

¿De héroes a vencidos? Los patógenos microbianos están ganando la batalla frente a los antibióticos

José G. Ibarra^{1,2} y Beatriz S. Méndez¹

¹*Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos*

Aires. ²IQUIBICEN-CONICET

jibarra@qb.fcen.uba.ar , bea@qb.fcen.uba.ar

Los niveles de resistencia a antibióticos que se están alcanzando mundialmente son difíciles de controlar. Enfermedades como neumonía, tuberculosis, septicemia, gonorrea o las de transmisión alimentaria, son a veces imposibles de tratar a medida que los antibióticos van perdiendo eficacia. Se supone que si no se arbitran controles, la resistencia antibióticos podría ser la mayor causa de muerte hacia 2050 [1,2].

Varias son las razones que nos han llevado a la actual situación. Principalmente la adquisición de antibióticos sin receta, y su uso abusivo tanto en las prácticas médicas como en producción agropecuaria. Es en este campo en el cual el uso de antibióticos tiene muchos defensores y si bien actualmente se están haciendo esfuerzos para reemplazar los antibióticos como promotores del crecimiento animal [3], es el modo de producción estandarizado actual en muchas industrias, entre ellas la producción de pollos. Además de ser usados para mejorar el peso animal algunas prácticas veterinarias los consideran importantes para prevención de enfermedades y en este caso se inoculan animales sanos con dosis sub terapéuticas de antibióticos. La Organización Mundial de la Salud ha recomendado una restricción total en el uso de antibióticos para cualquiera de estas dos prácticas. Sin embargo dicha advertencia ha generado oposición en distintos países, tanto de parte de gobiernos como de asociaciones de veterinarios y productores que sostienen que son importantes para preservar la salud, tanto la humana como la animal, y la seguridad alimentaria.

El ámbito en el que mayor preocupación genera la adquisición de resistencias a antibióticos es, sin dudas el intrahospitalario, sin embargo recientemente la atención se volcó hacia el medio ambiente ya que, solo con considerar el número de bacterias en la superficie terrestre que se estima alrededor de 10^{30} , es evidente que tanto la transmisión bacteriana como la generación de patógenos resistentes no es difícil de alcanzar. Dicha situación se traduce en una oportunidad para generar mutaciones y transferencia genética horizontal que daría como resultado una gran población bacteriana portadora de genes de resistencia.

Ambas prácticas mencionadas anteriormente, la toma indiscriminada y mal prescrita de antibióticos en medicina y el uso que se les da en producción animal, se relacionan con el interés puesto en el medio ambiente. El uso mal regulado de antibióticos tiene como consecuencia que aumente el número de bacterias resistentes en el tracto intestinal. Si bien el tratamiento de aguas residuales, tanto de origen hogareño como industrial, reduce la cantidad de bacterias presentes en esos líquidos, ya sean o no patógenas o portadoras de genes de resistencia, aquellas que no han sido tratadas se pueden encontrar en las calles, ser usadas para riego de cultivos, descargadas directamente a ríos o lagos y en muchas otras situaciones fuera de control sanitario. Se transforman entonces en un caldo de cultivo de un número considerable de bacterias portadoras de resistencia. Estos microorganismos liberados al ambiente pueden eventualmente transferir genes de resistencia a microorganismos ambientales, que luego entrarán en contacto con humanos y

animales. Tales casos comenzaron a ser reportados poco tiempo atrás. Buenos ejemplos de esto son la detección de genes de resistencia en el Río de la Plata en las cercanías a las zonas de descarga de aguas residuales en la costa uruguaya [4], como así también en la superficie de verduras de hoja, originadas en este caso por la presencia de microorganismos resistentes presentes en el agua de riego [5].

Sin embargo no todas las bacterias retienen dichos genes ya que eso demanda una capacidad física mayor que la que corresponde a su crecimiento habitual. Luego solo se mantendrán ante una fuerte presión selectiva. Ocurre que muchos de los ambientes en los que se liberan se detecta asimismo la presencia de metales pesados, como Cd o Pb, que de por sí son tóxicos tanto para plantas como para humanos y animales y que además puede vehiculizar la resistencia a antibióticos ya que ha sido detectada en plásmidos conjuntamente con resistencia a metales [6,7]. Si bien la adquisición de genes resistentes, ya sea por mutación o transferencia, en sí no provocaría un riesgo para la salud, dada la multiplicidad de espacios colonizados por bacterias es altamente probable la transmisión horizontal a patógenos humanos o animales. Por otra parte en el microbioma humano están presentes genes de resistencia a antibióticos pero que, en general hasta ahora, no se transfirieron a patógenos humanos

Otros ambientes que presentan riesgos de la propagación de patógenos portadores de resistencia son aquellos en los que se descargan tanto los antibióticos no usados como los excedentes, e incluso no es despreciable la cantidad de antibiótico liberado al ambiente en aguas de desecho no tratadas cuyo origen es la eliminación por orina del excedente no metabolizado. Este fenómeno es especialmente importante en la producción agropecuaria, en campos y corrales para la cría de animales para consumo, en los que se utilizan dosis en exceso. El aumento en la concentración de antibióticos puede alterar la dinámica de las poblaciones de microorganismos naturales, incluyendo la selección resistencias [8].

¿Qué se puede hacer o exigir?

Si consideramos los peligros asociados a las condiciones ambientales antes mencionadas, mejores tratamientos de las aguas residuales y disminuir o eliminar el uso de antibióticos en la agroindustria son una imperiosa necesidad y en el último caso prohibiciones de origen gubernamental a nivel mundial ya que los viajes intercontinentales hace inocuas las reglamentaciones nacionales.

A la vez se debe fomentar y financiar al estudio de las condiciones que originen enfermedades dependientes de terapias con antibióticos de manera de tener información que permitiese disminuir el número de patógenos portadores de resistencia y correlativamente su dispersión. A nivel de la salud pública es urgente que se cambie la forma de prescribir y utilizar los antibióticos. Aunque se desarrollen nuevos medicamentos, si no se modifican los comportamientos actuales, la resistencia a los antibióticos seguirá representando una grave amenaza. Los cambios de hábitos también deben incluir medidas destinadas a reducir la propagación de las infecciones, a través de la vacunación, el lavado de las manos, la seguridad de las relaciones sexuales y una buena higiene alimentaria [2].

Es absolutamente necesario que los científicos involucrados en estos temas enfatizen la trasmisión del conocimiento de sus investigaciones a la sociedad. De esta manera se podría lograr un comportamiento general cuidadoso en el uso de medicamentos que salvaron tantas vidas, para que sigan siendo útiles a toda la humanidad y de ser posible por un largo tiempo.

Referencias

1. **Editorial** (2018) *The Lancet Planetary Health* Vol.2 [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(17\)30182-1](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(17)30182-1)
2. **World Health Organization** (2018) Antibiotic resistance <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
3. **Diaz Carrasco JM, Redondo EA, Pin Viso ND, Redondo LM, Farber MD, Fernandez Miyakawa ME** (2018) Tannins and bacitracin differentially modulate gut microbiota of broiler chickens. *BioMed research international* doi.org/10.1155/2018/1879168

4. **Fresia VA, Salazar C, Giménez M, D'Alessandro B, Afshinnekoo E, Mason C, Gonnet GH, Iraola G** (2019) Urban metagenomics uncover antibiotic resistance reservoirs in coastal beach and sewage waters. *Microbiome* 7(1):35. doi: 10.1186/s40168-019-0648-z
5. **Holvoet K, Sampers I, Callens B, Dewulf JC, Uyttendaele M** (2013) Moderate Prevalence of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Lettuce, Irrigation Water, and Soil. *Applied and Environmental Microbiology* 79:6677–6683
6. **Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ** (2018) Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews* 42:58-80
7. **Pal C, Asiani K, Arya S, Rensing C, Stekel DJ, Larsson DGJ, Hobman JL** (2017) Metal Resistance and Its Association With Antibiotic Resistance. *Advances in Microbial Physiology* 70:261-313
8. **Martínez JL** (2008) Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments. *Science* 321:365-367



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Número 2, año 18, Agosto 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Prof. Dra. Celia E. Coto (18/2/1936 – 15/4/2019)
Una maestra de la virología y un ejemplo de vida

Elsa B. Damonte



Dra. Celia Coto

edamonte@qb.fcen.uba.ar

Voy a ocupar estas líneas en Química Viva para recordar a la Dra. Celia Coto a través de mi experiencia personal con ella a lo largo de más de 40 años, como su becaria y discípula primero y luego compartiendo juntas todo un bagaje de actividades en lo profesional y en lo personal. Quiero destacar brevemente lo que creo que ha sido su legado tanto en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales como en el ambiente de la virología en Argentina.

La Dra. Celia Coto se graduó de Licenciada y Doctora en Ciencias Químicas en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), de la Universidad de Buenos Aires, UBA. Se inició en la investigación científica en virología en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UBA bajo la dirección del Prof. Armando Parodi, descubridor del virus Junín y su muy querido primer maestro y consejero. Sin embargo, a

los pocos años tuvo la oportunidad de volver a la Facultad de Ciencias, como lo deseaba, mediante un llamado promovido por el Prof. Titular de Microbiología, Dr. Osvaldo Peso, para iniciar en el entonces Centro de Investigaciones Microbiológicas, dentro del Departamento de Química Biológica, distintas áreas de docencia e investigación. Una de ellas fue Virología y así fue como Celia Coto creó el Laboratorio de Virología de la FCEN-UBA a comienzos de la década del 70 y allí comenzó su trayectoria en esta Facultad, poniendo el énfasis principal de su accionar en promover el desarrollo de la virología en el país.

Para lograr su objetivo, en primer lugar tuvo una gran dedicación a la docencia que ejerció con vocación auténtica, alcanzando la posición de Profesora Titular. Comenzó en 1972 el dictado de la materia Virología en la FCEN, por décadas la única materia de grado en esta disciplina en las universidades argentinas hasta que su actividad pionera permitió que a finales del siglo pasado comenzara a dictarse virología en varias instituciones académicas. Por otra parte, desarrolló una intensa actividad en el posgrado, creando e implementando numerosos cursos de posgrado teóricos y prácticos en Exactas, los que continúan siendo dictados en la actualidad, así como la materia de grado, por sus discípulos. Su interés en fomentar la virología la llevó también a dictar cursos de la especialidad en el interior, y que así comenzaran a formarse nuevos grupos de trabajo en esta rama de la microbiología. A través de la actividad docente supo transmitir su entusiasmo y su pasión por los virus, y así fue como un elevado número de sus exalumnos se dedicaron al trabajo con virus en importantes laboratorios y centros de virología básica o aplicada.

No sólo formó recursos humanos a través de la docencia, sino también en su tarea de investigación, alcanzando en CONICET la posición de Investigadora Superior. Fue autora de 120 artículos en prestigiosas revistas de la especialidad, destacándose sus investigaciones sobre el virus Junín así como el hallazgo de sustancias antivirales de origen natural. Fue directora de 21 tesis doctorales, tarea en la que formó investigadores que luego fueron ocupando posiciones destacadas en las instituciones científicas y académicas de nuestro país y del exterior, así como en la actividad privada. Siempre fue generosa en brindar oportunidades a todo aquel que se acercara a su laboratorio con intenciones de trabajar en investigación, y supo incentivar en sus tesis la capacidad de pensamiento independiente y la libertad para aportar ideas propias en sus proyectos.

También dedicó gran parte de su tiempo a la gestión universitaria, siendo miembro de Comisiones de Doctorado, Comisiones Asesoras en la UBA y Directora del Departamento de Química Biológica de la FCEN. Desde estas funciones, siempre se preocupó por el bien común, actuando con firmes convicciones, total transparencia y honestidad.

Otro ámbito en el que volcó sus esfuerzos fue la Sociedad Argentina de Virología, en la que actuó desde su creación en 1968 y ejerció la presidencia entre 1982 y 1985. Allí impulsó la realización de los Congresos Argentinos de Virología y Reuniones Científicas Anuales, en Buenos Aires y en el interior del país, para favorecer el intercambio con las generaciones jóvenes y así lograr el crecimiento y desarrollo de la virología.

Su incansable espíritu emprendedor también se puso de manifiesto a través de una intensa y prolífica labor en la edición de revistas científicas y libros. Entre ellos merece destacarse Microbiología Biomédica, junto con los Dres. Ramón A. de Torres y Juan A. Basualdo, su más exitoso logro editorial, libro de texto muy utilizado en las facultades biomédicas, que ya ha tenido dos ediciones, y una tercera pronta a salir, en la que Celia trabajó para completar el proceso editorial hasta comienzos de este año.

En el último período, como Profesora Titular Consulta de UBA, continuó trabajando y brindando toda su invaluable experiencia en nuevos emprendimientos. Fue la creadora en 2002 y directora hasta 2014 de nuestra Química Viva dándole la impronta de una revista abierta a la publicación de una amplia variedad de artículos en las distintas ramas de la química y la biología, pero con un marcado interés en la temática de la educación en ciencias, perfil que la revista ha sabido mantener hasta el presente. Asimismo, empleó el soporte electrónico del Departamento de Química Biológica para organizar cursos a distancia para

profesores del secundario dictados entre 2008 y 2012 con la colaboración de dos de sus discípulas, las Dras. Mónica Wachsman y Diana Vullo. Con esta iniciativa se propuso incentivar nuevas inquietudes y actualizar conocimientos especialmente en docentes de segunda enseñanza del interior de nuestro país.

Esta apretada síntesis de sus principales logros la distingue indudablemente como una verdadera maestra de la virología, contribuyendo a formar una masa crítica de virólogos en nuestro país. Pero no sólo la actividad académico-científica fue su pasión, fue cultora de la literatura y el arte en distintas vertientes como el dibujo, la pintura, el tallado en madera y la escritura de cuentos infantiles.

Sus discípulos en Exactas hemos continuado hasta el presente con la enseñanza, la investigación y la difusión de la Virología, ya que sembró en todos nosotros la responsabilidad de sostener y ampliar las metas alcanzadas. Su figura es un modelo de lucha, de un continuo planteo de nuevos desafíos y firmeza para enfrentarlos, pero sustentando siempre una ética de conducta estricta.

