, Itoh y Suzuki (1972) encontraron que *P. aeruginosa* KY 4025 cultivada con 10% de *n*-alcanos produce monoramnolípido correspondiente a L- α -ramnopiranosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato, estructura a la cual se ha denominado R. Se han reportado otras variantes productoras de ramnolípidos, tal es el caso de *P. aeruginosa* 44T1 (Robert et al., 1989), *P. aeruginosa* GS3 (Patel and Desai, 1997), *P. aeruginosa* EM1 (Chayabutra et al., 2001), *P. aeruginosa* BS2 (Dubey and Juwarkar, 2001), *P. aeruginosa* LBI (Benincasa et al., 2002, Nitschke et al., 2009). *P. aeruginosa* (Costa et al., 2006, Marsudi et al., 2008).

Por otro lado se han reportado otras especies de *Pseudomonas* sp con la capacidad de producir ramnolípido como se describe a continuación: *P. putida* 300-B mutante (obtenida de *P. putida* 33 silvestre), *Pseudomonas* sp 47T2

NCIB 400044 (Mercade et al., 1993), *P. cepacea* (Onbasli y Aslim 2009), *P. chlororaphis* NRRL B-30761 (Gunther et al., 2005, 2006), *P. clemancea* y *P. collierea* (Rahman et al., 2009), *P. fluorescens* 29L (Husain, 2008), *P. fluorescens* (Abouseoud et al., 2008a,b), *P. fluorescens* (Wilson and Bradley, 1996), *P. fluorescens* HW-6 (Vasileva-Tonkova et al., 2006), *P. fluorescens*, *P. stutzeri*, *P. luteola* y *P. putida* (Onbasli y Aslim 2009), *P. putida* (Martinez-Toledo et al., 2006), *P. putida* (Tuleva et al., 2002), *P. putida* (Cuny et al., 2004), *P. stutzeri* G11 (Celik et al., 2008), *P. stutzeri* (Janiyani et al., 1992), *P. teessidae* (Rahman et al., 2009). *Pseudomonas* sp (Singh et al., 2009), *P. lurida* NARs9 (Mishra, 2009) y *P. aeruginosa* NY3 también con la capacidad de producir un nuevo ramnolípido (Maiqian Nie et al., 2010, *P. desmolyticum* NCIM-2112 es capaz también de producir ramnolípidos (Jadhav et al., 2011).

Aplicación y biosíntesis de ramnolípidos

En particular, los ramnolípidos producidos por *P. aeruginosa* han sido estudiados para su aplicación en distintas áreas, que incluyen la descontaminación de suelos contaminados con petróleo, la eliminación de elementos potencialmente tóxicos (EPT) de suelos, recuperación terciaria de petróleo, en la industria cosmética, en la protección contra plagas y en la industria farmacéutica. Son también una fuente importante de L-ramnosa, que es usada en química fina y como materia prima para la síntesis de compuestos orgánicos. Aunque la función fisiológica de los ramnolípidos en *P. aeruginosa* no ha sido completamente establecida, se les ha considerado como factores de virulencia y antimicrobianos, además, se les ha implicado en el establecimiento de la estructura y en la disgregación de las biopelículas, así como en la movilidad tipo "swarming" de esta bacteria (Caiazza et al., 2005).

En términos generales, los principales ramnolípidos producidos por *P. aeruginosa* son el ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato (mono-ramnolípido) y

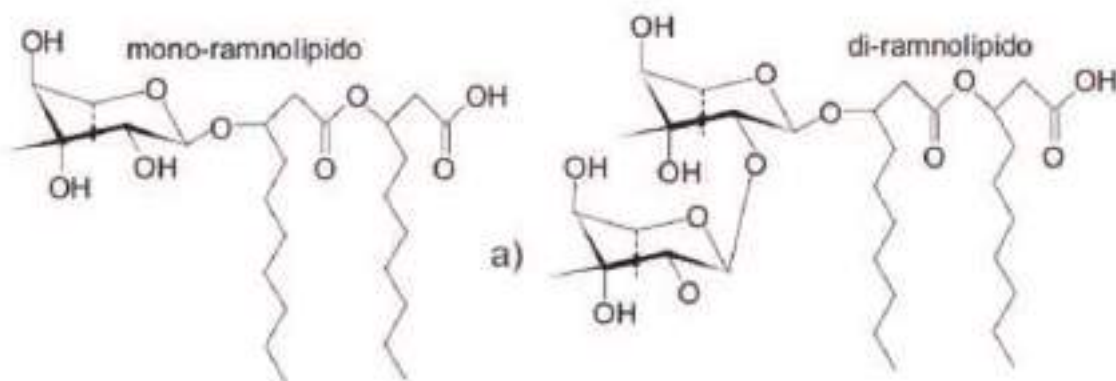


Figura 1. Estructura de los principales glicolípidos (mono y di-ramnolípidos)

el ramnosil-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidrodecanoato (di-ramnolípido). La biosíntesis de estos biosurfactantes fueron descritos por Burger et al. (1963). La biosíntesis de los ramnolípidos en *P. aeruginosa* ocurre a través de tres etapas secuenciales (Soberón Chávez et al., 2005): (1) la enzima RhlA (codificada por el gen *rhlA*) es involucrada en la síntesis del dímero de ácido graso (HAAs) del ramnolípido (Lépine et al. 2002; Déziel et al., 2003; Zhu y Rock 2008); (2) la ramnosiltransferasa RhlB se encuentra unida a la membrana (codificada por el gen *rhlB*) usa dTDP-L-ramnosa y la molécula de HAAs como precursores, el cual forman el monoramnolípido (Ochsner et al., 1994) y (3) estos monoramnolípidos a su vez son sustratos, junto con la dTDP-L- ramnosa, de la ramnosiltransferasa RhlC (codificada por el gen *rhlC*) para producir diramnolípido (Rahim et al., 2001) (véase figura 2). En *P. aeruginosa*, un operón bicistrónico *rhlAB*, codifica para las primeras dos enzimas, mientras que *rhlC* se halla en otro operón en el genoma. La transcripción de las enzimas responsables de la biosíntesis de ramnolípidos es regulada por RhlR (codificado por el gen *rhlR*); esta proteína actúa cuando está unido a su autoinductor C4-HSL (sintetizado por el gen *rhlI*), activa la expresión y cuando no está unido al autoinductor la reprime. La transcripción de *rhlR* es activada por el regulador transcripcional LasR (codificado por *lasR*), unido a su autoinductor 3O-C12-HSL (sintetizado por el gen *lasI*) (Williams y Cámara, 2009).

La producción de ramnolípidos por *P. aeruginosa* depende de factores nutricionales y ambientales, incluyendo limitaciones de nitrógeno, pH, y temperatura. La biosínte-

sis ocurre durante la fase exponencial tardía y la fase estacionaria de crecimiento, típicamente bajo las condiciones de limitación de nitrógeno y fosfatos. (Soberón – Chávez G et al., 2005).

Los ramnolípidos reducen la tensión superficial del agua de 72 mN/m a 30 mN/m y la tensión interfacial del agua/aceite de 43 mN/m a valores por abajo de 1 mN/m. Las propiedades de los ramnolípidos dependen de su composición, distribución y determinado a su vez por la cepa bacteriana, las condiciones de cultivo y la composición del medio, principalmente la fuente de carbono (Jiménez et al., 2010).

Los ramnolípidos muestran la capacidad de emulsificar hidrocarburos y estabilizar emulsiones. Haba et al., (2000) reportaron que sobrenadantes obtenidos en medios de cultivo provenientes de diferentes aislamientos de *Pseudomonas sp* fueron capaces de emulsificar keroseno. Tales emulsiones permanecieron estables hasta por tres meses. Las emulsiones de *n*-alcanos, compuestos aromáticos, aceite crudo, keroseno, aceite de coco y de oliva fueron estabilizadas por los ramnolípidos, mostrando una estabilidad de entre 5 a 25% de estabilidad después de 24 horas dependiendo de la fuente de carbono (Haba et al 2000, Mohamed Sifour et al., 2007).

Características, aplicaciones y biosíntesis de lipopéptidos cíclicos

Los lipopéptidos son compuestos por un péptido que puede ser ciclados (pudiendo formar estructuras cíclicas) para formar un anillo lactona entre dos aminoácidos en la

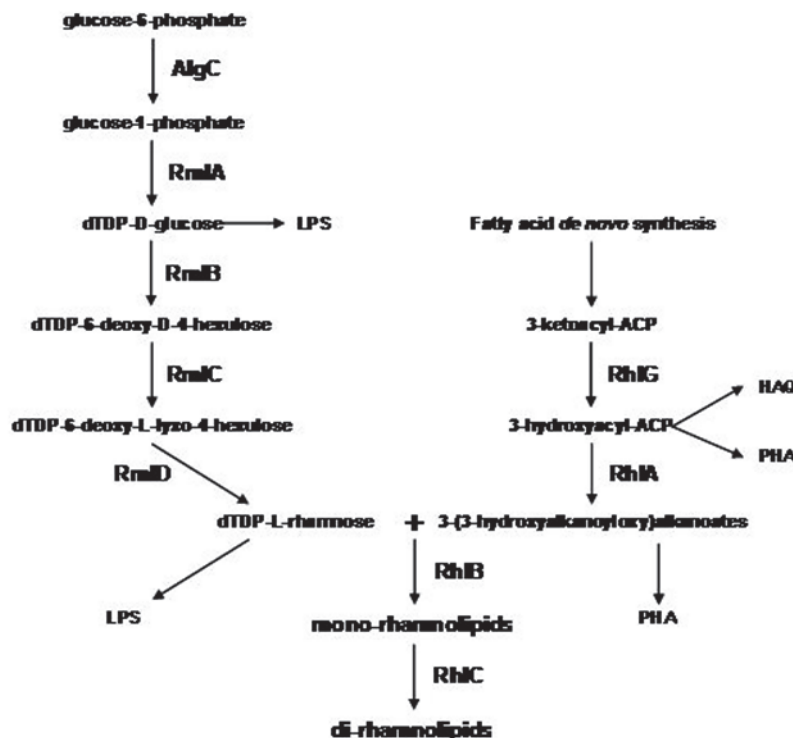


Figura 2. Biosíntesis de ramnolípidos (Soberón-Chávez, et al., 2005)

cadena peptídica y una cadena de ácido graso unida por el N-terminal del aminoácido. Ambos varían en tamaño, esta característica le proporcionan diferentes propiedades biológicas entre los diversos lipopéptidos estudiados, las cuales incluyen antifúngicos, fitotóxicos, antimicrobianos y reguladores de la formación de biopelículas, entre otras. (Hutchinson et al., 1995; Nielsen et al., 1999; Huber et al., 2002).

Los lipopéptidos son producidos por diversas especies de *Pseudomonas*, en la que se incluyen especies patógenicas y saprofitas. Estos compuestos juegan un papel importante en la virulencia y la motilidad de las bacterias (Nybroe y Sorensen, 2004; Raaijmakers et al., 2006). Los ciclolipopéptidos o CLP's producidos por *Pseudomonas* sp presentan actividad contra un amplio rango de microorganismos patógenos, entre los que se incluyen virus, micoplasmas y bacterias grampositivas. Su amplio espectro antimicrobiano ha sido explotado en el control biológico de hongos patógenos de plantas (Nybroe y Sorensen, 2004).