Para quienes tuvimos la suerte de compartir con Celia la labor diaria a lo largo de varios años, en los malos y buenos momentos, mantendremos por siempre en la memoria su entrañable recuerdo así como la intención de seguir sus huellas.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

*Revista **QuímicaViva***

Número 2, año 18, Agosto 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Entrevista a Luciano Abriata

Erina Petrerá

Luciano Abriata es Licenciado en Biotecnología y Doctor en Química por la Universidad de Rosario, trabaja en el Laboratory for Biomolecular Modeling y en la Protein Production and Structure Core Facility en École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suiza



QV. ¿Por qué decidiste estudiar biotecnología?

LA. Siempre me gustaron la tecnología y la ciencia, sobre todo la física y la química, y también los aspectos más sociales y filosóficos de la tecnología. También soy amante de la naturaleza, entonces me pareció que la biotecnología unía todo eso. Viendo en retrospectiva no es tan así, pero si volviera al pasado tampoco sabría bien qué otra carrera recomendarle. ¡Y seguramente con cualquier carrera que hubiera estudiado, en el presente me sentiría incompleto! Lo bueno de trabajar en la academia es que constantemente se puede aprender y explorar cosas nuevas, inclusive más diversas de lo que fue la formación inicial.

QV. ¿Hiciste el doctorado?

LA. Si, hice el doctorado en Química, aunque una química muy biológica que involucraba bastante física y biología.

QV. ¿Siempre pensaste en seguir la carrera académica?

LA. No, nunca había pensado en seguir una carrera académica, al menos no así como veo que son la vasta mayoría de las carreras académicas.

QV. ¿Qué te hizo cambiar de idea?

LA. La verdad no sé bien, imagino que una cosa llevó a la otra, me gustaba el tipo de trabajo, la flexibilidad temática, etc. y así terminé.

QV. ¿Cuál es tu tema de investigación?

LA. Actualmente trabajo en varios temas, mayormente relacionados con entender sistemas biológicos al nivel molecular mediante herramientas computacionales y experimentales. Lo que sería la interfase entre modelado molecular, bioinformática estructural, biología estructural, biofísica y espectroscopías.

QV. ¿Cómo te relacionaste con la enseñanza?

LA. Siempre me gustó aprender por mi cuenta, lo cual me llevaba a construir aparatos o escribir programas que simulaban o permitían analizar experimentos y fenómenos físicos. No descubría nada nuevo pero era una buena forma de aprender, ciertamente mucho más divertida que leyendo. Esto converge en lo que propone la Science Education Initiative del premio Nobel en Física Carl Wieman y sus Interactive Simulations for Science and Maths[1]

De a poco fui abriendo estos programas de simulaciones e ideas al mundo, principalmente como artículos académicos, por ahora dirigidos a profesores. [2-8]

QV. ¿Sos docente actualmente?

LA. No, aunque me invitan regularmente a dictar algunas clases en dos cursos en EPFL, y he dado algunas clases específicas como invitado, por ejemplo el año pasado participé en un curso sobre proteínas de membrana en Rosario.

QV. ¿Te gustaría?

LA. La verdad que no mucho dentro de los sistemas educativos y currículas actuales. Como invitado a cursos lo disfruto muchísimo porque puedo dar la clase mucho más a mi estilo y con más libertad de elegir los contenidos exactos.

QV. Qué te interesa transmitir?

LA. Me interesa transmitir varias cosas. Por un lado el poder de la simulación como complemento de los experimentos, para que el estudiante aprenda por sí mismo más que por lo que un libro o una persona le explique. [9] Además es barato y accesible, requiere poco instrumental y es menos peligroso que hacer experimentos.

También me interesa transmitir el valor del excelente material audiovisual que se puede encontrar en internet acerca de prácticamente cualquier tema que uno quiera estudiar. Al respecto, creo que debemos reformular la forma en que se enseña. ¿Qué sentido tiene que un profesor de teoría repita todos los años lo mismo? Podría grabar una sola, buena clase, o mejor aún, podría buscar la clase que grabó el mejor profesor de cada tema y subió a YouTube, y hacer que los docentes se dediquen principalmente a recorrer clases prácticas donde los alumnos van a resolver problemas con su asistencia y despejar dudas más puntuales.

Por otro lado me gustaría transmitir la importancia de tener conocimientos de programación, y que esto debería enseñarse a los alumnos desde pequeños. Hoy en día la programación no es solo una herramienta para desarrolladores de software, sino que le sirve a todos los que colectan y analizan datos en cantidad, o necesitan automatizar procesos, etc. Además, dejando de lado la utilidad práctica, programar ofrece acceso a una forma más de pensar en cómo resolver problemas. En estos aspectos son destacables los programas abiertos de programación, robótica, etc. de la provincia de San Luis, que pienso deberían ser imitados en todo el país.

También creo que hay que usar un acercamiento más científico a la hora de evaluar progreso en educación y aprendizaje, y a la hora de adaptar currículas de materias a carreras. Estas son ideas de Carl Wieman que

comparto. [10]

Por otro lado, valorizar la importancia de ir a las fuentes primarias de información (y no solo en ciencia). Recalcar la importancia de que la producción científica termine en fuentes de acceso libre, una temática en boga en el primer mundo pero totalmente pasada por alto en otros países. En todo el mundo, los ciudadanos sostienen con sus impuestos la mayor parte de las investigaciones de los científicos, entonces los científicos deberían permitir que quienes los sostienen tengan acceso al resultado de sus trabajos. Esto aún cuando fueran en temáticas tan especializadas que parecerían imposibles de entender para quien carece de formación en el tema. El alto costo de publicar en journals open access no es una excusa, porque la gran mayoría de las revistas permiten hoy en día que el autor deposite en repositorios abiertos (arxiv, biorxiv, etc.) las versiones casi finales de los trabajos.

Y por último, hace falta más contenido de divulgación de la ciencia escrito por los científicos mismos, o junto a periodistas científicos y/o divulgadores.

QV. ¿Te parece que enseñar a utilizar las simulaciones es una forma de divulgar la ciencia?

LA. Si te referís en forma general, sí, absolutamente. Si te referís en particular a lo que estoy desarrollando de realidad aumentada, todavía no, necesita más trabajo.

QV. ¿Te consideras un científico divulgador?

LA. No, en absoluto.

QV. En tu reciente visita a nuestra facultad presentaste una aplicación para realizar simulaciones por realidad aumentada. ¿Esta aplicación ha sido utilizada en alguna materia?

LA. No todavía, porque aún está a nivel de prototipo. Estoy trabajando con colaboradores, lentamente porque lo hago en mi tiempo libre, para lograr un contenido más completo y de verdadera utilidad. Recién entonces podré darlo a conocer y probarlo a gran escala. Probablemente contacte a QuímicaViva cuando llegue ese momento.

QV. ¿Crees que la herramienta será bien recibida por los docentes? ¿Pensas en realizar cursos o tutoriales para ellos?

LA. ¡Espero que guste y sea útil! Cuando una primera versión de la verdadera herramienta esté lista, sí, seguramente habrá tutoriales en video o algo por el estilo.

QV. Cómo te gustaría continuar?

LA. Lo ideal sería armar una plataforma web que integre muchos ejemplos de “simulaciones interactivas por realidad aumentada” ordenados por temática. Creo que tienen mucho potencial a la hora de enseñar y estudiar geometría molecular, teorías de orbitales atómicos y moleculares, quiralidad, estructuras de biomoléculas, etc. Tener tal plataforma con una cantidad de ejemplos importante va a llevar tiempo, pero de a poco estoy preparando el camino.

Video de la aplicación en funcionamiento: <https://www.youtube.com/watch?v=V5tJWREgGlg>

Load any molecule in PDB format



La app se puede probar en <https://lucianoabriata.altervista.org/jsinscience/arjs/jsartoolkit5/pdbloader6.html>

Referencias:

1. Interactive Simulations for Science and Maths. <https://phet.colorado.edu/>
2. **Abriata L** (2011) A Simple Spreadsheet Program to Simulate and Analyze the Far-UV Circular Dichroism Spectra of Proteins. *Journal of Chemical Education* 88 (9), 1268-1273.
3. **Abriata L** (2012) Utilization of NMR spectroscopy to study biological fluids and metabolic processes: Two introductory activities. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* 40 (4), 171-178.
4. **Abriata L** (2017) Structural database resources for biological macromolecules. *Briefings in Bioinformatics* 18 (4), 659–669.
5. **Abriata LA, Rodrigues JPGLM, Salathé M, Patiny L** (2018) Augmenting research, education and outreach with client-side web programming. *Trends in Biotechnology* 36,(5),473-476.
6. **Abriata L** (2018) Critical assessment of structure prediction (CASP): 24 años evaluando predicciones de estructuras de proteínas. *Revista QuímicaViva*, Número 1, año 17, Abril 2018
7. **Abriata L** (2018) Towards Commodity, Web-Based Augmented Reality Applications for Research and Education in Chemistry and Structural Biology. *arXiv*, 1806.08332.
8. **Abriata L** (2018) La condición de protón como ejercicio introductorio a la programación científica. *Revista Química Viva* Número 2, año 17, Agosto 2018.
9. **Taly A, Nitti F, Baaden M, Pasquali S** (2019) Molecular modelling as the spark for active learning approaches for interdisciplinary biology teaching. *Interface Focus* 9: 20180065 . DOI:10.1098/rsfs.2018.0065
10. **Carl Wieman**. Science Education in the 21st Century: Using the Tools of Science to Teach Science. <https://www.youtube.com/watch?v=kFlw8qE01Kk>



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Número 3, año 17, Diciembre 2018

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Fagos, la piedra Rosetta que descifra jeroglíficos biológicos

Raúl R. Raya y María C. Aristimuño Ficoseco

Centro de Referencia para Lactobacilos, CERELA, CCT-Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina

rraya@cerela.org.ar

***La naturaleza es grande en las cosas grandes,
mas es grandísima en las cosas diminutas.***

Jacques H. Bernardin de Saint-Pierre
(1737-1814)

Resumen

Se designa con el nombre de virus a agentes infecciosos microscópicos. Los virus que atacan bacterias reciben el nombre de fagos. Descubiertos durante la segunda década del siglo XX se transformaron en una herramienta fundamental para los grandes descubrimientos que condujeron a la biología molecular moderna. Los fagos son posiblemente las entidades biológicas más antiguas que se encuentran en la biosfera y las más abundantes, ya que su número se estima en 10^{31} . Son activos agentes de transferencia de genes y por lo tanto responsables en gran parte de la diversidad bacteriana. El conocimiento generado a partir de su estudio dio lugar a diversas aplicaciones biotecnológicas entre ellas el uso como agentes terapéuticos, en biocontrol y en seguridad alimentaria y agricultura.

Palabras clave: fagos, biología molecular, aplicaciones biotecnológicas

Phages, the Rosetta stone that deciphers biological hieroglyphs

Summary

Virus are microscopic infectious agents. Virus that attack bacteria are called phages. Discovered during the second decade of the 20th century they were a fundamental tool for the great discoveries that led to modern molecular biology. Phages are possibly the oldest biological entities found in the biosphere and the most abundant since their number is estimated at 10^{31} . They are gene transfer agents and therefore are highly responsible for bacterial diversity. The knowledge generated from their study gave rise to various biotechnological applications including their use as therapeutic agents and in food security.

Keywords: phages, molecular biology, biotechnological applications

Introducción

La palabra virus (en latín =veneno) se utilizó originalmente para describir de manera específica y colectiva a agentes infecciosos ultramicroscópicos y filtrables. Los virus específicos de bacterias fueron descubiertos por Frederick Twort y Felix D'Herelle, respectivamente, en 1915 y 1917. D'Herelle propuso el nombre de bacteriófago (o fago, del griego *phagein*: comer) al agente responsable de "la lisis transmisible de bacterias" y diseñó el método de agar de doble capa, aún en uso, para cuantificarlos; fue además el primer científico en observar el patrón básico "paso a paso" (*one-step growth curve*) de reproducción de los fagos (técnica perfeccionada durante los años '40 del siglo XX por Emory Ellis y Max Delbrück para determinar el período

de latencia y el número promedio de nuevas partículas de virus liberados por unidad de célula infectada (*burst-size*), parámetros cinéticos necesarios para caracterizar la reproducción intracelular de un fago [1-2]

Los fagos usados inicialmente en investigación fueron fagos activos contra la especie *Escherichia coli* (fagos lambda y los “siete enanitos”, o fagos de la serie T). En 1944 el grupo *Phage Group*, liderado por Delbrück y formado por eminentes biólogos y físicos, concentró sus estudios de la estructura y función del material hereditario de los seres vivos en un limitado número de fagos (fagos T1 a T7), usando unas pocas cepas bacterianas y condiciones experimentales estandarizadas. Los resultados logrados contribuyeron a unificar el campo de la genética bacteriana y al desarrollo de un nuevo paradigma, la biología molecular moderna.

El desarrollo de técnicas basadas en la microscopía de epifluorescencia para visualizar y cuantificar los fagos presentes en distintos nichos ecológicos, la secuenciación masiva de genomas microbianos y los estudios metagenómicos hizo posible visualizar que los fagos son posiblemente las entidades biológicas más antiguas y sin duda las más abundantes y ubicuas que existen en la biosfera. Se estima que hay aproximadamente 10^{31} partículas virales. Los fagos ocupan prácticamente todos los nichos ecológicos; por su capacidad lítica (se estima que son responsables de la muerte de aproximadamente el 20% -40% cada 24 h de las bacterias de los océanos [3] o como vehículos en la transferencia horizontal de genes, juegan un papel determinante en la ecología y diversidad de las comunidades bacterianas. Los genomas de fagos integrados en los genomas bacterianos pueden expresar toxinas y otros factores que contribuyen a la virulencia y a la adaptación a nichos específicos de bacterias patógenas. Los fagos fueron también de gran utilidad para descifrar el papel de las secuencias CRISPRs en la inmunidad adquirida en bacterias; sistemas que están presentes en un 80% de arqueas y en el 50% de las bacterias.