Los CLP's son producidos por un péptido sintetasa norribosomal (NRPS) los cuales poseen una estructura modular. Cada módulo está construido por bloques, resultado de la incorporación paso a paso de aminoácidos a la cadena peptídica. (Gewolb, 2002; Sieber y Marahiel, 2005). El orden y número de módulos de un NRPS en muchos casos, son secuencias colineares de aminoácidos que corresponden a una fracción del CLP. Los módulos pueden ser subdivididos de iniciación y elongación. Un módulo típico de elongación de NRPS consiste en un dominio de adenilación (A), responsable de la selección y activación de aminoácidos, un dominio de tiolación (T) responsable de la tioesterificación del aminoácido activado y por último un dominio de condensación (C) el cual sirve para la formación del enlace peptídico entre dos sustratos y así elongar la cadena peptídica. Los módulos de iniciación proveen el primer aminoácido para la síntesis del péptido y típicamente pierden un dominio C terminal (Finking y Marahiel, 2004). El dominio catalítico genera un péptido lineal el cual se fracciona y al final se ensambla por un dominio de tioesterasa (TE), la cual resulta en la liberación de un producto lineal o péptido cíclico vía reacción ciclización intramolecular. (Kohli et al., 2001; Sieber y Marahiel, 2005; Bruijn et al., 2007).

Basados en el tamaño y composición de la cadena de ácido graso y el péptido, los CLP's de las especies de *Pseudomonas* fueron clasificados en 4 grupos mayoritarios: viscosina, amfisina, tolasina y siringomicina. Los del grupo de la viscosina incluyen CLP's con nueve aminoácidos (viscosina, viscosinamida, masetolido A y D, pseudofomina A y B); esta clase son originados de diversos nichos ambientales; incluyen suelos, rizosfera, filosfera, así como ambientes marinos (Raaijmakers et al., 2006). Los CLP's del grupo de la amfisina, compuestos por tensina, amfisina, polipeptina A, lokisina y artrofactina (Henriksen et al., 2000; Sørensen et al., 2001), el péptido consta de once aminoácidos y se acopla con el ácido 3-hidroxi-decanoico (3-HDA). El grupo de la tolasina que

incluyen tolasina, FP-B, corpeptina A, SP22 y SP25A, es un grupo muy diverso en cuanto a la composición y tamaño del péptido el cual varía de 19 a 25 aminoácidos, y el lípido puede ser 3-HDA o 3-hidroxi-octanoico (3-HOA). La parte del péptido en este grupo contiene aminoácidos inusuales, incluyen ácido 2,3-dihidro-2-aminobutírico (Dhb) y homoserina (Hse), pudiendo el primer aminoácido estar siempre por delante de los residuos allo-Thr. La parte cíclica del péptido contiene cinco a ocho aminoácidos y el anillo de lactona es formado entre el C-terminal del aminoácido y el residuo de allo-Thr. Los lipopéptidos cíclicos del grupo de la tolasina son factores de virulencia producidos por *Pseudomonas* sp patógenas de plantas. Los CLP's del grupo de la siringomicina (incluyen a la siringomicina, siringotastina, siringotóxina, pseudomonicina A y cormicina A) estos muestran similaridad estructural con el grupo de la viscosina, pero contienen aminoácidos inusuales; Dhb, o 2,4-ácido diamino butírico (Dab) y el anillo de lactona es formado entre el N-terminal de la Ser y el C-terminal del 4-clorotreonina (Thr[4-Cl]), y el lípido puede estar compuesto por 3-hidroxi o 3,4-dihidroxi compuesto de 10 a 14 carbonos. Otro estudio reciente de estructuras de lipopéptidos cíclicos incluyen a la artrofactina producida por *Pseudomonas* sp MIS38, la cual contienen un péptido de once aminoácidos unido a una cadena de ácido graso β -hidroxidecanoil, y putisolvina I y II (Kuiper et al., 2004), el cual consiste en un péptido de 12 aminoácidos unido a una cadena lipídica de hexanoico. La ciclización de la putisolvina es diferente a otros péptidos, el anillo de lactona se forma entre el C-terminal y los residuos del noveno aminoácido en lugar del primer o tercer aminoácido (Raaijmakers et al., 2006). En otro estudio se demuestra la producción de un nuevo CLP's llamado entolisina, producido por *P. entomophila*, una bacteria entomopatogénica capaz de matar a *Drosophila melanogaster* después de su ingestión. Este nuevo CLP's contiene catorce aminoácidos unido a ácido 3-hidroxi-decanoico (Vallet-Gely et al., 2010).

Características y biosíntesis de determinados lipopéptidos cíclicos

1 Artrofactina: La artrofactina producida por *Pseudomonas* sp MIS38, es el lipopéptido cíclico más potente reportado. Este péptido contiene once aminoácidos unidos a un ácido graso β -hidroxidecanoil. Basado en su estructura química, cae dentro del grupo de la amfisina y es muy similar a la lokisina (Raaijmakers, et al., 2006). Se han encontrado tres genes involucrados en la biosíntesis de la artrofactina sintetasa, *arfA*, *arfB* y *arfC*, en el cual forman el cluster y codifican para ArfA, ArfB y ArfC contiene dos, cuatro y cinco módulos funcionales respectivamente (un módulo es definido por una unidad que cataliza la incorporación de un aminoácido específico dentro del producto peptídico). Cada módulo presenta un dominio C de condensación (responsable de la formación del enlace peptídico entre dos aminoácidos consecutivos), un dominio A de adenilación (responsable de formar un reconocer y adenilación a expensa de ATP) y un dominio T de tioa-

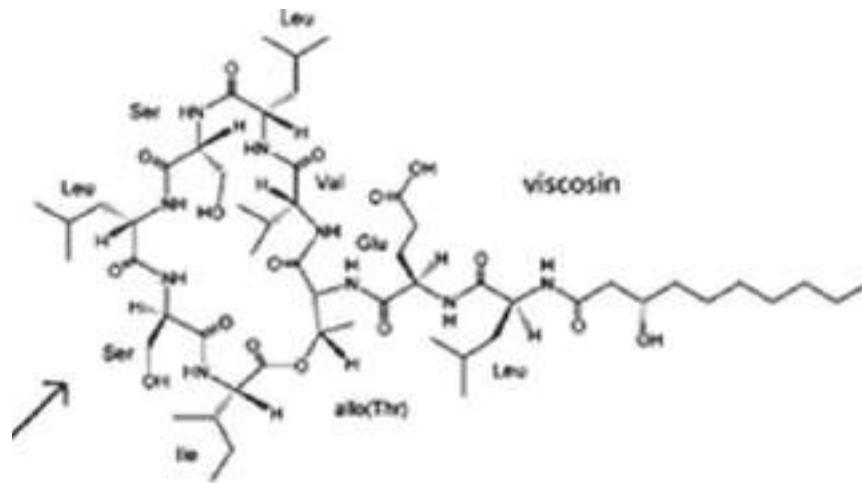


Figura 3. Estructura de la viscosina (Braun et al., 2001)

denilación (es un sitio que sirve para unir el co-factor 4-fosfopanteteino y un acarreador de intermediarios de aminoácidos tioesterificados). Sin embargo ninguno de los once módulos posee el dominio E de epimerización, responsable de la conversión de residuos de aminoácidos de la forma L a la forma D. Por lo tanto dos dominios tioesterasas son localizadas en tandem en el C-terminal al final de ArfC. El gen *arfB* se expresa en la producción de artrofactina (Roongsawang et al., 2003).

2 Viscosina: La viscosina se compone de ácido hidroxidecanóico y fue aislado por vez primera por *P. viscosa* (Kochi et al., 1951). Tiene una concentración micelar crítica (CMC) de 4 µg/ml y reduce la tensión superficial del agua de 72 a 27 mN/m. Esta no afecta la membrana pero si lisa a los eritrocitos por su acción detergente a concentraciones por debajo de la CMC, y no es considerada por tener toxicidad membrana específica. La viscosina es similar en tamaño, estructura y composición a otros lipopéptidos (Véase figura 3), como es el caso de la tolasina producida por *P. tolaasii*, surfactina producida por *B. subtilis*, siringomicina y siringopéptina producida por *P. syringae* pv *syringae* (Rainey et al., 1991., Hutchison y Gross, 1997; Bernheimer y Avigad, 1970).

El control genético de la producción de la viscosina fue examinada en *P. fluorescens* PfA7B. Ésta bacteria causa perforaciones en las cabezas del brócoli. Es un potente biosurfactante y hace capaz a la bacteria de entrar en contacto íntimo con las cabezas de cera que son difíciles de mojar en el brócoli (ya que actúa como un agente humectante). En mutantes deficientes de producción de viscosina obtenidas por mutagénesis con Tn5 y analizadas por HPLC se observó que las mutantes Vis⁻ conservan su capacidad pectolítica, pero carecen de la capacidad de hacer perforación en los brócolis sanos a diferencia de la cepa silvestre (Braun et al., 2001, Palashpriya, et al., 2008), En mutantes triparentales complementadas con sus clones silvestres correspondientes y transformadas en *E. coli* HB101 (plásmido pPK2013), en las tres transconjugantes obtenidas disminuye su capacidad estable de producción de viscosina y causan decaimiento típico en el tejido del brócoli. Los mapas de estos clones y perfil de proteínas muestran una región de DNA cromosomal de 25 kb de *PfA7B* afectada en la producción de tres proteínas de alto peso molecular requeridas para su síntesis. Estas proteínas son de aproximadamente 218, 215 y 137 kDa respectivamente, y al parecer comprende un complejo sintetasa que se ensambla en un péptido de nueve aminoácidos de viscosina y subsecuentemente se une a un componente hidrofóbico (ácido graso) (Braun et al., 2001).

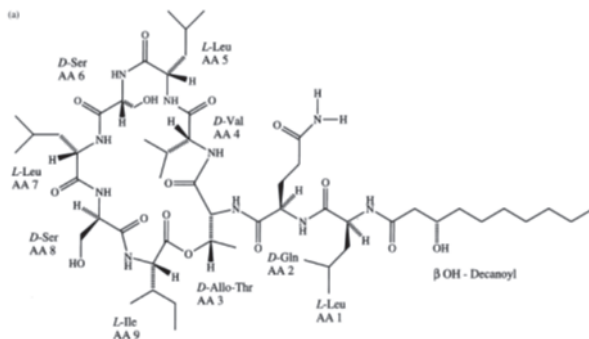


Figura 4. Estructura de la viscosinamida (Braun et al., 2001)

3. Viscosinamida: La viscosinamida es un nuevo antibiótico y biosurfactante, pertenece a la familia de los depsipéptidos cíclicos aislados de *Pseudomonas* sp. La estructura se asemeja a la viscosina (véase figura 4), aislada de *P. viscosa* y de *P. fluorescens* biovar II. La secuencia aminoácidos en este péptido es D-glutamato y D-glutamina en la viscosina y viscosinamida respectivamente. Su producción está relacionada con la fase inicial de crecimiento, según lo observado en *P. fluorescens* DR54, por lo que se le considera un metabolito primario y no secundario. Esto ha sido observado en otros biosurfactantes, en donde la producción puede estar vinculada a la proliferación celular y al crecimiento en vez de condiciones de estrés (Nielsen et al.,

1999).

La viscosamida se ha identificado como un determinante antagonico producido por *P. fluorescens* DR54 y ha demostrado que induce cambios fisiológicos en *Pythium ultimum* *in vitro*, la cual se ha detectado en muestras de la rizósfera. El impacto en el crecimiento y la actividad de *P. ultimum* se estudió por microscopia directa después de la tinción fluorescente. *P. fluorescens* DR54 causa reducción en la densidad del micelio, la formación de oósporas y actividad intracelular. Los estudios *in vitro* confirman que la viscosinamida purificada induce el enquistamiento de las zoosporas de *P. ultimum* (Thrane et al., 2000).

4. Amfisina: Es un nuevo miembro de un grupo dual de compuestos como es la tensina, viscosina y la viscosinamida, las cuales despliegan propiedades de superficie activa propias de los biosurfactantes y antifúngicas. *Pseudomonas* sp. DSS73 fue aislada de la rizósfera de la caña de azúcar. Esta cepa presenta antagonismo contra hongos patógenos de plantas, *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani*. La producción de la amfisina en combinación con la expresión de flagelos permite al cultivo bacteriano moverse fácilmente sobre la superficie en los medios de cultivo (Andersen et al., 2003).

El sistema regulatorio de dos componentes GacA/GacS (GacA es el regulador responsable y GacS es el sensor cinasa) controlan el gen amfisina sintetasa (*amsY*). La motilidad en superficie de esta bacteria requiere de la producción de este biosurfactante. Su síntesis es regulada por el gen *gacS*, esto se ha observado en mutantes *gacS* que pierden la motilidad en superficie y cuando se complementan con un plásmido que codifica el gen heterólogo *gacS* silvestre de *P. syringae* se recupera el fenotipo en la mutante (Andersen et al., 2003).

La estructura de cristal de la amfisina se presenta en tetrahidrato $C_{66}H_{114}N_{12}O_{20} \cdot 4H_2O$, originado por la biosíntesis no-ribosomal en *Pseudomonas* sp DSS73. La estructura primaria de la amfisina es β -hidroxidecanoil-D-Leu-D-Asp-D-*allo*-Thr-D-Leu-D-Leu-D-Ser-L-Leu-D-Gln-L-Leu-L-Ile-L-Asp. El péptido es una lactona unida a Thr4 O γ al C-terminal. La estereoquímica del ácido β -hidroxi es R. El péptido es un análogo del lipopéptido cíclico tensina y polipéptida producida por *P. fluorescens* (Sørensen et al.,

2001).

5. Lokisina: La lokisina fue aislada de *Pseudomonas* sp DSS41 como un agente de biocontrol antifúngico. Basado en estudios de NMR (resonancia magnética nuclear) y MS (espectrometría de masas), la lokisina fue tentativamente identificada como polipeptina (véase figura 5). Sin embargo, en análisis detallados de los constituyentes de aminoácidos determinado por cromatografía de gases reveló una diferencia de D-/L-leucina a una tasa de 3:2 y el alioisomero de treonina. Este biosurfactante representa una nueva variación estructural de lipoundecapéptido (Sørensen et al., 2002).

Además se ha reportado a *P. koreensis* 2.74 con capacidad de producir lokisina. La eficacia de este biosurfactante fue determinado y el extracto crudo fue usado contra el oomiceto de *P. ultimum*, en cultivos hidropónicos de tomate, observándose una reducción significativa de la enfermedad. La adición del biosurfactante no afecta la microflora de la raíz de la planta, esto se observó cuando solo se evaluó una fuente de carbono. Estos resultados confirman que los biosurfactantes son importantes en el desarrollo de estrategias de control biológico contra oomicetos (Hultberg et al., 2010). En otro estudio se aisló y caracterizó un nuevo linaje de *P. koreensis* M9b, M9c y CCB10 con capacidad de producir biosurfactante (probablemente lokisina) el cual tiene la capacidad de desplazar (competir) a las bacterias *Exiguobacterium aeriumticu* M5G y *B. subtilis* ATCC 6633 en caldo PPGly y en condiciones de laboratorio (Toribio Jimenez et al., 2011).

6. Siringomicina: Muchos aislamientos fitopatógenos de *P. syringae* pv *syringae* secretan un lipodepsipéptido cíclico con propiedades de actividad de amplio espectro antimicrobiano y antifúngico. La siringomicina (*syr*) y siringopéptina (*syp*) son un determinante clave en la virulencia de *P. syringae* pv. *syringae* B301D y B728a (Sørensen et al., 2001; Sørensen et al., 2002) que contribuyen al desarrollo de la enfermedad. La siringomicina es un péptido compuesto con una cabeza polar, con una secuencia Ser-D-Ser1-D-Dab-Dab-Arg- Phe-Dhb-(3-OH) Asp-(4-Cl)Thr, unida a una cola de ácido 3-hidroxidecanoico y 3-hidroxitetradecanoico (Segre et al., 1989). Se han detectado y caracterizado cuatro genes involucrados en la biosíntesis de la siringomicina *syrB*, *syrC*, *syrD*, y *syrP*, que abarcan aproximadamente una región de 7 Kb. El gen *syrB* muestra alta similaridad con dominios de unión a la péptido sintetasa *syrC*, la cual codifica para una enzima parecida a la tioesterasa *syrD* y se transcribe en orientación opuesta con respecto a *syrB* y *syrC*, además codifica para una proteína similar a la súper familia de proteínas involucradas en la secreción específica y puede estar implicada en la secreción de la siringomicina a través de la membrana citoplasmática. Finalmente, *syrP*, es localizada entre *syrB* y *syrD*, y exhibe similaridad con la región de fosfotransferasa de histidina cinasa y puede participar en un mecanismo de fosforilación de transducción de señales que controle la síntesis de siringomicina y promueve la virulencia de *P. syringae* (Guenzi. et al., 1998, Wang et al., 2006). Los genes *syr-syp* son coordinados por SalA y SyrF en respues-

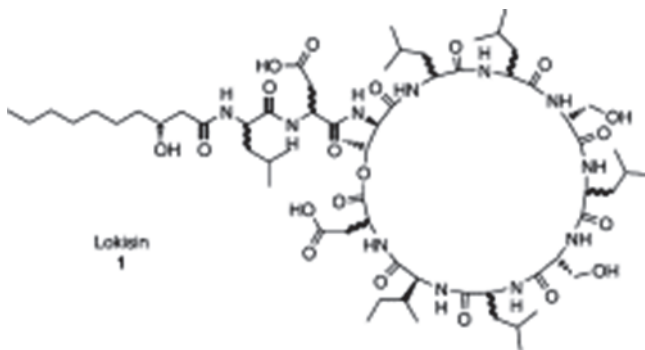


Figura 5. Estructura de la lokisina (Sørensen et al., 2002)

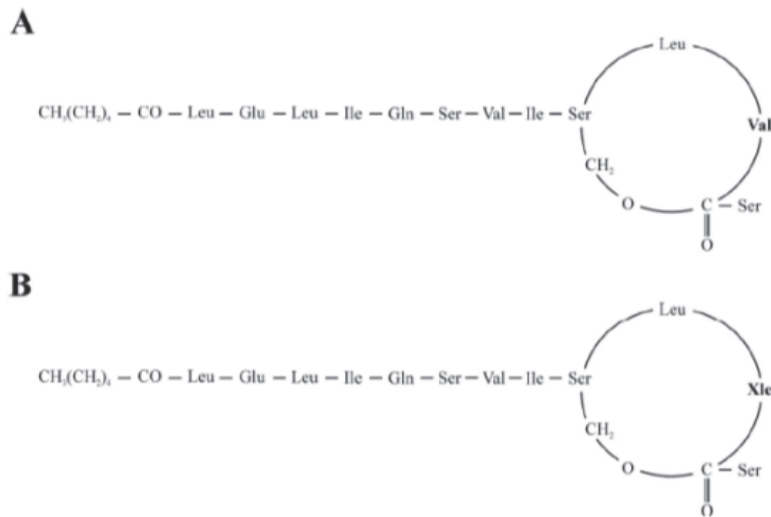


Figura 6. Estructura de la putisolvina; A) Putisolvina I; B) Putisolvina II. (Kuiper et al., 2004)

ta a las condiciones ambientales (Wang et al., 2006).

7. Tolasina: Es una toxina (péptido) formadora de poro (Cho et al., 2010). Ésta consiste en 18 aminoácidos y su peso molecular es de 1,985 Da. Se han determinado dos isómeros de la tolasina, denominadas Tol I y Tol II; ambos isómeros tienen un ácido β-hidroxioctanoico unido covalentemente al N-terminal. Diversos isómeros fueron identificados en varios aislamientos de *P. tolaasii* y su estructura ha sido esclarecida (Shirata et al., 1995; Bassarello et al., 2004). La tolasina tiene dos cargas positivas en el C-terminal, por lo cual es un péptido anfipático. Induce la disrupción de la membrana por la cual induce la formación de poros en la membrana y como surfactante (Hutchison y Johnstone, 1993). En la mutagénesis por Tn5 en *P. tolaasii* NCPPB, solo 35 (0.7%) de 5,000 inserciones cromosomales fueron tolasina negativo y 12 (0.25%) producen una reducida producción de tolasina. El análisis de extractos de proteínas SDS-PAGE de la cepa silvestre, demuestra la presencia de tres proteínas de alto peso molecular designadas como TL1, TL2 y TL3. Alteraciones en estas proteínas aparentemente truncadas de 465 kDa (TL1), 440 kDa (TL2) y 435 kDa (TL3), fueron ausentes en algunas mutantes (Rainey et al., 1993). Además, se ha identificado el gen *pheN* y su producto en *P. tolaasii* NCPPB1116, se incluye dentro del grupo de proteínas reguladoras. Se ha especulado que su producción es regulada positivamente por el producto de *pheN* como consecuencia del reconocimiento de las condiciones ambientales. (Murata et al., 1996).

8. Putisolvina: Es producida por *P. putida* PCL1445, crece en suelos contaminados con metales pesados y con hidrocarburos aromáticos (PAHs) (Kuiper et al., 2001). *P. putida* PCL1445 es un colonizador eficiente de raíz y puede proliferar en productos de degradación del naftaleno y fenantreno. Es capaz de formar biopelículas en la superficie de las raíces de plantas y en PVC (Kuiper et al., 2001).

Esta cepa produce dos lipodepsipéptidos cíclicos, llamados putisolvina I y II, cada uno contiene un lípido hexanoico unido al N-terminal del péptido de doce aminoácidos, en el cual el C-terminal del grupo carboxilo forma un enlace estér con el hidroxilo de la cadena de Ser-9 (Kuiper et al., 2004). La diferencia entre las dos estructuras es localizada en el segundo aminoácido del C-terminal, el cual para la putisolvina I es Val y Leu/Ile para putisolvina II respectivamente (véase figura 6).

La producción del biosurfactante es iniciada al final de la fase exponencial, sugiriendo que la producción es regulada por un sistema similar al Quorum Sensing. En mutantes Tn5 de la misma cepa, se aisló la cepa PCL1436, la cual no produce putisolvina I y II, se observó que es mutada en un marco de lectura abierto (ORF), el cual presenta homología con diversos lipopéptidos sintetasa. El gen de la putisolvina sintetasa de PCL1445 fue llamado *psaA* (Dubern et al., 2005).