Muchos investigadores que utilizaron a los fagos como organismos modelo de experimentación fueron galardonados con el premio Nobel. A su vez, el conocimiento generado a partir del estudio de los fagos dio lugar a diversas aplicaciones biotecnológicas; entre las más importantes: i) el uso de las enzimas de restricción y otras enzimas derivadas de fagos para la generación de moléculas de DNA recombinante y el desarrollo de la ingeniería genética; ii) la técnica de *phage display*, que permite la expresión de proteínas o péptidos heterólogos en la cápside de un fago. Es una técnica muy poderosa utilizada, entre otros, para la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra dianas de cáncer y enfermedades inflamatorias y péptidos con acción antimicrobiana; y iii) el desarrollo de la tecnología CRISPR-Cas9 que permite editar el genoma de cualquier célula (incluso ha permitido modificar el DNA de embriones humanos) y en diagnóstico, y que ha causado una verdadera revolución en las ciencias de la vida y de la salud.

Fagos. Generalidades

La partícula madura de los fagos es una nucleoproteína que posee una estructura con diferentes grados de complejidad. Se reconocen tres morfologías principales: icosaédrica sin cola, icosaédrica con cola y filamentosa. La clasificación de los fagos se basa en criterios tales como su especificidad de hospedador, morfología, tipo de ácido nucleico, modo de infección, filogenia, serología, y sensibilidad a los agentes físicos y químicos. La mayoría de los fagos estudiados poseen cola, constituyendo el orden *Caudovirales*, que se distribuyen en cinco familias: *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*, *Ackermannviridae* y *Herelleviridae* (International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>). La cápside de los caudovirus puede ser icosaédrica o alargada y su cola puede ser contráctil (myovirus), flexible y no contráctil (siphovirus) o muy corta y a veces “embebida” en la cápside (podovirus). Los fagos poliédricos, filamentosos y pleomórficos constituyen menos del 10% de los fagos caracterizados. El material genético de los fagos, que se encuentra rodeado de proteínas que lo protegen del medio ambiente, puede ser una molécula de DNA o RNA, de hebra simple o doble, siendo en la mayoría de los fagos caracterizados una molécula de DNA, con un tamaño variable entre 5 hasta 500 kilopares de bases. El genoma de los fagos presenta una estructura característica de mosaico, producto de múltiples eventos de recombinación

con otros genomas virales y bacterianos. El DNA puede contener bases modificadas; *i.e.* el fago T4 contiene 5'-hidroximetilcitosina pero no citosina. Otros fagos poseen proteínas covalentemente unidas a los extremos de su genoma; *i.e.* el fago phi29 posee una proteína en los extremos 5' que contribuye al inicio de la replicación de su DNA. El DNA presente en las cápsides de las partículas maduras puede corresponder al equivalente de un genoma del fago (*i.e.* el genoma del fago lambda, cuyos extremos son cohesivos y siempre idénticos) o ser mayor a este (*i.e.* el genoma del fago T4, cuyo genoma es lineal, circularmente permutado, con repeticiones terminales directas de 3 a 6 kpb). Otros fagos encapsidan su genoma como DNA circular (fago PM2) o segmentado (fago phi6, en tres segmentos de RNA y fago T5, DNA lineal de doble cadena, con una de las hebras segmentada). Algunos fagos pueden encapsidar también DNA bacteriano y transferirlo a otras células mediante un mecanismo de transferencia de genes bacterianos denominado transducción. La traducción puede ser **especializada**, cuando se transfieren unos pocos genes (*i.e.*, por una imprecisa excisión del profago lambda, el fago puede incorporar DNA del gen gal o el gen bio en los extremos de su genoma), o bien **generalizada**, cuando se encapsida y transfiere cualquier fragmento de DNA de la célula infectada. La transferencia de DNA mediada por transducción es uno de los mecanismos de transferencia horizontal de genes, de gran importancia en la evolución de los genomas procariontes. En el laboratorio, se puede generar también sistemas artificiales de transducción que facilitan el estudio genético de bacterias recalcitrantes a otros mecanismos de transferencia genética [4]

Ciclos de vida

Ciclos de reproducción: lítico y lisogénico y según el ciclo de vida los fagos se agrupan en fagos virulentos (ciclo lítico) y fagos temperados (pueden seguir ambos ciclos de reproducción). Otros dos ciclos reconocidos son la pseudolisogenia y la Hay 2 principales infección crónica (*i.e.*, fago M13). En la pseudolisogenia el fago inyecta su DNA en la célula pero no se reproduce ni integra su genoma en el cromosoma bacteriano; generalmente ocurre cuando las células se encuentran en una situación de crecimiento desfavorable, posiblemente como una estrategia para preservar la sobrevivencia del genoma del fago hasta que las condiciones de crecimiento celular son nuevamente favorables; *i.e.* el fago phi29 es un fago lítico de *Bacillus subtilis*, y puede mantenerse en un estado inactivo en las esporas de su hospedador. Otro ejemplo es el fago temperado P22, luego de infectar a *Salmonella typhimurium* el fago se mantiene por un largo período en estado de pseudolisogenia, antes de integrarse en el genoma de su hospedador. En la infección crónica, luego de la infección y reproducción, partículas maduras del fago se liberan continuamente sin producir la muerte celular.

Se reconocen cinco etapas en el proceso de infección. La partícula viral se fija a la bacteria huésped (adsorción) a través del reconocimiento de receptores específicos presentes en la envoltura celular e inyecta su ácido nucleico (penetración; la inyección del DNA puede ser sincronizada o no, en función de la temperatura y la presencia de sales de Mg, factores que afectan la fluidez del DNA empaquetado en las cápsides); el fago luego expresa sus genes de una manera coordinada usando la maquinaria celular (transición del metabolismo celular, controlado por el fago), para producir nuevas copias de las proteínas y ácidos nucleicos del fago, las que se ensamblan en un gran número de nuevas partículas virales (morfogénesis); finalmente, la envoltura celular se rompe (lisis celular) y se liberan los nuevos virus para infectar nuevas bacterias. En bacterias Gram negativas se han identificado dos sistemas que participan en la etapa de lisis celular: el modelo holina-endolisina y el modelo pinholina-endolisina SAR (*Signal anchor release*); en ambos modelos participan endolisinas, holinas y espaninas. En el primero, la endolisina responsable de la digestión del peptidoglicano (PG) de la pared celular se sintetiza y se acumula en el citoplasma; la holina se acumula en la membrana interna y su actividad es controlada por una antiholina; y las dos espaninas se localizan, una en la membrana interna (MI) y la segunda en la membrana externa (ME) de las células. Cuando se produce un colapso de la fuerza protomotriz (FPM), las holinas se activan y forman pequeños poros en la MI que permiten la salida de la endolisina, la cual degrada el PG. La degradación del PG por sí misma no produce la lisis celular, aunque las células se vuelven esféricas, pero actúa

como señal activando a las espaninas que producen la fusión de las membranas, gatillando la lisis celular. En el segundo modelo, la endolisina SAR se secreta al periplasma y queda anclada en MI por la señal SAR. Cuando la holina en la MI dimeriza, produciendo poros de mayor tamaño que en modelo anterior, y la FMP colapsa, lo que produce la liberación de la endolisina de la secuencia SAR. La degradación del PG es nuevamente la señal para que las espaninas se activen provocando la lisis celular.

Los fagos virulentos siguen un ciclo lítico y se comportan como parásitos intracelulares obligados. En este caso se presenta una carrera armamentista permanente entre la bacteria, presentando diversos mecanismos de defensa contra el fago, y el fago, generando nuevas variantes para superar las barreras presentadas por las bacterias u optimizando su nuevo ciclo de infección. En la Tabla 1 se sintetizan los principales mecanismos de defensa bacterianos estudiados y las estrategias de los fagos para superarlos [5-14].

Tabla 1. Mecanismos de resistencia

Mecanismo de inhibición	Mecanismos de Resistencia/contrarresistencia
Interferencia de la adsorción	<p>Modificación o mutación de los receptores específicos (proteína; polisacárido; lipopolisacárido; o ácidos teicoicos) de la superficie celular / Mutación en la proteína RBP (proteína del fago que une al receptor) puede reconocer el receptor mutado o adaptarse a nuevos receptores celulares.</p> <p>Variación de fase en la expresión del receptor / Expresión simultánea de dos formas RBP en las partículas del fago para infección especializada.</p> <p>Producción de exopolisacáridos (EPS) que enmascaran el receptor/ Producción de hidrolasas que degradan el EPS.</p>
Bloqueo de la inyección del DNA del fago	<p>Lipoproteínas ancladas a la membrana celular o proteínas asociadas con los componentes de la membrana pueden modificar la conformación del sitio de entrada del DNA del fago y bloquear su inyección en la célula huésped. A veces, estas proteínas son codificadas por un fago (profago o fago virulento: mecanismo de exclusión de la superinfección), para conferir inmunidad contra otros fagos: <i>i.e.</i> la proteína Imm del fago T4 bloquea la translocación del DNA de otros fagos en el citoplasma de la célula ya infectada por el fago T4.</p>
Degradación del genoma del fago inyectado	<p>A- Los sistemas de RM consisten en una endonucleasa de restricción (R) y en una metiltransferasa (M). La función principal del sistema es proteger a la célula contra la invasión de DNA exógeno. El DNA del hospedador se encuentra protegido por metilación; cuando el DNA del fago no metilado ingresa en una célula que posee el sistema (RM) será reconocido y degradado por la enzima de restricción / Este tipo de resistencia es reversible; el fago puede incorporar en su genoma a M para escapar de R, o bien pueden mutar la secuencia de reconocimiento de R. El sistema DISARM es similar al sistema RM, pero la enzima de restricción requiere de múltiple componentes. Son módulos integrados por cinco genes y localizados en islas de defensa. Finalmente, el sistema pAgos utiliza moléculas de DNA y RNA como guías para degradar el DNA invasor.</p>

	B- En los sistemas CRISPR–Cas, las células mutantes a la infección incorporan en el locus CRISPR una pequeña secuencia del DNA del fago (“espaciador”), el que una vez transcrito será utilizado como guía de las nucleasas Cas para degradar el genoma del fago en un nuevo ciclo de infección / Los fagos pueden superar esta barrera por mutación o inactivando el sistema CRISPR-Cas mediante la expresión de proteínas anti-CRISPR-Cas.
Infección abortiva (Abi)	Los sistemas Abi de resistencia abortan el proceso de infección y simultáneamente conducen a la muerte de la célula hospedadora. Los blancos de acción son múltiples; un mecanismo Abi puede interferir en la replicación del genoma, o en las etapas de transcripción y traducción, y ensamblado de los fagos / Generalmente los fagos superan estas barrera por mutación espontánea y adaptación.

A. Inyectado por sistemas de inmunidad innata: i) Enzimas de restricción/modificación (RM); ii) Islas de defensa asociadas a RM (DISARM); iii) Proteínas argonauta (pAgos) .

B. Inmunidad adquirida: sistemas CRISPR-CAS

La evolución recíproca que se establece entre ambos es un importante impulsor de los procesos ecológicos y evolutivos en las comunidades microbianas. Por el contrario, los fagos temperados pueden multiplicarse a través del ciclo lítico o ingresar al ciclo lisogénico integrando su genoma, de manera reversible, en el cromosoma de la célula huésped (se denomina profago al fago integrado y lisógeno a la bacteria portadora del profago). La integración del profago puede ser preferentemente en un sitio específico del genoma bacteriano (*i.e.*, el profago lambda se integra entre los genes gal y bio de la bacteria *E. coli*) o al azar (*i.e.*, fago Mu). En ciertos casos, el profago puede mantenerse no integrado, como un plásmido en el citoplasma de la bacteria (*i.e.*, el fago P1, con un genoma de DNA circular de doble hebra, y el fago N15, con su genoma de DNA circular de simple hebra). El genoma del profago se replica junto al genoma bacteriano y el estado lisogénico se mantiene por la represión de los genes responsables del ciclo lítico del fago. Sin embargo, de manera espontánea o bajo ciertas condiciones específicas que dañan el DNA bacteriano e inducen la respuesta celular SOS (*i.e.* estrés ambiental, tratamiento con antibióticos, estrés oxidativo, luz UV), los profagos pueden activar su ciclo lítico de reproducción. Muchas bacterias no son lisógenos, mientras que algunos lisógenos codifican más de una docena de profagos (polilisogenia); incluso muchos de ellos pueden no ser funcionales (no generar partículas completas de fagos) aunque su permanencia en el genoma bacteriano sugiere que contribuye al fitness de la bacteria. Se estima que el 14% de los genomas de *E. coli* corresponden a genes de profagos. Factores tales como una alta multiplicidad de infección, un pequeño volumen celular y el crecimiento celular en condiciones limitadas en nutrientes y a bajas temperaturas, incrementan la frecuencia de lisogenización. En un reciente estudio se ha descrito que la producción de un pequeño péptido de 43 aminoácidos codificado por un fago temperado, denominado phi3T, estimula la lisogenización de la población a través de un mecanismo del tipo *quorum sensing*. El péptido, denominado *arbitrium*, es procesado por la bacteria huésped y secretado; el péptido liberado, es luego incorporado por otros miembros de la población bacteriana y utilizado para inhibir un regulador del fago (AimP) que estimula la expresión del ciclo lítico del fago en toda la población. Este tipo de estudios de interacción fago-fago son cada vez más frecuentes y han determinado que se establecen relaciones de competencia y de mutualismo entre los fagos en los procesos de coinfección, lo que ha llevado a proponer una nueva rama de estudio, la virología social.

El ciclo de vida del fago temperado lambda tiene un estatus especial en la historia de la biología molecular; es uno de los sistemas biológicos más estudiados y dio lugar a varios descubrimientos de gran importancia (*i.e.*, toma de decisiones entre los ciclos líticos-lisogénicos; mecanismos de recombinación; y concepto de control negativo de la transcripción mediado por una molécula represora. El profago lambda se integra en el genoma de su hospedador sin producirle ningún daño aparente.

Las interacciones entre profagos y lisógenos pueden ser beneficiosas para ambos miembros en términos evolutivos. Mientras la célula toma a su cargo la replicación del genoma del fago, en algunas circunstancias, el profago puede expresar ciertas proteínas que mejoran la supervivencia bacteriana (fenómeno conocido como “conversión lisogénica”). Estas proteínas se encuentran codificadas en el fago en regiones conocidas como “moron”. Un moron es una unidad transcripcional independiente, con su propio promotor y región terminadora, y que contiene un porcentaje en GC distinto al contenido en GC de regiones contiguas, producto de una transferencia horizontal. Por ejemplo, algunos fagos portan los genes responsables de la producción de toxinas (*i.e.*, toxina Shiga) y, al integrarse como profagos, convierten una bacteria no patógena en patógena. Enfermedades como la difteria, el cólera, el síndrome urémico hemolítico, el botulismo, o la escarlatina son mediadas por toxinas que están codificadas por fagos; la expresión de esas toxinas se incrementa si se inducen los profagos (*i.e.*, luego del tratamiento con ciertas clases de antibióticos como las quinolonas, que inducen la respuesta SOS), lo que puede agravar la enfermedad. La liberación de las toxinas al medio externo puede estar mediada activamente por mecanismos de secreción celular del tipo III (*i.e.*, toxina del cólera) o luego de la lisis celular (*i.e.* toxina Shiga). Otros ejemplos de factores de virulencia codificados en profagos contribuyen en el fenómeno de exclusión a la superinfección; mejoran la interacción e invasión del patógeno en células epiteliales; contribuyen en la evasión de la respuesta inmune u otorgan una mayor resistencia a la misma mediante la expresión de actividad superóxido dismutasa o de factores mitogénicos; afectan la formación de biopelículas; y expresan sistemas de toxina-antitoxina o proteínas anti CRIPRs. Los profagos pueden también causar la inactivación de genes cromosómicos durante la inserción lo que da lugar a la pérdida de función de dichos genes. Este proceso puede dar lugar a una conversión lisogénica negativa (*i.e.* la inactivación del gen responsable de la síntesis de la enzima lisina descarboxilasa en *Shigella*) [15] o bien a un fenómeno conocido como lisogenia activa: si la función del gen inactivado es esencial para el crecimiento celular bajo ciertas condiciones, el profago se escinde y regenera el sitio de inserción, contribuyendo de manera activa en la recuperación del gen inactivado durante la integración. Por ejemplo, las células del patógeno *Listeria monocytogenes* requieren del factor sigma *comK* para expresar los genes necesarios que le permitan escapar de los fagosomas en las células eucariotas. En esas condiciones, un profago inserto en el gen *comK* se escinde y se mantiene libre en el citoplasma bacteriano, posiblemente en un estado de pseudolisogenia, permitiendo la expresión de *comK*. Una vez que la bacteria se encuentra libre en el citoplasma celular, el fago se reinserta nuevamente en *comK*, inactivándolo (lisogenia activa reversible). Una situación similar ha sido descrita en *Bacillus subtilis*: un fago remanente, denominado skin, se escinde de manera precisa de su sitio de integración lo que permite la expresión del factor Sigma K, necesario para la expresión de los genes de esporulación en la célula madre. El elemento skin no posee la capacidad de reintegrarse, por lo que se pierde en la célula madre, pero se mantiene aún integrado en las endosporas (lisogenia activa irreversible). La expresión de los factores de virulencia codificados en los profagos puede estar regulada mediante factores de transcripción bacterianos (*i.e.*, en la expresión de la toxina del cólera participan los factores de transcripción de la bacteria *Vibrio cholerae*). En conjunto, cuando un fago temperado integra su DNA en el cromosoma bacteriano se establece una relación con beneficios mutuos para el lisógeno y el profago. En esta situación, el fago contribuye en los procesos ecológicos y evolutivos de los lisógenos como agentes de transferencia horizontal de genes, como armas de competencia bacteriana, y como fuente de variación genética para la innovación evolutiva.

Fagos intestinales y respuesta inmune

El intestino humano contiene una de los ecosistemas más densamente poblados, el cual es esencial para la salud humana. La microbiota intestinal es una comunidad compleja de microorganismos integrada por bacterias, arqueas, hongos y virus. Los estudios de población han resultado en una mejor caracterización de la estructura y funciones del componente bacteriano de esta comunidad en individuos sanos, y de los factores que influyen en su composición, como la dieta, la edad, y el estado de salud; sin embargo, la

composición y función del componente viral, que posee el potencial de modular el componente bacteriano, ha sido menos estudiado y su posible contribución en la salud y la enfermedad aún no se ha determinado.

El viroma intestinal comprende virus eucariotas y fagos, siendo los fagos las entidades más abundantes en el intestino. En muestras fecales de individuos adultos, se ha determinado una abundancia de 10^9 - 10^{10} partículas virales y de 10^{11} - 10^{12} bacterias por gramo de heces, lo que resulta en una proporción de fago/bacteria de aproximadamente 0,1 a 1. Esta relación es mucho menor a la estimada en muestras marinas (que puede variar entre 2.6 a 160), y se explica porque en el intestino humano hay una mayor abundancia de fagos temperados en comparación con los fagos líticos. La relación fago/bacteria no es consistente en todo el tracto gastrointestinal, observándose un incremento de la misma en las superficies mucosas de los seres humanos y de diferentes especies animales. Las proteínas de la cápside de algunos fagos poseen dominios del tipo Ig que interactúan con la glicoproteína de la mucina, facilitando la adhesión de los mismos a la mucosa del sistema gastrointestinal. Esta interacción podría facilitar la frecuencia de las interacciones entre los fagos y las bacterias, estimulando la transferencia horizontal de genes a las células del microbioma, proporcionando genes que confieren una ventaja competitiva en el ecosistema donde ambos residen, y/o protegiendo al hospedador de infecciones bacterianas.

Los fagos colonizan el intestino infantil en una etapa temprana del individuo (se detectan 108 partículas víricas por gramo de heces en bebés de 7 días); sin embargo, el “fagoma” del intestino de adultos sanos es más abundante, diverso y estable que el “fagoma” del intestino de infantes sanos. En adultos el “fagoma” comprende al menos 1000 secuencias de fagos y profagos, el 77% de los cuales son fagos con cola con DNA de doble cadena. Se detectan también fagos de DNA de cadena simple de la familia Microviridae. Los fagos de RNA presentes en el intestino humano representan menos del 0,02%. Un 50% de las secuencias de fagos no pudieron ser clasificadas aún por la limitación de los bancos de datos públicos. En la mayoría de los metagenomas de muestras fecales humanas se detectan genes que codifican para integrasas y otros genes que son el sello de un estilo de vida lisogénico. Sin embargo, es importante tener en cuenta las dificultades que limitan los estudios del fagoma intestinal humano, como la falta de regiones conservadas en genomas virales (como el gen 16S rRNA en procariotas) para realizar amplificaciones dirigidas, la dificultad de amplificar simultáneamente múltiples tipos de genomas virales (lineales o circulares de RNA o DNA monocatenario o bicatenario), así como el no disponer de bases de datos virales completas. [16-18].

El fagoma intestinal infantil muestra una gran dinámica. Los fagos colonizan tempranamente el intestino del recién nacido y a la semana del nacimiento se detectan principalmente siphovirus. Durante los primeros meses de vida se producen cambios drásticos en la diversidad y abundancia de los fagos, y luego, hasta los dos años, la población del microbioma bacteriano, los virus eucariotas y miembros de la familia Microviridae se expanden mientras la población de fagos del orden Caudovirales se contraen [19]. Una vez estabilizado, el viroma intestinal de un individuo sano es temporalmente estable y un 80-95% de los mismos genotipos virales pueden identificarse durante un período de dos años y medio.

Existe una alta variación entre los fagomas intestinales en adultos, lo que indica que la composición del fagoma intestinal de un individuo adulto sano es única. Los estudios realizados con fagomas y microbiomas intestinales de gemelos monocigóticos (MZ) adultos mostraron una relación directa entre la diversidad de los fagomas y la diversidad de los microbiomas, y una mayor diversidad de los fagomas en aquellas parejas MZ cuyos microbiomas eran menos concordantes. La dieta, de manera directa o indirecta, puede afectar la composición de los fagomas, lo que podría explicar las diferencias observadas. Se ha establecido también una fuerte correlación entre la diversidad de los fagomas con el modo de nacimiento (natural versus cesárea) y con ciertas enfermedades asociadas a un desequilibrio del microbioma intestinal.

Los estudios de metagenómica comparativa del microbioma intestinal sugieren el concepto de un “microbioma intestinal saludable”, donde microorganismos similares proporcionan funciones similares que

contribuyen a la homeostasis intestinal. La estructura del microbioma intestinal saludable sería conservada a un nivel taxonómico superior (de filo), donde predominan Firmicutes y Bacteroides, y estaría conformada por un núcleo de especies, compartidas por más del 90% de los individuos, que proporcionarían las funciones beneficiosas. Un concepto similar, el “fagoma intestinal saludable”, ha sido propuesto para describir los fagos comunes presentes en los microbiomas intestinales de la mayoría de individuos sanos y que serían críticos en el mantenimiento de la estructura y función de un ecosistema intestinal saludable. De los 4301 fagos detectados en el estudio, se determinó que 23 estaban presentes en más del 50% de las muestras. Se observó que la presencia de los fagos comunes en individuos sanos era inferior en individuos que padecían enfermedades gastrointestinales (enfermedad de Chron y colitis ulcerosa).

La microbiota de un infante sano es rica en bacterias Gram positivas mientras que en la microbiota de un adulto sano predominan Bacteroides, Firmicutes y Proteobacterias [20]. Si los fagos modulan la microbiota intestinal, entonces tendrían un impacto indirecto en las interacciones microbio-huésped y por lo tanto en la salud del huésped. Se ha demostrado una relación directa entre salud y diversidad y riqueza genética del microbioma, y entre este y la riqueza y diversidad del fagoma del intestino humano. Los fagos pueden translocarse a través de la mucosa intestinal hasta los ganglios linfáticos locales y los órganos internos, lo que lleva a interacciones íntimas con el sistema inmunitario del huésped. Algunos estudios sugieren que el cambio en la composición del fagoma (*i.e.*, un incremento en la abundancia de Caudovirales) está asociado a la inflamación del intestino grueso y del recto (colitis ulcerosa, CU). A su vez, ciertos fagos proporcionan una inmunidad indirecta al huésped lisando a las bacterias susceptibles que se encuentren a lo largo del intestino; estos fagos interactúan con la mucina del moco intestinal a través de unos dominios, expuestos en la cápside del fago, de proteínas similares a inmunoglobulinas (Ig).

En un reciente estudio in vivo de fagoterapia, realizado con un cóctel de tres fagos activos contra una cepa de *E. coli* con características adherente-invasiva, se observó que los transcritos asociados a los sistemas de inmunidad innata y adquirida estaban up-regulados en los animales tratados con los fagos respecto a los animales controles [21]. En animales libres de gérmenes, el tratamiento con los fagos estimuló, en las placas de Peyer, la producción de la interferón gamma (IFN- γ) por linfocitos T CD4+. Una respuesta similar se observó con dos fagos activos contra *Lactobacillus plantarum* y *Bacteroides thetaiotaomicron*, dos bacterias comensales del intestino. Se demostró que los fagos inducen una respuesta inmune específica y que actúan como adyuvantes; que la respuesta inmune es inducida por el ácido nucleico de los fagos, y no por sus proteínas de cápside; y que la respuesta inmune fue mediada por células dendríticas a través del receptor tipo Toll 9 (TLR9).

Aunque se ha sugerido la identificación de fagos como biomarcadores de salud y enfermedad (*i.e.* los fagos contra Clostridiales y Alteromonadales), nuestro conocimiento es aún demasiado limitado para apreciar plenamente la importancia de los fagos en la salud humana y especialmente si juegan un papel en el desarrollo de enfermedades intestinales tales como enfermedades inflamatorias del intestino [22].

Aplicaciones biotecnológicas

Desde su descubrimiento hace ya más de 100 años los bacteriófagos han sido aplicados en numerosas áreas biotecnológicas, que van desde el tratamiento de infecciones humanas mediante fagoterapia: phage display, biopreservación y seguridad alimentaria, control biológico de patógenos de plantas, y biosensores, hasta el control de corrosión y desinfección de superficies [23-24]

Hay distintas aplicaciones de fagos y sus enzimas, algunas de ellas indicadas en la Tabla 2

Tabla 2: se indican distintas aplicaciones de fagos y sus enzimas [25-36].