La putisolvina I y II representan un nuevo tipo de CLP's, la cual tienen la capacidad de reducir la tensión superficial, emulsionar el tolueno, e incrementar la dispersión de naftaleno y fenantreno (Kuiper et al., 2004). Estas propiedades muestran un papel importante en el incremento de la disponibilidad de compuestos hidrofóbicos (Rosenberg et al., 1993). Además, se muestra que la secreción de putisolvina I y II estimulan la motilidad en swarming de células, presumiblemente por la alteración de la hidrofobicidad de la superficie celular y juega un papel importante en la formación y degradación de biopelículas.

Con el fin de identificar los genes y características involucradas en la regulación de la producción de la putisolvina por PCL1445, se generó una biblioteca de Tn5*luxAB* y las mutantes fueron seleccionadas por la pérdida de la producción de biosurfactante usando el método de la gota colapsada (Bodour Maier, 1998). El análisis de secuencias de las regiones flanqueantes del Tn5*luxAB* de una

mutante PCL1627, muestra que la inserción del Tn fue insertada en una región homóloga al *dnaK*, la cual es localizada río abajo de *grpE* y río arriba de *dnaJ*. El análisis de la producción de la putisolvina y de expresión indican que *dnaK*, junto con *dnaJ* y *grpE* son genes de choque térmico, que participan de manera positiva en la regulación (directa o indirectamente) de la biosíntesis de putisolvina a nivel transcripcional. El crecimiento de PCL1445 a bajas temperaturas resulta en un incremento en los niveles de producción de putisolvina. Además, la biosíntesis de PCL1445 es dependiente del sistema de señalización de dos componentes GacA/GacS, ya que en los análisis de expresión indican que *dnaK* es regulado positivamente por GacA/GacS (Dubern et al., 2005).

Las moléculas de putisolvina I y II son secretadas al medio de cultivo durante la fase exponencial tardía de crecimiento, indicando que su producción probablemente sea regulada por *quorum sensing* (percepción de quórum [PQ]). Para comprobar esto se identificaron los genes del sistema de quórum en *P. putida* PCL1445, los cuales incluye a *ppuI*, *rsaL* y *ppuR* mostrando alta similaridad con un clúster de genes en cepas de *P. putida* IsoF y WCS358, respectivamente (Steidle et al., 2002; Bertani and Venturi, 2004.). Las cepas con mutaciones en *ppuI* y *ppuR* muestran una reducción severa en la producción del biosurfactante. En el análisis de expresión de los genes biosintéticos, el gen *ppuI* muestra una expresión deficiente, la cual se complementa con la adición sintética de 3-oxo-C₁₀-N-acilhomoserina lactona (3-oxo-C₁₀-AHL) o 3-oxo-C₁₂-AHL al medio. En mutantes *rsaL* sobreproductoras de AHLs, la producción de putisolvina es inducida durante la fase de crecimiento temprano. El análisis de formación de biopelículas en PVC muestra que mutantes en *ppuI* y *ppuR* producen un biofilm denso a diferencia de la cepa silvestre, lo cual correlaciona con un decremento en la producción de putisolvina, y en mutantes *rsaL* existe un retraso en la formación del biofilms, lo cual correlaciona con la producción temprana de putisolvina. Estos resultados demuestran que las señales de QS inducen la producción de putisolvina I y II, y controlan la formación de biofilms por *P. putida* (Dubern et al., 2006).

9. Entolisina: Es un nuevo CLP's, producido por *P. entomophila*, una bacteria entomopatogénica. Este nuevo CLP's contiene catorce aminoácidos unido a ácido 3-hidroxi-decanoico. Además se han identificado tres péptidos sintéticos no ribosomales (EtlA, EtlB y EtlC) involucrados en su biosíntesis y dos componentes más (EtlR, MacAB), necesarios para su producción y secreción. El sistema de dos componentes GacS/GacA en *P. entomophila* regula la producción de entolisina, esta es requerida para la motilidad en swarming, no participa en la virulencia de *P. entomophila* a *Drosophila*, pero si adquiere una ventaja de biocontrol (Vallet-Gely et al., 2010).

Condiciones de producción de lipopéptidos cíclicos

Existe un gran número de investigaciones que demuestran que la sobreproducción de biosurfactantes por *Pseudomonas sp.*, se lleva a cabo una vez que los cultivos llegan

a fase estacionaria de crecimiento (Guerra-Santos et al., 1986; Mulligan y Gibbs., 1989; Venkataramana y Karanth., 1989). En *P. fluorescens*, la producción de biosurfactante generalmente requiere una baja concentración de oxígeno y nitrógeno en cultivos líquidos (Persson et al., 1988). La limitación de cationes multivalentes también causa una sobreproducción de biosurfactantes. Las limitaciones de hierro estimulan la producción de biosurfactante en *P. fluorescens* (Persson et al., 1990a, 1990b). Las fuentes de carbono juegan un importante papel en el peso y la estructura. La producción de viscosina es óptima *in vitro* en un medio que contenga glicerol como fuente de carbono para su síntesis (Georgiou et al., 1992). Tipos diferentes de biosurfactante pueden ser producidos por especies bacterianas dependiendo de la fuente de carbono y otros nutrientes disponibles (Desai et al., 1988).

Métodos usados para la detección de bacterias productoras de biosurfactantes:

Para estudiar la producción de biosurfactante, es necesario un método rápido, sensible y preciso para su detección. Una variedad de diferentes métodos han sido descritos para la detección de microorganismos potencialmente productores, los que se enumeran a continuación:

(1). Van Der Vegt et al., (1991) desarrollaron un método asimétrico para el análisis de la gota colapsada (ADSA) para la evaluación de microorganismos productores de biosurfactantes. En esta técnica, las gotas de medio de cultivo se colocan en una superficie de fluoroetileno-propileno. La tensión superficial es calculada a partir de los perfiles de las gotas colapsadas por ADSA. Solamente las bacterias productoras de biosurfactante en suspensión muestran reducción en la tensión superficial.

(2). Siegmund y Wagner (1991), describen una estimación colorimétrica de biosurfactantes bajo el principio de que los tensoactivos aniónicos reaccionan con el catión indicador formando un complejo de color característico. Ya que la cantidad de biosurfactante está en relación directa con el diámetro del halo, este método puede ser tanto cuantitativo como cualitativo. Shulga et al., (1993) y Hansen et al., (1993) desarrollaron este método para la detección de bacterias productoras de ramnolípidos degradadores de hidrocarburos.

(3). Una prueba desarrollada por Hildebrand (1989), en la cual una gota de agua se colapsa cuando es adicionada a una suspensión bacteriana productora de biosurfactante. Jain et al. (1991) colocaron una gota de suspensión bacteriana en una superficie cubierta de aceite. En este método, las gotas que contienen biosurfactante se colapsan y las que no contienen permanecen estables.

(4). Otra técnica utilizada es la cromatografía directa en capa fina (TLC) para la caracterización rápida de bacterias que producen biosurfactantes y descrito por Matsuyama et al., (1987). Con esta técnica, se identificaron los biosurfactante en *Serratia marscescens* mediante la aplicación de una sola colonia bacteriana directamente en placa de TLC sin ninguna preparación previa de la muestra.

(5). Por reducción de la tensión de la superficie de una

solución, mediante la cuantificación exacta de la tensión superficial en presencia de biosurfactante. Las determinaciones se basan evaluando los cambios en la tensión superficial e interfacial, por estabilización o desestabilización de emulsiones, y su balance hidrofílico-lipofílico (HLB). La tensión superficial en la interface del aire/agua y aceite/agua pueden ser fácilmente medible con un tensiómetro. La tensión superficial del agua destilada es de 72 mN/m. Cuando un agente tensoactivo se añade al aire/agua o aceite/agua en concentraciones crecientes, se observa una reducción en la tensión superficial hasta un nivel crítico, por encima del cual las moléculas anfifílicas se asocian rápidamente hasta formar estructuras moleculares parecida a micelas, bicapas y vesículas. Este valor se conoce como Concentración Micelar Crítica (CMC) y se define como la concentración mínima de surfactante a partir del cual se forman micelas espontáneamente en una solución y es comúnmente usada para medir la eficiencia de un surfactante (Rosen, 2004).

(6). Bunster et al., (1989) estudiaron la actividad de superficie de las bacterias, mediante la medición de los ángulos de contacto obtenidos después de adición de las bacterias a una gota de agua. El ángulo de contacto es ubicado en la interface entre la gota y la superficie sólida. En ausencia de surfactante, las moléculas de agua se adhieren fuertemente entre sí, por lo que la gota conserva una apariencia redonda con un ángulo de contacto de más de 90°, mientras que en la presencia de biosurfactante, las fuerzas de adherencia se reducen causando un colapso de la gota creando un ángulo de contacto de menos de 90°.

(7). Detección de la actividad hemolítica, esta prueba de detección es cualitativa para la detección de microorganismos productores de biosurfactante, para esta se usa agar LB o nutritivo, suplementado con 5% de sangre de carnero fresca (Carrillo et al., 1996; Banat, 1993). Los microorganismos son inoculados e incubados a temperatura óptima durante 48h. Una hemólisis se observa visualmente y puede ser indicativo de la lisis celular debido a la ruptura de la membrana, causada por la presencia de sustancias activa de superficie.

(8). Método de dispersión en aceite: en este método se adicionan 10 µl de caldo de cultivo sobre una capa de aceite crudo (20 µl) en 50 ml de agua destilada. Posteriormente se agrega sobre la superficie cubierta de agua con aceite. La presencia de un halo emulsionado es indicador de presencia de biosurfactantes. Este es un método sensible que permite detectar bacterias con esta capacidad (Morikawa et al., 2000).

(9). Ensayo de emulsificación (EA): En este método el medio de cultivo es centrifugado a 10,000 rpm por 15 min, posteriormente se mezclan 3 ml del sobrenadante con 0.5 ml de aceite/hidrocarburo y se mezcla vigorosamente durante 2 min. Se deja reposar por 1 h, con la finalidad de que se separen las fases acuosa/aceite, se usa como blanco medio de cultivo no inoculado (Jagtap et al., 2009). La absorbancia de la fase acuosa es obtenida de 0.1 unidades a 400 nm, y es multiplicada por el factor de dilución y se considera una unidad de actividad de emulsificación por

mililitro (EU/ml) (Patil and Chopade, 2001a, b; 2003).

(10). Índice de emulsificación (IE): la actividad de emulsificación se mide mediante el cálculo del IE. En este método un sustrato hidrofóbico como keroseno o diésel es agregado al sobrenadante de un cultivo bacteriano (1:2 v/v), agitándose por 2 min, y se deja reposar durante 24 h. El IE se determina midiendo la altura total de la fase acuosa entre la altura de la emulsión del keroseno o diésel y multiplicada por 100 (Ellaiah et al., 2002; Haba et al., 2000). La estabilidad del IE designa la fuerza del biosurfactante.

(11). Ensayo de turbidez, este método fue desarrollado por Rosenberg et al. (1979) y posteriormente fue modificado por Neua and Porralla (1990). El caldo de cultivo filtrado y secado se re suspende en una solución buffer. Se mide la DO a 446 nm. Para esto, se adiciona hidrocarburo y se agita vigorosamente por 2 min, se deja reposar por 10 min y se vuelve a medir la DO. La diferencia en turbidez se determina midiendo las diferencias entre a DO inicial y la final.

(12). Métodos moleculares para identificar los genes involucrados en la biosíntesis de biosurfactantes. La búsqueda directa de genes involucrados en la producción de biosurfactantes es rápida y menos laboriosa. Invenciones más recientes como las de Whiteley, Lee et al., (1999) pueden ser usados para identificar moduladores y genes involucrados en el sistema de PQ en bacterias productoras de biosurfactantes. Nuevas cepas y vectores han sido diseñados con éxito para evaluar la producción de biosurfactantes.

1 Métodos de recuperación y/o purificación de biosurfactantes:

Una de las limitantes para la producción de biosurfactantes en escala piloto y semi-piloto se basa en el alto costo de la recuperación el cual llega a representar hasta el 60% del costo total de producción. Para reducir los costos se requiere la utilización de sustratos renovables y de bajo costo (Desai y Banat, 1997; Banat, et al., 2000; Makkar y Cameotra, 1997). Durante todos estos procesos el riesgo de contaminación con compuestos no deseados del proceso de fermentación es latente. Una fuente potencial de contaminación es la espuma producida durante la fermentación, por lo que se debe elegir con cuidado un anti espumeante que no afecte la estructura del biosurfactante y no sea tóxico para la bacteria. La carga iónica (cromatografía), la solubilidad (agua/solvente orgánico) y localización (si es intracelular, extracelular o pegada a la célula) determinan el procedimiento de obtención del biosurfactante de interés. En el caso de moléculas de alto peso molecular, la obtención y purificación se obtiene por precipitación usando sulfato de amonio, seguido por diálisis para remover pequeñas moléculas (Desai y Desai, 1993., Barck y Steinius, 1994). Otros métodos también involucran el uso de ácido tricloroacético (TCA), la precipitación con acetona, etanol y cloroformo/metanol. Diversos métodos convencionales conocidos para la recuperación de biosurfactantes son mencionados más adelante. (1) Precipitación con acetona en el que el sobrenadante libre de células es mezclado

con acetona fría para precipitar emulsionantes, el cual después es re-suspendido en un buffer de fosfatos. La mezcla es incubada a 4°C por 15 a 20 h para el precipitado del emulsificador. El biosurfactante es analizado por su capacidad emulsificante, fracción proteica y polisacárido. Este método ha sido usado en diversos trabajos, para purificar biosurfactantes (Rosenberg et al., 1979; Patil y Chopade, 2001a, b; 2003). (2) Precipitación con etanol: es similar a la acetona, el etanol es un solvente popular para obtener extracto crudo de bioemulsionadores del sobrenadante de *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Cyanobacterium* y especies de levaduras. El medio de cultivo es centrifugado a 11,000g/20min/4°C y el biosurfactante es precipitado del sobrenadante usando etanol frío. Phetrong et al., (2008), hallaron una mayor eficiencia por precipitación del emulsificador de *A. calcoaceticus* subsp *anitrus* SM7 con este método comparado con otros. (3) Precipitación con sulfato de amonio; este sirve para precipitar biosurfactante de alto peso molecular como es el caso del emulsan. Este método fue introducido por Rosenberg et al., (1979) para precipitación de biosurfactantes de *Arthrobacter* RAG-1. Para este fin, se agrega 30% de (NH₄)₂SO₄ directamente al medio de cultivo sin remover las células y se deja reposar toda la noche. Después el precipitado es suspendido en 3% de (NH₄)₂SO₄ saturado y centrifugado hasta que el sobrenadante sea clarificado. Posteriormente se agrega (NH₄)₂SO₄ a una concentración final de 40%. El precipitado resultante es centrifugado y extraído con éter. Kaplan y Rosenberg (1982), obtuvieron biosurfactante de *A. calcoaceticus* BD413 por incremento sucesivo de (NH₄)₂SO₄ agregado a extractos libre de células. (4) Precipitación ácida; este método es fácil, económico y rápidamente disponible para recuperar crudo como la surfactina, lipopéptidos, glicolípidos, etc. La hidrólisis ácida usa HCl concentrado para bajar el pH hasta 2.0 de insolubles a pH bajos (Mukherjee, Das, y Sen, 2006), precipita proteína y lípidos contenidos en los biosurfactantes a 4°C (Cooper et al., 1981). La muestra se centrifuga y el pellet obtenido es extraído usando varios solventes (Nitschke y Pastore, 2006; Thaniyavarn et al., 2003). El material extraído es filtrado para remover residuos y evaporado hasta secar completamente en un rotavapor. Los lipopéptidos de microorganismos que desarrollan en medios simples o complejos son purificados también por este método. En el caso de los ramnolípidos el sobrenadante es hidrolizado con HCl para precipitar glicolípidos, lo cual son convertidos en insolubles en solución acuosa. Durante la acidificación, el biosurfactante presente es protonado, lo cual lo hace menos soluble en agua. Los métodos de acidificación, centrifugación y extracción son aplicables a otros glicolípidos. Sin embargo, diferentes solventes, cloroformo, metanol y acetato de etilo son usados generalmente para purificar ramnolípidos. La fase orgánica es removida y se mezcla con Na₂SO₄ para remover el agua y puede ser concentrado en un rotavapor a 40°C para obtener el extracto crudo. Los residuos son disueltos en NaHCO₃ para purificar el biosurfactante. El número de publicaciones reportando la purificación de ramnolípidos por precipitación ácida ha ido en aumento (Haba et al.,

2000; Smyth et al., 2009a). Otras moléculas como los soforolípidos (Nunez et al., 2001), lípidos de trealosa, lípidos de mannosylerytritol (MELs) (Rapp et al., 1979), son extraídos de forma similar que los ramnolípidos.

2 Métodos de caracterización de biosurfactantes:

La caracterización preliminar del biosurfactante se realiza mediante una cromatografía en capa fina (TLC), esta es una de las técnicas más comunes para detectar biosurfactante, y se basa en el principio de competencia de solutos con el solvente en los sitios de superficie del adsorbente. Los compuestos son distribuidos en la superficie del adsorbente. Cada muestra es separada en la placa para evitar contaminación cruzada con otra. Para detectar biosurfactante, se utiliza un sistema de solventes dependiendo el tipo de compuesto de interés. Los solventes orgánicos e inorgánicos en los que puede ser disuelto y no volátiles son los que se prefieren. Los solventes que no pueden ser usados en HPLC, detección de UV por su interferencia pueden ser usados en el TLC. Algunos como el ácido acético, diétil éter, acetato de etilo, n-hexano y pirimidina son necesarios para mover los grupos funcionales del biosurfactante. La detección de los spots de las muestras en las placas de TLC, pueden ser determinadas por técnicas destructivas y no destructivas, las no destructivas tenemos la iodina, métodos con agua y radiación UV, las destructivas involucra el uso de H₂SO₄, orcinol, y ninhidrina para la detección de carbohidratos, lípidos y proteínas (Costa et al., 2006., Desai y Banat., 1997., Ellaiah et al., 2002., Gunther et al 2000, Arutchelvi y Doble., 2010).

Los biosurfactantes de alto peso molecular son analizados por ensayos colorimétricos (Lowry's, Bradford), espectrometría de masas (MS) y técnicas de secuenciación. El contenido de ácidos grasos y secuenciación del péptido es determinado con la ayuda de un equipo automatizado de degradación de EDMAN y espectrómetro de masas. La combinación de todas estas diferentes metodologías es importante para predecir la estructura completa del biosurfactante.

3 Determinación del contenido de proteína-lípidos

Los biosurfactante de alto peso molecular por lo general contienen lipoproteínas, proteínas, polisacáridos, lipopolisacáridos o combinación de estas. Las proteínas son cuantificadas por el método de Lowry (Lowry et al., 1951) y Bradford (1976) y es usado por varios investigadores.

4 Uso de proteasas para la digestión de proteínas

La identificación de la secuencia de aminoácidos de la proteína, no siempre es posible debido a la incapacidad de obtener mediciones precisas de proteínas más grandes, por lo que la degradación de EDMAN y la MS son más factibles para el análisis de estructura de péptidos pequeños. Es necesaria la digestión de la proteína en pequeños péptidos de 6 a 20 aminoácidos para ser analizadas por EDMAN y MS/MS con la finalidad de proporcionar información necesaria para identificar y reconstruir la estructura de la protei-

na completa. Las proteasas son usadas para la digestión, se usa tripsina por ejemplo que rompe las proteínas en los residuos de lisina y arginina en la dirección del C-terminal. Otras proteasas pueden ser usadas para ayudar a determinar el orden de secuencia de cada péptido (Strader et al., 2006 y Smyth et al., 2009b).

5 Electroforesis en geles de poliacrilamida-Dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE)

Este método sirve para separar y determinar el peso molecular de la molécula del biosurfactante, involucra el uso de electroforesis, en el cual la muestra es aplicada en un buffer de carga que contiene un buffer y SDS. El papel del buffer de reducción es romper los enlaces de disulfuro para facilitar la disposición lineal de la proteína. Seguido por la unión del SDS a la proteína (dependiendo de la masa molecular) para crear una proteína cargada negativamente. Bajo la influencia de la corriente eléctrica, las proteínas (dependiendo de la masa molecular) son separadas. Cada proteína puede ser eludida, removida y extraída de la banda (Toren et al., 2001).

6 Ensayos colorimétrico para detección y cuantificación de glicolípidos

Los glicolípidos son cuantificados por el desarrollo de color usando la prueba de antrona u órcinol. Estos ensayos detectan y cuantifican los glicolípidos presentes después de la acidificación y calentamiento de la ramnosa, la cual forma un color con el reactivo, se usa una curva de calibración de ramnosa o ramnolípidos de 0-50 mg/dl (Hodge y Hofreiter, 1962). Las moléculas de ramnosa de los ramnolípidos reaccionan con el H₂SO₄ y órcinol (1,3-dihidroxi-5-metilbenceno) a altas temperaturas (30 min/80°C) y es cuantificado a 421 nm (Koch et al., 1991).

7 Caracterización química de los biosurfactante

Existen varios métodos llamados: TLC, HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Afinidad), IR (Infrarrojo), GC-MS (Cromatografía de Gases-Espectrómetro de Masas), NMR (Resonancia Magnética Nuclear) y FAB-MS (Bombardeo Atómico Rápido-Espectrómetro de Masas). El HPLC, consiste en una fase móvil, fase estacionaria y un detector. La fase móvil lleva la muestra en solución y es inyectada a través del inyector. La fase estacionaria es un sólido, sobre el cual la fase móvil fluye continuamente los componentes de la muestra. Los componentes migran acorde a las interacciones no covalentes de los compuestos de la columna. El detector emite respuesta a la elución de la muestra y subsecuentemente señales en picos en el cromatograma. La cromatografía de gases GC-MS constituye un poderoso instrumento en la determinación de los componentes de una muestra, al permitir tanto la separación de éstos como su detección individual. El espectro de masas (MS) de un compuesto puro ofrece valiosa información para fines de identificación cualitativa, siendo la determinación del peso molecular lo más importante, si bien la

fragmentación de la molécula puede ayudar en gran medida a la identificación del compuesto (Yakimov et al., 1995). El análisis de infrarrojo (IR): consiste en la aplicación de una fuente de radiación infrarroja, la cual cubre el rango del espectro entre 0.78 y 1000 nm. La absorción de IR es restringida a compuestos con pequeña energía en los estados vibracional y rotacional. Esta técnica determina los grupos funcionales de muestras; gases, líquidos y sólidos, y apoya a la elucidación de la estructura del compuesto (Heyd et al., 2008). La surfactina, liquesina y ramnolípidos han sido caracterizados por esta técnica (Das, 2008; Mukherjee, 2008; Sen, 2008). El análisis por NMR; se basa en la transición de átomos con un momento magnético cuando un campo magnético externo se aplica. La NMR proporciona información sobre los grupos funcionales, así como la posición de los vínculos dentro de las moléculas de carbohidratos y lípidos. Es posible obtener la ubicación exacta de cada grupo funcional así como la información de los isómeros estructurales. El método de FAB-MS es un método de ionización suave que requiere una sonda de inserción directa para la introducción de la muestra. La muestra del biosurfactante se disuelve en metanol, se mezcla con la matriz y se utiliza para el análisis. El grupo de investigación de Manso Pajarrón et al., (1993) han identificado mezclas de ramnolípidos utilizando este método. Es importante mencionar que los requisitos de tiempo para llevar a cabo algunas de la extracción, purificación y análisis de algunos de los procedimientos descritos anteriormente pueden ser afectadas por varios factores tales como volumen de muestra, la presencia de carbono residual o la producción de otros sustratos como el petróleo, mezclas o complejas composiciones medio (Satpute et al., 2010).