Aplicación	Descripción	Ejemplos/Productos
------------	-------------	--------------------

Fagoterapia	Uso de fagos estrictamente líticos como alternativa para el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a antibióticos	Infecciones causadas por <i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente, en un paciente diabético de 68 años con pancreatitis necrotizante y <i>Mycobacterium abscessus</i> , en una paciente de 15 años de edad con un doble trasplante de pulmón), y que no respondían a los tratamientos antibióticos convencionales, fueron tratadas con éxito mediante la administración de un cóctel de fagos. Estos tratamientos son personalizados (“a la carte”) y exigen el aislamiento y la caracterización exhaustiva de fagos líticos o la inactivación de la integrasa de mycofagos temperados
Productos de fagos como antimicrobianos, en diagnóstico y nanotecnología	Uso de endolisinas purificadas o de fagos modificados genéticamente para tratamientos antibacterianos; los fagos contienen y expresan genes letales (endonucleasas de restricción, holinas, sistemas toxina-antitoxina) o han sido conjugados con proteínas que condensan el DNA o con antibióticos. Uso de fagos filamentosos, fagos λ, T4 y mycovirus modificados para la administración dirigida de agentes terapéuticos o en diagnóstico.	Staphitekt (Microos Salud Humana, Países Bajos), producto disponible comercialmente que contiene una endolisina para el tratamiento de infecciones de piel causadas por <i>Staphylococcus aureus</i> . Fago T7 recombinante que expresa una enzima degradadora de exopolisacáridos (EPS) activa contra biopelículas de <i>E. coli</i> patógenas. SASPject; Terapéutica Fico, (Cambridge, Reino Unido), fagos que portan endonucleasas de restricción, holinas, sistemas toxina-antitoxina o proteínas que condensan el DDN.
Biocontrol: seguridad alimentaria y en agricultura	Uso de fagos líticos para controlar patógenos responsables de las enfermedades transmitidas por alimentos, o para reducir/eliminar las bacterias patógenas en sus reservorios o en las superficies y equipos.	Productos aprobados por la Food and Drug Administration para ser aplicados a distintos tipos de alimentos frescos y procesados (ensaladas listas para el consumo; productos derivados de aves, peces, etc.) y disponibles en el mercado: ListShield (Intralytix) o LISTEX (Microos Food Safety) para el control de <i>Listeria monocytogenes</i> ; Ecolicide® (EcolicidePX™), EcoShield (Intralytix) y Finalyse® (Passport Food Safety Solutions) para el control de <i>E. coli</i> O157: H7; SalmoFresh™ (de Intralytix) y SALMONELEX y PhageGuard S™ (Microos Food Safety) para el control de Salmonella; ShigaShield™ y ShigActive™ (Intralytix) para el control de <i>Shigella spp.</i>

		Agriphage (Omnilytics) para el control de <i>Xanthomonas campestris</i>
<i>Phage display</i>	Diseño de fagos con superficie decorada con péptidos o proteínas heterólogas, para el estudio de interacciones péptido-proteína, proteína-proteína, y proteína-DNA	Numerosas aplicaciones, entre ellas: la identificación de epítopes; el suministro de antígenos; el descubrimiento de fármacos; el diseño de vacunas, en bioimagen y biosensores; y en el diseño de nanomateriales. Mediante <i>phage display</i> , los péptidos o todo el fago pueden ser diseñados, por ejemplo, para enlazar y liberar medicamentos, vacunas o etiquetas de imagen en ubicaciones específicas para identificar u orientar células cancerosas o infecciones bacterianas. Existen en el mercado diversos kits de diagnóstico para la detección de patógenos humanos.

Un importante número de subsidios han sido otorgados por National Institutes of Health (NIH) para el estudio de fagos como potencial alternativa a los antibióticos tradicionales y numerosas compañías biotecnológicas en los últimos años han surgido alrededor del mundo para el desarrollo de nuevos productos; entre ellas: MICROGEN, Intralytics, AmpliPhi Biosciences Corporation, BiomX, Locus Biosciences, Center of Phage Technology, Phage Biotech Ltd., Fixed-Phage Limited, InnoPhage, Pherecydes Pharma, y TechnoPhage SA). El mercado mundial de los fagos en 2017 fue de 568 millones de dólares y se estima que crecerá durante el período 2017-2025 a un promedio anual de 3.9% hasta alcanzar los 800 millones en 2026. Los productos que contienen fagos se aplican principalmente en el sector de alimentos y bebidas (<https://www.credenceresearch.com/report/bacteriophage-market>). El desarrollo de nuevas biotecnologías a “hombros de estos pequeños gigantes” se desarrolla sin duda a una velocidad vertiginosa.

Referencias:

1. Douglas J (1975) Bacteriophages. USA: Springer
2. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Glenn Morris J (2001) Bacteriophage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* DOI: 10.1128/AAC.45.3.649-659.2001
3. Kristensen DM, Mushegian AR, Dolja VV, Koonin EV (2010) New dimensions of the virus world discovered through metagenomics. *Trends in Microbiology* 18:11-19
4. Raya RR, Klaenhammer TR (1992) High-frequency plasmid transduction by *Lactobacillus gasseri* bacteriophage phiadh. *Applied and Environmental Microbiology* 58:187-93
5. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, Romero DA, Horvath (2007) CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315:1709-1712
6. Chaudhary K, Chattopadhyay A, Pratap D (2018) Anti-CRISPR proteins: Counterattack of phages on bacterial defense (CRISPR/Cas) system. *Journal of Cell Physiology* 233:57-59
7. Doron S, Melamed S, Ofir G, Leavitt A, Lopatina A, Keren M, Amitai G, Sorek R (2018) Systematic discovery of antiphage defense systems in the microbial pangenome. *Science* 359(6379) eaar4120
8. Han W, She Q (2017) CRISPR History: Discovery, characterization, and prosperity. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 152:1-21
9. Kutter E, Raya R, Carlson K (2004) Molecular mechanisms of phage infection. Bacteriophages: Biology and Applications. USA: CRC Press
10. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. (2010) Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature Reviews in Microbiology* 8:317-327
11. Ofir G, Melamed S, Sberro H, Mukamel Z, Silverman S, Yaakov G, Doron S, Sorek R (2018) DISARM is a widespread bacterial defence system with broad anti-phage activities. *Nature Microbiology* 3:90–98
12. Stern A, Sorek R (2011) The phage-host arms race: shaping the evolution of microbes. *Bioessays* 33:43-51
13. Sturino JM, Klaenhammer TR (2004) Bacteriophage defense systems and strategies for lactic acid bacteria. *Advances in Applied Microbiology* 56:331-78
14. Swarts DC, Jore MM, Westra ER, Zhu Y, Janssen JH, Snijders AP, Wang Y, Patel DJ, Berenguer J, Brouns SJJ, van der Oost J (2014) DNA-guided DNA interference by a prokaryotic Argonaute. *Nature* 507:258–61

15. **Penadés JR, Chen J, Quiles-Puchalt N, Carpena N, Novick RP** (2015) Bacteriophage-mediated spread of bacterial virulence genes. *Current Opinion in Microbiology* 23:171-178
16. **Minot S, Sinha R, Chen J, Li H, Keilbaugh SA, Wu GD, Lewis JD, Bushman FD** (2011) The human gut virome: inter-individual variation and dynamic response to diet. *Genome Research* 21:1616-1625
17. **Reyes A, Haynes M, Hanson N, Angly FE, Heath AC, Rohwer F, Gordon JI** (2010) Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature* 466:334-338
18. **Breitbart M, Hewson I, Felts B, Mahaffy JM, Nulton J, Salamon P, Rohwer F** (2003) Metagenomic analyses of an uncultured viral community from human feces. *Journal of Bacteriology* 185:6220-6223
19. **Lim ES, Zhou Y, Zhao G, Bauer IK, Droit L, Ndao IM, WRNAer BB, Tarr PI, Wang D, Holtz LR** (2015) Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants. *Nature Medicine* 21:1228-34
20. **Lepage P, Colombet J, Marteau P, Sime-Ngando T, Doré J, Leclerc M** (2008) Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages? *Gut* 57:424-5
21. **Gogokhia L, Buhrke K, Bell R, Hoffman B, Brown DG, Hanke-Gogokhia C, Ajami NJ, Wong MC, Ghazaryan A, Valentine JF, Porter N, Martens E, O'Connell R, Jacob V, Scherl E, Crawford C, Stephens WZ, Casjens SR, Longman RS, Round JL** (2019) Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis. *Cell Host Microbe* 25:285-299
22. **Mills S, Shanahan F, Stanton C, Hill C, Coffey A, Ross RP** (2013) Movers and shakers: influence of bacteriophages in shaping the mammalian gut microbiota. *Gut Microbes* 4:4-16
23. **Lin DM, Keskella B, Lin HC** (2017) Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics* 8:162-173
24. **Sulakvelidze A** (2013) Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93:3137-3146.
25. **Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, Barr JJ, Reed SL, Rohwer F, Benler S, Segall AM, Taplitz R, Smith DM, Kerr K, Kumaraswamy M, Nizet V, Lin L, McCauley MD, Strathdee SA, Benson CA, Pope RK, Leroux BM, Picel AC, Mateczun AJ, Cilwa KE, Regeimbal JM, Estrella LA, Wolfe DM, Henry MS, Quinones J, Salka S, Bishop-Lilly KA, Young R, Hamilton T** (2017) Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 10: e00954-17
26. **Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, Russell DA, Ford K, Harris K, Gilmour KC, Soothill J, Jacobs-Sera D, Schooley RT, Hatfull GF, Spencer H** (2019) Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nature Medicine* 25:730-33
27. **Fischetti VA** (2018) Development of phage lysins as novel therapeutics: A historical perspective. *Viruses* 10: E310
28. **Henry M, Debarbieux L** (2012) Tools from viruses: bacteriophage successes and beyond. *Virology* 434:151-161
29. **Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A** (2018) Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses* 19:10(4). pii: E205
30. **Piuri M, Hatfull GF** (2019) Fluoromycobacteriophages for drug susceptibility testing (DST) of mycobacteria. *Methods in Molecular Biology* 1898:27-36.
31. **Raya RR, Varey P, Oot RA, Dyen MR, Callaway TR, Edrington TS, Kutter EM, Brabban AD** (2006) Isolation and characterization of a new T-even bacteriophage, CEV1, and determination of its potential to reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep *Applied and Environmental Microbiology* 72:6405-10.
32. **Raya RR, Oot RA, Moore-Maley B, Wieland S, Callaway TR, Kutter EM, Brabban AD** (2011) Naturally resident and exogenously applied T4-like and T5-like bacteriophages can reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep guts. *Bacteriophage* 1:15-24
33. **Roach DR, Donovan DM** (2015) Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage* 5:e1062590
34. **Salmond GP, Fineran PC** (2015) A century of the phage: past, present and future. *Nature Review Microbiology* 13:777-86
35. **Sillankorva S, Oliveira H, Azeredo J** (2012) Bacteriophages and their role in food safety. *International Journal of Microbiology* doi: 10.1155/2012/863945
36. **RahbRNAia L, Farajnia S, Babaei H, Majidi J, Veisi K, Ahmadzadeh V, Akbari B** (2017) Evolution of phage display technology: from discovery to application. *Journal of Drug Targeting* 25:216-24



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Número 2, año 18, Agosto 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Potencialidad de *Paspalum densum* en la fitorremediación de suelos contaminados con petróleo

Eugenio Torres Rodríguez¹, Yainer Maceo Medel², Yanisel Salgado Cedeño³, Rodisnel Perdomo Rivera¹

¹Centro de Estudios de Química Aplicada. Universidad de Granma. Cuba. ²Centro Universitario Municipal.

Yara. Cuba. ³Centro Universitario Municipal. Buey Arriba. Cuba.

etorresrodriguez@udg.co.cu

Recibido: 29/04/2019 - Aceptado: 02/05/2019

Resumen

La fitorremediación es una tecnología barata y ambientalmente amigable para descontaminar suelos. Muchas plantas utilizadas con este objetivo, tienen interés en la alimentación por lo que se hace necesario la búsqueda de nuevas variantes. Este trabajo describe un estudio preliminar en el que se determinó la capacidad fitorremediadora de *Paspalum densum* (cortadera). Fueron utilizadas dos muestras de suelo contaminadas con 40000 ppm de petróleo; las que se repartieron en 10 vasijas. En 7 de las 10 vasijas se plantó *Paspalum densum* (X2). En las tres vasijas restantes se tomaron como referencias para determinar la pérdida de petróleo en el suelo sin los efectos de la planta (X1). Al cabo de 75 días, se retiraron las plantas y se extrajo el petróleo de ambas muestras de suelo. La cuantificación de petróleo en X1 y X2, se realizó mediante espectroscopía ultravioleta-visible. Según la comparación de los datos obtenidos a partir de X1 y X2, *Paspalum densum* es capaz de eliminar 14536 ppm de 1 Kg de suelo contaminado con 40000 ppm de petróleo al cabo de 75 días; estos resultados unidos a la capacidad de resistencia a condiciones extremas, hacen de la planta un candidato ideal para la fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Palabras clave: petróleo, contaminación, espectroscopía ultravioleta-visible, *Paspalum densum*, fitorremediación

Potentiality of *Paspalum densum* in the phytoremediation of oil-contaminated soils.

Summary

Phytoremediation is a cheap and environmentally friendly technology to decontaminate soils. Many plants used for this purpose have an interest in food, so it is necessary to search for new variants. This work describes a preliminary study in which the phytoremediation capacity of *Paspalum densum* (cortadera) was determined. Two soil samples contaminated with 40000 ppm of oil were used; those that were distributed in 10 vessels. In 7 of the 10 vessels, *Paspalum densum* (X2) was planted. The three remaining vessels were taken as references to determine the loss of oil in the soil without the effects of the plant (X1). After 75 days, the plants were removed and the oil extracted from both soil samples. The quantification of oil in X1 and X2, was performed by ultraviolet-visible spectroscopy. According to the comparison of the data obtained from X1 and X2, *Paspalum densum* is able to eliminate 14536 ppm of 1 Kg of soil contaminated with 40000 ppm of oil after 75 days; These results, together with the ability to withstand extreme conditions, make the plant an ideal candidate for the phytoremediation of soils contaminated with hydrocarbons.

Keywords: petroleum, pollution, ultraviolet-visible spectroscopy, *Paspalum densum*, phytoremediation

Introducción

El petróleo es una mezcla extremadamente compleja y variable de compuestos orgánicos, donde la mayoría de ellos son hidrocarburos, que varían en peso molecular desde el gas metano hasta los altos pesos moleculares de alquitranes y bitúmenes. La contaminación de suelo y agua con hidrocarburos es un problema que se ha extendido como resultado de derrames de contenedores, rupturas de tuberías subterráneas y varios procesos industriales [1]. Los líquidos migran hacia el suelo y subsuelo. El efecto negativo de los hidrocarburos, se produce: en la vegetación de manera directa ocasionando la muerte y de manera indirecta afectando las condiciones físicas del suelo, alterando su fertilidad [2].

Para remediar la contaminación del suelo por petróleo, existen técnicas tradicionales como Desorción térmica o el lavado mecánico del suelo, sin embargo, estas son extremadamente costosas. La fitorremediación es una tecnología basada en el empleo de plantas para limpiar de contaminantes los suelos y aguas, es una de las estrategias más prometedoras por ser barata y ambientalmente amigable [3].

Paspalum densum es una planta que mostró capacidad para germinar en un suelo contaminado con 75000 ppm [4], sin embargo, no se reportan estudios relacionados con las potencialidades de la planta para ser usada en la fitorremediación de suelos.

En este trabajo se describe un estudio para determinar de forma preliminar la capacidad fitorremediadora de *Paspalum densum* en un suelo contaminado con petróleo. La cuantificación de petróleo en las muestras de suelo se efectuó mediante un método sencillo, la espectroscopia ultravioleta–visible.