Conclusiones

Basados en esta revisión, los biosurfactantes producidos por especies del género *Pseudomonas*, principalmente las asociadas a plantas son ampliamente diversos, en estructura, y en actividad biológica. Aunque se han identificado un gran número de genes involucrados en la biosíntesis de biosurfactantes, aun en varios de ellos se desconoce su regulación de producción en este género. Se conoce mucho en cuanto a la producción, biosíntesis, regulación y aplicaciones de los ramnolípidos, y se desconocen algunos de estos puntos en los lipopéptidos cíclicos. Se debe dar mayor énfasis en las bacterias que tienen la capacidad de producir biosurfactante, utilizar los métodos correctos para su identificación y elucidación de la estructura, así como las posibles aplicaciones ambientales (biocidas, biocontrol, biorremediación, etc) con la finalidad de usar estas tecnologías compatibles con el medio ambiente. Se debe considerar el uso de fuentes de carbono de bajo costo y renovables, así como continuar la investigación dirigida hacia el análisis y explotación de la secuencia de los genomas de las bacterias productoras, lo cual permitirá la comprensión de la síntesis, regulación y actividad de los biosurfactante producidos por *Pseudomonas sp.*

Referencias

- Abdel-Mawgoud, A. M., Lepine, F., Deziel, E., (2010). Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 1323–1336.
- Abdel-Mawgoud, A. M., Hausmann, R., Lépine, F., Müller, M. M., y Déziel, E., (2011). Rhamnolipids: detection, analysis, biosynthesis, genetic regulation and bioengineering of production. En: Sobéron-Chavez, G. (Ed.), *Biosurfactant, 1st edition*, VII 216 pp. Springer, Berlin, pp. 13–55.
- Abouseoud, M., Maachi, R., Amrane, A., Boudergua, S. y A. Nabi. (2008a). Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. *Conference on Desalination and the Environment*. Sani Resort, Halkidiki, Greece, pp 143-151.
- Abouseoud, M., Yataghene, A., Amran, A. y Maachi, R. (2008b). Biosurfactant production by free and alginate entrapped cells of *Pseudomonas fluorescens*. *J Ind Microbiol Biotech*, 35, 1303-1308.
- Alsohim, A. S., Taylor, T. B., Barrett, G. A., Gallie, J., Zhang, X. X., Altamirano-Junqueira, A. E., Johnson, L. J., Rainey, P. B. y Jackson, R. W. (2014). The biosurfactant viscosin produced by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 aids spreading motility and plant growth promotion. *Environ Microbiol*, 6(7), 2267-81.
- Banat, I. M., Makkar, R. S. y Cameotra, S. S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol*, 53, 495-508.
- Banat, I. M. (1993). The isolation of a thermophilic biosurfactant producing *Bacillus sp.* *Biotechnol Lett*, 15(6), 591-594.
- Barck, M. y Stenius, P. (1994). Interactions between carboxymethyl cellulose and cationic surfactants I. Phase equilibria and surface tensions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 89(1), 59-69.
- Bassarello, C., Lazzaroni, S., Bifulco, G., Cantore, P. L., Iacobellis, N. S., Riccio, R., Gomez-Paloma L. y Evidente, A. (2004). Tolaasins A-E, five new lipodepsipeptides produced by *Pseudomonas tolaasii*. *J. Nat. Prod.*, 67, 811-816.
- Benincasa, M., Abalos, A., Oliveira, I. y Manresa, A. (2004). Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie Van Leeuwenhoek Int J Gen Mol Microbiol*, 85, 1-8.
- Benincasa, M. y Accorsini, F. R. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* LBI production as an integrated process using the wastes from sunflower-oil refining as a substrate. *Bioresour Technol*, 99(9), 3843-9.
- Ben J. Duijff, W. Meijer, P. J., Bakker A. H. M. y Schippers, B. (1993). Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of fusarium wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Neth. J. Pl. Path.*, 99, 277-289.
- Bergström S., Theorell, H. y Davide, H. (1946). On a metabolic product of *Ps. pyocyanea*, pyolipic acid, active against *Myobact. tuberculosis*. *Ark. Kem. Mineral Geol*, 23A, 1-12.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microorganism quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Ana Biochem*, 76: 248-254.
- Braun, V. (1997). Surface signaling: novel transcription initiation mechanism starting from the cell surface. *Arch. Microbiol*, 167, 325-331.
- Bruijn I., Maarten, J. D., de K Meng., Y., de Waard, P., van Beek, T. A. y Raaijmakers, J. M. (2007). Genome-based discovery, structure prediction and functional analysis of cyclic lipopeptide antibiotics in *Pseudomonas* species. *Molecular Microbiology*, 63(2), 417-428.
- Bunster L, Fokkema, N. J. y Schippers, B. (1989). Effect of surface-active *Pseudomonas* spp. on leaf produced by *Pseudomonas marginalis*. *Canadian Journal of Microbiology*, 42 (3), 243-251.
- Burch, A. Y., Zeisler, V., Yokota, K., Schreiber, L. y Lindow, S. E. (2014). The hygroscopic biosurfactant syringafactin produced by *Pseudomonas syringae* enhances fitness on leaf surfaces during fluctuating humidity. *Environ Microbiol*. 16(7), 2086-98.
- Burd, G., y Ward, O. P. (1997). Energy-dependent accumulation of particulate biosurfactant by *Pseudomonas marginalis*. *Can J Microbiol*, 43, 391-94.
- Cameotra, S. S. y Bollag, J. M. (2003). Biosurfactant-enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Crit. Rev. Env. Sci. Tec*, 33, 111-126.
- Carrillo, P. G., Mardaraz, C., Pitta-Alvarez, S. I. y Giuliett, A. M. (1996). Isolation and selection of biosurfactant producing bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*, 12, 82-84.
- Caiazza, N. C., Shanks, R. M. Q., y O'Toole, G. A. (2005). Rhamnolipids modulate swarming motility patterns of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol*, 187, 7351–7361.
- Celik, G. Y., Aslim, B. y Beyatli, Y. (2008). Enhanced crude oil biodegradation and rhamnolipid production by *Pseudomonas stutzeri* strain G11 in the presence of Tween-80 and Triton X-100. *J Environ Biol*, 29, 867-870.
- Chayabutra, C., Wu, J. y Lu-Kwang, J. (2001). Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification: effects of limiting nutrients and carbon substrates. *Biotechnol. Bioeng*, 72, 25-33.
- Cho, K. H., Wang, H. S. y Kim, Y. K. (2010). Temperature-dependent hemolytic activity of membrane pore-forming peptide toxin, tolaasin. *J Pept Sci*, 16(2), 85-90.
- Coiro, V. M., Segre, A. L., Di Nola, A., Paci, M., Grottesi, A., Veglia, G. y Ballio, A. (1998). Solution conformation of the *Pseudomonas syringae* MSU 16H phytotoxic lipodepsipeptide Pseudomicina A determined for computer simulations using distance geometry and molecular dynamics from NMR data. *Eur J Biochem*, 257, 449-56.
- Cooper, D. G., Macdonald, C. R., Duff, S.J. y Kosaric, N. (1981). Enhanced Production of Surfactin from *Bacillus subtilis* by Continuous Product Removal and Metal Cati-