Materiales y métodos

Para determinar la capacidad fitorremediadora de *Paspalum densum* se depositó 1 kg de suelo (contaminado con 40000 ppm de petróleo) en 10 vasijas de latón. En 7 de las 10 vasijas (X2) se sembró un rizoma de la planta (1 x vasija). Las tres vasijas restantes (X1) se tomaron como referencias para determinar la pérdida de petróleo en el suelo sin los efectos de la planta. El riego se realizó una vez a la semana, todas las vasijas se mantuvieron a la sombra a una temperatura promedio de 27,6 °C. Al cabo de 75 días se separaron cada una de las plantas cuidadosamente, para evitar la pérdida de suelo. La toma de la muestra de suelo se efectuó según el Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados [5].

Para la extracción de petróleo de las muestras de suelo se usó una modificación el método ASTM D5369-93. 2003 [6]. Se tomaron 2 g de suelo de cada muestra y luego de humectarla con 5 mL de CHCl_3 se colocaron en un balón de 50 mL, se añadieron 20 mL de CHCl_3 y 1 g de gel de sílice. La mezcla se sometió a la acción de ultrasonido durante 30 minutos, luego se filtró y se repitió la extracción 2 veces con 20 mL de CHCl_3 cada una. Todos los extractos se trataron con Na_2SO_4 anhidro y fueron filtrados [7]. La cuantificación de petróleo en las muestras de suelos (X1 y X2) se realizó mediante espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 232 nm en un espectrofotómetro FT marca Rayleigh UV-2100 de procedencia china. La disolución madre para confeccionar la curva de calibración se preparó en un matraz de 100 mL en el que se añadieron 20 mL de CHCl_3 (se determinó la masa: 90,781 g), posteriormente se añadió 1 mL de la muestra (petróleo) y se determinó la masa nuevamente (91,617 g). La diferencia de peso: 0,836 g es la masa del mL de petróleo. La concentración exacta de la disolución madre se fue de 16,72 ppm. A partir de la disolución madre se prepararon 5 patrones: 1; 3; 5; 8 y 10 ppm. (Por encima de 10 ppm la absorbancia supera el valor de 0,8 y no se cumple la Ley de Lambert-Beer). La absorbancia de cada patrón fue medida a 232 nm.

Para la medición de la concentración de petróleo a partir de X1 y X2, ambas muestras se diluyeron hasta 10 ppm (El coeficiente de dilución usado fue 4000), los resultados obtenidos se muestran en la Tabla II. Todas las variables fueron abaladas estadísticamente usando análisis de varianza (ANOVA) con desviación

estándar de la media determinada por la prueba de Tukey para un nivel de significación de 5 %. El programa estadístico usado fue Statgraphics v 5.0.

Resultados y discusión

Montaje del experimento

Como planta biorremediadora se utilizó *Paspalum densum* debido a su demostrada capacidad de germinar en suelos contaminados con altas concentraciones de petróleo [4].



Figura 1: *Paspalum densum* (cortadera) en su hábitat.

Se contaminó el suelo con 40000 ppm de petróleo, porque esta es la cantidad reportada en estudios similares usados como referencia [8].

En este tipo de estudio se debe descartar la pérdida de petróleo del suelo por otros factores en los que no intervenga la planta. Por esta razón se utilizaron siete vasijas en cada una de las cuales se colocó 1 kg de suelo que se contaminó con 40000 ppm de petróleo y se plantó *Paspalum densum* (X2). En otras tres vasijas se depositó la misma cantidad de suelo y petróleo, pero sin la presencia (X1). La cuantificación de petróleo en las muestras de suelo (X1 y X2) se realizó al cabo de 75 días, porque a partir de ese periodo la planta alcanza su máximo crecimiento y comienza a perder las primeras hojas secas.

Extracción de petróleo de las muestras de suelo

En la bibliografía consultada se reportan diferentes métodos para la extracción de petróleo de las muestras de suelo [9-13], sin embargo, en este trabajo se empleó la extracción asistida por ultrasonido por ser más rápida y eficiente. En el método empleado, el uso de gel de sílice permite que los ácidos formados por procesos de descomposición de materia orgánica sean separados de la muestra, por otra parte el tratamiento del filtrado con Na_2SO_4 anhidro, elimina el agua del extracto. El tiempo óptimo para extracción asistida por ultrasonido fue de 30 min, por encima de este tiempo disminuye el volumen del extracto, lo que pudiera deberse a la evaporación del disolvente por calentamiento. El método de extracción usado requiere menor tiempo y simplifica el proceso de extracción respecto a los procedimientos reportados [9-13].

Curva de calibración

Cuando se grafica la absorbancia medida frente a la concentración de los patrones se obtiene un gráfico que permite evaluar la linealidad del método en un intervalo de concentraciones de 1 a 10 ppm (Tabla 1).

Tabla 1. Absorbancia medida y concentración de los patrones.

Muestras	Concentración (ppm)	Absorbancia	
		$\bar{x} \pm SD$	SE
Patrón 1	1	0,083±0,0025	0,0014
Patrón 2	3	0,182±0,0010	0,0005
Patrón 3	5	0,310±0,0005	0,0003
Patrón 4	8	0,560±0,0005	0,0003
Patrón 5	10	0,757±0,0011	0,0006

\bar{x} :media; SD: desviación estándar; SE: error estándar

Se realizaron tres curvas en el desarrollo de la estandarización, de las cuales se eligió la de mejor coeficiente de correlación (R^2) para el desarrollo de la medición (Figura 2) [14].

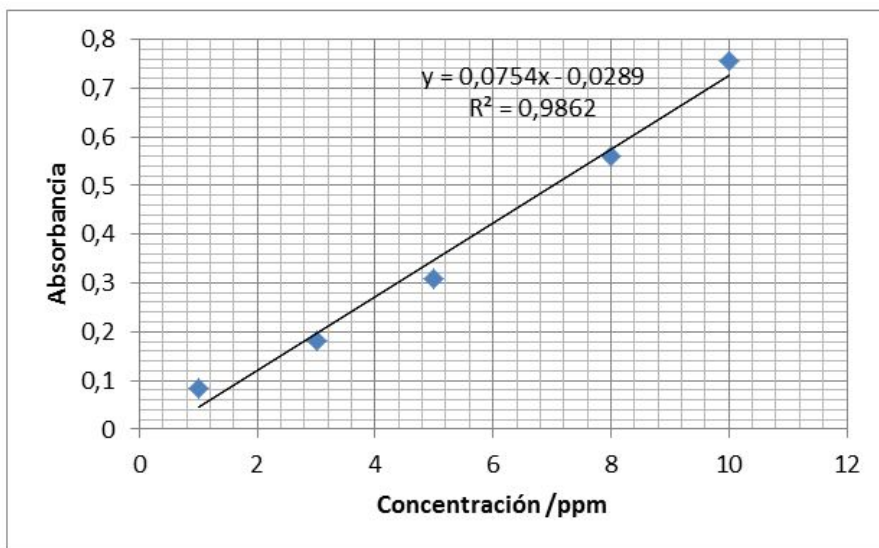


Figura 2: Curva de calibración.

Cuantificación de petróleo en las muestras de suelo (X1, X2)

Una vez obtenidos los valores de absorbancia de cada patrón, utilizando las mismas condiciones ($\lambda = 232$ nm) se determinó la absorbancia de las muestras problemas X1, X2. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Absorbancia medida y concentración de las muestras de suelo.

Muestras	Absorbancia		Concentración (ppm)		Concentración x 4000	
	$\bar{x} \pm SD$	SE	$\bar{x} \pm SD$	SE	$\bar{x} \pm SD$	SE
X1	0,601±0,001	0,0006	8,354±0,015	0,008	33416±60,044	34,666
X2	0,327±0,002	0,0008	4,720±0,028	0,010	18880±114,189	43,159

\bar{x} :media; SD: desviación estándar; SE: error estándar

La determinación experimental de las concentraciones de X1 y X2 al cabo de 75 días, permitió conocer las cantidades de petróleo en la muestra de suelo contaminado en la que se plantó *Paspalum densum* (X2) y la muestra de suelo contaminado sin la presencia de la planta (X1).

Los resultados obtenidos al multiplicar los valores de concentración determinados experimentalmente por el coeficiente de dilución (4000), se muestran en la Figura 3.

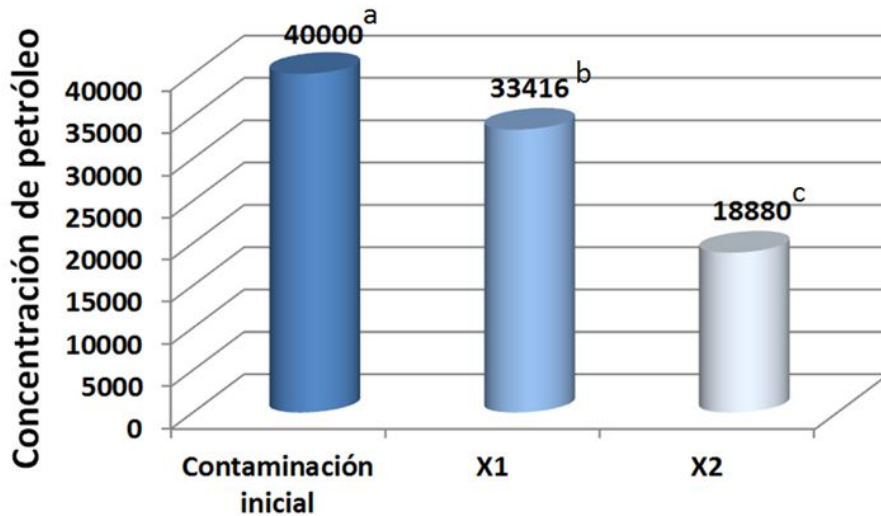


Figura 3: Variación de la concentración de petróleo en el suelo al inicio del experimento, al cabo de 75 días en la muestra de suelo sin planta (X1) y la muestra de suelo con planta (X2). Letras diferentes indica que existen diferencias significativas.

Debido a que una parte del petróleo puede ser eliminado por evaporación, arrastre físico debido al riego y descomposición por efecto de microorganismos no asociados a la planta, para conocer el verdadero efecto biorremediador de *Paspalum densum* es necesario desprestigiar la cantidad de petróleo que se eliminó en la muestra de suelo sin planta: $(33416 - 18880) \text{ ppm} = 14536 \text{ ppm}$. En el período estudiado (75 días) la planta logró eliminar 14536 ppm por cada Kg de suelo contaminado con 40000 ppm. Estos resultados fueron corroborados estadísticamente, existiendo diferencias significativas entre las tres concentraciones: contaminación inicial, muestra de suelo contaminado sin la planta (X1) y la muestra de suelo contaminado en la que se plantó *Paspalum densum* (X2). Este método es rápido y sencillo.

Cuando se obtuvieron espectros UV-Visible comparativos a las muestras obtenidas a partir de X2 (suelo contaminado en el que se plantó *Paspalum densum*) y X1 (suelo contaminado sin la planta), se observa que ambos espectros son similares, lo que indica la presencia de los mismos hidrocarburos en ambas muestras, sin embargo, el espectro de la muestra de X2 está por debajo del espectro de obtenido para la muestra de X1 (Figura 4).

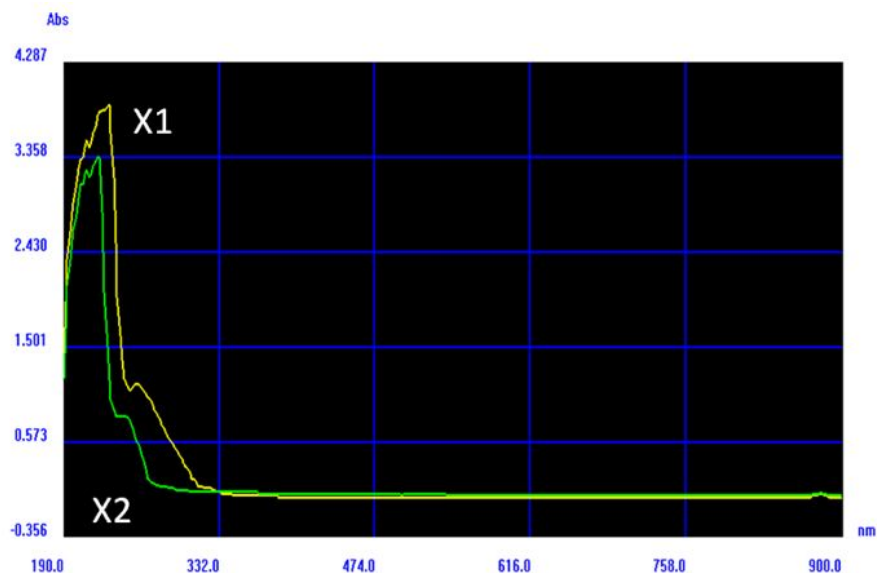


Figura 4: Espectros uv-visible de las muestras de suelo contaminado con (verde) y sin la presencia (amarillo) de *Paspalum densum*.

Este comportamiento se debe a que hay una menor concentración de petróleo en la muestra de suelo contaminado en la que se plantó *Paspalum densum* (X2) respecto a la muestra de suelo contaminado sin la presencia de la planta (X1) y corrobora los resultados obtenidos en la cuantificación de petróleo en ambas muestras.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio si bien son preliminares y se realizaron a pequeña escala, constituyen un paso importante en la búsqueda de plantas que debido a sus características puedan ser usadas en la fitorremediación de suelos contaminados con petróleo. Por otra parte hasta el momento en que se realizó el trabajo no se reportan usos para la planta descrita en el estudio. Las características de *Paspalum densum*: resistencia a la sequía, capacidad para germinar en suelos con alto contenido de petróleo [4] y en terrenos que han sido sometidos a la quema para eliminar plantas indeseables, así como las diversas formas de reproducción que presenta, hacen de la planta un candidato ideal para la fitorremediación de suelos contaminados con altos niveles de petróleo.

Referencias:

1. **Park I-S, Park J-W** (2010) A novel total petroleum hydrocarbon fractionation strategy for human health risk assessment for petroleum hydrocarbon-contaminated site management. *Journal of Hazardous Materials*, 179: 1128-1135.
2. **Joner, E.J., A. Johansen, A.P. Loibner, M.A. de la Cruz, O.H.J Szolar, J.M. Portal, C. Leyval** (2001). Rhizosphere effects on microbial community structure and dissipation and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in spiked soil. *Environmental Science & Technologies*, 35: 2773-2777.
3. **Jeannette Marrero-Coto, Isis Amores-Sánchez, Orquídea Coto-Pérez** (2012) Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento Ambiental. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar* 46: 52 – 61.
4. **Yainer M. M. y col.** Germinación de *Paspalum densum* (cortadera) en un suelo contaminado con petróleo. *Revista Química Viva (QV)* 2017. 3: 25-31. Recuperable de <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/>
5. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Instituto Nacional de Ecología México, D. F.* 2006. ISBN 968-489-039-7. 179p.
6. ASTM D5369-93. 2003. Standard practice for extraction of solid waste samples for chemical analysis using soxhlet extraction. *Environmental Assessment, Book of Standards*, Vol. 11.04.
7. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Instituto Nacional de Ecología México, D. F.* 2006. ISBN 968-489-039-7. 179pp.

8. ASTM D5369-93 2003. Standard practice for extraction of solid waste samples for chemical analysis using Soxhlet extraction. *Environmental Assessment, Book of Standards* Vol. 11.04, September 2004.
9. **Schwab A. P., Su J., Wetzel S., Pekarek S., Banks M. K.** (1999) Extraction of petroleum hydrocarbons from soil by mechanical shaking. *Environmental Science & Technologies* 33: 1940-1945.
10. **Weisman W.** (1998) Analysis of petroleum hydrocarbons in environment media. Vol. 1. Total petroleum hydrocarbon criteria working group series. *Association of American Railroads BP Oil Company. United States Air Force, Armstrong Laboratory, Occupational Medicine Division.*
11. US EPA 3500B (1996) Organic extraction and sample preparation. SW 846 Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods.
12. US EPA 3540C (1996) Soxhlet extraction organics. SW-846 Test methods for evaluating solid waste physical/chemical methods.
13. **Arce O. J.M., Rodríguez V. R., Rojas A. N.G.** (2004) Identification of recalcitrant hydrocarbons present in a drilling waste-polluted soil. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 39: 1535-1545.
14. **Taborda Q., O., Alzater., E. J., Montoya N., C.H.** (1989) Aplicación del numeral 5.4 Métodos de ensayo y calibración y validación de métodos de la norma ISO-IEC 17025 en el Laboratorio de Aguas de la Universidad Tecnológica de Pereira. *Procedimiento general para validación de metodologías analíticas*: 1-10.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Número 2, año 18, Agosto 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

El uso del video como estrategia de asesoría por pares para resolver problemas de química analítica

Luis Angel Aguilar Carrasco, Fermín Rueda Hernández.

Educativa, Facultad de Filosofía y Letras, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla de Zaragoza, Méjico

luis.aguilar@correo.buap.mx

Recibido: 28/06/2019 - Aceptado: 17/07/2019

Resumen

A partir del trabajo con dos grupos de estudiantes de diferentes semestres de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla se exploró la utilidad que tiene los videos como instrumento de asesoría entre pares para la resolución de ejercicios respecto al tema Equilibrio Químico. Se sugirió a los alumnos el uso de algún editor de videos y la disponibilidad de los mismo se encuentra en YouTube, estos video recibieron comentarios y críticas por parte de estudiantes de semestres iniciales respecto a si la explicación que colocan en los mismo es entendible y de utilidad para trabajar el tema central de dichos videos.

Palabras clave: Equilibrio químico, videos, asesorías

The use of video as a peer counseling strategy to solve analytical chemistry problems

Summary

Working with two groups of students from different semesters of the Faculty of Chemical Sciences of the Benemérita Autonomous University of Puebla explored the usefulness of videos as a peer advisory tool for the resolution of exercises on the subject of Chemical Balance. It was suggested to students the use of some video editor and the availability of the same is on YouTube, these videos received comments and criticisms from early semester students as to whether the explanation they put in them is understandable and useful to work on the central theme of these videos.

Keywords: Chemical balance, videos, advice

Introducción

En el estudio de la química, la resolución de ejercicios (problemas) es de vital importancia para poder comprender temas muy particulares, no se puede entender la formación de los estudiantes en esta área si los propios alumnos no desarrollan cierta habilidad para la resolución de actividades en donde se necesite emplear sus conocimientos, no únicamente en torno a la química, sino también de asignaturas transversales que proporcionan herramientas como las matemáticos. Padilla [1] consideró la resolución de ejercicios como un área emergente de la educación química.

No obstante, la resolución de ejercicios es sin lugar a duda una de las partes en donde los alumnos presentan mayores dificultades, esto puede asociarse a diferentes factores. En principio podríamos pensar

que existe una carencia de bases en torno a temas muy específicos, la falta de interés con respecto a un tema o subárea del conocimiento de la química es también fundamental para el bajo rendimiento en la resolución de problemas ello incluso puede repercutir en el hecho de que los estudiantes reprueben un examen o la misma asignatura.

Becerra [2] desarrolló una metodología para la resolución de problemas basándose exclusivamente en el uso de lápiz y papel como herramienta, los resultados mostraron que a partir del modelo que diseñaron se logró mejorar la resolución de ejercicios con el grupo de alumnos con el que se llevó a cabo la intervención.

Es necesario entender que en nuestros tiempos el proceso enseñanza-aprendizaje trasciende lo que el docente imparte en el salón de clases o lo que se revisa en el pizarrón, históricamente los ejercicios modelos son los que resuelve el docente en el salón de clase siguiendo una metodología que suele ser lineal y dictan el “camino” para llegar a un resultado matemático, podríamos incluso cuestionar si dicho resultado es realmente comprendido por el alumno.

La idea de organizar la información para resolver un ejercicio en base a los datos, la fórmula, el despeje de la misma (cuando sea necesario) y la sustitución de valores, pudiera ser una herramienta en fases iniciales de formación, pero esa misma herramienta debería evolucionar en función del crecimiento académico del alumno, pudiera incluso llegar a convertirse en un elemento más dentro de los procedimientos que utilice para poder resolver un ejercicio, más no en una herramienta trascendental sin la cual no pueda trabajar los ejercicios.

Los cambios curriculares y los ajustes de los temarios y contenidos en función de las necesidades que los diferentes niveles educativos han experimentado se ven reflejados en el cambio de paradigma de enseñanza con el cual se trabaja en los niveles básico, medio superior e incluso en el superior [3].

Hoy día se pretende que los estudiantes realicen actividades contextualizadas, es decir actividades en donde los temas que revisan tengan una aplicación o al menos una aproximación entorno a situaciones a las que se pueden enfrentar, quizá uno de los principales retos es precisamente contextualizar los ejercicios.

Los procesos de evaluación no son unidireccionales, la idea de que el examen escrito es un sinónimo de evaluación debe ser dejada de lado, en el sentido amplio del concepto una evaluación tiene relación con más factores que la simple repetición y memorización de conceptos, el desarrollo de habilidades y de valores son también parte fundamental de la evaluación particularmente bajo el enfoque con el que se trabaja en nuestro días.

Metodología

Durante el periodo Otoño 2018 (agosto-diciembre) se trabajó con dos grupos asignatura, el grupo que se denominará A es un curso de séptimo semestre de la licenciatura en química, este curso dentro de la ruta curricular, recibe el nombre de Química Analítica VI, en dicho curso los alumnos de la licenciatura antes mencionada deben hacer uso de sus conocimientos en torno a los temas y técnicas aprendidas durante los cursos precedentes de química analítica (equilibrio químico, volumetría, electroanálisis, espectrofotometría y cromatografía).

Es de esperarse que en este momento de su formación profesional los estudiantes de este curso tuvieran un dominio pleno de los conceptos que han estudiado a lo largo de la carrera y hubiesen ya desarrollado las habilidades necesarias que les permitirían resolver ejercicios de química analítica así como plantear procedimientos diferentes a los que se pudieran encontrar en un libro de texto.

La asignatura del grupo A se trabaja a partir del desarrollo de diferentes proyectos así como de la resolución y presentación de bancos de problemas en torno a temas de química analítica, los estudiantes deben

proponer métodos de análisis, procesos de reingeniería en torno a situaciones que se pudieran presentar en un laboratorio como por ejemplo la determinación de dureza en agua, el contenido de algún metal en una muestra etc., antes de llegar a esas etapas los estudiantes deben ocupar sus conocimientos para plantear una metodología de desarrollo de los proyectos lo cual incluye calcular cantidades de reactivos para la preparación de disoluciones entre otras cosas.

El segundo grupo con el que se trabajó es un grupo de segundo semestre de la licenciatura en Químico Farmacobiólogo o QFB (programa ofertado en Universidades de México), este grupo al cual denominaremos B se encontraban cursando la asignatura Química Analítica Básica, materia en la cual los alumnos reciben los conceptos básicos en torno a equilibrio y volumetría.

En la tercera semana de septiembre se solicitó a los alumnos del grupo A resolver un banco de problemas compuesto por 5 ejercicios, la resolución de dichos problemas debería ser presentada al profesor de la asignatura quien revisó que tanto el procedimiento como la obtención de resultado(s) fueran correctos.

Posteriormente se les indicó que deberían preparar un video en donde explicaran la resolución de alguno de los problemas, para ello se integraron equipos de tres personas, a cada equipo se le permitió escoger el problema con el cual trabajaría, el tiempo asignado para la preparación de la evidencia fue de una semana, posteriormente debían colocarlos en una canal de YouTube.

Una vez que los videos estaban en YouTube se solicitó a los alumnos del grupo B realizar el mismo banco de problemas y en caso de tener dudas para llegar al resultado podían revisar los videos que sus compañeros de séptimo semestre había realizado, así mismo se les solicitó que en caso de consultar los videos escribieran en documento de Word una breve opinión de estos en donde indicaran si les había o no servido para llevar a cabo su actividad partiendo del hecho de que había entendido la explicación.

Los problemas planteados en cada video son:

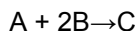
Problema del video 1 y del video 2

Para el equilibrio: $\text{H}_2(\text{g}) + \text{CO}_2(\text{g}) \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}(\text{g}) + \text{CO}(\text{g})$, la constante $K_C = 4,40$ a 200 K. Calcula:

- Las concentraciones en el equilibrio cuando se introducen simultáneamente 1 mol de H_2 y 1 mol de CO_2 en un reactor de 4,68 L a dicha temperatura.
- La presión parcial de cada especie en equilibrio y el valor de K_P

Problema del video 3

Para valorar 50 mL de una disolución de una sustancia A se agregaron 20 mL de una sustancia B de concentración 0.6 M, se sabe que por descuido se agregaron un exceso de B de acuerdo a la siguiente reacción



Para resolver el exceso de B se valoró con una solución D cuya concentración es 0.206 M, la reacción es la siguiente:



Para alcanzar el punto de equivalencia de la segunda reacción, se usan 7.3 mL de la sustancia D ¿Cuál es la concentración inicial de la sustancia A?

Problema del video 4

A partir de 150 g de ácido acético se desean obtener 166 g de acetato de etilo. Calcular los gramos de etanol que se necesitan sabiendo que la constante de equilibrio de la reacción de esterificación es 4.

Problema del video 5

¿Cuál será la solubilidad del cloruro de plata si añadimos nitrato de plata hasta una concentración final 0,002 M?

Es importante mencionar que dos equipos trabajaron el mismo problema debido a una falta de comunicación entre ellos, el docente responsable del grupo solicitó a los estudiantes de séptimo semestre escoger un ejercicio de un conjunto de 5 problemas con la finalidad de que cada equipo resolviera uno, no obstante se encontró un problema repetido, se decidió dejar ambos videos para contrastar la percepción entre los estudiantes.

Resultados De un total de 40 alumnos inscritos en el grupo B, 33 reportaron hacer uso de los videos para poder realizar la actividad, la cantidad de comentarios entregados fue la misma, evidentemente después de revisar los videos sería muy simple copiara el resultado de cada uno de ellos, de tal forma en sesión presencial se solicitó a los alumnos resolver en el pizarrón los problemas y posteriormente en plenaria se comentaron los videos y se dio retroalimentación a las propuestas de solución de los alumnos del grupo A.

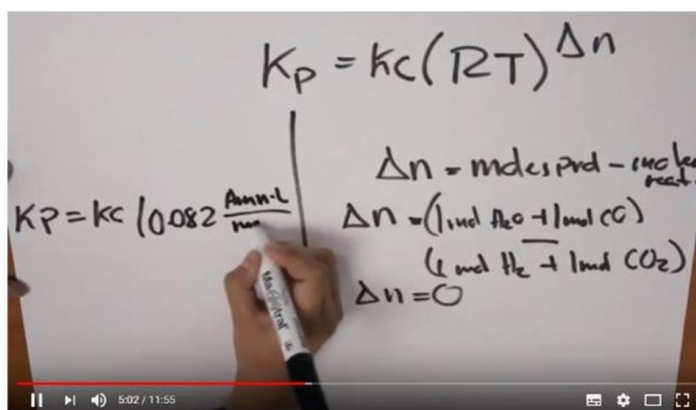


Figura 1: Resolución del problema 1.

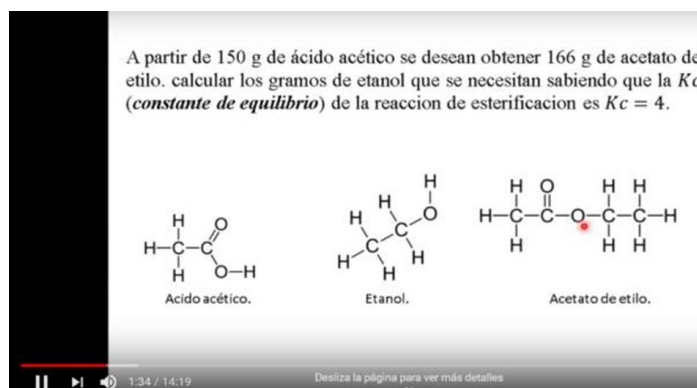


Figura 2: Resolución del problema 4.