- on Additions. *Appl Environ Microbiol*, 42, 408-412.
- Costa S.G., Nitschke, M., Haddad, R., Eberlin, M. N. y Contiero, J. (2006). Production of *Pseudomonas aeruginosa* LBI rhamnolipids following growth on Brazilian native oils. *Process Biochem*, 41, 483-488.
- Costa S.G., Lépine, F., Milot, S., Déziel, E., Nitschke M. y Contiero J. (2009). Cassava wastewater as a substrate for the simultaneous production of rhamnolipids and polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 36(8), 1063-72.
- Cuny, P., Acquaviva, M. y Gilewicz, M. (2004). Phenanthrene degradation, emulsification and surface tension activities of a *Pseudomonas putida* strain isolated from a coastal oil contaminated microbial mat. *Ophelia*, 58, 283-287.
- D'aes, J., Hua, G. K., De Maeyer, K., Pannecoucq, J., Forrez, I., Ongena, M., Dietrich, L. E., Thomashow, L. S., Mavrodi, D. V. y Hofte, M. (2011). Biological control of Rhizoctonia root rot on bean by phenazine and cyclic lipopeptide-producing *Pseudomonas* CMR12a. *Phytopathology*, 101, 996-1004.
- Das, P., Mukherjee, S. y Sen, R. (2008). Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactante derived from a marine *Bacillus circulans*. *J Appl Microbiol*, 104, 1675-1684.
- Desai, A. J., Patel, K. M., y Desai, J. D. (1988). Emulsifier production by *Pseudomonas fluorescens* during the growth on hydrocarbons. *Current Science*, 57(9), 500-501.
- Desai, J. D. y Banat, I. M. (1997). Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev*, 61, 47-64.
- Desai, J. D. y Desai, J. A. (1993). Production of biosurfactants. En N. Kosaric (ed.), *Biosurfactants*. Marcel Dekker, New York, pp. 65-97.
- Déziel, E., Lépine, F., Milot, S. y Villemur, R. (2003). *rhlA* is required for the production of a novel biosurfactant promoting swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa*: 3-(3-hydroxyalkanoyloxy) alkanolic acids (HAAs), the precursors of rhamnolipids. *Microbiol Sgm*, 149, 2005-2013.
- Dubern, J. F., Lagenrijk, E. L., Lugtenberg, B. J. J. y Bloemberg, G. V. (2005). The heat shock genes *dnaK*, *dnaJ*, and *grpE* are involved in regulation of putisolvin biosynthesis in *Pseudomonas putida* PCL1445. *Journal of Bacteriology*, 187(17), 5967-76.
- Dubern, J. F., Lagendijk, E. L., Lugtenberg, B. J. J. y Bloemberg, G. V. (2005). The heat shock genes *dnaK*, *dnaJ*, and *grpE* are involved in regulation of putisolvin biosynthesis in *Pseudomonas putida* PCL1445. *J Bacteriol*, 187, 5967-5976.
- Dubern, J. F., Lugtenberg, B. J. J. y Bloemberg, G. V. (2006). The *ppuI-rsaL-ppuR* quorum sensing system regulates biofilm formation of *Pseudomonas putida* PCL1445 by controlling biosynthesis of the cyclic lipopeptides putisolvin I and II. *J.Bacteriol*, 188, 2898-2906.
- Dubey, K. y Juwarkar, A. (2001). Distillery and curd whey wastes as viable alternative sources for biosurfactant production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 61-69.
- Dubern, J.F. y Guido, B. V. (2006). Influence of environmental conditions on putisolvins I and II production in *Pseudomonas putida* strain PCL1445. *FEMS Microbiol Lett*, 263, 169-175.
- Edwards, J. R. y Hayashi, J. A. (1965). Structure of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch. Biochem. Biophys*, 111, 415-421.
- Ellaiah, P., Prabhakar, T., Sreekanth, M., Taleb, A. T., Raju, P. B. y Saisha, V. (2002). Production of glycolipids containing biosurfactant by *Pseudomonas species*. *Indian J Exp Biol*, 40, 1083-1086.
- Finking, R. and M.A. Marahiel. (2004). Biosynthesis of nonribosomal peptides. *Annu. Rev. Microbiol.* 58:453-88
- Gautam K.K. y Tyagi V.K. (2006). Microbial surfactants: a review. *J. Oleo Sci*, 55, 155-166.
- Georgiou, G., Lin, S. C. Sharma, M. M. (1992). Surface-active compounds from microorganisms. *Biotechnology*, 10, 60-65.
- Gewolb, J. (2002). Bioengineering. Working outside the protein-synthesis rules. *Science*, 295, 2205-2207.
- Guenzi, E., Galli, G., Grgurina, I., Dennis, C. G., y Grandi, G. (1998). Characterization of the Syringomycin Synthetase gen Cluster. A link between prokaryotic and eukaryotic peptide synthetases. *Journal of Biological Chemistry*, 273(49), 32857-32863.
- Gunther, N. W., Nunez, A., Fett, W. y Solaiman, D. K. Y. (2005). Production of rhamnolipids by *Pseudomonas chlororaphis*, a nonpathogenic bacterium. *Appl Environ Microbiol*, 71, 2288-2293.
- Gunther, N. W., Nunez, A., Fortis, L., Solaiman, D. K. Y. (2006). Proteomic based investigation of rhamnolipid production by *Pseudomonas chlororaphis* strain NRRL B-30761. *J Ind Microbiol Biotech*, 33, 914-920.
- Haba E., Espuny, M. J., Busquets, M. y Manresa, A. (2000). Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB40044 from waste frying oils. *J. Appl. Microbiol*, 88, 379-387.
- Hansen, K.G., Desai, J. D. y Desai, A. J. (1993). A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. *Biotechnology. Technology*, 7, 745-748.
- Heid, M., Kohnert, A. Tan, T. H., Nusser, M., Kirschhöfer, F., Brenner-Weiss, G., Franzreb, M. y Berensmeier S. (2009). Development and trends of biosurfactant analysis and purification using rhamnolipids as an example. *Anal Bioanal Chem*, 391, 1579-1590
- Hemminger, P. (2005). Bioremediation of contaminated soils. *Biocycle*, 46, 35-38.
- Henriksen, A., Anthoni, U., Nielsen, T.H., Sørensen, J., Christophersen, C. y Gajhede, M. (2000). Cyclic lipoundecapeptide tensin from *Pseudomonas fluorescens* strain 96.578. *Acta Crystal*, 56, 113-115.
- Hildebrand, P. D. (1989). Surfactant-like characteristics and identity of bacteria associated with broccoli head rot in Atlantic Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*,

- 11(3), 205-224.
- Hisatsuka K., Nakahara, T., Sano, N. y Yamada, K. (1971). Formation of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* and its function in hydrocarbon fermentation. *Agr. Biol. Chem. Tokyo*, 35, 686-692.
- Hodge, J.D. y Hofreiter, B. T. (1962). Determination of reducing sugars and carbohydrates. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 1: 380-394.
- Huber, B., Riedel, K., Kothe, M., Givskov, M., Molin, S. y Eberl, L. (2002). genetic analysis of function involved in the late stages of biofilm development in *Burkholderia cepacia* HIII. *Mol Microbiol*, 46, 411-426.
- Hultberg M, Alsberg, T., Khalil, S. y Alsanius, B. (2010). Suppression of disease in tomato infected by *Pythium ultimum* with a biosurfactant produced by *Pseudomonas koreensis*. *BioControl*, 55(3), 435-444.
- Husain, S. (2008). Effect of surfactants on pyrene degradation by *Pseudomonas fluorescens* 29L. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 2411-2419.
- Hutchinson, M. L., Tester, M. A. y Gross, D. C. (1995). Role of biosurfactants and ion-channelforming activities of syringomycin in transmembrane ion flux - a model for the 150 mechanism of action in the plant-pathogen interaction. *Mol Plant Microbe Interact*, 8, 610-620.
- Hutchison, M. I. y Johnstone, K. (1993). Evidence for the involvement of the surface-active properties of the extracellular toxin tolaasin in the manifestation of brown blotch disease symptoms by *Pseudomonas tolaasii* on *Agaricus bisporus*. *Physiol. Mol. Plant Pathol*, 42, 373-384.
- Itoh, S. y Suzuki, T. (1972). Effect of rhamnolipids on growth of *Pseudomonas aeruginosa* mutant deficient in n-paraffin-utilizing ability. *Agric. Biol. Chem. Tokyo*, 36, 2233-2235.
- Jadhav, M., Kalme, S., Tamboli, D. y Govindwar, S. (2011). Rhamnolipid from *Pseudomonas desmolyticum* NCIM-2112 and its role in the degradation of Brown 3REL. *Journal of Basic Microbiology*, 51(4), 385-396.
- Jagtap, S., Yavankar, S., Pardesi, K. y Chopade, B. (2009). Production of bioemulsifier by *Acinetobacter sp.* from healthy human skin of tribal population. *Ind J Expt Biol* (in press).
- Jain, D. K., Thompson, D. L. C, Lee, H. y Trevors, J. T. (1991). A drop-collapsing test for screening surfactant producing microorganisms. *J. Microbiol. Methods*, 13, 271-279.
- Janek, T., Lukaszewicz, M., Rezanka, T. y Krasowska, A. (2010). Isolation and characterization of two new lipopeptide biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* BD5 isolated from water from the Arctic Archipelago of Svalbard. *Bioresour Technol*, 101(15), 6118-23.
- Janiyani, K.L., Wate, S.R. y Joshi, S. R. 1992. Surfactant production by *Pseudomonas stutzeri*. *J Microb Biotechnol*, 7, 18-21.
- Jarvis, F.G. y Johnson, M. J. (1949). A Glyco-lipide produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Am Chem Soc*, 71, 4124-4126.
- Jiménez, D. I., Medina, S. A. M. y Gracida, J. N. (2010). Propiedades, Aplicaciones y Producción de Biotensoactivos. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 26(1) 65-84.
- Kaplan N. y Rosenberg, E. (1982). Exopolysaccharide distribution of and bioemulsifier production by *Acinetobacter calcoaceticus* BD4 and BD413. *Appl Environ Microbiol*, 44, 1335-1341.
- Kruijt, M., Tran, H. & Raaijmakers, J. M. (2009). Functional, genetic and chemical characterization of biosurfactants produced by plant growth-promoting *Pseudomonas putida* 267. *J Appl Microbiol*, 107, 546-56.
- Koch, B., Nielsen, T.H., Sørensen, D., Andersen, J. B. Christophersen, C., Molin, S., Givskov, M., Sørensen, J., y Nybroe, O. (2002). Lipopeptide Production in *Pseudomonas sp.* Strain DSS73 Is Regulated by Components of Sugar Beet Seed Exudate via the Gac Two-Component Regulatory System. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4509-4516.
- Koch, A. K., Käppeli, O., Fiechter, A. Reiser, J. (1991). Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants. *J Bacteriol*, 173, 4212-4219.
- Kochi, M., Weiss, D. W., Pugh, L. H. y Groupé, V. (1951). Viscosin, a new antibiotic. *Bacteriol Proc*, 1, 29-30.
- Kohli, R.M., Trauger, J.W., Schwarzer, D., Marahiel, M.A. y Walsh, C. T. (2001). generality of peptide cyclization catalyzed by isolated thioesterase domains of nonribosomal peptide synthetases. *Biochemistry*. 40, 7099-108
- Kuiper I., Bloemberg, G.V. y Lugtenberg, B.J.J. (2001). Selection of a plant-bacterium pair as a novel tool for rhizostimulation of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria. *Mol Plant-Microbe Interact*, 14 1197-1205.
- Kuiper I., Lagendijk, E.L., Pickford, R., Derrick, J.P., Lamers, G.E.M., Thomas-Oates, J.E., Lugtenberg, B.J. y Bloemberg, G.V. (2004). Characterization of two *Pseudomonas putida* lipopeptide biosurfactants, putisolvin II and I, which inhibit biofilms formation and break down existing biofilms. *Mol Microbiol* 51, 97-113.
- Kwang-Hyun, C., Sung-Tae, K. y Young-Kee, K. (2007). Purification of a Pore-forming Peptide Toxin, Tolaasin, Produced by *Pseudomonas tolaasii* 6264. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 40 (1), 113-118.
- Laycock, M.V., Hildebrand, P.D., Thibault, P., Walter, J.A. y Wright, J.L.C. (1991). Viscosin, a potent peptidolipid biosurfactant and phytopathogenic mediator produced by a pectolytic strain of *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 483-489.
- Lépine, F., Déziel, E., Milot, S. y Villemur, R. (2002). Liquid chromatographic/mass spectrometric detection of the 3-(3-hydroxyalkanoyloxy) alkanolic acid precursors of rhamnolipids in *Pseudomonas aeruginosa* cultures. *J Mass Spectrom* 37, 41-46.
- Lim, S.P., Roongsawang, N., Washio, K. y Morikawa, M. (2007). Functional analysis of a pyoverdine synthetase from *Pseudomonas sp.* MIS38. *Biosci Biotechnol Biochem*, 71(8), 2002-9.
- Lim, S.P., Roongsawang, N., Washio, K. y Morikawa, M.

- (2009). Flexible exportation mechanisms of arthrofactin in *Pseudomonas sp.* MIS38. *J Appl Microbiol*, 107(1), 157-66.
- Liu Z., Laha S. y Luthy, R.G.. (1991). Surfactant solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in soil-water suspensions. *Water Sci. Technol.* 23, 475-485.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265-275.
- Maiher, R.M. y Soberón-Chávez, G.. (2000). *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Appl. Microbiol. Biot.*, 54, 625-633.
- Maiqian, N., Xihou, Y., Chunyan, R., Yang, W., Feng, X. y Qirong S. (2010). Novel rhamnolipid biosurfactants produced by a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium *Pseudomonas aeruginosa* strain NY3. *Biotechnology Advances*, 28(5), 635-643.
- Makkar, R.M. Cameotra, S. S. (1997). Biosurfactant production by a thermophilic *Bacillus subtilis* strain. *J Ind Microbiol Bioeng*, 18, 37-42.
- Makkar, R.S. y Cameotra, S. S. (2002). An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 58, 428-434.
- Manso-Pajarrón, A., De Koster, C.G., Heerma, W., Schmidt, M. y Haverkamp, J. (1993). Structure identification of natural rhamnolipid mixtures by fast atom bombardment tandem mass spectrometry. *Glycoconjugate J*, 10, 219-226.
- Marsudi, S., Unno, H. y Hori, K. (2008). Palm oil utilization for the simultaneous production of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 78(6), 955-61.
- Martínez-Toledo A., Ríos-Leal, E., Vázquez-Duhalt, R., González-Chavez, M. C., Esparza-García, F.J. y Rodríguez-Vázquez, R. (2006). Role of phenanthrene in rhamnolipid production by *P. putida* in different media. *Environ Technol*, 27, 137-142.
- Matsuyama T., Sogawa, M. y Yano, I. (1987). Direct colony thin-layer chromatography and rapid characterization of *Serratia marcescens* mutants defective in production of wetting agents. *Appl. Environ. Microbiol*, 57, 1186-1188.
- Mercade, M. E., Manresa, M. A., Robert, M., Espuny, M. J., de Andres, C. y Guinea, J. (1993). Olive oil mill effluent (OOME). New substrate for biosurfactant production. *Bioresource Technology*, 43, 1-6.
- Mishra P. K., Mishra, S., Bisht, S. C., Selvakumar, G., Kundu, S., Bisht J.K. y Gupta, H. S. (2009). Isolation, molecular characterization and growth-promotion activities of a cold tolerant bacterium *Pseudomonas sp. NARs9 (MTCC9002)* from the Indian Himalayas. *Biol Res*, 42(3), 305-13.
- Mohamed, S., Al-Jilawi, H. M., y Ghazi, M. A. (2007). Emulsification Properties of Biosurfactant Produced from *Pseudomonas aeruginosa* RB 28. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10, 1331-1335.
- Monti, S.M., Gallo, M., Ferracane, R., Borrelli, R.C., Riti, A., Greco, M. L., Graniti, A. y Flogiano, V. (2001). Analysis of bacterial lipopeptides by matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight and high performance liquid chromatography with electrospray mass spectrometry. *Rap Commun Mass Spectrometry*, 15, 623-8.
- Morikawa, M., Hirata, Y. y Imanaka, T. (2000). A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants. *Biochim Biophys Acta*, 1488, 211-218.
- Mukherjee, S., Das, P. y Sen, R. (2006). Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol*, 24, 509-515.
- Mulet, M., Lalucat, J. y García-Valdés, F. (2010). DNA sequence-based analysis of the *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology*. 12(6), 1513-30.
- Muller, M. M., Kugler, J. H., Henkel, M., Gerlitzki, M., Hormann, B., Pohnlein, M., Syldatk, C. y Hausmann, R. (2012). Rhamnolipids--next generation surfactants? *J Biotechnol*, 162, 366-80.
- Mulligan, C.N. y Gibbs, B.F. (1989). Correlation of nitrogen metabolism with biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Environment Microbiology*, 55, 3016-3019.
- Mulligan, C. (2009). Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. *Current opinion of colloids and interface science*, 14, 372-378.
- Murata, H. y Magae, Y. (1996). Toxin production in a mushroom pathogenic bacterium, *Pseudomonas tolaasii* strain PT814 is activated by signals present in a host, *Pleurotus ostreatus*, and those accumulating in the medium in the course of bacterial growth. En D. J. Royce (ed). *Mushroom biology and mushroom products*, 483-494.
- Neu, T.R., Hartner, T. y Poralla, K. (1990). Surface active properties of Viscosin a peptidolipid antibiotic. *Appl Microbiol Biotechnol*, 32, 518-520.
- Nielsen T. H., D. Sørensen, C. Tobiassen, J. B. Andersen, C. Christophersen, M. Givskov y J. Sørensen. (2002). Antibiotic and Biosurfactant Properties of Cyclic Lipopeptides Produced by Fluorescent *Pseudomonas sp.* From the Sugar Beet Rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3416-3423.
- Nitschke, M., Costa, S. y Contiero, J. (2009). Structure and applications of a rhamnolipid surfactant produced in soybean oil waste. *Appl Biochem Biotechnol*. 160(7), 2066-74.
- Nitschke, M. y Pastore, G.M. (2006). Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. *Bioresour Technol*, 97, 336-341.
- Nitschke, M., Costa, S.G.V., y Conteiro, J. (2005a). Rhamnolipid surfactants: an update on the general aspects of these remarkable biomolecules. *Biotechnol Prog*, 21, 1593-1600.
- Nitschke M., Costa, S.G.V., Haddad, R., Gonçalves, L.A.G., Eberlin, M.N., y Conteiro, J. (2005b). Oil wastes as unconventional substrates for rhamnolipid biosurfac-

- tant production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI. *Bio-technol Prog*, 21, 1562-1566.
- Nunez, A., Ashby, R., Foglia T.A., y Solaiman, D. K. Y. (2001). Analysis and characterization of sophorolipids by liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization. *Chromatographia*, 53, 673-677.
- Onbasli, D. y Aslim, B. (2009). Biosurfactant production in sugar beet molasses by some *Pseudomonas spp.* *J Environ Biol*, 30, 161-163.
- Onbasli, D. y Aslim, B. (2009). Effects of some organic pollutants on the exopolysaccharides (EPSs) produced by some *Pseudomonas spp.* strains. *J Hazard Mater*, 168(1), 64-7.
- Palleroni, N.J. (1984). Genus I *Pseudomonas* Migula 1894. En N.R Kreig y J. G. Holt (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Baltimore, MD. USA: The Williams's vs Wilkins Co., 323-379.
- Patel, R.M. y Desai, A. J. (1997). Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* GS3 from molasses. *Letters in Applied Microbiology*, 25, 91-94.
- Patil, J.R. y Chopade, B. A. (2001a). Distribution and in vitro antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species on the skin of healthy humans. *Natl Med J India*, 14, 204-208.
- Patil, J.R. y Chopade, B. A. (2001b). Studies on bioemulsifier production by *Acinetobacter* strains isolated from healthy human skin. *J Appl Microbiol*, 91, 290-298.
- Persson, A., Molin, G. y Weibull, C. (1990a). Physiological and morphological changes induced by nutrient limitation of *Pseudomonas fluorescens* 378 in continuous culture. *Applied Environment and Microbiology*, 56, 686-692.
- Persson, A., Molin, G. y Weibull, C. (1990b). Biosurfactant yields and nutrient consumption of *Pseudomonas fluorescens* 378 studied in a microcomputer controlled multi-fermentation system. *Biotechnology Bioengineer*, 36, 252-255.
- Persson, A., Osterberg E. y Dostalek, M. (1988). Biosurfactant production by *Pseudomonas fluorescens* 378: growth and product characteristics. *Applied Microbiology Biotechnology*, 29, 1-4.
- Phale, P.S., Savithri, H.S., Rao, N. y Vaidyanathan, C. S. (1995). Production of biosurfactant Biosur-pm by *Pseudomonas maltophilia* Csv89. Characteriation and role in hydrocarbon Uptake. *Arch Microbiol*, 163, 424-31.
- Phetrong, K., H-Kittikun, A. y Maneerat, S. (2008). Production and characterization of bioemulsifier from a marine bacterium, *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* SM7. *Songklanakar J Sci Technol*, 30(3), 297-305.
- Raaijmakers, J.M., de Bruijn I. y de Kock Maarten, J. D. (2006). Cyclic Lipopeptide Production by Plant-Associated *Pseudomonas spp.* Diversity, Activity, Biosynthesis, and Regulation. *MPMI*, 19(7), 699-710.
- Rahim, R., Ochsner, U. A., Olvera, C., Graninger, M., Messner, P., Lam, J. S. y Soberón-Chávez, G. (2001). Cloning and functional characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* rhlC gen that encodes rhamnolipid transferase 2, an enzyme responsible for di-rhamnolipid biosynthesis. *Mol Microbiol*, 40, 708-718.
- Rahman, P., Lungut, A., Idowu, J. Olea, M. (2009). Biosurfactant production using novel bacteria from North-east England. *Building business on bioscience sustainable innovation conference*. Heriot-Watt University, Edinburgh.
- Rainey, P.B., Brodey, C.L. y Johnstone, K. (1993). Identification of a gen cluster encoding three high-molecular-weight proteins, which is required for synthesis of tolaasin by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii*. *Mol Microbiol*, 8(4), 643-52.
- Rapp, P., Bock, H., Wray, V. Wagner, F. (1979). Formation, isolation and characterization of trehalose dimycolates from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *J Gen Microbiol*, 115, 491-503.
- Risse, D., Beiderbeck, H., Taraz, K., Budzikiewicz H. y Gustine, D. (1998). Bacterial constituents part LXXVII. Corrugatina, a lipopeptide siderophore from *Pseudomonas corrugate*. *J Biosci*, 10, 869-80.
- Robert, M., Mercade, M. E., Bosch, M. P., Parra, J. L., Espuny, M. J., Manresa M.A. y Guinea, J. (1989). Effect of the carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44Ti. *Biotechnology Letters*, 11, 871-874.
- Rokni-Zadeh, H., LI, W., Sanchez-Rodriguez, A., Sinnave, D., Rozenski, J., Martins, J. C. y De Mot, R. (2012). genetic and functional characterization of cyclic lipopeptide white-line-inducing principle (WLIP) production by rice rhizosphere isolate *Pseudomonas putida* RW10S2. *Appl Environ Microbiol*, 78, 4826-34.
- Rokni-zadeh, H., Li, W., Yilma, E., Sanchez-Rodriguez, A. y De Mot, R. (2013). Distinct lipopeptide production systems for WLIP (white line-inducing principle) in *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Environ Microbiol Rep*, 5, 160-9.
- Rosen, M. (2004). *Surfactants and interfacial phenomena*. John Wiley and Sons, Inc. USA.
- Rosenberg, E., Zuckerberg, A., Rubinovitz, C. y Gutnick, D. L. (1979). Emulsifier of Arthrobacter RAG-1: isolation and emulsifying properties. *Appl Environ Microbiol*, 37, 402-408.
- Rosenberg, E. (1993). Exploiting microbial growth on hydrocarbons- new markets. *Tibtech*, 11, 419-424.
- Segre, A., Bachmann, R.C., Ballio, A., Bossa, F., Grgurina, I., Iacobellis, N.S., Marino, G., Pucci, P., Simmaco, M. y Takemoto, J. Y. (1989). The structure of syringomycins A1, E and G. *FEBS Lett*, 255(1), 27-31.
- Shirata, A., Sugaya, K., Takasugi M., y Monde, K. (1995). Isolation and biological activity of toxins produced by a Japanese strain of *Pseudomonas tolaasii*, the pathogen of bacterial rot of cultivated oyster mushroom. *Ann. Phytopathol.Soc. Jpn*, 61, 493-502.
- Shulga, A. N., Karpenko, E.V., Eliseev, S.A. y Turovsky, A. A. (1993). The method for determination of anionogenic bacterial surface-active peptidolipids. *Microbiol. J*, 55, 85-88.
- Sieber, S.A. y Marahiel, M. A. (2005). Molecular mechanisms underlying nonribosomal peptide synthesis: approaches to new antibiotics. *Chem Rev*, 105, 715-738.