Las figuras 1 y 2 muestran un fragmento de algunos de los videos, se sugirió el uso de PowToon y Canva como posibles herramientas para la preparación del video, pero también se mencionó que los alumnos podían desarrollarlo de la manera que ellos consideraban era mejor para dar una explicación. Del total de

comentarios recibidos (33), 27 reportan que al menos dos de los videos que pudieron revisar les sirvieron para entender cómo se podían resolver los ejercicios.

La figura 3 nos presenta la relación de alumnos que revisaron al menos dos videos, los que revisaron solo un video y los que no revisaron ninguno de los videos.

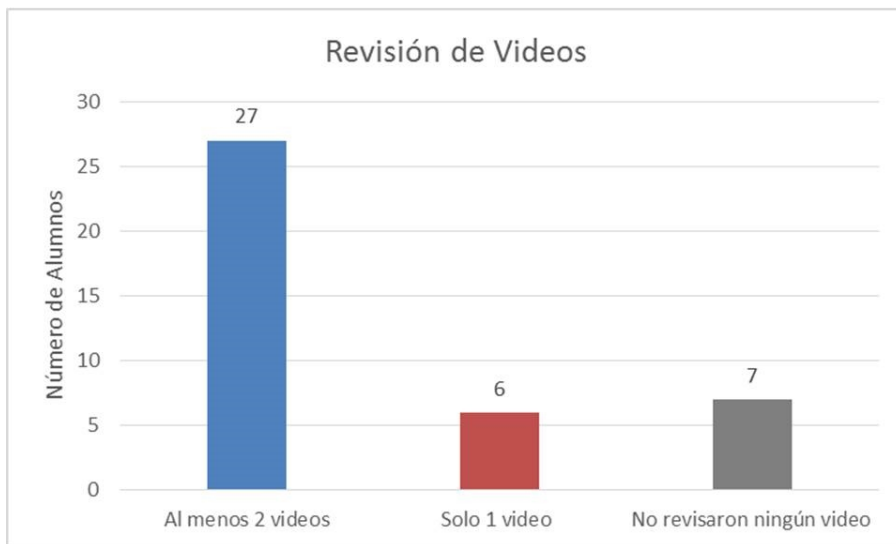


Figura 3: Número de estudiantes que revisaron videos.

Se eligieron de manera aleatoria los comentarios de cinco estudiantes, los comentarios vertidos por los alumnos se transcribieron textualmente y se presentan a continuación.

Estudiante 1

- Sobre el primer video: El principio del video es más claro que el resto y comete menos errores, como poner 40.4 en lugar de 4.4, al igual al resolver el inciso b) la chica tartamudea y se le van las palabras y confunde los términos aunque puede ser normal por los nervios, Sin embargo la explicación es buena y el video es entendibles para poder obtener los resultados en ambas partes.
- En cuanto al segundo video. Al comenzar el video les falta una parte, imagino que es el planteamiento del problema ya que no es mencionado y yo lo considero importante, la voz no es muy clara, además no van explicando los pasos intermedios, me quedó una duda pues en el desarrollo para calcular la K_c elevan al cuadrado los productos, pero se trata de una molécula de H_2O la cual debería ser despreciable porque es un compuesto puro y solo tiene un mol de CO .
- Del tercer video. El empleo de la estequiometria es muy bueno, me pareció un excelente video, pues la explicación es realmente clara.
- Sobre el cuarto video. El video está muy bien explicado incluso aporta una parte teórica, sin embargo pasa como en el video 2 eleva al cuadrado cuando el agua es un producto puro y si concentración sería 1. O acaso ¿se debe tomar en cuenta?
- El quinto video. El video va demasiado rápido y si no prestas la atención adecuada y vas pausando el video no entenderás, sin embargo es demasiado práctico.

Estudiante 3

- Del primer video. Se entiende en su mayoría solo cabe señalar que no explica su procedimiento con las expresiones usadas, ni el nombre de estas.
- Sobre el segundo video. Su procedimiento algebraico no están explicito, en el paso 6 no está escrita correctamente su ecuación, y no explica porque usa las expresiones para calcular los resultados, no entendí todo su procedimiento.

- Acerca del tercer video Le entendí a su procedimiento y explicación (aunque su explicación es clara pero no es muy fluida).
- Respecto al cuarto. Su explicación es amplia y clara en cada paso de su procedimiento, además su explicación de la reacción a nivel molecular deja en claro como estos compuestos reaccionan para obtener dichos productos. Si entendí
- En cuanto al quinto video. En el video no explica porque se realizan las operaciones del equilibrio, y no dice que conocimientos previos se aplican para resolver este ejercicio, no entendí del todo su procedimiento.

Estudiante 11

- Video 1. Es un problema correctamente desarrollado, pero no utiliza los términos adecuados, algunas veces confunde lo que hace, tal vez si me podría ser útil para realizar un problema, pero difícilmente le pondría atención porque me enreda y por momentos no sé qué hace y porque.
- Video 2. No me dice sobre qué tema habla. No me explica porque hace esas operaciones, mejora su explicación después de la mitad del video. Considero que si ocupara un cursor me ubicaría mejor en sus diapositivas y así evitar decir número por número y mejor ocuparlo en explicarme el fundamento del porque lo hace, porque así como lo explica de rápido es muy confuso.
- Es el mismo problema que el video 1 y le entendí mejor a este aunque son métodos diferentes y me siguen quedando dudas.
- Video 3. Me agrado el video, en cuanto al contenido le entendí, en mi opinión explico bien y definitivamente creo que ahora si podría hacer el problema con su explicación (una conversión está mal plateada y tiene una falta de ortografía)
- Video 4. Es una explicación concisa, el único pero que diría es que es muy extenso en teoría y práctica juntas. Excelente trabajo
- Video 5. Al principio si logre entender, pero hubo un momento en que dejo de explicar lo que estaba haciendo y ya no logre entender cómo y porque se hacia ese procedimiento y para sacar el resultado ni idea de porque lo hizo.
- Como conclusión puedo decir que si me ayudaron los videos, ya que me di cuenta que son los problemas que dejo de tarea, los cuales se me complicaron y no tenía idea de cómo resolverlos; aun así considero que tengo que repasar más sobre el tema para poder hacer los problemas.

Estudiante 20

- Sobre el primer video aparte de que durante el video la cámara se está moviendo algo y los números los está haciendo de una forma un poco rápida y por lo mismo puede ser un poco confuso, en el video si es explicativo pero se está saltando algunos pasos o parece que está tratando de saltarse algún paso y a partir del minuto 3:00 aparece un mensaje en medio de la pantalla (imagino alguna clase de error en el video), el audio se distorsiona un poco. Pero creo que en general está bien explicado el video solo por algunos detalles antes mencionados.
- Aunque al principio todo esta ordenado de una manera algo confusa y creo que el fondo no ayuda mucho, durante el video explica de una forma clara el problema paso a paso (aunque saltándose algunos pasos durante el procedimiento) pero en el video no se llega a entender o es confuso saber en qué paso va para seguirlo con orden, ya que todo está en pantalla al mismo tiempo.
- Me parece que está bien explicado el problema con todos los pasos de una forma sencilla de entender con buena fluidez el único detalle es el eco que tiene el audio pero aun así es entendible las voces.
- Está bien explicado todo el video con pasos y con un audio excelente, pero en una parte se confundió donde dice que un valor (1.899 al cuadrado da un valor y que ese multiplicado por 4 da el valor de 3.572, creo que se refería que el valor que da el $0.61 \cdot 1.89$ y multiplicado por 4 si da el valor que está abajo) en el minuto 12:58 aprox. Creo que en general el video está bien explicado y tiene buen audio, con pasos bastante claros y explicación sobre qué es lo que hace.
- El video está grabado de una forma un tanto extraña y aunque el audio este bien alguno de los números no se alcanzan a ver y esto hace un poco difícil entender algunos pasos, lo hace de una forma un poco apresurada, pero parece que está bien explicado el procedimiento.

Estudiante 28

- Video no.1: Al comenzar el video, todo es perfectamente entendible, aun cuando se pueden apreciar los nervios. En la segunda parte del ejercicio es cuando sentí confusión, al no ser claras con lo que estaban escribiendo y resolviendo. No me quedó claro al 100% como fue que obtuvieron x.
- Video no. 2: Desde el comienzo del video se puede observar y deducir que falta el planteamiento del problema, realmente esto puede ser muy confuso pues no se sabe con exactitud qué es lo que se está pidiendo resolver.
- No comprendo la forma en que calcularon la K_c , pues se puede ver claramente que consideran al agua para hacerlo, sin embargo esta debería ser despreciada.
- Video 3: La explicación me pareció bastante clara, pues no se saltan ninguna parte de la resolución, sino que lo hicieron paso a paso y puede comprender el problema muy bien.
- Video 4: La explicación me pareció muy buena y considero que clara, así como también se añade al principio del video una introducción teórica del tema.
- Video 5: En este video la explicación se da muy rápido, e incluso me parece que gran parte de ella ni siquiera está descrita, pues sólo se ve cómo van realizando el procedimiento. La calidad del video no permite ver con claridad todo el procedimiento.

Discusión de resultados

Todos los estudiantes que revisaron los videos expresaron algún tipo de comentario, ya sea en el sentido de la utilidad de los mismos o incluso para emitir una crítica (comentario) respecto a la resolución del ejercicio. Existen casos en el que los alumnos mencionan que aunque sus compañeros presentan un resultado correcto, el procedimiento mediante el cual llegan al mismo no es correcto o incluso llegan a sugerir otra forma para poder resolver ese mismo ejercicio.

En otros casos, los estudiantes del grupo B también hacen mención de errores de tipo matemático respecto a los despejes que sus compañeros de séptimo semestre realizan, en ocasiones esos errores de despeje son derivados de los alumnos suelen considerar que dominan ya el tema y pueden solucionar de manera "sencilla" el ejercicio, bajo este razonamiento suelen omitir pasos de la resolución de las ecuaciones metamatemáticas lo cual aparenta ser un error en el momento de presentar el resultado del ejercicio.

Pese a que lo más importante era que los alumnos describieran si el material generado por sus compañeros les ayudó a resolver las dudas que se les pudieron presentar al momento de intentar resolver los ejercicios, 27 de los alumnos que los consultaron hicieron alguna observación respecto a la calidad de la grabación, las voces y el propio sonido con el que se presentaron los ejercicios, los estudiantes le atribuyen a la calidad de los videos una parte importante dentro de la comprensión de las resoluciones, sin dejar de lado que la explicación debe de ser buena y el procedimiento para llegar al resultado deberá de ser claro.

Los estudiantes que consultaron los videos también se sintieron cómodos al saber que los videos habían sido preparados por estudiantes de la misma facultad, la impresión que los alumnos tienen en un primer momento es que este tipo de material se prepara en otros lugares bajo una estricta supervisión, si bien es cierto la resolución del ejercicio fue supervisada y revisada por el docente, se dejó libertad a los estudiantes para la preparación y edición del video.

Conclusiones

1. El desarrollo de los videos permitió que los estudiantes de séptimo semestre reflexionaran en torno a la resolución de los ejercicios, si bien se trata de problemas que se revisan desde semestres iniciales.
2. De manera alterna se despierta el interés en los alumnos por el uso de herramientas que de manera convencional no son ocupadas en la carrera.

3. En general a los estudiantes les resulta útil revisar videos que se encuentren en la red para estudiar temas en concreto, hacerlo a partir de videos que son preparados por compañeros que estudian en la misma institución resultó benéfico para la comprensión de los temas y la resolución de los problemas.
4. Los videos presentan errores en la resolución de los ejercicios desde el punto de vista matemático, así como en la explicación de los resultados obtenidos, lo que nos demuestra que es necesaria una total intervención del profesor en la revisión de los ejercicios resueltos antes de que se prepare el video para evitar este tipo de errores que incluso podrían llegar a ocasionar confusión en los alumnos que los consulten.
5. Los alumnos de segundo semestre que revisaron los videos reportaron que le fueron útiles, los documentos escritos que enviaron expresan su interés por los ejercicios, se expresan positivamente respecto de sus compañeros y las críticas que hacen se refieren a cómo podrían mejorar los procedimientos de resolución, esto sin lugar a duda apoya el aprendizaje de los dos grupos.
6. Es de llamar la atención que estudiantes de segundo semestre (grupo B) logren identificar los errores que los alumnos de séptimo semestre cometen al momento de explicar cómo se resuelven los ejercicios, esto nos da indicios respecto a que los alumnos de segundo semestre, se han apropiado de las nociones básicas de equilibrio químico lo que les permite detectar esos errores.
7. Los estudiantes del grupo B expresaron sentirse cómodos al saber que sus compañeros de semestre superiores eran los autores de los videos.

Referencias:

1. **Padilla Martínez K** (2012) La indagación y resolución de problemas, un área emergente en la educación química. *Educación Química* 23 : 414-415
2. **Martínez Torregrosa J, Gil Pérez D, Becerra Labra C, Guisasola, J** (2005) ¿Podemos mejorar la enseñanza de la resolución de problemas de lápiz y papel en los cursos de física y química? *Educación Química* 16(2): 230-245.
3. **Pardo JQ** (2000). Acerca de la resolución de problemas y la evaluación del tema enlace químico. *Educación Química* 11(4) 395-403.
4. VI, Q.A. (14 de septiembre de 2018). *youtube*. Obtenido de youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=NnYizug7TKQ>
5. VI, Q.A. (12 de septiembre de 2018). *youtube*. Obtenido de youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=r1rls1w6jo>
6. VI, Q.A. (9 de septiembre de 2018). *youtube*. Obtenido de youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=Ay2UuT2Frys>
7. VI, Q.A. (13 de septiembre de 2018). *youtube*. Obtenido de youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=rBftKUMmFDw>
8. VI, Q.A. (12 de septiembre de 2018). *youtube*. Obtenido de youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=oBRL0hreck4>



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Número 2, año 18, Agosto 2019

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar