

1 ACADEMIA DE FARMACIA DE CASTILLA Y LEON

2
3
4
5 **LOS BIOFILMS Y SUS IMPLICACIONES**
6 **EN EDAFOLOGIA Y SANIDAD**

7
8
9 DISCURSO LEIDO POR EL ILMO. SEÑOR

10
11 **PROF. DR. D. SALVADOR GONZÁLEZ CARCEDO**

12
13 EN EL SOLEMNE ACTO DE SU RECEPCIÓN PÚBLICA PARA INGRESAR COMO
14 ACADÉMICO DE NÚMERO, CELEBRADO EL DÍA 18 DE MARZO DE 2011

15
16
17 Y CONTESTADO POR EL ILMO. SEÑOR

18
19 **PROF. DR. D. MIGUEL LADERO**

20
21 ACADEMICO DE NÚMERO

22
23
24
25
26
27
28 **Escudo de la Academia de Farmacia**

29
30
31
32
33 SALAMANCA
34 2011
35

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

DEPOSITO LEGAL
AUTOR U EDITOR: SALVADOR GONZÁLEZ CARCEDO
IMPRIME SEVER-CUESTA, PRADO 10-12. VALLADOLID, 2011

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15

*A mis padres Francisco (“in memoriam”) y Teresa
y a mi hermano Quico.*

*A mi esposa María de los Ángeles
y a mis hijos Diego José, Marta, Francisco Javier y María.*

A todos aquellos que alguna vez depositaron su confianza en mí.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

DISCURSO

DEL ILUSTRISIMO SEÑOR

PROF. DR. SALVADOR GONZÁLEZ CARCEDO
Catedrático de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Burgos

18 de Marzo de 2011

1 *Excmo. Sr Presidente,*
2 *Excmas. e Ilmas. Autoridades*
3 *Ilmas. e Ilmos. Sras. y Sres. Académicos*
4 *Señoras y Señores.*

5
6
7 Deseo mostrar, en primer lugar, mi agradecimiento a los ilustres
8 miembros de esta naciente Academia de Farmacia de Castilla y León, que
9 participaron la selección de mi persona como Académico y en particular, a
10 su presidente D. Carlos Gómez Canga-Argüelles, por haberme aceptado
11 como ponente de este discurso. A D. Benito del Castillo, porque su apoyo
12 a este ingreso, ha sido una forma, entre otras muchas, que mantiene viva
13 una amistad, iniciada por nuestros padres en la Facultad de Farmacia de
14 Madrid.

15 Nacido en Burgos hace 64 años, tuve mis primeros contactos con la
16 Farmacia de muy niño, cuando jugaba con mi hermano a “buscar los
17 medicamentos y aprender sus nombres”. Nuestro padre completaba el
18 juego indicándonos para qué servía cada uno de ellos, nos daba clase de
19 química en su mesa camilla, y yo me admiraba de tanto conocimiento. En
20 el recuerdo quedan los curiosos porroncillos de los colirios, el “arte” de
21 hacer pomadas o preparar sellos de bicarbonato y papelillos de
22 permanganato, con el emblema bien centrado.

23 Esta vida tranquila, propia de un hijo de boticario de la época, se truncó
24 a mis 10 años, al enfermar de poliomielitis. Para mi sorpresa, mi padre no
25 sabía “todo”, pero me reveló su carácter luchador. Y fue el pediatra
26 santanderino Dr. Guillermo Arce, quien le devolvió la esperanza (su hijo
27 volvería a andar), y los Drs. Merino y Tobalina, entonces médicos del
28 Servicio de Pediatría del Hospital “Marqués de Valdecilla”, que como
29 ejecutores de las pautas de rehabilitación, me sacaron de inmovilidad y
30 facilitaron, que hoy me encuentre entre Vds.

31 El periodo de recuperación, fue de intensa relación con mi padre, y
32 marcó impronta en mi carácter. Comprendí que puedes alcanzar cualquier
33 meta, con trabajo, inteligencia y honestidad. Todo se puede ganar o perder
34 (incluida la movilidad) pero nadie, excepto el Alzheimer o la muerte,
35 puede arrebatarte el conocimiento, como mejor expresión de la libertad.

1 En mi época de estudiante pre y universitario (1962-1969) apareció la
2 amistad como otro valor a cultivar. Mis estancias en los colegios de los
3 Hermanos de la Salle y de Jesuitas, y en las Universidades de Valladolid
4 (curso de Selectivo) y Madrid, (como miembro de la “promoción 1969” de
5 la Facultad de Farmacia) dejaron una gran rastro de amigos, de cuya
6 relación aún disfruto. Si con Benito del Castillo comparto momentos
7 difíciles de nuestras vidas, en su casa de Arlanzón (Burgos), de Francisco
8 Zaragoza, recuerdo lo divertido de su carácter y lo profundo de su
9 conocimiento. A Manuel López Pérez y a Merche Loarte, les recordaba
10 hace pocos meses, en Zaragoza, las buenas partidas de ajedrez después de
11 horas de estudio de Botánica; y de Carlos Martínez Honduvilla, nombrado
12 oficialmente “cuidador de mis cuatros hijos estudiantes y madrileños”,
13 recordaba nuestros primeros pasos en el Laboratorio de Bioquímica de la
14 Facultad. Y un recuerdo especial para Beatriz Moles Calandre, con la que
15 compartí momentos importantes de mi vida.

16 De entre los profesores, ya en el recuerdo, el Hermano Blas (quien me
17 enseñó mis primeras letras y números), y de la Facultad, D. Ángel Hoyos
18 de Castro (primero en intentar que me quedara en su laboratorio), D. Ángel
19 Giménez Solves (ejemplo de superación, que me mostró la dificultad que
20 conllevaba la actualización de las prácticas de Bioquímica y la formación
21 de equipos de trabajo), D. Ángel Santos Ruiz y Dña. Ana María Galarza
22 (de gran capacidad docente para comprender y explicar su materia), D.
23 Lorenzo Vilas (con su forma de ver la Microbiología Industrial y sus
24 comentarios profesionales sobre Agricultura, que tanto me ayudaron
25 posteriormente), D. Salvador Rivas, D. Cándido Torres, D. Antonio
26 Doadrio. De todos ellos recuerdo un denominador común, su necesidad de
27 transmitir a sus alumnos lo mejor de sus conocimientos, actitud que he
28 agradecido personalmente e imitado durante mi vida como profesor.

29 Mi época doctoral fue emocionante. Dirigido por la Dra. María
30 Cascales Angosto, persona que hacía sentir a sus doctorandos como hijos
31 científicos, siempre actualizada en el conocimiento, batalladora para con
32 los suyos, paciente y buena estratega. Quizás, intuyendo mi futuro, supo
33 transmitirme herramientas globalizadoras de interés en una rama de la
34 Bioquímica, la Enzimología, cuya interiorización posterior me permitió
35 trasladar a la Edafología, como una forma de aplicación transversal.

1 Fue una Tesis Doctoral en la que estuvieron presentes los procesos de
2 germinación de semillas, las técnicas de manejo de tejidos, de extracción
3 de enzimas y su valoración, en el marco del Ciclo de Krebs. De aquella
4 Tesis nació mi interés por procesos propios de la Fisiología Vegetal, como
5 los criterios de reparto de energía en la planta o la fotosíntesis y una
6 especial capacidad de integrar nuevos conocimientos, que como la rizo-
7 deposición, la enzimología en el ámbito rizosférico y la afectación de
8 transportadores de nutrientes por metales pesados, que hoy tienen una
9 especial impacto para los nuevos graduados en Ingeniería Agroalimentaria,
10 donde últimamente imparto mis clases. Quiero recordar de aquel periodo,
11 con especial afecto a Blanca Feijoo Salgado (compañera de mesa en el
12 Laboratorio), a Pilar González y Ángel Giménez, a Carlos y Elena, a
13 Manuel López y Marche Loarte, a César Nombela, a José Luque.

14 Mi comienzo profesional, a mis 24 años, se inicia en Burgos, al
15 incorporarme a los Laboratorios Vichy. En esa época conocí a D. Jaime
16 González Carreró, catedrático de la Facultad de Farmacia de Santiago de
17 Compostela y compartí su conocimiento y experiencia en Dermofarmacia.
18 Esta actividad la compaginé temporalmente con la de Farmacéutico de los
19 Servicios Hospitalarios de la Excma. Diputación Provincial. Gracias a ella
20 pude conocer, durante tres años, las formas de trabajo desarrolladas en las
21 farmacias de hospital de mi entorno geográfico.

22 A finales de 1972, el Prof. D. Ángel Alberola Figueroa, Director del
23 C.U.A. de Burgos me seleccionó para formar parte de la plantilla de
24 profesores del nuevo Centro. Gracias a esta decisión retomé la docencia
25 universitaria en la enseñanza de Biología y Geología. En el primer
26 apartado tuve un gran apoyo en los profesores D. Mariano Illera y José M^a
27 Recio Pascual, y en la segunda, de D. Ángel Hoyos y D. Jaime Iñiguez.

28 En 1975 uní mi vida a la de M^a Ángeles de la Fuente Marcos. Sin
29 dejar de desarrollarse profesionalmente como farmacéutica y bióloga,
30 siempre facilitó mi trabajo con su proximidad, entrega, paciencia, firmeza
31 y dulzura, las mismas que aplica a mis hijos y a mi madre de 102 años.

32 Aceptada mi deficiente formación edafológica, en 1976, llegué al
33 Centro de Edafología Biológica del C.N.R.S. de Nancy, donde recibí una
34 formación actualizada en el manejo de los componentes orgánicos y
35 biológicos, bajo la dirección de los profesores, Brucker y Duchaufour.

1 Al retorno de Francia, ya sabía lo que tenía que hacer y conocía mis
2 lagunas de conocimiento. En mi idea básica debía de relacionar la Sanidad
3 del Suelo con la Salud del Hombre. Y desde el primer momento trabajé en
4 cómo los suelos podían integrar los nuevos aportes orgánicos para evitar la
5 erosión de los suelos. Así nació el proyecto que denominé PRIMOR (que
6 hoy mantiene su validez). La idea es sencilla y clara, en la línea más pura
7 de Medicina Preventiva: “Si elimino o evito, antes de que lleguen al suelo,
8 componentes inorgánicos, orgánicos y biológicos, de riesgo para la salud
9 de plantas, animales y del Hombre, que forman parte de residuos y
10 compost, el suelo no será un vector de enfermedades”. El farmacéutico,
11 por preparación científica, tiene mucho que decir en este tema.

12 En su desarrollo, se evaluaron las reacciones enzimáticas de los
13 suelos ante los aportes orgánicos, se extrajeron y purificaron los enzimas
14 acumulados en los residuos una vez compostados, se aplicaron estos
15 enzimas a los suelos, se desarrollaron conceptos básicos de metabolismo,
16 se especificaron los tipos de materia orgánica presentes en el suelo y se
17 consiguió conocer, localizar, extraer y evaluar determinados componentes
18 tóxicos de lodos de EDAR y RSU. Actualmente se intenta establecer cual
19 es la fase y forma de intervención más adecuada dentro de los procesos de
20 depuración de aguas residuales, para que la contaminación, acumulada por
21 concentración (mineralización de materia orgánica), se reduzca al mínimo.

22 En el bienio 1996-97 inicié una intensa actividad de divulgación de
23 este conocimiento en Iberoamérica. Visité Universidades y Centros de
24 Investigación de Venezuela, El Salvador y Argentina. Impartí cursos y
25 conferencias a todo tipo de auditorios desde estudiantes a profesionales.

26 En 1989, siendo Director del Colegio Universitario Integrado el
27 Catedrático de Geografía de la Universidad de Valladolid, D. Fernando
28 Manero, alcancé el puesto de profesor Adjunto y en 1999 el de Catedrático
29 de Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Burgos. El
30 horizonte de cambio está a la vista, y la entrega de mi dedicación a esta
31 Academia, asegurada en continente y contenido.

32 Para finalizar, quiero agradecer al Académico Constituyente, Prof. Dr.
33 D. Miguel Ladero Álvarez por su afectuosa disposición para contestar este
34 discurso y pedir disculpas a quienes no haya mencionado en estos breves
35 recuerdos. Muchas gracias a todos.

1
2
3
4
5
6
7
8
9

Introducción

10 En la historia de biosfera, hubo un periodo de tiempo superior a los
11 tres mil millones de años, que permitió la aparición de los estromatolitos
12 (biofilms en condiciones de saturación), y micro-estromatolitos (biofilms
13 en condiciones sub-aéreas) como formas socio-biológicas de colonización
14 en medios inhóspitos. Ambas organizaciones contribuyeron al desarrollo
15 de la bio-erosión y bio-geo-morfogénesis iniciales, generaron el O₂ como
16 componente de la atmósfera, y facilitaron la aparición de la respiración
17 aerobia. Dado que en los suelos, el examen de las sucesiones, se realiza
18 habitualmente, a partir de líquenes y musgos que conforman las actuales
19 comunidades (Odum, 1975; Razumovski, 1981), los edafólogos debemos
20 de reconocer este vacío de información. En todo caso, para Gorbushina *et*
21 *al.*, (2000), las biopelículas bacteriano-fúngicas no son comparables con
22 las comunidades liquénicas ni en su origen (asociación de hongos con
23 algas/bacterias fotosintéticas de vida planctónica "libre") ni en el
24 momento de aparición (más tardío que los ecosistemas de biofilms).

25 Aunque ya se habían detectado y utilizado los biofilms (sin saberse),
26 hasta tiempos muy recientes en la historia de la Microbiología, los
27 microorganismos se han ido caracterizado principalmente en sus formas
28 planctónicas (células libres en suspensión), y descrito en base a las
29 características de su crecimiento libre en medios de cultivo nutritivos.

30 Por ello, Donlan (2002), nos indica que el redescubrimiento de este
31 hecho asociativo, descrito inicialmente por van Leeuwenhoek, ("las
32 bacterias podían adherirse y crecer universalmente sobre superficies
33 expuestas"), y utilizado por Sergei N. Winogradsky (1856-1953) para
34 aislar microorganismos del suelo sobre portas de vidrio, revela que los
35 microorganismos asociados a una superficie (biofilms) poseen comporta-

1 mientos fenotípicos particulares que los diferencian de sus formas libres,
2 en su forma de ubicación, agrupación y organización colonial, movilidad,
3 organización, adaptación metabólica y ambiental, transcripción de genes, y
4 en su forma y tasa de crecimiento.

5 Estos hechos llevaron a definir a Heukelekian & Heller (1940), el
6 "efecto botella" en los microorganismos marinos (incremento sustancial
7 del crecimiento y actividad de las bacterias al adherirse a una superficie
8 predeterminada). Y a Zobell (1943) a afirmar que el número de bacterias
9 acumulado en las superficies era mucho más elevado que en el medio
10 circundante (en este caso, el agua de mar). Entre 1930 y 1950, la escuela
11 rusa de Edafología (influenciada por Winogradsky) estableció y evaluó a
12 las bacterias colonizadoras (especies y número), presentes sobre los granos
13 de los distintos componentes texturales de suelos de muy diferentes
14 ámbitos edafológicos, y los asoció a su origen geológico y mineral. La
15 integración de estos datos en su clasificación climático-zonal permitió el
16 desarrollo de determinados criterios y rasgos edafogénicos, cuya
17 aplicación técnica aún está por desarrollar.

18 Sobre la intervención de biofilms en génesis de suelos, solo Kubiena,
19 en 1953, menciona la existencia de "una fase, poco conocida, de la
20 formación del suelo". Richards, (1961), proporciona una descripción de la
21 formación de ecosistemas de biofilm sobre ceniza volcánica estéril
22 procedente de la erupción del Krakatoa (1883) en la que intervienen
23 películas de algas junto a bacterias y hongos como comunidad biótica
24 primigenia anterior a su colonización por plantas vasculares (en referencia
25 a las películas de algas, hongos y bacterias implicadas, sin describirlas).
26 Schwabe, en 1972, bajo este criterio, de las primeras etapas de la
27 colonización en suelos de Surtsey incluyendo las ausencias descriptivas.
28 Hoy se reconoce que los biofilms sub-aéreos sobre roca ocupan una
29 considerable superficie terrestre, estabilizan los suelos desérticos al formar
30 costras biológicas y desempeñan un papel crucial en el control de los
31 ciclos de energía y de materia.

32 En definitiva, los biofilms participan de forma decisiva en la
33 aceleración de los procesos de alteración/ erosión de las rocas directamente
34 implicados en la formación de suelo y desarrollo de la vegetación en todas
35 las zonas climáticas naturales.

1 La presencia masiva de biofilms en residuos animales (copromasa), y
2 en los compost de residuos vegetales y urbanos (neomasas), debe de hacer
3 cambiar de forma clara los criterios de aporte de estos materiales a los
4 suelos, usados en fertilización y rehabilitación. Es el eslabón que asocia
5 la Salud de los seres vivos que habitan sobre él, con la Sanidad del suelo.

6 En el conocimiento de los biofilms fue determinante el examen
7 detallado de las biopelículas mediante microscopía electrónica de alta
8 resolución, de transmisión y de barrido, aplicado a biofilms en filtros
9 percoladores de una planta de tratamiento de aguas residuales, permitiendo
10 a Jones *et al.* (1969) comprobar, en base en la morfología celular, que se
11 compone de una variada gama de organismos. El empleo de rojo de
12 rutenio, colorante específico de polisacárido, y del tetraóxido de osmio
13 como fijador, les permitió demostrar que el material de la matriz de su EPS
14 era de naturaleza polisacarídica.

15 Con este sistema de trabajo, Characklis (1973) estudió los limos
16 microbianos en los sistemas de agua industrial y demostró que no sólo eran
17 muy tenaces, sino también altamente resistentes a los desinfectantes como
18 el cloro. Costerton *et al.* (1978), basándose en las observaciones de la
19 placa dental y las comunidades sésiles en arroyos de montaña planteó una
20 teoría sobre las biopelículas que explicó los mecanismos de adherencia de
21 los microorganismos a superficies vivas y de materiales inertes, y el
22 conjunto de ventajas acumuladas alcanzadas por estos conjuntos vivos en
23 estos nichos ecológicos. Desde entonces, los estudios de biopelículas en
24 entornos industriales o ecológicos y en los entornos más relevantes para la
25 salud pública tienen un elevado paralelismo.

26 La conjunción del desarrollo de estándares de cultivo microbiológico
27 de biofilms y en el uso de la microscopía electrónica de barrido (SEM) y
28 de láser cofocal de barrido, junto a otras técnicas, han permitido notables
29 avances en la comprensión de los biofilms, en la caracterización de su
30 ultraestructura, en la identificación de los genes implicados en la adhesión
31 celular y en la formación de las biopelículas y en la adaptación al medio
32 nutricional y comportamiento ambiental en que se desarrollan en función
33 de los grupos moleculares de autoinducción (quórum sensing y quórum
34 quenching).

1 Y son la naturaleza de estos grupos moleculares y la forma de
2 regulación de la expresión de sus genes diana, donde mas empeño pone la
3 investigación actual, debido al impacto que sobre la Salud Pública tienen
4 las biopelículas en algunas enfermedades infecciosas y la importancia de
5 una variedad gama de formas de virulencia y resistencia a los antibióticos
6 que manifiestan estas formas de actuación sociomicrobianas. Un mejor
7 conocimiento de los procesos que acaecen en cada biofilm debe conducir a
8 nuevas estrategias eficaces para el control del mismo y una mejora en el
9 tratamiento farmacológico del paciente.
10

1 **Algunos tipos de biopelículas actuales de interés**

2
3
4 Las biopelículas son comunidades universales de microorganismos
5 (bacterias, hongos, arqueas, algas, protozoos, amebas), complejas e
6 interdependientes, asociados a superficies húmedas (vivas o inertes) o a
7 interfases (columnas de agua sujetas a gradientes), mediante una matriz
8 polimérica (EPS) de glicoproteínas extracelulares, de textura viscosa,
9 generada “*ex profeso*” recorrida por canales de agua, los cuales permiten
10 un intercambio eficiente de agua, masa nutricional y gases, entre las
11 poblaciones constitutivas y el ambiente exterior. De forma descriptiva,
12 Branda *et al.*, (2005) aceptan el término biofilm, como un "objeto
13 microscópico, en forma de hongo" integrado por una determinada
14 comunidad de células microbianas asociadas y adheridas a superficies
15 (duras o blandas) e interfases donde el acumulo de bacteriano y de
16 nutrientes es elevado (interfase suelo-planta).

17 La capacidad de formación de biofilm no parece estar restringida a
18 ningún grupo específico de microorganismos y hoy se considera que, bajo
19 condiciones ambientales adecuadas, todos los microorganismos son capa-
20 ces de formar biofilms, y las asociaciones biológicas dentro de un mismo
21 biofilm pueden generarse entre individualidades de distintos reinos.

22 Los biofilms ubicados en medios acuáticos naturales (fluviales o
23 marinos), o antrópicos se entienden como biofilms en medios saturados, y
24 ello sin olvidar que los desarrollos masivos de microalgas, que afectan a
25 aguas dulces y salinas (mareas rojas, verdes, marrones, etc.) en todo tipo
26 de ambientes son, en muchos aspectos, manifestaciones próximas a
27 aquellas.

28 En ámbitos fluviales activos (superficiales o subterráneos), los
29 biofilms están conformadas por grupos de bacterias (fotosintéticas o no),
30 algas, hongos, paramecios y amebas, que se desarrollan sobre o en el
31 interior de los objetos sumergidos y desempeñan un papel decisivo en cada
32 ecosistema tratado. Si las aguas reciben luz, las algas, al realizar la
33 fotosíntesis, convierten al biofilm en el primer eslabón de la cadena
34 alimentaria. El resto de los componentes biológicos que las acompañan en
35 estos biofilms (bacterias y hongos), mediante enzimas exo y endocelulares,
36 descomponen la necromasa generada. Su estructura orgánica también ser-

1 virá como nutriente de otros habitantes de la lámina de agua (peces y
2 gasterópodos). Además, en el seno de cada biofilm, estas combinaciones
3 biológicas son capaces de desarrollar intercambios genéticos. Su estructura
4 y funcionamiento son modificables según parámetros ambientales, tales
5 como velocidad del flujo, régimen hidráulico, condiciones de luz,
6 condiciones físico-químicas ambientales, tensión de gases, etc.

7 Si el biofilm se ubica en el fondo de ámbitos fluviales sedimentarios,
8 (donde la luz no tiene acceso), bacterias y hongos (con baja demanda de
9 O₂ y alta tensión de CO₂), toman el relevo a las algas, como componentes
10 primarios de los biofilms. El proceso degradativo que predomina es el
11 quimiotrofo, permitiendo el reciclado de las partículas orgánicas captadas
12 por el sistema biofilmico a través de sus conductos de agua. La acción de
13 descomposición la realizan enzimas exocelulares, sintetizadas específica
14 y/o coordinadamente por los distintos componentes biológicos,
15 conformando un nuevo tipo de cooperación exocelular (sintrofia), que
16 satisface las necesidades nutricionales de todos sus componentes.

17 Estos biofilms están particularmente presentes en la colonización y
18 degradación de hojas sumergidas, fragmentos de material vegetal y restos
19 animales en ámbitos hipóxicos. La fermentación anaerobia genera volátiles
20 orgánicos azufrados de olor particular. El proceso es extensible (con otros
21 actores) a los procesos de digestión intestinal, siendo este, un área de
22 investigación preferente de biofilms, en el campo de la Sanidad
23 Veterinaria, dado el elevado consumo de antibióticos, y afecta al suelo
24 cuando se aplican en forma de estiércoles por su carga en especies
25 resistentes a aquellos, y susceptibles de ser transferidos al hombre, gracias
26 a la erosión eólica.

27 Con esta vía de transferencia en la mano, Doggett (2000) nos
28 introduce en un aspecto peculiar de los biofilm acuáticos al proporcionar
29 evidencias de que los hongos son componentes comunes en los sistemas de
30 distribución de agua potable. Su presencia se atribuye en gran medida a
31 transferencias de esporas del entorno más directo (atmósfera o suelo) y el
32 crecimiento de sus hifas no parece ser significativo, si se considera que las
33 preocupaciones más importantes se asocian con la producción de
34 micotoxinas o el sabor y olor que su crecimiento vegetativo genera "*in*
35 *situ*". Sin embargo, la presencia generalizada de *Actinomyces flavus* en los

1 procesos de compostaje y la aplicación generalizada de los compost a los
2 suelos natura-les o antrópicos (de uso agrícola), nos debe de hacer
3 reflexionar sobre una nueva causa, a largo plazo, de riesgos sanitarios
4 potenciales, tanto para plantas como para animales y para el ser humano,
5 derivada del uso masivo de aquellos como enmiendas orgánicas (este
6 campo no es conocido, ni fácilmente aceptado, como causa de riesgo
7 directo o indirecto de cáncer).

8 Otras características del medio acuoso, (pH, niveles de nutrientes,
9 fuerza iónica y temperatura, dependientes de la estacionalidad), pueden
10 condicionar la tasa de adhesión bacteriana y el desarrollo de las
11 biopelículas (Donlan *et al.* 1994; Fera *et al.* 1989). El grupo de Fletcher
12 (1988a,b) encontró que un aumento en la concentración de algunos
13 cationes (sodio, calcio, lantano, hierro férrico) afectaba a la fijación de
14 *Pseudomonas fluorescens* a las superficies de vidrio, probablemente
15 debida a una reducción de las fuerzas de repulsión entre las células
16 cargadas negativamente de bacterias y las superficies de vidrio. En otro
17 sentido, Cowan *et al.* (1991) demostraron en laboratorio que un aumento
18 en la concentración de nutrientes se correlacionaba con un aumento en el
19 número de células bacterianas en los biofilms, hecho que también tiene su
20 aplicación en la formación y desarrollo agrario de los suelos.

21 La investigación actual de los biofilms en aguas, se orienta, por un
22 lado, hacia la caracterización y definición de la respuesta de las bio-
23 películas a factores ambientales, (velocidades de flujo, composición físico-
24 química, condiciones lumínicas, etc.) y por otra a conocer el impacto de y
25 sobre las sustancias contaminantes. La contaminación del medio fluvial
26 afecta a la estructura, diversidad (representación de las especies
27 constituyentes) y funcionamiento de los biofilms. Así, se generan
28 modificaciones en su actividad fotosintética, respiratoria o enzimática, que
29 pueden ser temporales o permanentes.

30 El conocimiento de los biofilms acuáticos abre una vía de uso, como
31 indicadores de la calidad ambiental, capaz de dar la alerta temprana ante el
32 descenso de O₂ disuelto, o la presencia de sustancias contaminantes
33 (plaguicidas, drogas, antibióticos, hormonas o cualquier otra sustancia
34 tóxica). Además facilita la comprensión del efecto de estos contaminantes
35 sobre el funcionamiento global de los ecosistemas acuáticos.

1 Con el tiempo, sanitarios y ambientalistas dispondrán de herramientas
2 funcionales para la bioindicación, que convenientemente estandarizadas,
3 complementen a las actuales, y permitan el control de la contaminación
4 fluvial derivada de la actividad agraria (aportes de composts, residuos
5 industriales y de plaguicidas) e industrial.

6 De esta forma, la capacidad de las biopelículas para degradar los
7 contaminantes “*in situ*” permitirá acelerar, la restauración de los ríos
8 contaminados. Para ello se exige un doble objetivo: Evaluar e incrementar
9 la capacidad de los biofilm naturales en biodegradación e identificar las
10 especies de bacterias y hongos que mejor se adapten a descomponer los
11 contaminantes, ya sea en suspensión como en solución.

12 Dado que la formación del Farmacéutico es suficiente, ¿Estamos
13 presentes, de forma adecuada, los farmacéuticos en este campo de
14 inspección y resolución de problemas sanitarios?

1 **De los biofilms en sí mismos.**

2
3
4 Los microorganismos organizados en biofilm poseen mecanismos
5 específicos para su unión inicial a una superficie o interfase, una capacidad
6 de desapego a la misma y una capacidad de desarrollo de una estructura
7 comunitaria y de ecosistema. En su conjunto, son cambios temporales,
8 complejos y altamente regulados en su transición desde la fase planctónica
9 (libre movilidad) a la comunitaria (movilidad limitada e integrando una
10 comunidad compleja en un recinto limitado) y viceversa.

11 Las células del biofilm se diferencian de sus homólogos en suspensión
12 por la generación de una matriz de sustancia polimérica extracelular
13 (EPS), que engloba masas celulares, con tasa de crecimiento controlada y
14 ubicación relativa concreta para cada especie, además de una regulación
15 (alta o baja) de genes específicos, que se hace patente en todas y cada una
16 de las fases intermedias del biofilm: interacción inicial de la superficie
17 celular, conformación del polímero exocelular, armonización metabólica
18 orientada al tipo de sustrato a degradar, maduración del biofilm, virulencia
19 (no siempre), y el retorno de los microorganismos del biofilm a un modo
20 de crecimiento planctónico (O'Toole *et al.* 2000).

21 En un contexto amplio, la formación de cada biofilms implica que los
22 microorganismos constituyentes, al dejar su condición de células móviles,
23 (planctónicas), además de conformar una comunidad biológica y
24 específica “ex novo”, sufren modificaciones en la expresión fenotípica que
25 implica cambios, genéticamente programados, en la organización y
26 desarrollo espacial, así como en el metabolismo de cada uno de sus
27 componentes.

28 La adherencia, como primer paso de formación del biofilm, es un
29 proceso complejo, regulado por diversas características del medio de
30 cultivo, y superficie del sustrato y de la célula. Una estructura de
31 biopelícula, conceptualmente, incluye que las colonias de células
32 microbianas y la EPS adquieran una arquitectura definida, cuyo objetivo
33 último es proporcionar un ambiente óptimo para la cohabitación, el
34 funcionalismo y el intercambio de material genético entre células. En el
35 interior de un biofilm, las células organizan su actividad, su aceptación y

1 su desarrollo gracias a agrupaciones moleculares de efecto positivo
2 (quórum sensing), y a otras de efecto negativo (quórum quering) que, en
3 su conjunto, afectan a la estabilidad de la biopelícula, consiguiendo su
4 organización/desorganización y el asentamiento/desprendimiento de su
5 soporte inerte.

6 Las moléculas de quórum sensing afectan de inmediato a su
7 comportamiento inmuno-comunitario, transcripción genética de enzimas
8 exo y endocelulares y productos de excreción, destinados a formar la EPS.

9 Por todo ello, se incrementa la capacidad degradativa de partículas y
10 compuestos orgánicos que entran por sus “canales de agua”, se modifica la
11 velocidad de captación de nutrientes, y en definitiva, la tasa de crecimiento
12 del conjunto (Donlan and Costerton, 2002). No hay que olvidar que en el
13 interior del biofilm se pueden encontrar materiales no celulares, tales como
14 cristales minerales, partículas de corrosión, partículas de arcilla o limo, o
15 componentes sanguíneos, dependiendo del entorno en el que ha
16 desarrollado aquél, los cuales se degradarán y donarán nutrientes, de
17 acuerdo con su composición.

18 Un índice del cambio fenotípico de las células en un biofilm, respecto
19 a sus formas planctónicas, se puede evaluar en base al incremento de su
20 resistencia intrínseca a agentes antimicrobianos y/o biológicos o al estrés
21 ante condiciones adversas.

22 En consecuencia, los antibióticos y biocidas convencionales no logran
23 erradicar a los microorganismos infecciosos, cuando se encuentran sobre
24 superficies inertes (como los implantes), conformando un biofilm. Este
25 hecho les hace temibles. Las moléculas de quórum quering, que afectan
26 a la estabilidad de la biopelícula, consiguen su desorganización y el
27 desprendimiento de su soporte inerte. Y ya se están usando con éxito en la
28 limpieza de ciertas fuentes monumentales de Tacca en Florencia y del
29 patio de Lindaraja en la Alhambra de Granada tras investigar aquellos
30 conjuntos moleculares en los biofilms formados sobre mármol de Carrara
31 (Cuzman, 2009).

32 Hoy se busca con ahínco su aplicación en Farmacología, a la hora de
33 desorganizar los biofilms portadores de microorganismos responsables de
34 determinadas enfermedades infecciosas con alto nivel de resistencia a los
35 antibióticos y en otros ámbitos tecnológico/industriales.

1 En base a evidencias de microscópicas, ya en 1971, Marshall *et al.*,
2 indicaron que en la adhesión estabilidad de la unión biofilm-soporte, parti-
3 cipaban finas fibras de polímeros extracelulares generados por las
4 bacterias.

5 Fletcher *et al.* (1991) encontraron que la adición de cationes a biofilms
6 bacterianos acuáticos (de agua dulce) generaba una contracción de los
7 adhesivos iniciales (disminución de la distancia de la célula al soporte), lo
8 que permitía pensar que el material de apoyo del biofilm era un polímero
9 aniónico. Posteriormente se demostró que estos cationes afectaban a las
10 retículas de los polímeros aniónicos (tales como polisacáridos),
11 contrayendo su volumen.

12 La hidrofobicidad es otra importante propiedad que afecta a la fuerza
13 de adhesión entre un biofilm y su soporte. Las interacciones hidrofóbicas
14 aumentan con el incremento de la naturaleza no polar de una o ambas
15 superficies que interactúan (la superficie de la célula microbiana y/o la
16 superficie del soporte).

17 En la célula, la hidrofobicidad de superficie depende de la presencia
18 de fimbrias y flagelos y la producción de EPS. Estos tres factores influyen
19 en la velocidad y el grado de unión de las células microbianas a un
20 determinado soporte de asentamiento.

21 La mayoría de las bacterias tienen carga negativa en la superficie de
22 su pared y membrana, que es compatible con sectores moleculares
23 conformados por sustancias hidrófobas. Las fimbrias, (apéndices no-
24 flagelares diferentes a los pili, implicados en la transferencia de ácidos
25 nucleicos virales o bacterianas), contribuyen a la hidrofobicidad de la
26 superficie celular, dado su alto contenido en residuos de aminoácidos
27 hidrofóbicos (Rosenberg & Kjelleberg, 1986).

28 Esta secuencia, (hidrofobicidad de la superficie y fuerza de
29 adherencia), probablemente se desarrolla gracias a la superación de la
30 barrera inicial de repulsión electrostática que existe entre la célula y el
31 soporte del biofilm (Corpe, 1980). Un número elevado de bacterias
32 acuáticas poseen fimbrias que están involucradas en la adhesión bacteriana
33 a las células de los animales. Rosenberg *et al.* (1982), y Bullitt &
34 Makowski (1995) han mostrado pruebas definitivas sobre el papel de las
35 fimbrias en la adhesión bacteriana a otras superficies.

1 En la estabilidad de la unión entre el biofilm y su soporte participan
2 determinados diversos componentes moleculares. La aplicación de trata-
3 mientos con enzimas proteolíticos a células absorbidas, seguida de una
4 elevada liberación de bacterias adheridas, proporcionó a Danielsson *et al.*
5 (1977) y Bashan & Levanony (1988) evidencias de la participación de
6 determinadas proteínas en el estabilidad de la unión.

7 Bendinger *et al.* (1993) encontraron que los ácido micólicos presentes
8 en organismos como *Corynebacterium*, *Nocardia*, y *Mycobacterium*
9 aportan una hidrofobicidad superior a las de las bacterias (que no les
10 contienen), y que el incremento de longitud de la cadena de ácidos
11 micólicos coincidía con el aumento de aquella.

12 También se ha demostrado que el componente del antígeno O del
13 lipopolisacárido (LPS) (de extraordinaria capacidad alergénica) confiere
14 propiedades hidrofílicas a las bacterias gram-negativas. Por este camino,
15 Williams & Fletcher (1996) demostraron que los mutantes de *P.*
16 *fluorescens*, carentes del antígeno O, se adhirieron en mayor número a los
17 materiales hidrofóbicos. En todo caso, para la mayoría de las cepas, la
18 adhesión fue mayor en los materiales hidrofóbicos.

19 Haya & Gaylarde (1989) mostraron que las lectinas inhiben, pero no
20 impiden, una adhesión generalizada. De esta forma justificaron que la
21 acetil-glucosaminidasa glucosidasa y la N-(NAG) reducían la estabilidad
22 de la unión en los biofilms de *P. fluorescens*, mientras que el NAG hacía
23 lo mismo con el *Desulfovibrio desulfuricans*.

24 También las lectinas se unen preferentemente a ciertos polisacáridos
25 en la superficie celular, y en este caso del EPS. La unión de las lectinas de
26 las células reduce drásticamente los sitios de inserción. Ello afecta a la
27 adhesión celular de los biofilms cuando la superficie externa de adhesión
28 es un polisacárido. Zottola (1991), confirmó el papel de los polisacáridos
29 en sus estudios sobre formación de biofilms a partir de *Pseudomonas fragi*.

30 En cuanto a la localización espacial de las uniones biofilm-soporte en
31 el seno de fluidos en movimiento, Korber *et al.* (1989), manejando cepas
32 móviles y no móviles de *P. fluorescens*, vieron que en ámbitos sometidos
33 al movimiento de un fluido, las células móviles se colocaban más
34 rápidamente y en mayor número, en contra del sentido del flujo
35 (backgrowth). Sin embargo, los flagelos mostraban su participación, en

1 las primeras etapas de la adhesión bacteriana, al facilitar la superación de
2 las fuerzas repulsivas asociadas al soporte de desarrollo del biofilms.

3 A la luz de estos hallazgos, las estructuras de la superficie celular,
4 tales como las proteínas de las fimbrias, y otras con contenidos variables
5 en LPS, EPS, así como todos los flagelos, juegan un papel significativo en
6 el proceso de fijación.

7 Los polímeros de la superficie celular de los sitios no polares como
8 fimbrias, parecen dirigir el proceso de adherencia a sustratos hidrofóbicos,
9 otras proteínas y los ácidos micólicos, componentes de ciertas bacterias
10 Gram-positivas, mientras que EPS y lipopolisacáridos son más importantes
11 en el apego a los materiales hidrofílicos.

12 Los flagelos tienen su importancia en el proceso, aunque su función
13 parece limitarse a superar las fuerzas de repulsión, en lugar de actuar como
14 adsorbentes o adhesivos.

15 Ciertamente, la superficie sólida sobre la que se desarrolla el biofilm,
16 también presenta características que condicionan el proceso de adhesión.
17 Characklis *et al.* (1990) señalan que el grado de colonización microbiana
18 parece aumentar a medida que aumenta la rugosidad superficial.

19 En general, la adherencia se produce más fácilmente sobre superficies
20 ásperas, más hidrofóbicas, una vez se ha recubierto la superficie por una
21 "película de acondicionamiento". Esto se debe a que las fuerzas de corte
22 se reducen, y la superficie es mayor en superficies más ásperas. Las
23 propiedades físico-químicas de la superficie también ejercen una fuerte
24 influencia en el índice y grado de vinculación.

25 De forma general se ha constatado, que los microorganismos conectan
26 más rápidamente a las superficies hidrofóbicas, no polares, tales como el
27 teflón y otros plásticos de los materiales hidrofílicos, como vidrio o
28 metales (Fletcher & Loeb, 1979; Pringle & Fletcher, 1983; Bendinger *et*
29 *al.* 1993).

30 Sin embargo los resultados a veces son contradictorios, al no existir
31 métodos estandarizados para la determinación de la hidrofobicidad de las
32 superficie, y aparentemente se produce algún tipo de interacción
33 hidrofóbica entre la superficie de la célula y el sustrato, que obliga a la
34 célula superar las fuerzas de repulsión activa a cierta distancia de la
35 superficie del sustrato y para unirse después de forma irreversible.

1 Una forma para adaptar a una superficie de material, expuesto en un
2 medio acuoso, es la incorporación a la biopelícula y recubrirla, casi de
3 inmediato, con polímeros de ese medio. Esa modificación química afectará
4 a la velocidad y el grado de unión de los microorganismos.

5 Loeb & Neihof (1975) fueron los primeros en indicar esta forma de
6 “adaptación” de las biopelículas durante su formación, en las superficies
7 expuestas en agua de mar, al encontrar que las películas eran de naturaleza
8 orgánica, formada pocos minutos después de su exposición, que siguieron
9 creciendo durante varias horas.

10 En medios acuáticos, un aumento en la velocidad de flujo, en la
11 temperatura, o en la concentración de nutrientes puede estimular una mejor
12 conexión, si no superan niveles críticos. Las propiedades de la superficie
13 celular, específicamente la presencia de fimbrias, flagelos, y los
14 polisacáridos de superficie asociados, o las proteínas, también son
15 importantes y, posiblemente, puede proporcionar una ventaja competitiva
16 para un organismo cuando se trate de una comunidad mixta.
17

Biofilms en Edafología

En los años de 1980-90 los biofilms se revelaron como comunidades con una elaborada y diferenciada organización que permite una capacidad para resistir presiones ambientales incluso en los entornos más hostiles, desde las lagunas ácidas y térmicamente burbujeantes del Parque de Yellowstone, el medio ácido de un estómago o las aguas gélidas de los glaciares de la Antártida.

Ciñéndonos al ámbito litológico, Arino & Saiz-Jiménez (1996) nos indican que la colonización microbiana de piedras y regolitos depende tanto de factores ambientales, (disponibilidad de agua, pH del nicho, clima, luminosidad, fuentes de nutrientes), como de parámetros litológicos, (composición mineral, porosidad y permeabilidad del material) y de la disponibilidad biológica de cada medio geográfico.

Entre las principales consecuencias de la actividad colonizadora de estos ecosistemas complejos se exaltan el incremento de la retención de agua, la inmovilización de carbono derivado de la fotosíntesis, y el fomento de la colonización por hongos y macro-organismos que permite el desarrollo de una sucesión de diferentes grupos biológicos en el seno de estos biofilms a lo largo del tiempo (Gaylarde & Gaylarde, 2000).

Los residuos orgánicos (catabolitos y restos bioestructurales), acumulados, interaccionan con los componentes minerales de las rocas (alteración), facilitando la dispersión de estos nuevos conjuntos con ayuda de cambios térmicos y de humedad, diarios y circadianos y su pérdida por erosión, con ayuda de la lluvia y del viento (erosión). Esto es propio de las primeras fases de la edafogénesis, durante la formación del regolito a partir de rocas emergentes. Hoy se reconoce que el biodeterioro de materiales líticos, es un proceso en que están involucrados biofilms de bacterias, microalgas y hongos en combinación con musgos o líquenes

En muchos lugares expuestos, con regímenes térmico e hídrico elevados, el desarrollo biofilmico sobre la superficie de rocas y regolitos es rápido e intenso. Y ello preocupa cuando los biofilms endolíticos al ser motivo de una reducción potencial de la vida media de los bloques extraídos con uso constructivo/ monumental.

1 Horath & Bachofen (2009), trabajando en el ámbito dolomítico del
2 Valle de Piora (Alpes suizos), añaden al conocimiento de las rocas
3 naturales expuestas, la heterogeneidad y complejidad de microorganismos
4 endolíticos que colonizan sus poros, donde conforman bandas verde-
5 grisáceas distintivas de 1-8 mm debajo de su superficie.

6 Estas comunidades biofilmicas están dirigidas por la fotosíntesis, (se
7 han encontrado 57 clones de cianobacterias, especialmente del género
8 *Leptolyngbya*, que forman la base funcional de los biofilm endolíticos). En
9 su compañía aparece un amplio espectro de bacterias quimiotrofas (64
10 clones) entre las que predominan actinobacterias, α -proteobacteria,
11 bacteroidetes y acidobacterias, así como un cluster de *Cloroflexaceaeas*
12 (bacterias verdes filamentosas). Además han observados un clustrer (40
13 clones) de *Crenarchaeotes*, otro (39 clones) de amebas, y un tercero de
14 distintas algas verdes (51 clones) lo que permite afirmar que en los hábitats
15 endolíticos naturales, la diversidad de organismos quimiotrofos no-
16 pigmentados es considerable y que las arqueas también están presentes.

17 Sobre granito pegmatítico, usando la técnica de microscopía
18 electrónica de barrido en superficie (ESEM) Gleeson *et al.*, (2005), revelan
19 la existencia de una diversidad de estructuras fúngicas (hifas y
20 microcolonias) endolíticas sobre todas y cada una de las superficies de los
21 componentes minerales (moscovita, plagioclasas, feldespatos potásicos y
22 cuarzo y sus productos de alteración “*in situ*”). Su trabajo nos expone la
23 existencia de, al menos, 16 ribotipos diferentes para cada comunidad de
24 biofilm, siendo cada ribotipo una forma especializada de desarrollo
25 respecto a la composición química de cada superficie mineral
26 constituyente de la roca.

27 Sus análisis químico/biológicos revelan que, en estos sistemas, la
28 riqueza en Al, Si, y Ca conlleva un significativo control sobre la estructura
29 de las comunidades fúngicas aparecidas en sus biofilms, al delimitar el
30 desarrollo de las poblaciones fúngicas que se desarrollan en cada momento
31 de acuerdo con la biodisponibilidad cada elemento químico individual,
32 siendo selectiva la concentración de Ca libre. ¿Es esta una forma incipiente
33 de estudio de la relación edafológica de sexquióxidos y un condicionante
34 del desarrollo de determinadas macrolepiotas en suelos ácidos (derivados
35 de ámbitos graníticos)?.

1 Un año después, se publica un comportamiento similar respecto a las
2 comunidades bacterianas colonizadoras. La única gran diferencia se basa
3 en que ahora el testigo de control, condicionante de poblaciones referido al
4 Ca, lo toma el ión K, constitutivo de los minerales, como regulador de las
5 especies bacterianas presentes en los biofilms específicos de aquellos
6 minerales (Gleeson *et al.*, 2006).

7 En regolitos expuestos ambientes extremos, como los desiertos, los
8 tipos de organismos hallados se limitan a bacterias y hongos,
9 catalogándose como extremófilos, al tener que desarrollarse en ambientes
10 muy secos y cálidos.

11 En experimentos comparados, mediante el cultivo, con ayuda de
12 hisopos, de las superficies rocosas, distintos autores han mostrado que los
13 hongos tienen una capacidad adaptativa muy superior a la bacteriana frente
14 a condiciones de aridez térmica o hídrica (Grote & Krumbein, 1992;
15 Gorbushina, *et al.*, 2002). Ello justifica el predominio, en distintos
16 desiertos, de micro-colonias fúngicas, asociadas a recubrimientos de rocas,
17 (desiertos de Sonora, Mojave, y otros de Australia y Perú) que son
18 detectables a simple vista, por colorear rocas (caso del cuarzo ennegrecido
19 por las melaninas) (Jones, 1991; Taylor-George, *et al.*, 1983; Perry &
20 Adams, 1978; Staley, *et al.*, 1982; Staley *et al.*, 1983). A veces, cuando los
21 depósitos son de manganeso, la posibilidad de verlos depende del uso de
22 microscopía electrónica de barrido.

23 La resistencia a la temperatura, de estas micro-colonias, es al menos
24 sorprendente, pues sobreviven durante periodos de 48 horas, por encima de
25 los 100°C (Palmer *et al.*, 1987). Quizás haya que estudiar aquí las
26 proteínas de choque térmico y su velocidad de trabajo.

27 Entre las bacterias Gram positivas encontradas en el desierto de
28 Mojave predominan los géneros *Bacillus*, *Geodermatophilus*,
29 *Arthrobacter*, y *Micrococcus* habiendo encontrado que especies de
30 *Planococcus sp.* e *Hyphomonas sp.* participan selectivamente en el ciclo
31 del Mn, por su capacidad para la extracción de electrones necesarios para
32 su actividad metabólica (Hungate *et al.* 1987). Respecto a las Gram
33 negativas, Dorn & Oberlander (1981), nos presentan bacterias similares a
34 *Metallogenium* y *Pedomicrobium*, y respecto a los hongos, la presencia de
35 *Actinomicetos* con aquella capacidad para oxidar Mn.

1 La mineralización de la necromasa de las estructuras fúngicas y
2 bacterianas, parece ser la responsable de la génesis de películas de
3 recubrimiento, ricas en Mn que tienen todas estas rocas (Dorn &
4 Oberlander, 1982; Dorn, 1998).

5 Este mismo criterio de formación de recubrimientos, lo están
6 aplicando Gong *et al.* (2008) para justificar la aparición de películas de
7 recubrimiento con iridio sobre partículas de calcita biogénicas durante la
8 transición entre el Cretáceo y Triásico (“misterio K/T”) gracias a la
9 actividad combinada de hongos endolíticos, cianobacterias y algas,
10 reunidos en el interior de huevos de dinosaurios. Para el periodo Cretácico,
11 ya se habían descrito estructuras miceliarias similares en depósitos calizos
12 de la India (Tripathi, 2001). Todo ello tiene relación con la capacidad
13 actual de ciertas especies de macromicetos, típicos de suelos calizos,
14 capacitados para acumular nanopartículas de Iridio, entre otros elementos
15 (González Carcedo *et al.*, 2011, en preparación).

16 Queda mucho por conocer, en la transformación de roca en regolito
17 (proceso generalmente entendido como físico o fisicoquímico), El
18 desarrollo de biofilms formadores de suelo, no solo afecta a la superficie
19 de las rocas. La composición de cada mineral constitutivo de las rocas y
20 los procesos de alteración a los que quedan sometidos, tiene mucho que
21 ver con los actores biológicos que colonizan y dirigen los procesos de
22 demolición de las estructuras cristalinas, los biofilms endolíticos. En todo
23 caso, la gama de condiciones físicas o ambientales necesarias para la
24 formación de las estructuras de biofilms en los suelos es un tema de
25 debate, muy poco conocido.

26 Así, el crecimiento microbiano asociado a superficies en ambientes
27 naturales no saturados, como rocas, rizosfera de distintos desarrollos
28 vegetales, o antropizados como la rizosfera de sistemas de monocultivos
29 técnicamente roturados o suelos aportados con compost de materiales
30 orgánicos muy diversos como los lodos de depuradora, que son portadores
31 de biofilms propios de medios saturados (proceso de depuración), e
32 insaturados (proceso de compostaje), nos hace preguntar si aquella
33 aplicación terminológica de biofilm es equiparable con los agregados
34 bacterianos, los tapetes microbianos, los flóculos o las microcolonias (De
35 Beer & Stoodley, 2006).

1 Otro avance de gran relevancia para la Edafología el del desarrollo de
2 biofilms sobre otros seres vivos. Así, estudios sobre las interacciones entre
3 bacterias y hongos en la fitosfera aportan información adicional sobre los
4 procesos que contribuyen a la formación de biofilms bacterianos sobre
5 hongos, que abarcan los campos de:

- 6
- 7 ○ quimiotaxis bacteriana ante las células fúngicas
- 8 ○ intercambio en el uso de nutrientes entre las especies que
- 9 interactúan,
- 10 ○ la expresión de genes específicos bacterianos una vez
- 11 establecido el contacto con las células fúngicas.
- 12

13 Aunque se creía que algunos hongos filamentosos, con impacto en la
14 salud del suelo y en nuestra economía, no formaban biofilms, recientes
15 hallazgos apoyan la hipótesis de que si los hongos filamentosos están
16 asociados a ciertas superficies si pueden hacerlas (Harding *et al.* 2009).

17 Para comprender mejor el interés de la formación del biofilm de
18 bacterias sobre hongos, hay que profundizar en las interacciones de
19 importancia económica, tales como las implicados en el control biológico
20 de patógenos vegetales bacterianos y fúngicos. Además, desarrollando
21 modelos manejables de sistemas biofilmicos bacteriano-fúngicos, se
22 podrán descubrirse elementos importantes de las biopelículas bacterianas
23 sobre otras superficies vivas tanto de tejidos vegetales como animales.

24 El crecimiento de la biomasa de las poblaciones microbianas
25 dominadas por hongos se ha calculado en muchos simuladores de
26 descomposición de la materia orgánica integrada dentro de modelos de
27 distintos ecosistemas terrestres, utilizando los mismos principios que en
28 otras comunidades microbianas. Se expresa en tasas de eficiencia
29 microbiana como valores proporcionales entre la nutrición orgánica
30 asimilada, de nueva biomasa generada, del crecimiento y de sus tasas de
31 mortalidad (Bosatta & Agren, 1994; Powlson *et al.*, 1996; Agren &
32 Bosatta, 1996, Van Wensem *et al.*, 1997).

33 Chertov *et al.* (2004) nos muestra dos tipos principales de modelos
34 matemáticos de crecimiento de hongos en biofilms. El primero acentúa los
35 patrones morfológicos de crecimiento de las hifas filamentosas (Prosser &

1 Trinci, 1979; Bartnicki-García *et al.*, 1989; Prosser & Tough, 1991). El
2 segundo considera el crecimiento de la biomasa fúngica (Pirt, 1967;
3 Prosser, 1995a, b).

4 Según Hogan *et al.*, (2009), en un futuro, los biofilms bacterianos
5 sobre hifas fúngicas permitirán esclarecer, las secuencias edáficas de
6 actuación y las metodologías de trabajo bioquímico que aparecen en los
7 procesos de degradación de la materia orgánica, a la par que la ocupación
8 ordenada de los diferentes loci edáficos. De forma paralela, el
9 conocimiento de los biofilms desarrollados sobre las raíces facilitará un
10 desarrollo que clarifica que del proceso de micorrización. De esta forma,
11 el descubrimiento de la formación de biofilm de bacterias y levaduras está
12 permitiendo una mejor comprensión de la ecología microbiana y aportando
13 nuevos conocimientos sobre los mecanismos de virulencia y persistencia
14 de los microorganismos patógenos.

15 Desde la perspectiva de las bacterias, hay un conjunto de posibilidades
16 en las que la formación de biofilms sobre hifas de hongos puede ser de
17 interés su estudio. Así:

18 • La colonización bacteriana de una superficie de hongos
19 puede permitir a las bacterias explotar al hongo (con tasas de
20 desarrollo poblacional muy elevado) como una fuente de nutrientes
21 (Hogan & Kolter, 2002) y controlar de esta forma su número. Las
22 bacterias pueden recoger los nutrientes de la pared celular fúngica,
23 consumir los productos de hongos excreta, o inducir la lisis de las
24 células fúngicas, con la consecuente liberación del contenido
25 intracelular, para el consumo de la población bacteriana local.

26 • En las comunidades donde las bacterias y los hongos están
27 en competencia por los nutrientes (ámbitos rizosféricos de suelos
28 no saturados), este tipo de colonización de sus hifas por biofilms
29 bacterianos podría mejorar el antagonismo bacteriano contra los
30 hongos, mediante la concentración de compuestos antifúngicos
31 generados por aquellas.

32 • La formación del biofilm sobre la superficie de las hifas
33 fúngicas podría permitir “viajar” a las bacterias sobre aquellos,
34 cuando los hongos prospectan nuevas áreas territoriales en busca
35 de nutrientes.

1 • Las bacterias unidas a las superficies de las hifas, dentro de
2 un mismo biofilm pueden mejorar las acciones sinérgicas de
3 bacterias y hongos necesarias para la degradación de sustratos
4 complejos.

5 • Por último, la colonización bacteriana de una superficie
6 fúngica puede ser la prime etapa de procesos endo-simbióticos
7 bacteriano-fúngicos más complejos, que pueden tener importancia
8 crítica en el ámbito de la rizosfera (Dorr *et al.*, 1998), donde la
9 nutrición viene condicionada fundamentalmente por la
10 rizodeposición vegetal.

11
12 En los suelos y en asociación con superficie vegetales, hay muchas
13 oportunidades para el desarrollo de interacciones físicas entre bacterias y
14 hongos. Las comunidades bacterianas asociadas a hongos en las
15 estructuras edáficas parecen ser distintivas en términos de tipos de especies
16 y abundancia relativa entre *Pseudomonas* y *Burkholderia* (hongo detectado
17 como colonizador habitual) (Frey-Klett *et al.*, 2005; Rangel-Castro *et al.*,
18 2002; Timonen & Hurek, 2006).

19 Estas interacciones bacteria-hongo parecen tener un papel importante
20 en la ecología de comunidades microbianas. Algunas especies bacterianas
21 pueden servir como agentes de control biológico que proteger las plantas
22 contra hongos patógenos (Whipps, 2001). Así, *Pseudomonas fluorescens*,
23 por su capacidad para colonizar raíces y células fúngicas, puede proteger a
24 la planta de tomate frente a la infección del *Fusarium oxysporum* (Bolwerk
25 *et al.*, 2003).

26 La *Pseudomonas syringae* se encuentra comúnmente en la superficie
27 de las plantas donde se interactúa con numerosas especies de levaduras y
28 hongos filamentosos (Lindow & Brandl, 2003). Las interacciones
29 antagónicas entre *P. syringae* y *Neurospora crassa* puede reflejar el papel
30 de la formación de biopelículas bacterianas en competencia con hongos en
31 la filosfera.

32 Otro área de gran interés en la formación de biofilms bacterianos
33 sobre superficies fúngicas se centra en el análisis de como se afecta el
34 conjunto fisiológico de cada uno de los actores durante este periodo intimo
35 y dinámico de interacciones.

1 Estudiando el comportamiento de los genes de *Pseudomonas putida*
2 cuando coloniza la superficie del hongo *Phytophthora parasitica* Lee &
3 Cooksey (2000) identificaron cuatro genes que modifican su expresión y
4 generan un factor de transcripción aún no caracterizado, un transportador
5 tipo ABC y una porina.

6 Otros estudios prueban que la trehalosa es una molécula importante
7 durante las interacciones bacteria – hongo pues, si bien no es habitual entre
8 las bacterias, muchas especies de *Pseudomonas spp.*, tienen la capacidad
9 de usarla y pueden crecer sobre restos fúngicos ricos en la misma. Ésta
10 capacidad de las *Pseudomonas spp.* para utilizar la trehalosa puede ser
11 parte importante del crecimiento bacteriano, asociado al crecimiento de
12 hongos ectomicorrízicos comestibles, como el *Cantharellus cibarius*, sin
13 que causarle daño (Rangel-Castro *et al.*, 2002).

14 Por el contrario, se ha visto que la inducción de genes de *P.*
15 *fluorescens sp.*, que controlan el uso de trehalosa inhiben el crecimiento
16 radial del *Pythium debaryanum* (Gaballa *et al.*, 1997; Rincón *et al.*, 2005).
17 Quizás sea importante contemplar esta capacidad en la lucha contra
18 determinados quiste de nematodos fitoparásitos, dado que su pared está
19 también conformada por trehalosa.

20 Es evidente que hay señales químicas y físicas que no se conocen en
21 su totalidad, pero participan también en la respuesta bacteriana a su
22 crecimiento sobre los hongos. Asociaciones íntimas entre *Burkholderia sp.*
23 y hongos son capaces de promover la formación de micorrizas (Aspray *et*
24 *al.*, 2006), y los *Azoarcus sp.*, que utilizan “pili” tipo IV para unirse a la
25 superficie del hongo, desarrollando solamente las estructuras
26 intracelulares, necesarias para la eficiencia de la fijación de N, únicamente
27 cuando ambas especies han crecido juntas (Dorr *et al.*, 1998).

28

1 **Los biofilms en tecno-edafo-hidráulica.**

2
3
4 Una vez definida la importancia de los biofilms en la conservación de
5 aguas subterráneas (actúan formando biobarreras que limitan la lixiviación
6 y migración de contaminantes a las aguas subterráneas) y en el tratamiento
7 de aguas residuales (actúan como filtro percolador o filtro biológico
8 celular), y una vez que se ha establecido su participación en la reducción
9 de N gracias a la participación de bacterias edáficas denitrificantes
10 (Persson & Wittgren, 2003) o de retención del N orgánico particulado en
11 la solución del y la disminución de la difusión de nitrógeno orgánico
12 soluble, NH_4^+ , NO_3^- en el suelo y en el biofilm (Horng-Guang *et al.*, 1996),
13 adquiere una gran importancia, las formas de crecimiento biológico de los
14 biofilms en el espacio poral del suelo.

15 Según Thullner *et al.* (2002) los desarrollos de biofilms edáficos
16 pueden encontrarse:

- 17 • Como biopelícula continua y uniforme que recubre la pared
18 de cada poro, lo que conduce a la reducción en el diámetro de los
19 poros,
- 20 • Como micro-colonias discretas que se desarrollan y
21 obstruyen los poros, especialmente los más pequeños, afectan la
22 regulación del flujo a través de un volumen multidimensional. Así,
23 los microporos requieren menos biomasa para la obstrucción que
24 los macroporos, y serían los primeros afectados.

25
26 En edafo-hidráulica, la acumulación de material orgánica en los
27 microporos se considera un factor causal de la modificación de los flujos
28 de agua en suelos saturados y humedales artificiales. Zhao *et al.*, (2009)
29 nos indica que la reducción del tamaño de la porosidad efectiva, en suelos
30 donde se encuentran instalados los biofilms (a 10 y el 15 cm de
31 profundidad) es significativa, pero no la tasa de infiltración (cuya
32 reducción es insignificante).

33 Cuando a estos sistemas artificiales se les nutría con aguas residuales,
34 la pérdida de infiltración se debía a la naturaleza de las partículas
35 orgánicas retenidas entre los poros, que generaban obstrucciones. Pero si

1 se les añadía granos de fécula o de glucosa, como componente nutricional
2 de los biofilm, las respuestas eran dispares, dado que la aplicación de
3 fécula generaba una velocidad de infiltración superior a cuando se
4 aportada glucosa. Ello nos permite razonar que los biofilms edáficos (su
5 formación, tamaño y metabolismo) responden de forma diversa,
6 dependiendo de la naturaleza de la materia orgánica aportada al sistema
7 suelo, siendo ésta, y no los biofilms formados, la responsable de la edafo-
8 hidráulica de cada suelo.

9 La disponibilidad en agua y nutrientes son los principales factores
10 limitantes del crecimiento biológico y desarrollo del biofilm, que a su vez
11 se constituye en uno de los factores principales obstrucción de los sistemas
12 de tratamiento de aguas residuales. El biofilm desarrolla una estructura de
13 colmena, con una rigidez mayor debido la pérdida de elasticidad de
14 sustancias poliméricas extracelulares bacterianas (cuando están contacto
15 con aguas frías), lo cual lo hace que sean mas resistentes a la fuerza de
16 corte de las corrientes de agua (Herbert-Guillo *et al.*, 2000; Okabe *et al.*,
17 1998). Esta estructura, no dispersable, provoca una disminución del
18 espacio vacío del medio poroso y un aumento de la dispersión de
19 partículas minerales (Hill & Sleep, 2002; Vandevivre & Baveye, 1992).
20 Con la edad del biofilm, la superficie de la estructura de la biopelícula se
21 reduce y se hace más lisa, por lo que el continuo desarrollo de la misma no
22 conduce necesariamente a una mayor reducción de los parámetros
23 hidráulicos (Cunningham *et al.*, 1991; Hill & Sleep, 2002; Okabe *et al.*,
24 1998). En consecuencia, el medio poroso no se obstruye totalmente debido
25 al equilibrio entre el crecimiento biológico y la degradación bacteriana de
26 sustratos, pero si se limita el transporte de coloides (Okabe *et al.*, 1998).

27 En los países en desarrollo, la construcción de humedales de flujo
28 subsuperficial horizontal se utiliza como una alternativa de bajo costo, para
29 el tratamiento, reutilización y eliminación de aguas residuales (Kivaisi
30 2001; Sanford *et al.*, 1995) dada la eficiencia mostrada en la eliminación de
31 contaminantes como el N, P, materia orgánica (Jensen & Siegrist, 1990) y
32 patógenos (Vega *et al.*, 2003).

33 Sin embargo, esta eficacia puede reducirse a causa de la obstrucción
34 de los espacios porales, lo que genera efectos en cadena, tales como la
35 reducción de conductividad hidráulica, de la porosidad y del suministro de

1 O₂ y un aumento de la dispersión del sistema (García *et al.*, 2004; Tanner
2 & Sukias, 1995; Tanner *et al.*, 1998; Vandevivre & Baveye, 1992).
3 Aunque, en los humedales artificiales, el mecanismo de obstrucción no
4 está aclarado, Coppola *et al.*, (2004), lo asocian principalmente a la
5 acumulación de sólidos orgánicos e inorgánicos en suspensión, el
6 crecimiento de los biofilms, la precipitación química, y la acumulación “in
7 situ” de componentes inorgánicos biogénicamente formados (carbonatos,
8 fosfatos, oxihidróxidos de Fe y Al, óxidos de Mg) y al incremento de
9 volumen de los coloides edáficos presentes cuando se hidratan.

10 La precipitación del Ca en filtros de tipo medio (V.g. agregados
11 ligeros y conchas de arena) es uno de los posibles procesos para la
12 eliminación de P. Sin embargo, los precipitados generados, rápidamente
13 obstruyen los microporos y disminuyen el espacio poral (Khadhraoui &
14 Kuroda, 2002). Adam *et al.* (2004) mostró que la forma de precipitación es
15 arracimada y actúan como núcleo de cristalización y crecimiento
16 cristalino, facilitando la obstrucción de sus poros.

1 **Los biofilms y su impacto en la conservación de monumentos.**

2
3
4 El interés actual de las biopelículas del tipo sub-aéreas ha crecido de
5 forma espectacular, asociado a la conservación del patrimonio cultural,
6 que se encuentre expuesto a procesos de deterioro. Materiales de
7 petroglifos, pinturas murales, edificios y monumentos se están
8 biodeteriorando aceleradamente (Dornieden *et al.*, 2000).

9 Las investigaciones iniciales de estos procesos muestran la existencia
10 de una gran biodiversidad de biopelículas junto al intenso y activo papel en
11 el deterioro de las superficies monumentales que realizan (Krumbein &
12 Gorbushina, 1995). Y han sido el complejo monumental de Angkor y
13 Bayon (Camboya) y los monumentos Mayas, sometidos a la acción de un
14 clima tropical, con bajo-relieves construidos totalmente sobre areniscas, y
15 con un alto grado de deterioro, el detonante de este interés internacional
16 por los biofilms.

17 La piedra de arenisca es particularmente susceptible a la colonización
18 por biofilms en función de su porosidad y capacidad de retención de agua.
19 Para May *et al.* (2000), los microorganismos autotróficos (foto y quimio-
20 autótrofos) son los colonizadores pioneros de estas superficies
21 constructivas. Se han identificado en sus biofilms, cianobacterias y
22 microalgas verdes, extendidos en techos y paredes de estos históricos
23 edificios (Crispim *et al.*, 2003). Las cianobacterias poseen una serie de
24 capacidades (tolerancia a la desecación, al estrés de agua, a altos niveles de
25 sales, y la resistencia a altas temperaturas y capacidad de uso eficiente de
26 radiaciones de baja intensidad de la luz solar) que explican su presencia
27 generalizada, aquí y sobre rocas y regolitos.

28 La capacidad de la microflora colonizadora de piedra para cubrir e
29 incluso penetrar en capas de estos materiales, conduce a la formación de
30 “biofilms complejos” (May *et al.*, 2000). Al igual que en las aguas
31 someras, la colonización microbiana de areniscas comienza habitualmente
32 con organismos fototrofos, capaces de construir biofilms de protección,
33 que según Warscheid & Braams (2000) se hacen visibles en la superficie
34 de piedras pobres en nutrientes.

1 Así las cianobacterias (bacterias fototrofas oxigénicas) generan altera-
2 ciones derivadas de la inmovilización de moléculas orgánicas sobre las
3 superficies minerales que recubren, al conformar complejos órgano-
4 metálicos y organominerales de alta o baja movilidad, respectivamente.
5 Ello facilita el asentamiento posterior de otras especies de microorga-
6 nismos y da paso a la formación evolutiva de sucesiones comunitarias en
7 las que los quimioorganotrofos tienen un mayor protagonismo. Por otra
8 parte, las poblaciones de bacterias filamentosas y hongos son capaces de
9 penetrar más profundamente en las areniscas induciendo un daño mayor en
10 la superficie litológica por la capacidad de sus catabolitos de formar
11 complejos organometálicos (Gu *et al.*, 1996) mas solubles. Las microalgas
12 (40%) que se asocian con distintas especies de bacterias heterotróficas,
13 pueden formar gruesos biofilms superficiales, sobre ellas.

14 Los hongos son un componente importante comunidades biofilmicas
15 que colonizan la superficie de la roca (Etienne & Dupont (2002).
16 *Ascomycota* constituye un *filum* común de distribución mundial, dada su
17 especial relación con el suelo. La participación de los hongos en
18 estructuras comunitarias se está asociando a la composición química de los
19 sustratos minerales. Como consecuencia, a superficies minerales diferentes
20 se corresponden poblaciones fúngicas distintas (Gleeson *et al.*, 2005).

21 Su abundancia muestra grandes diferencias en la estructura de las
22 comunidades entre los biofilms antiguos y recientes. Las evidencias
23 indican que en estos biofilms están enriquecidos con distintas especies de
24 protozoos y metazoos, a los que se atribuye un comportamiento
25 depredador, en el seno de cada biotopo específico del conjunto
26 monumental de Ankor, dada la elevada dinámica de estos biofilm en
27 climas tropicales (húmedos y cálidos) y la intensa luminosidad existente.

28 Todo parece indicar que las biopelículas sobre piedras de arenisca
29 forman comunidades equilibradas, cuyos miembros son capaces de co-
30 evolucionar a la par que permitir un reciclado de los elementos esenciales
31 para su actividad y crecimiento. Por todo ello, Warscheid & Braams,
32 (2000) concluyen que el deterioro biológico de las rocas es el resultado de
33 complejas interacciones microbianas a través de la comunidad del biofilm
34 y no la consecuencia de la acción de un grupo particular de
35 microorganismos.

1 En este sentido, trabajando en los poros de piedras calizas de los
2 restos arqueológicos Mayas de Ek' Balam, McNamara *et al.* (2006),
3 hallaron una amplia variedad de comunidades bacterianas endolíticas.

4 El análisis genético de los clones 16S de rDNA confirma la disparidad
5 de comunidades (endolíticas: >80% *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, y con
6 baja relación de bases GC a firmicutas; epilíticas: >50% de
7 *Proteobacteria*). La presencia de distintas comunidades bacterianas
8 epilíticas y endolíticas puede ser un nuevo factor efectivo de
9 discriminación entre las distintas fases de conservación de los materiales
10 que constituyen la herencia cultural, además de una forma de predicción
11 cuantitativa del estado de alteración de los carbonatos. Da toda la
12 impresión de que en estos biofilms mixtos, quienes permanecen son los
13 componentes bacterianos (foto y/o quimiolitotrofos) y quienes sufren
14 evoluciones sucesivas en el número, forma y tipo de poblaciones
15 (quimiolitotrofas y quimioorganotrofas), son el reto de los constituyentes
16 biológicos del biofilm.

17 Gorbushina & Krumbein (2000), dándose cuenta de que los biofilms
18 sub-aéreos son un tipo específico de estrategia vital, en un entorno de
19 máxima dureza, propusieron la idea de "poiquilotrofia" habida cuenta su
20 larga historia evolutiva y el alto y complejo grado de especialización
21 degradadora y cometabólica alcanzado por sus componentes.

22 Los hongos quimioorganotrofos, las bacterias y actinomicetos pueden
23 crecer en materia orgánica acumulada a partir de células muertas y los
24 desechos atrapados. El crecimiento del hongo conlleva la liberación de
25 enzimas y ácidos orgánicos, que pueden afectar a los materiales sobre los
26 que se apoya el biofilm, mediante la penetración de las hifas en la
27 superficie, lo que conduce a la destrucción mecánica por contracción y
28 expansión y deslizamiento (Mohammadi *et al.*, 2008). Los nutrientes
29 minerales disueltos en medio húmedo, por acción de los procesos
30 bioquímicos, a su vez pueden satisfacer las necesidades tróficas para un
31 mayor y mejor desarrollo de la comunidad establecida (Weisburg *et al.*,
32 1991). Por debajo de ellas, las areniscas liberan fracciones argílicas
33 susceptibles de pérdida por erosión, lo que afecta a la superficie de manera
34 significativa, lo que es acorde con el régimen pluviométrico y la carga
35 organo-mineral y mineral-biogénica.

1 Al mismo tiempo, cuando la superficie se seca, las sales minerales
2 excretadas por el biofilm, puede cristalizar “*in situ*” dando lugar a un
3 estrés en la superficie de minerales que conducen a procesos de
4 exfoliación de las rocas.

5 Uchida *et al.*, (2000) abordan este último aspecto, al comprobar que
6 todos los bajo-relieves contienen abundancia de sales higroscópicas,
7 (carbonatos, cloruros, nitratos, sulfatos, etc.) siendo este un indicador de la
8 de formación de micronichos salinos, sobre todo en períodos de
9 evaporación intensa, con concentraciones de sal suficientemente altas para
10 el desarrollo de microorganismos halófilos. Por ello no causó sorpresa la
11 presencia en los biofilms de *Haloarchaea* (grupo bien definido de
12 *Euryarcheota* especializados en la vida halófila (Kates, 1978).

13 Al objeto de solucionar el problema de pigmentaciones diferenciadas
14 de las piedras, en el exterior e interior de los templos, Sterflinger, (2000)
15 nos proporcionó una relación de hongos capaces de pigmentar su entorno
16 de implantación, y en su caso las biopelículas en los que participen. Así, el
17 color negro de las piedras del exterior, (frente al color verde de la piedra en
18 los ámbitos donde la luz no llega directamente) permitió la localización
19 (en el templo de Bayon) de especies del género *Dematiaceous*
20 (Ascomicetos negros productores de melanina), responsable del color
21 negro de sus piedras. Y ello sin olvidar que otras especies fúngicas
22 generan colores diversos como *Lecythophora sp.* (pigmentación naranja-
23 rosado), *Cladosporium cladosporium* (con melanina oscura y
24 pigmentación marrón) y *Coniosporium apollinis* (con melanina y
25 pigmentación negra), hechos que se deben a la capacidad metabólica de
26 sintetizar una gran variedad de pigmentos, incluyendo α -caroteno, β -
27 caroteno, melaninas etc. Hay que incluir los colores que aportan las
28 procariotas fototrópicas (cianobacterias y microalgas) al ser capaces de
29 sintetizar clorofilas y un amplio rango de ficobilinas.

1 **Algunas aplicaciones científico técnicas de los biofilms**

2
3
4 Con este nivel de conocimiento, se ha generado un nuevo concepto de
5 cooperación inter-vivos denominado sintrofismo o sintrofia, que se define
6 como una forma de cooperación metabólica y enzimático-funcional
7 orientada, que permite al conjunto microbiológico de cada biofilm generar
8 una alta especialización degradativa que satisfaga tróficamente al conjunto.
9 Sus bases de actuación, sus sistemas de señalización bioquímica, sus
10 conjuntos moleculares de coordinación y sus respuestas fenotípicas están
11 despertando una gran expectación. El manejo experimental de todos estos
12 conocimientos está dando los primeros pasos en amplios, variados y
13 insospechados campos de aplicación innovadora.

14 Así, en los trabajos de restauración de escombreras de lignito
15 (componente esterilizante de la biocenosis) se ha visto, tras 3 años de
16 cultivo de alfalfa en campo, la formación de biofilms fototróficos y
17 conocer el incremento de biomasa de algas, bacterias y hongos. En la
18 primera fase del desarrollo del biofilm, sobre horizontes pobres en humus
19 y compuestos nitrogenados, en la parte superficial del epipedón existía un
20 predominio de biofilm de algas como forma de colonización del sistema.

21 En el ámbito de la conservación de fuentes monumentales, tras
22 establecer la configuración biocenótica de los biofilms formados sobre el
23 mármol de Carrara, (el complejo está conformado por microorganismos
24 fototrofos (algas, cianobacterias y diatomeas) y heterótrofos (bacterias,
25 hongos protozoos y nematodos) embebidos en una matriz hidratada
26 (Norton *et al.*, 1998) en el que cada grupo varía de forma estacional y
27 diferenciada en cada uno de sus habitats (Underwood, 1984; Anderson,
28 1995; Roeselers *et al.*, 2007), y puesta en escena la “dieta alimentaria” del
29 la que adquieren su energía, (restos celulares, partículas procedentes del
30 aire, bacterias y esporas, junto a material inorgánico procedente del
31 soporte y una variada gama de componentes orgánicos propios de su
32 metabolismo) (Warscheid, 2008).

33 Mediante estrategias separadas y conjuntas de bioestimulación
34 (añadiendo en el suelo extracto de levadura) y de bioaumentación
35 (introduciendo en el suelo cultivos de hongos degradadores de poliuretano

1 tales como *Nectria haematococca*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium*
2 *ochrochloron*, o una *Mucormycotina ssp* no identificada, multiplicados
3 sobre superficies estériles de paja de trigo), Cosgrove *et al.* (2010) han
4 conseguido por primera vez incrementar de forma muy significativa la
5 capacidad de eliminar “*in situ*” (en el suelo) los residuos de poliuretano.

6 En el ámbito de la elección adecuada de materiales de recubrimiento
7 se ha constatado como *Curvularia geniculata* y *Aspergillus fumigatus* se
8 muestran capaces de adherirse a recubrimientos de imido-poliésteres (PEI)
9 usado en la protección de hilo de cobre esmaltado. Cuando esto ocurre,
10 aparece un gran biodeterioro y biodegradación que nos muestra la
11 ineficacia protectora del citado polímero (cuando se entierran los cables), a
12 pesar de la elevada concentración de fenoles, acumulados en el interior del
13 biofilm tras la acción de degradación (Soncini-Júnior *et al.* (2003).

14 El ámbito de la sanidad vegetal, (lucha contra plagas y enfermedades en
15 vegetales) Ortega-Morales *et al.* (2009) nos muestran el comportamiento
16 antagónico de bacterias procedentes de las biopelículas marinas (*Bacillus*
17 *mojavensis* y *Bacillus firmus*) contra hongos fitopatógenos terrestres tales
18 como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum fragariae*, y
19 *Fusarium oxysporum* siendo el primero, el mas sensible, y el último el mas
20 resistente a la acción antagónica bacteriana.

21 El esfuerzo innovador, que se realiza en las Universidades de Yale y
22 Montana, está basado en la extraordinaria capacidad del *Gliocladium*
23 *roseum* (hongo endofítico descubierto por Stinson *et al.* (2003), que crece
24 sobre *Eucryphia cordifolia*) para eliminar bacterias y hongos patógenos de
25 su huésped mediante la producción gases ricos en hidrocarburos (gran
26 variedad de ácidos, alcoholes, éteres y ésteres de bajo peso molecular, con
27 capacidades antibióticas en condiciones de baja tensión de O₂). La
28 innovación se está traduciendo en un procesado industrial de astillas de
29 madera, pues aquellos hidrocarburos volátiles son coincidentes con los que
30 conforman el combustible diesel derivado del petróleo. Este hecho abre la
31 posibilidad de generar mico-combustibles de alto octanaje como forma
32 alternativa al uso del petróleo (Strobel *et al.* 2008).

1 **Los biofilms y su interés sanitario**

2 **a. El interés de los sistemas de armonización funcional**

3
4
5 Aunque los biofilms pueden conformarse a partir de una sola especie,
6 tienden a ser diversos (se han identificado más de 300 especies bacterianas
7 en las bio-películas que conforman la placa dental) y esa diversidad
8 alcanza a las asociaciones con hongos, paramecios y amebas entre otros
9 microorganismos. Y ello tiene trascendencia sanitaria pues, si bien,
10 muchas de las enfermedades infecciosas agudas son causadas por bacterias
11 planctónicas, el Instituto Nacional de la Salud (INH) y la Organización
12 Mundial de la Salud (OMS) estiman que actualmente, los biofilms, son
13 responsables de más del 80% de las enfermedades infecciosas
14 desarrolladas en el mundo.

15 El concepto de la comunicación intercelular dentro de una población
16 bacteriana aparece con Tomasz (1965) al hablar sobre la competencia
17 genética en *Streptococcus pneumoniae* y con Hastings (Nelson *et al.*,
18 1970) en sus estudios sobre la bioluminiscencia del *Vibrio*.

19 Se decía, “la competencia es un estado fisiológico en el que las
20 bacterias son capaces de asumir modificaciones genéticas, generando
21 comportamientos fenotípicos diferentes al inicial”. Tomasz (1965) expuso
22 que esa capacidad de competencia estaba gobernada por la aparición de un
23 factor extracelular producido por el mismo estreptococo. Después se supo
24 que era un péptido modificado, bautizado como "activador hormonal", que
25 era capaz de sincronizar el comportamiento global de la población
26 bacteriana. Hastings y su grupo demostraron que dos especies de bacterias
27 marinas bioluminiscentes en medios oscuros, *Vibrio fischeri* y *Vibrio*
28 *harveyi*, eran capaces de emitir luz, solo en condiciones de alta densidad
29 celular (Nelson *et al.*, 1970) y que la bioluminiscencia se estimulaba tras la
30 adición exógena del líquido de cultivo de sus células libres. Al
31 componente responsable, le calificaron como autoinductor, y fue
32 identificado más tarde como un derivado de la acil-homoserín lactona
33 (Eberhard *et al.*, 1981). Los resultados combinados de ambos hechos
34 sugirieron que ciertas bacterias podían emplear, para medir su densidad de
35 población y controlar su comportamiento, la producción, liberación, inter-

1 cambio y detección de determinadas moléculas de señalización, como
2 respuesta a las variaciones de número.

3 Durante casi 20 años, estos fenómenos de señalización entre células se
4 consideraron sucesos anómalos, limitados a unas pocas bacterias
5 especializadas. A partir del trabajo de Davies *et al.* (1998) se conoce la
6 existencia de una correlación entre el desarrollo de la biopelícula de
7 *Pseudomonas aeruginosa* y la existencia de señales químicas célula a
8 célula. Estas señales regulan muchos e importantes cambios en la
9 expresión génica mediada. A los conjuntos moleculares responsables de la
10 comunicación célula a célula se les conoce como sistemas “quorum
11 sensing” (QS) (Swift *et al.*, (2001) y conforman un mecanismo regulador
12 bacteriano de la expresión fenotípica de ciertos genes, asociado a la
13 presencia de pequeñas moléculas señal, que se difunden libremente a
14 través de las membranas celulares y entre las células en el medio, cuya
15 concentración es dependiente de la densidad de población (Whitehead *et*
16 *al.*, 2001). Y estos sistemas de comunicación intercelular no son la
17 excepción sino la norma en el mundo bacteriano.

18 A través de un mecanismo de retroalimentación positiva autoinducida,
19 una población de células puede inducir rápidamente una expresión
20 fenotípica adaptada, que responda a una situación particular, como las
21 condiciones ambientales o para proceder a un proceso de diferenciación de
22 la población. En todo caso el objetivo de estos sistemas es que todo el
23 biofilm actúe armónicamente al sincronizar la expresión genética de todos
24 sus componentes (Long *et al.*, 2009). Aunque a veces ocurre lo contrario,
25 dado que las moléculas que conforman sus sistemas de quórum, (sensing y
26 quenching), son reguladoras (positivas y negativas respectivamente) de
27 todas las relaciones microbiológicas en el seno de los biofilms, y respecto
28 a sus soportes vivos. La universalidad del concepto y sus manifestaciones.

29 Otro ejemplo fascinante es la adaptación de los estreptomicetos a la
30 vida comunal, cuando constituyen un biofilm con bacterias. El hecho
31 conlleva un complejo proceso de diferenciación morfológica durante la
32 formación de micelio aéreo del estreptomiceto. Durante el proceso, el
33 micelio aéreo se mantiene erguido, adquiriendo sus filamentos un aspecto
34 piloso que sobresale de la superficie del biofilm, conformando una red de
35 hifas ramificación conocido como el “micelio sustrato”.

1 A la construcción de las hifas aéreas contribuyen las proteínas de la
2 superficie celular y, curiosamente en el contexto actual, péptidos
3 lantibióticos (como SAPB en *Streptomyces coelicolor*; y Sapt en
4 *Streptomyces tendae*), que contienen puentes tioéster similares a los de las
5 lanthioninas, y se acumulan extracelularmente durante la formación de
6 micelio, sirviendo como agentes tensoactivos para facilitar la liberación de
7 las hifas aéreas nacientes del micelio sustrato (Kodami *et al.* 2004; Willey
8 *et al.*, 2006). Así, como en otros casos de moléculas quórum sensing, la
9 acumulación de SAPB y Sapt reflejan una actividad de cooperación de la
10 comunidad bacteriano-fúngica, aunque las moléculas SAPB y Sapt no son
11 señales, sino péptidos morfogenéticos, que juegan un papel físico-químico
12 en el desarrollo del conjunto.

13 Desde finales del siglo XX se ha realizado un rápido progreso sobre
14 al separación de las funciones genómicas que afectan en primer lugar a la
15 formación de la comunidad microbiológica, al proceso de adhesión sobre
16 una determinada superficie, el crecimiento, la motilidad, la formación de
17 los exopolisacáridos de superficie, y en segundo lugar a la detección de los
18 sistemas de quorum sensing (QS) cuyas moléculas bioquímicas de control
19 están directamente implicados en un riguroso control del proceso de
20 diferenciación de cada biofilm (O'Toole & Kolter, 1998; O'Toole *et al.*,
21 2000; Whiteley *et al.*, 1999; Prigent-Combaret *et al.*, 1999). Hasta el
22 momento se han caracterizado, al menos parcialmente, tres sistemas QS,
23 iniciando la definición de un nuevo código bioquímico en la medida en
24 que se organizan las moléculas identificadas, en el seno de los sistemas de
25 comunicación empleados por las bacterias (entre si o con otros
26 microorganismos).

27 El sistema QS más conocido es el utilizan para comunicarse entre las
28 diferentes bacterias Gram-negativas constitutivas de un mismo biofilm. Se
29 basa en un conjunto de moléculas señal (autoinductores) derivadas de la
30 acil-homoserin lactona (AHL) (Swift *et al.*, (1999) sintetizadas por
31 homólogos del gen *Lux I*. Su concentración se acompasa al crecimiento del
32 número de población bacteriana, hasta alcanzar un nivel de señal suficiente
33 para interaccionar con los receptores proteicos (reguladores
34 transcripcionales) de la familia *Lux R*, alterando la expresión genética,
35 incluso de genes esenciales para la colonización por eucariotas.

1 Este proceso se ve facilitado con la alta densidad celular que alcanzan
2 las biopelículas bacterianas (Costerton et al. 1999) y la proximidad celular,
3 que aportaba una mayor concentración intracelular de la señal de quorum
4 (Davies *et al.*, 1998).

5 En el caso de quorum-sensing para la señalización entre distintas
6 especies de bacterias Gram-positivas, tales como *Streptococcus* y *Bacillus*,
7 la comunicación esta mediada predominantemente con péptidos pequeños
8 (Dunny & Winans, 1999) que frecuentemente presentan pequeñas
9 modificaciones. Vg., la molécula señal para competencia genética en
10 ComX de *B. subtilis* es un hexapéptido en el que el residuo de triptófano se
11 ha modificado por unión con radical de geranilo (Okada *et al.*, 2005). Los
12 péptidos señal tales como los ComX se reconocen por dos histidin-
13 quinazas, componentes sensores membranales.

14 La traducción de la señal se lleva a cabo mediante la activación de
15 procesos de fosforilización en cascada, cuya actuación final ceba los
16 factores de la transcripción, unidos al DNA, que a su vez son responsables
17 de la regulación de los genes diana. En general, las bacterias mantienen,
18 relaciones mediante sus AHL y péptidos de quorum-sensing específicas de
19 cada especie de bacteria produciendo y detectando un único sistema AHL
20 (cada AHL difiere en el radical de su cadena lateral), péptido, o
21 combinación de ambos.

22 Si los AHLs y los péptidos representan las dos clases más importantes
23 de moléculas señal célula-célula de una misma especie, una nueva familia
24 molecular llamada genéricamente autoinductora-2 (AI-2) parece emplearse
25 en el mundo bacteriano para facilitar la comunicación entre comunidades
26 de especies de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas (Bassler, 1999;
27 Rader, *et al.*, 2007; Smith, *et al.*, 2009; Doherty *et al.*, 2010).

28 Todos sus compuestos AI-2s derivan de un precursor común, la 4,5-
29 dihidroxi - 2,3pentanediona (DPD), siendo generado por un enzima
30 producto de LuxS. DPD sufre reordenaciones espontáneas que conducen a
31 una colección moléculas interconvertibles de las que quizás algunas
32 podrían codificar información (Xavier & Bassler, 2005).

33 Posiblemente las interconversiones del grupo AI-2 generan respuestas
34 bacterianas endógenas distintas según las bacterias vecinas que las sufran,
35 como si se estuviera ante un código bacteriano universal.

1 AI-2, a menudo en conjunción con un AHL o con oligopéptido
2 autoinductor, controlan una variado conjunto de manifestaciones en
3 diferentes bacterias, que van desde la bioluminiscencia en *V. harveyi* hasta
4 el crecimiento en *Bacillus anthracis* o la virulencia del *Vibrio cholerae* y
5 de otros muchos patógenos clínicamente relevantes. En este último caso
6 su quorum-sensing que se traduce en los productos que se generan son
7 moléculas autoinducidas de sintasas que operan sobre el gen *LuxI*. Estas
8 pequeñas moléculas son proteínas citoplásmicas afines al gen *LuxR* que, al
9 acoplarse a su compañera autoinducida, se une al DNA y activan la
10 transcripción de los genes diana del quorum-sensing.

11 Las moléculas del sistema QS Autoinducido 2 son capaces de regular la
12 motilidad y la morfogénesis flagelar en *Helicobacter pylori* (responsable
13 de gastritis tipo B y de la úlcera péptica, e incrementa el riesgo de
14 desarrollo del adenocarcinoma gástrico y del linfoma asociado a la mucosa
15 del tejido linfóide del estómago). La infección gástrica por *H. pylori*
16 puede también inducir a la apoptosis en las células epiteliales gástricas,
17 linfocitos y macrófagos.

18 Todo ello se deriva de que este patógeno gástrico presenta una
19 secuencia homóloga del gen *luxS*, (Sun *et al.* 2004; Rader *et al.* 2007;
20 Smith *et al.*, 2009; Doherty, *et al.*, 2010; Morelli *et al.*, 2010), responsable
21 de la síntesis de moléculas QS capaces de afectar a múltiples genes,
22 permitiéndoles sobrevivir en un ámbito extremófilo.

23 En los biofilms de bacterias patógenas (de vegetales y animales) los
24 sistemas QS de la N-acil homoserina lactona se usan como un regulador
25 master, que controla la producción de factores de virulencia. En el
26 enteropatógeno de vegetales *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia*
27 *carotovora subsp. atroseptica*), se ha avanzado en el conocimiento de un
28 importante modelo de QS. Liu *et al.*, (2008) muestran que, de una forma
29 global, el regulón QS es capaz de controlar la producción de un amplio
30 grupo de factores esenciales de virulencia, que son similares a los de otros
31 patógenos de vegetales y animales.

32 Así, los sistemas de secreción, Tipo I (proteasas) y II (pectinasas y
33 celulasas) que configuran un mecanismo capaz de regular la producción de
34 enzimas que atacan físicamente al huésped vegetal, célula a célula, (Toth
35 *et al.*, 2003).

1 El Tipo III está asociado a la génesis de efectores proteicos de los
2 enzimas hidrolíticos y de conjugados de la coronafacoil amida, y de
3 proteínas helper/harpin responsables de la pérdida de eficacia de las
4 defensas vegetales (Meng et al., 2006). Se completan con el sistema Tipo
5 IV, y sus potenciales substratos, que en principio se requieren para la
6 virulencia de patógenos vegetales, junto a la toxina vegetal (ácido
7 coronafácico) ya conocida en otros patógenos vegetales por jugar un papel
8 importante en la afectación de las defensas vegetales (Liu *et al.*, 2008). Y
9 todo ello para desarrollar un proceso destructivo de la pared de las células
10 vegetales, tanto en manzanos como en cultivo de patata.

11 *Myxococcus xanthus*, otra bacteria del suelo, emplea como señales
12 moleculares a una mezcla de aminoácidos derivados de proteínas
13 extracelulares (Kuspa *et al.*, 1992). Monitorizando el nicho edáfico del *M.*
14 *xanthus*, para conocer las condiciones simultáneas de inanición y
15 cantidades traza de algunos aminoácidos, previa a la iniciación de la
16 cascada de quorum-sensing que culmina en un cuerpo fructífero lleno de
17 esporas, parece ser especialmente potente la mezcla de triptófano, prolina,
18 tirosina, fenilalanina, leucina, e isoleucina.

19 Otras moléculas como el éster metílico del ácido 3-OH palmítico,
20 dipéptidos cíclicos, y quinolonas, también desarrollan actividad de
21 señalización bacteriana célula a célula (Waters & Bassler, 2005).

22 El factor A es una de las pocas moléculas señal bacterianas bien
23 conocidas, de *Streptomyces griseus*, (bacteria Gram-positivas común a
24 suelos desecados) la cual antagoniza a una proteína represora (ArpA) de
25 unión al DNA, que promueve la formación de proyecciones pilosas que
26 sobresalen del biofilm (hifas aéreas) así como la producción de
27 estreptomycin (Khokhlov *et al.*, 1967; Onaka *et al.*, 1995). A pesar de que
28 las γ -butirolactonas son análogos estructurales de AHLs; hasta la fecha no
29 han aparecido dianas de reconocimiento cruzado. Además, para controlar
30 la diferenciación morfológica y la producción de metabolitos secundarios,
31 estos *Streptomyces* emplean γ -butiro-lactonas.

1 **Los biofilms y su interés sanitario**
2 **b. Aplicación del conocimiento y lucha contra enfermedades**
3
4

5 La naturaleza de las biopelículas “adaptadas al medio” puede ser muy
6 diferente al de las superficies expuestas, cuando nos referimos al ser
7 humano como huésped. Ejemplo de ello son las "película adquirida",
8 enriquecidas con componentes proteicos, que se desarrolla en la superficie
9 del esmalte del diente. La película está enriquecida con albúmina,
10 lisozima, glicoproteínas, fosfoproteínas, los lípidos, y el líquido del surco
11 gingival (Marsh. 1995). Mittelman (1996) señaló que una serie de
12 películas producidas en el seno de medios biológicos tales como sangre,
13 lágrimas, orina, saliva, líquidos intervasculares y secreciones respiratorias
14 influyen en la fijación de las bacterias a los biomateriales. Ofek & Doyle
15 (1994) también señalaron que la energía superficial del medio de
16 suspensión pueden afectar las interacciones hidrodinámicas de las células
17 microbianas con superficies mediante la alteración de las características
18 del sustrato.

19 El hallazgo en *Pseudomonas aeruginosa* de un activador
20 transcripcional generado por el gen Las, requerido para síntesis de elastasa
21 y promotor de la proteasa alcalina a la par que interferente de la actividad
22 del sistema QS, permitió ver su esencialidad en la formación de
23 comunidades de biofilms altamente estructurados (Gambello *et al.* 1993).

24 Sanitariamente hablando, los biofilms de bacterias Gram-negativas, se
25 conforman habitualmente con *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*,
26 *Escherichia coli*, y/o *Salmonella enterica*. En todos ellos se sabe que sus
27 flagelos, fimbrias de los tipos I y IV y sus curli son importantes para la
28 etapa de adherencia primaria (O’Toole *et al.*, 2000). Su motilidad parece
29 ayudar a la bacteria a alcanzar la superficie y contrarrestar las repulsiones
30 hidrofóbicas, sin embargo, no parece ser un requisito esencial, pues
31 muchas bacterias Gram positivas inmóviles como estafilococos,
32 estreptococos y micobacterias, capaces de formar biofilms.

33 En el caso de las bacterias Gram positivas se ha descrito la
34 participación de proteínas de superficie (AtlE, Bap, Esp) en esta primera
35 etapa de adherencia primaria (Cucarella *et al.*, 2001; Toledo-Arana *et al.*,
36 2001).

1 En las infección corneales, la investigación sobre el sistema QS AHL-
2 dependiente de *P. aeruginosa* ha permitido conocer a los responsables de
3 la formación de biofilms sobre superficies vitales (Zhu *et al.*, 2002a,b).

4 La característica que mejor distingue las infecciones crónicas,
5 relacionadas con biofilms de las infecciones agudas, es su respuesta a
6 tratamientos antibióticos. Mientras que las infecciones agudas pueden ser
7 eliminadas tras un breve tratamiento antibiótico, las infecciones por
8 biofilms normalmente no se consigue su eliminación total, apareciendo
9 episodios recurrentes que la mayoría de las veces se resuelven
10 sustituyendo el implante. Esto se debe a que las bacterias del biofilm
11 pueden ser hasta 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que esas
12 mismas bacterias crecidas en medio líquido (Mah, & O'Toole, 2001;
13 Stewart & Costerton, 2001; Donlan & Costerton, 2002).

14 Aunque las bases de la resistencia bacteriana en biofilm aún se están
15 investigando, hoy se acepta que:

- 16 a) La barrera de difusión física y química a la penetración de los
17 antimicrobianos está constituida por una matriz exopolisacaroi-
18 dica.
- 19 b) El crecimiento ralentizado de las bacterias del biofilm se debe a
20 la limitación de nutrientes.
- 21 c) Determinados microambientes son antagónicos con la acción del
22 antibiótico.
- 23 d) La activación de respuestas de estrés que provocan cambios en la
24 fisiología de la bacteria y la aparición de un fenotipo específico
25 del biofilm, pueden combatir activamente los efectos negativos
26 de las sustancias antimicrobianas.

27 Kerksiek, (2008) resume la participación de ciertas biopelículas
28 (bacteriano-fúngicas) en procesos patógenos humanos, asociados a cuadros
29 clínicos concretos Así, la:

- 30 • Otitis media recurrente y crónica infantil, incluye los biofilms
31 de *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus*
32 *influenzae*, *Moraxella catarrhalis* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- 33 • Fibrosis quística en la que los biofilms de *Pseudomonas*
34 *aeruginosa* la convierten en una infección crónica en pacientes adultos,
35 lo que acelera el daño pulmonar.

1 • Enfermedades periodontales donde los biofilms son
2 responsables de caries dental, gingivitis y periodontitis. Al parecer
3 está asociada a una variada gama de enfermedades sistémicas
4 cardiovasculares y respiratorias y a la diabetes mellitus,

5 • Prostatitis bacteriana crónica, generada por bacterias que
6 ascienden desde la uretra o por reflujo de orina contaminada. Una vez
7 que las bacterias entran en la próstata comienzan a multiplicarse y
8 activan la respuesta inmune. Cuando las bacterias persisten tras la
9 aplicación de antibióticos, forman micro-colonias que se adhieren al
10 epitelio formando biofilms, y estos producen infecciones crónicas.

11 • Endocarditis sobre válvula nativa (la fibronectina secretada en
12 el lugar del endotelio vascular dañado (generalmente las válvulas),
13 permite a bacterias u hongos, presentes en el torrente circulatorio, a
14 que se adhieran, iniciando la formación de biopelículas),

15 • Rinosinusitis eosinófilica crónica de las mucosas (EMCRS) de
16 la que es responsable la asociación bacteriana fúngica de Haemophilus
17 influenzae, Streptococcus pneumophilia, Staphylococcus aureus y
18 Pseudomonas aeruginosa presentes en biofilms en la mucosa de los
19 senos nasales. Los componentes fúngicos de la rinosinusitis fúngica
20 alérgica (AFRS) asociada, cobran mayor importancia, en la medida en
21 que la enfermedad avanza (Healy *et al.*, 2008).

22 • Infecciones crónicas de la córnea (relacionada con el uso de
23 lentes de contacto),

24 • Úlceras diabéticas, amigdalitis, osteomielitis, infecciones de
25 las vías biliares, pedras renales infecciosas. sinusitis tratada
26 quirúrgicamente,

27
28 Pero la formación de biofilms por Pseudomonadales sobre la
29 superficie de hifas fúngicas, y las interacciones entre biofilms fúngicos y
30 otras bacterias Gram positivas y Gram negativas están permitiendo
31 observar nuevos hechos que, de alguna manera, conectan la Sanidad del
32 Suelo con la Salud del Hombre.

33 Así, las interacciones entre los biofilms de P. aeruginosa (bacteria
34 Gram negativa) y el hongo C. albicans pueden tener relevancia en el
35 estudio de las infecciones asociadas a la fibrosis quística (CF).

1 Individuos con CF, enfermedad genética consecuencia de mutaciones
2 en el regulador CFTR de la conductancia transmembranal, son muy
3 susceptibles a infecciones pulmonares crónicas progresivas que producen
4 daños severos en los tejidos pulmonares y más a menudo conducen a la
5 insuficiencia respiratoria en la edad adulta temprana (Rajan & Saiman,
6 2002).

7 Ciertas evidencias indican que en los esputos CF, los
8 microorganismos se encuentran en forma de biofilm (Costerton *et al.*,
9 1999; Hoiby *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2000). Habitualmente se observa
10 que el colonizador predominante es *P. aeruginosa*, junto a *C. albicans*
11 (hongo dimórfico) y a *Aspergillus fumigatus* (hongo patógeno oportunista)
12 (Bakare *et al.*, 2003; Bauernfeind *et al.*, 1987; Bhargava *et al.*, 1989;
13 Burns *et al.*, 1999; Cheng *et al.*, 1990; Haase *et al.*, 1991; Hughes & Kim,
14 1973; Navarro *et al.*, 2001).

15 Hoy por hoy, no se conocen los efectos de las infecciones mixtas
16 bacteria-hongo sobre el paciente. Según nos muestran Hogan & Kolter,
17 (2002) los análisis “*in vitro*” de las relaciones entre *P. aeruginosa* y *C.*
18 *albicans* muestran que *P. aeruginosa* se unen y forman biofilms sobre la
19 superficie de *C. albicans*. Los biofilms de *P. aeruginosa*, así formados,
20 matan a la hifa del hongo. Sin embargo no siempre ocurre así, dado que
21 estudios con diferentes cepas de *P. aeruginosa* y *C. albicans* proporcionan
22 datos indicadores de que la formación de biofilms de *P. aeruginosa* es
23 necesaria, pero no suficiente, para matar a la hifa.

24 Además, según como se forme el biofilm *P. aeruginosa* + *C. albicans*
25 en vez de la muerte de la hifa, se desarrolla su virulencia. Esto ocurre
26 cuando *P. aeruginosa* y *C. albicans* se co-cultivan a 37°C en un medio con
27 un contenido mínimo en carbono. La bacteria se une rápidamente a las
28 estructuras del hongo y, una vez asociadas las células de ambas especies,
29 desarrollan un denso biofilm entre las 24-72 horas. Además, hay un grado
30 significativo de especificidad entre los factores que están implicados en las
31 interacciones físicas del proceso entre ambas especies. Cuando *P. aerugi-*
32 *nosa* coloniza de forma rápida a las hifas de *C. albicans*, no puede unirse
33 ni formar biofilms sobre las células formadas de la levadura de *C. albicans*
34 (Hogan & Kolter, 2002). Cuando las hifas de *C. albicans* crecen están
35 estimuladas por numerosos factores entre los que se encuentran una limi-

1 tación de nutrientes y de ciertos aminoácidos, caso del suelo. Bajo alguna
2 de estas condiciones, las hifas inducen la unión de *P. aeruginosa* que las
3 usa como soporte.

4 Se desconocen las razones de este comportamiento de unión diferen-
5 ciada a hifas y levaduras, aunque podría asociarse a epitopos (exclusivos
6 de las hifas) o a factores que obstaculizan la unión de las bacterias a las
7 células de levaduras. Existen numerosas diferencias entre los perfiles
8 proteicos, composición en carbohidratos y carga superficial de hifas y
9 levaduras (Chaffin *et al.*, 1998). Dado que *P. aeruginosa* es capaz de for-
10 mar biofilms sobre otros hongos distintos a *C. albicans*, como *Aspergillus*
11 *nidulans* y *Alternaria alternata*, da la impresión de que la *P. aeruginosa*
12 reconoce estructuras superficiales que son comunes a una amplia gama de
13 Ascomycetos o que puede reconocer múltiples estructuras superficiales
14 fúngicas (posibilidades que no son excluyentes ni exclusivas).

15 La infección asociada a tejido dañado-cuerpo extraño-biomaterial
16 incluye una serie de características comunes (Gristina, 1994):

- 17 1. Colonización de sustratos por bacterias adhesivas formadoras de
18 biofilm.
- 19 2. Presencia de un biomaterial, tejido dañado, o sustrato de tejido
20 relativamente acelular.
- 21 3. Iniciación de la infección por pequeños inóculos bacterianos.
- 22 4. Resistencia mediada por el biofilm bacteriano a los mecanismos de
23 defensa del huésped y a la terapia antibiótica.
- 24 5. Infecciones causadas con mucha frecuencia por *Staphylococcus*
25 *aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- 26 6. Infecciones persistentes por resistencia al tratamiento anti-
27 microbiano.
- 28 7. Presencia de inflamación, tejido celular dañado, y necrosis en la
29 interfase tejido-implante (zona fibroinflamatoria, inmuno-incom-
30 petente) generado por partículas debridadas del biomaterial.
- 31 8. Alteración de la respuesta mediada por células y posiblemente
32 humoral del huésped por la presencia del biomaterial y bacterias.

33
34 Como consecuencia de lo expuesto, aparecen nuevas estrategias de
35 tratamiento en el que la diana son estas biopelículas.

1 Así, el hecho de que los biofilms de *S. epidermidis* y *E. coli* se
2 adhieran preferentemente a unos polímeros determinados, de acuerdo con
3 su rigidez (forma de respuesta a un ambiente mecánico y químico
4 concreto), y dada la dificultad para el tratamiento de las biopelículas, y el
5 desconocimiento de la selectividad de los procariontes a las propiedades
6 mecánicas de los sustratos, han permitido a Lichter *et al.*, (2008),
7 preguntarse por qué no evitar el problema haciendo una selección
8 inteligente de los materiales que conforman los implantes, para ayudar a
9 combatir la formación de biopelículas.

10 Otra estrategia en desarrollo proviene del hecho de que la viscosidad
11 de la matriz extracelular de los biofilms protege los microorganismos de
12 una gran cantidad de enemigos incluido el sistema inmunológico, los
13 antimicrobianos y la mayoría de los bacteriófagos que infectan a las
14 bacterias. En 2007, Lu & Collins diseñaron, mediante ingeniería genética,
15 bacteriófagos capaces de segregar ciertos enzimas con capacidades
16 proteolíticas específicas, que faciliten su acceso al interior del biofilm,
17 permitiendo posteriormente la eliminación de las bacterias.

18 En su lucha contra los biofilms desarrollados en implantes óseos, y
19 válvulas cardíacas implantadas, Horswill *et al.*, (2008), la adición de
20 péptidos cíclicos autoinducidos, parece que son capaces de desreglar al
21 ensamblaje molecular de los biofilms de *Staphylococcus aureus*,
22 (provocando la dispersión rápida de las biopelículas), lo que permite que
23 sus formas planctónicas recuperen la susceptibilidad a los antibióticos
24 habituales, y con ello su rapidez y eficacia de acción.

25 El conocimiento de los genes reguladores de los “sistemas de quórum:
26 sensing and quenching” que controlan el ensamblaje y estabilidad de los
27 exopolisacáridos de los biofilms (Karatan *et al.*, 2009), han abierto un
28 nuevo camino para combatir enfermedades asociadas a los biofilms
29 patógenos crónicos (Antunes *et al.*, 2010).

1 **Los biofilms y su interés sanitario**

2 **c. Su aplicación para la actividad inspectora de alimentos**

3
4
5 Dado que los organismos, encerrados en un biofilm pueden ser muy
6 variados y la posibilidad de adherencia superficies es prácticamente
7 universal, preocupa en particular a los sanitarios las superficies presentes
8 los sistemas de distribución de agua urbana e industrial, las de los
9 dispositivos médicos, y los ámbitos no saturados como las superficies
10 pulmonares, los huesos (y en particular los prótesis dentarias) y a los
11 medio-ambientalistas las superficies minerales del suelo, o las estructuras
12 de biopelículas en ámbitos acuosos, pero no incluye el crecimiento
13 microbiano asociado a superficies en otros ambientes. Y ciertamente, sin
14 excluir aquellas, la actuación de los farmacéuticos como inspectores
15 sanitarios en los ámbitos alimentario y ambiental, es vital y reconocida.

16 Para Wikmark (2008), los biofilms desarrollados en al agua son un
17 importante factor en la descomposición de los alimentos y vector de
18 enfermedades transmitidas por los alimentos. Para la autora, los biofilms
19 conformados por *Trichoderma viride*, *Aspergillus ustus*, *Bacillus cereus* y
20 *Pseudomonas aeruginosa* pueden actuar como reservorios de contaminates
21 biológicos indeseables, cuando la disponibilidad de nutrientes es
22 relativamente baja (caso de los sistemas de distribución de agua). En su
23 orden de actuación, las bacterias generarían la biopelícula y los hongos se
24 incrustarían posteriormente.

25 Estos resultados indican que las cepas de hongos, comúnmente
26 aisladas de agua potable, son capaces de colonizar las superficies en
27 contacto con ella. Este es un conocimiento importante con respecto a la
28 Higiene de los Alimentos, dado que los organismos que conforman los
29 biofilms presentes en el agua, aire y suelo, pueden entrar en las
30 instalaciones de producción de alimentos y formar nuevas biopelículas en
31 los sistemas de distribución industrial interna.

32 Ante esta situación nos enfrentamos a un nuevo reservorio potencial
33 de contaminación, que contribuirá al deterioro de alimentos y,
34 posiblemente, convertir al alimento en vector de enfermedades de
35 transmisión alimentaria.

1 Un ejemplo de esta estrategia biofilmica afecta a la *Legionella*, cuando
2 se instala en las tuberías de abastecimiento y torres de refrigeración.
3 Ambos hechos afectan a la Salud del Hombre.

4 El efecto del cloro sobre las biopelículas fúngicas requiere una
5 atención especial sanitaria, ya que se precisa determinar cómo los niveles
6 de cloro residual afectan a la longevidad y la germinación de las esporas
7 en los diferentes depósitos y conducciones. La densidad de hongos y las
8 asociaciones de especies varían considerablemente entre los “loci”. Sin
9 embargo, estadísticamente, los hongos filamentosos son más frecuentes
10 que las levaduras.

11 Los representantes más significativos (*Penicillium*, *Aspergillus*,
12 *Mucor*, *Alternaria* y *Cladosporium*), son coincidentes con los que habitan
13 en los suelos y en el agua potable (Nagy & Olson, 1982; Rosenzweig *et al.*
14 1986). La temperatura del agua es especialmente relevante, teniendo en
15 cuenta las limitaciones fisiológicas de la latencia y la viabilidad de esporas
16 (Garraway & Evans. (1984). Los niveles residuales de cloro pueden
17 mostrar limitaciones similares (Rosenzweig *et al.*, 1983), sin embargo, la
18 información sobre los efectos del cloro sobre las esporas de hongos es muy
19 escasa. Lo mismo ocurre con la presencia de diatomeas, amebas,
20 paramecios, etc. típicos de medios saturados.

21 Uno de los principales problemas en la industria alimentaria está
22 representado por la supervivencia de microorganismos patógenos o
23 alterantes debido a una desinfección insuficiente de las superficies o de los
24 instrumentos en contacto con los alimentos. (Carpentier & Cerf, 1993;
25 Fuster & Valls, 2006).

26 En la industria alimentaria es muy común la presencia de biofilms en
27 conducciones, equipos y materiales ya que pueden formarse en cualquier
28 tipo de superficie, incluyendo plástico, cristal, madera, metal y sobre los
29 alimentos (Chmielewsky & Frank, 2003). Puesto que estas formaciones
30 pueden contener microorganismos patógenos y presentan una mayor
31 resistencia a la desinfección, su presencia en estas superficies es la causa
32 principal de contaminación del producto final que puede generar pérdidas
33 económicas debidas tanto al necesario rechazo del producto como al
34 desarrollo de enfermedades, si intervienen microorganismos patógenos
35 (Piera Serra, 2003).

1 Los biofilms formados sobre las carnes crudas y en el entorno del
2 manipulador (superficies, utillaje e instrumentos...) aumentan
3 considerablemente los problemas de contaminación cruzada y de
4 contaminaciones posteriores en el procesado. Por este motivo es preciso
5 eliminar todos los microorganismos de las superficies en contacto con los
6 alimentos, antes de que los contaminen y establezcan un biofilm que les
7 sirva de reservorio (Piera Serra, 2003; Fuster & Valls, 2006).

8 El desarrollo de biofilms puede interferir en diferentes procesos y
9 causar daños en los equipos (Kumar & Anand, 1998; Chmielewski y
10 Frank, 2003). En sistemas de agua potable la formación de biofilms
11 pueden obstruir las cañerías disminuyendo su velocidad y su capacidad de
12 transporte originando un incremento en el consumo energético. La
13 formación de biofilm en intercambiadores de calor y torres de
14 refrigeración puede reducir la transferencia de calor y como consecuencia
15 su eficiencia en el proceso. La formación de biofilms persistentes en las
16 superficies metálicas puede causar corrosión debido a la producción de
17 ácido por parte de las bacterias (Chmielewski & Frank, 2003).

18 En la industria láctea y en otras industrias alimentarias, se emplean
19 los sistemas de ultrafiltración y de osmosis inversa durante el
20 fraccionamiento de la leche y otros líquidos así como para la clarificación
21 de zumos de frutas. Estos filtros y membranas tienen unos poros de muy
22 pequeño diámetro y están continuamente en contacto con el alimento; la
23 más mínima adsorción microbiana bloquearía los poros y provocaría la
24 colmatación del filtro. Esto produciría una reducción del flujo con las
25 consiguientes pérdidas de rendimiento y de producto (Piera Serra, 2003).
26 Para la prevención de los riesgos y del coste de los daños que causan los
27 biofilms son necesarios procedimientos de limpieza y desinfección
28 efectivos, que aun están poco desarrollado (Silagyi, 2007).

29 A pesar de que la mayoría de las especies bacterianas tienen la
30 capacidad de formar biofilms, algunos géneros lo forman más fácil y
31 rápidamente que otros. Estos son los casos de *Pseudomonas*, *Listeria*,
32 *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* y *Bacillus*
33 (Mattila Sandholm & Wirtanen, 1992; Lee Wong, 1998; González Ribas,
34 2005).

35

1 Bibliografía.

- 2
- 3 Adam, K.; Krogstad T. and Jenssen, P.D. (2004). P sorption of Filtralite-P™: comparative
4 study on a small-scale box experiment and large-scale on-site treatment wetland,
5 Poster Presented in *the 9th International Conference on Wetland Systems for Water*
6 *Pollution Control* Avignon, France.
- 7 Ågren, G. and Bosatta, E. (1996). Theoretical Ecosystem Ecology, *Understanding*
8 *Element Cycles*. Cambridge University Press, Cambridge, 234 pp.
- 9 Anderson, M. J. (1995). Variations in biofilm colonising artificial surfaces: seasonal
10 effects and effects of grazers, *J. Marine Biology Association UK*, 75:705-714.
- 11 Antunes, L.C.M.; Ferreira, R.B.R.; Buckner, M.M.C. and Finlay, B.B. (2010). Quorum
12 sensing in bacterial virulence. *Microbiology*, 156: 2271-2282.
- 13 Arino, X. and Sáiz-Jimenez, C. (1996). Factors affecting the colonization and distribution
14 of cyanobacteria, algae and lichens in ancient mortars. In: Riederer J, editor.
15 *Proceedings of the eighth international congress on deterioration and conservation of*
16 *stone*. Berlin: Rathgen-Forschungslabor. pp. 725–731.
- 17 Aspray, T.J.; Eirian Jones, E.; Whipps, J.M. and Bending, G.D. (2006). Importance of
18 mycorrhization helper bacteria cell density and metabolite localization for the *Pinus*
19 *sylvestris-Lactarius rufus* symbiosis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56, 25–33.
- 20 Bakare, N.; Rickerts, V.; Bargon, J. and Just-Nubling, G. (2003). Prevalence of
21 *Aspergillus fumigatus* and other fungal species in the sputum of adult patients with
22 cystic fibrosis. *Mycoses* 46, 19–23.
- 23 Bartnicki-García, S.; Hergert F. and Gierz, G. (1989). Computer simulation of fungal
24 morphogenesis and the mathematical basis of hyphal tip growth. *Protoplasma*, 153:
25 46–57
- 26 Bashan, Y. and Levanony, H. (1988). Active attachment of *Azospirillum brasilense* Cd
27 to quartz sand and to a light-textured soil by protein bridging. *J Gen Microbiol.* 134:
28 2269–79.
- 29 Bassler, B.L. (1999). A multichannel two-component signaling relay controls quorum
30 sensing in *Vibrio harveyi*. In *Cell–Cell Signaling in Bacteria*. Edited by Dunny GM,
31 Winans SC. Washington, DC. ASM Press. pp. 259-273.
- 32 Bauernfeind, A.; Bertele, R.M.; Harms, K.; Horl, G.; Jungwirth, R.; Petermuller, C.;
33 Przyklenk, B. and Weisslein-Pfister, C. (1987). Qualitative and quantitative
34 microbiological analysis of sputa of 102 patients with cystic fibrosis. *Infection* 15,
35 270–277.

- 1 Beech, I.B, and Gaylarde, C.C. (1989). Adhesion of *Desulfovibrio desulfuricans* and
2 *Pseudomonas fluorescens* to mild steel surfaces. *J Appl. Bacteriol*, 67:2017.
- 3 Bendinger, B.; Rijnaarts, H.H.M.; Altendorf, K, and Zehnder A.J.B. (1993). Physicoche-
4 mical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the
5 presence and chain length of mycolic acids. *Appl. Environ Microbiol.* 59: 3973–77.
- 6 Bhargava, V.; Tomashefski, J.F., Jr.; Stern, R.C. and Abramowsky, C.R. (1989). The
7 pathology of fungal infection and colonization in patients with cystic fibrosis. *Hum.*
8 *Pathol.* 20: 977–986.
- 9 Bolwerk, A.; Lagopodi, A.L.; Wijfjes, A.H.M.; Lamers, G.E.M.; Chin-A-Woeng, T.F.C.;
10 Lugtenberg, B.J.J. and Bloemberg, G.V. (2003). Interactions in the tomato rhizosphere
11 of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium*
12 *oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16: 983–993.
- 13 Bosatta, E. and Ågren, G. (1994). Theoretical analysis of microbial biomass dynamics in
14 soils, *Soil Biol. Biochem.* 26: 143–148.
- 15 Branda, S.S.; Vik, S.; Friedman, L. and Kolter, R. (2005). Biofilms: the matrix revisited.
16 *Trends Microbiol* 13: 20–26.
- 17 Bullitt, R. and Makowski, L. (1995). Structural polymorphism of bacterial adhesion pili.
18 *Nature*, 373:164–7.
- 19 Burns, J.L.; Van Dalfsen, J.M.; Shawar, R.M.; Otto, K.L.; Garber, R.L.; Quan, J.M.;
20 Montgomery, A.B.; Albers, G.M.; Ramsey, B.W. and Smith, A.L. (1999). Effect of
21 chronic intermittent administration of inhaled tobramycin on respiratory microbial
22 flora in patients with cystic fibrosis. *J. Infect. Dis.* 179: 1190–1196.
- 23 Carpentier, B. and Cerf, O. (1993). Biofilms and their consequences with particular
24 references to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75:
25 499-511.
- 26 Chaffin, W.L.; Lopez-Ribot, J.L.; Casanova, M.; Gozalbo, D. and Martínez, J.P. (1998).
27 Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and
28 expression. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 130–180.
- 29 Characklis, W.G. (1973). Attached microbial growths-II. Frictional resistance due to
30 microbial slimes. *Water Res.* 7: 1249–58.
- 31 Characklis, W.G.; McFeters G.A. and Marshall, K.C. (1990). Physiological ecology in
32 biofilm systems. In: Characklis WG, Marshall KC, editors. *Biofilms*. New York: John
33 Wiley & Sons. pp. 341–94.

- 1 Cheng, S.H.; Gregory, R.J.; Marshall, J.; Paul, S.; Souza, D.W.; White, G.A.; O’Riordan,
2 C.R. and Smith, A.E. (1990). Defective intracellular transport and processing of
3 CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis. *Cell* 63: 827–834.
- 4 Chertov, O.; Gorbushina, A. and Deventer, B. (2004). A model for microcolonial fungi
5 growth on rock surfaces. *Ecological Modelling*, 177: 415-426
6 doi:10.1016/j.ecolmodel.2004.02.011.
- 7 Chmielewsky, R.A.N. and Frank, J.F. (2003). Biofilm formation and control in food
8 processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 22-
9 32.
- 10 Cooke, R.C. and Whipps, J.M. (1993). *Ecophysiology of Fungi*. Blackwell Sci. Publ.,
11 London, 337 pp.
- 12 Corpe, W.A. (1980). Microbial surface components involved in adsorption of
13 microorganisms onto surfaces. In: Bitton G, and Marshall KC, editors. *Adsorption of*
14 *microorganisms to surfaces*. New York: John Wiley & Sons. pp. 105–44.
- 15 Cosgrove, L.; McGeechan, P. L.; Handley, P. S. and Robson G. D. (2010). Effect of
16 Biostimulation and Bioaugmentation on Degradation of Polyurethane Buried in Soil.
17 *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 810-819, doi:10.1128/AEM.00534-09.
- 18 Costerton, J.W.; Geesey, G.G. and Cheng, K.J. (1978). How bacteria stick. *Sci Am*. 238:
19 86-95.
- 20 Costerton, J.W.; Stewart, P.S. and Greenberg, E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common
21 cause of persistent infections. *Science* 284: 1318–1322.
- 22 Cowan, M.M.; Warren, T.M. and Fletcher, M. (1991). Mixed species colonization of solid
23 surfaces in laboratory biofilms. *Biofouling*. 3:23–34.
- 24 Crispim, C.A; Gaylarde, C.C.; Gaylarde, P.M.; Copp, J. and Neilan, B.A. (2003).
25 Molecular biology for investigation of cyanobacterial populations on historic
26 buildings in Brazil. In: Sáiz-Jimenez C, editor. *Molecular biology and cultural*
27 *heritage*. Lisse: Zwets & Zeitlinger; pp. 141-143.
- 28 Cucarella, C.; Solano, C.; Valle, J.; Amorena, B.; Lasa, I. and Penades, J.R. (2001). Bap,
29 a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *J Bacteriol*.
30 183: 2888-2896.
- 31 Cunningham, W.G.; Characklis, F. A. and Crawford, D. (1991). Influence of biofilm
32 accumulation on porous media hydrodynamics, *Environ. Sci. Technol.* 25, 1305–1310.
- 33 Cuzman, O.A. (2009). Biofilms exposed monumental stones: Mechanism of formation
34 and development of new control methods. Doctoral Thesis. Universidad de Bolonia.

- 1 Danielsson, A.; Norkrans, B. and Bjornsson, A. (1977). On bacterial adhesion - the
2 effect of certain enzymes on adhered cells in a marine *Pseudomonas* sp. *Bot Marina*,
3 20:13-7.
- 4 Davies, D.G.; Parsek, M.R.; Pearson, J.P.; Iglewski, B.H.; Costerton, J.W. and Greenberg,
5 E.P. (1998). The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial
6 biofilm. *Science*, 280:295-298.
- 7 De Beer, D. and Stoodley, P. (2006.) Microbial biofilms. *Prokaryotes* 1: 904-937.
- 8 Doggett, (2000) Characterization of Fungal Biofilms within a Municipal Water
9 Distribution System. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 1249-1251.
- 10 Doherty, N. C. Shen, F.; Halliday, N. M.; Barrett, D.A.; Hardie, K.R.; Winzer, K. and
11 Atherton JC.(2010) In *Helicobacter pylori*, LuxS Is a Key Enzyme in Cysteine
12 Provision through a Reverse Transsulfuration Pathway. *Journal of Bacteriology*, 192:
13 1184-1192, doi:10.1128/JB.01372-09.
- 14 Donlan, R.M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* [serial
15 online] Sep;8. Available from: URL: [http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no9/02-](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no9/02-0063.htm)
16 0063.htm.
- 17 Donlan, R.M. and Costerton, J.W. (2002) Biofilms: Survival mechanisms of clinically
18 relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 15, 167-193.
- 19 Donlan, R.M., Pipes W.O., and Yohe TL. (1994). Biofilm formation on cast iron substrata
20 in water distribution systems. *Water Res.* 28:1497-1503.
- 21 Dorn, R. I. (1998). *Rock Coatings*, Developments in Earth Surface Processes 6 (Elsevier,
22 Amsterdam), p. 429.
- 23 Dorn, R. I. and Oberlander, T. M. (1982). Rock varnish, *Progress in Physical*
24 *Geography*, 6: 317-367.
- 25 Dornieden, T.H.; Gorbushina, A.A. and Krumbein, W.E. (2000). Patina: physical and
26 chemical interactions of sub-aerial biofilms with objects of art. In: Ciferri, O.,
27 Tiano, P., Mastromei, G. (Eds.), *Microbes and Art*. Kluwer Academic Publishers,
28 New York, pp. 105-119.
- 29 Dorr, J.; Hurek, T. and Reinhold-Hurek, B. (1998). Type IV pili are involved in plant-
30 microbe and fungus-microbe interactions. *Mol. Microbiol.* 30, 7-17.
- 31 Dunny, G.M. and Winans, S.C. (Eds) (1999). *Cell-Cell Signaling in Bacteria*.
32 Washington, DC: ASM Press.
- 33 Eberhard, A.; Burlingame, A.L.; Eberhard, C.; Kenyon, G.L.; Nealson K.H. and
34 Oppenheimer, N.J. (1981). Structural identification of autoinducer of *Photobacterium*
35 *fischeri* luciferase. *Biochemistry* 20: 2444-2449.

- 1 Etienne, S. and Dupont, J. (2002). Fungal weathering of basaltic rocks in a cold oceanic
2 environment (Iceland): comparison between experimental and field observations.
3 *Earth Surf Process Land.* 27: 737–748. doi: 10.1002/esp.349.
- 4 Fera P.; Siebel, M.A.; Characklis, W.G. and Prieur, D. (1989). Seasonal variations in
5 bacterial colonization of stainless steel, aluminum, and polycarbonate surfaces in a
6 seawater flow system. *Biofouling*, 1:251-61.
- 7 Fletcher, M.; Lessman, J.M. and Loeb, G.I. (1991). Bacterial surface adhesives and
8 biofilm matrix polymers of marine and freshwater bacteria. *Biofouling*. 4:129–40.
- 9 Fletcher, M. (1988a). The applications of interference reflection microscopy to the study
10 of bacterial adhesion to solid surfaces. In: Houghton DR, Smith RN, Eggins HOW,
11 editors. *Biodeterioration* 7. London: Elsevier Applied Science. pp. 31–35.
- 12 Fletcher, M. (1988b). Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of
13 electrolytes on bacterium-substratum separation distance. *J Bacteriol.* 170: 2027-30.
- 14 Fletcher, M. and Loeb, G.I. (1979). Influence of substratum characteristics on the
15 attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. *Appl Environ Microbiol*,
16 37:67–72.
- 17 Frey-Klett, P.; Chavatte, M.; Clause, M.L.; Courrier, S.; Le Roux, C.; Raaijmakers, J.;
18 Martinotti, M.G.; Pierrat, J.C. and Garbaye, J. (2005). Ectomycorrhizal symbiosis
19 affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytol.*
20 165: 317–328.
- 21 Fuster i Valls, N. (2006).. Importancia del control higiénico de las superficies
22 alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las
23 contaminaciones cruzadas. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Barcelona.
- 24 Gaballa, A.; Abeysinghe, P.D.; Urich, G.; Matthijs, S.; De Greve, H.; Cornelis, P. and
25 Koedam, N. (1997). Trehalose induces antagonism towards *Pythium debaryanum* in
26 *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4340-4345.
- 27 Gambello, M J.; Kaye S. and Iglewski B H. (1993). LasR of *Pseudomonas aeruginosa* is
28 a transcriptional activator of the alkaline protease gene (apr) and an enhancer of
29 exotoxin A expression. *Infect Immun.* 61: 1180-1184.
- 30 García, J.; Chiva J.; Aguirre, P.; Alvarez, E.; Sierra J.P. and Mujeriego, R. (2004).
31 Hydraulic behavior of horizontal subsurface flow constructed wetlands with different
32 aspect ratio and granular medium size, *Ecol. Eng.* 23: 177–187.
- 33 Garraway, M. O. and R. C. Evans. (1984). Fungal nutrition and physiology. John Wiley
34 & Sons, New York, N.Y.

- 1 Gaylarde, P.M. and Gaylarde, C.C. (2000). Algae and cyanobacteria on painted buildings
2 in Latin America. *Int Biodeterior Biodegrad.* 46: 93–97. doi: 10.1016/S0964-
3 8305(00)00074-3.
- 4 Gleeson, D.B.; Kennedy, N.M.; Clipson, N.; Melville, K.; Gadd, G.M. and McDermott,
5 F.P. (2006). Characterization of bacterial community structure on a weathered
6 pegmatitic granite. *Microb. Ecol.* 51:526-34.
- 7 Gleeson, D.B.; Clipson, N.; Melville, K.; Gadd, G.M. and, McDermott, F.P. (2005).
8 Characterization of fungal community structure on a weathered pegmatitic granite.
9 *Microb. Ecol.* 50:360-8.
- 10 Gong, Y.M.; Xu, R. and Hu, B. (2008). Endolithic fungi: A possible killer for the mass
11 extinction of Cretaceous dinosaurs. *Science in China. Serie D-Earth Sci*, 51: 801-807.
- 12 González Ribas, F. (2005). Desarrollo y aplicación de sensores para evaluar la
13 contaminación microbiológica de superficies domésticas españolas y de la efectividad
14 de desinfectantes in situ de productos limpiadores comerciales. Tesis Doctoral.
15 Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.
- 16 Gorbushina, A. A.; Krumbein, W. E. and Volkmann, M. (2002). Rock surfaces as life
17 indicators: new ways to demonstrate life and traces of former life. *Astrobiology* 2:
18 203-213.
- 19 Gorbushina, A.A. and Krumbein, W.E., (2000). Rock dwelling fungal communities:
20 diversity of life styles and colony structure. In: Seckbach, J. (Ed.). *Journey to Diverse*
21 *Microbial Worlds*. Kluwer Acad. Publ., pp. 317–334.
- 22 Gorbushina, A.A.; Galun, M. and Golubkova, N.S., (2000). Symbiotic (lichenised) and
23 free-living fungi on desert rocks: propagation strategies and similarity of vegetative
24 life forms. Int. Association of Lichenologists, 4th Symposium, Barcelona.
- 25 Gorbushina, A.A.; Whitehead, K.; Dornieden, T.H.; Niesse, A.; Schulte A. and Hedges, J.
26 (2003). Black fungal colonies as units of survival: hyphal mycosporines synthesized
27 by rock dwelling microcolonial fungi, *Can. J. Botany*, 81: 131–138.
- 28 Gristina, A.G. (1994). Biofilms and chronic bacterial infections. *Clin. Microbiol.*
29 *Newsletter*, 16: 171-178.
- 30 Grote, G. and Krumbein, W. E. (1992) Microbial precipitation on manganese by bacteria
31 and fungi from desert rock and rock varnish. *Geomicrobiology Journal* 10: 49-57.
- 32 Gu J-D, Ford TE and Mitchell R. (1996). Fungal degradation of concrete. In: Sand W,
33 editor. *DECHEMA monographs. Biodeterioration and biodegradation*. Frankfurt:
34 VCH; pp. 135–142

- 1 Haase, G.; Skopnik, H.; Groten, T.; Kusenbach, G. and Posselt, H.G. (1991). Long-term
2 fungal cultures from sputum of patients with cystic fibrosis. *Mycoses* 34: 373–376.
- 3 Harding, M.W.; Marques, L.L.; Howard, R.J. and Olson, M.E. (2009). Can filamentous
4 fungi form biofilms. *Trends Microbiology* 17: 475-80.
- 5 Healy D.Y.; Leid, J.G. and Samderon, A.R. (2008). Biofilms with fungi in chronic
6 rhinosinusitis. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 138: 641-647.
- 7 Herbert-Guillo, D.; Tribollet, B. and Festy, D. (2000) Influence of the hydrodynamics on
8 the biofilm formation by mass transport analysis, *Bioelectrochemistry* 53, pp. 119–125.
- 9 Heukelekian, H. and Heller, A. (1940) Relation between food concentration and surface
10 for bacterial growth. *J Bacteriol*, 40:547-58.
- 11 Hill, D.D. and Sleep, B.E. (2002). Effect of biofilm growth on flow and transport
12 through a glass parallel plate fracture. *J. Contam. Hydrol.* 56, 227–246.
- 13 Hogan, D.A. and Kolter, R. (2002). *Pseudomonas-Candida* interactions: An ecological
14 role for virulence factors. *Science*, 296, 2229–2232.
- 15 Hoiby, N.; Krogh Johansen, H.; Moser, C.; Song, Z., Ciofu, O. and Kharazmi, A. (2001).
16 *Pseudomonas aeruginosa* and the in vitro and in vivo biofilm mode of growth.
17 *Microbes Infect.* 3: 23-35.
- 18 Horath, T. and Bachofen, R. (2009). Molecular characterization of an endolithic
19 microbial community in dolomite rock in the central Alps (Switzerland). *Microb Ecol.*
20 58: 290-306.
- 21 Horng-Guang, L.; Chaio-Fuei, O. and Jau-Lang, S. (1996). Effect of flow velocity
22 changes on nitrogen transport and conversion in an open channel flow, *Water Res.* 30:
23 2065-2071.
- 24 Horswill et al. (2008). Turning On Cell-Cell Communication Wipes Out Staph Biofilms
25 *PLoS Pathogens* 2008 4: e1000052.
- 26 Hughes, W.T. and Kim, H.K. (1973). Mycoflora in cystic fibrosis: some ecologic aspects
27 of *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 50:
28 261-269.
- 29 Hungate, B.; Danin, A.; Pellerin, N.B.; Stemmler, J.; Kjellander, P.; Adams, J.B. and
30 Staley, J.T. (1987). Characterization of manganese-oxidizing (MnII-MnIV) bacteria
31 from Negev Desert rock varnish: implications in desert varnish formation. *Canadian*
32 *Journal of Microbiology* 33: 939-943.
- 33 Jenssen, P.D. and Siegrist, R.L. (1990). Technology assessment of wastewater treatment
34 by soil infiltration systems, *Water Sci. Technol.* 22: 83-92.

- 1 Jones, H.C.; Roth, I.L. and Saunders, W.M. III. (1969). Electron microscopic study of a
2 slime layer. *J. Bacteriol.* 99: 316–25.
- 3 Jones, C. E. (1991). "Characteristics and origin of rock varnish from the hyperarid coastal
4 deserts of Northern Peru," *Quaternary Research* 35: 116-129.
- 5 Karatan, E. and Watnick, P. (2009). Signals, Regulatory Networks, and Materials That
6 Build and Break Bacterial Biofilms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 73: 310-347.
- 7 Kates, M. (1978). The phytanyl ether-linked polar lipids and isoprenoid neutral lipids of
8 extremely halophilic bacteria. *Prog Chem Fats Other Lipids.* 15: 301–342.
- 9 Khokhlov, A.S.; Tovarova, I.I.; Borisova, L.N.; Pliner, S.A.; Schevchenko, L.A.;
10 Kornitskaya, E.Y.; Ivkina N.S. and Rappoport, I.A. (1967). A-factor responsible for
11 the biosynthesis of streptomycin by a mutant strain of *Actinomyces streptomycini*,
12 *Dokl. Akad. Nauk SSSR.* 177: 232–235.
- 13 Kivaisi, A.K. (2001). The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and
14 reuse in developing countries: a review. *Ecol. Eng.* 16: 545–560.
- 15 Kjelleberg, S. and Molin, S. (2002). ¿Is there a role for quorum sensing signals in
16 bacterial biofilms? *Ecology and Industrial Microbiology* 254-258.
- 17 Kodani, S.; Hudson, M. E.; Durrant, M.C.; Buttner M.J.; Nodwell, J.R. and Willey, J.M.
18 (2004). The SapB morphogen is a lantibiotic-like peptide derived from the product of
19 the developmental gene ramS in *Streptomyces coelicolor*. *Proc. Natl. Acad. Ciencia.*
20 *EE.UU.* 101: 11448-11453.
- 21 Korber, D.R.; Lawrence, J.R.; Sutton, B. and Caldwell, D.E. (1989). Effect of laminar
22 flow velocity on the kinetics of surface recolonization by Mot⁺ and Mot⁻
23 *Pseudomonas fluorescens*. *Microb. Ecol.*: 18:1–19.
- 24 Kristen K. (2008) A life in slime - biofilms rule the world. *Infection Research. News*
25 *and perspectives.* September 3,
- 26 Krumbein, W. E. (1996). Geophysiology and parahistology of the interaction of
27 organisms with the environment. P.S.Z.N. 1, *Marine Ecol.* 17: 1–21.
- 28 Krumbein, W.E. and Gorbushina, A.A. (1995). On the interaction of water repellent
29 treatments of buildings surfaces with organic pollution, micro-organisms and
30 microbial communities. In: Wittmann, F.H., Siemes, A.J.M., Verhoef, L.G.W. (Eds.),
31 *Surface Treatment of Building Materials with Water Repellent Agents.* Delft
32 University of Technology, The Netherlands, pp. 29:1-10.
- 33 Krumbein, W.E. and Lapo, A.V. (1996). Vernadsky's biosphere as a basis of
34 geophysiology. In: Bunyard, P. (Ed.), *Gaia in Action, Science of the Living Earth.*
35 Floris Books, Edinburgh.

- 1 Kubiena, W.L. (1953). *The Soils of Europe*. Madrid, London, 318 pp.
- 2 Kumar, C.G. and Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food
3 industry: a review *International Journal of Food Microbiology*, 42: 9-27.
- 4 Kuspa, A.; Plamann L. and Kaiser, D. (1992). Identification of heat-stable A-factor from
5 *Myxococcus xanthus*, *J. Bacteriol.* 174: 3319–3326.
- 6 Lan W., Li, H.; Wang W.-D., Katayama, Y. and Gu, J.-D. (2010). Microbial Community
7 Analysis of Fresh and Old Microbial Biofilms on Bayon Temple Sandstone of Angkor
8 Thom, Cambodia. *Microb Ecol.* 60: 105–115.. doi: 10.1007/s00248-010-9707-5.
- 9 Lapo, A.V. (1987). *Sledy Bylykn Biosfer (Traces of Bygone Biospheres)*. Mir, Moscow
10 (in English).
- 11 Lee, S.W. and Cooksey, D.A. (2000). Genes expressed in *Pseudomonas putida* during
12 colonization of a plant-pathogenic fungus. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2764-2772.
- 13 Lichter J.A.; Thompson, M.T.; Delgadillo, M.; Nishikawa, T.; Rubner, M.F. and Van
14 Vliet, K.J. (2008). Substrata Mechanical Stiffness Can Regulate Adhesion of Viable
15 Bacteria. *Biomacromolecules* 9: 1571-1578.
- 16 Lindow, S.E. and Brandl, M.T. (2003). Microbiology of the phyllosphere. *Appl. Environ.*
17 *Microbiol.* 69, 1875–1883.
- 18 Liu, H.; Coulthurst, S.J.; Pritchard, L.; Hedley, P.E.; Ravensdale, M.; Humphris, S.; Burr
19 T.; Takle, G.; Brurberg, M.-B.; Birch, P.R.J.; Salmond G.P.C. and Toth, I.K. (2008).
20 Quorum Sensing Coordinates Brute Force and Stealth Modes of Infection in the Plant
21 Pathogen *Pectobacterium atrosepticum*. *PLoS Pathog* 4(6): e1000093.
22 doi:10.1371/journal.ppat.1000093.
- 23 Loeb, G.I. and Neihof, R.A. (1975) Marine conditioning films. *Advances in Chemistry*,
24 145: 319–35.
- 25 Long, T., Tu K.C.; Wang, Y.; Mehta, P.; Ong, N.P.; Bassler B.L. and Wingreen N.S.
26 (2009). Quantifying the Integration of Quorum-Sensing Signals with Single-Cell
27 Resolution. *PLoS Biol*, 7(3): e1000068. doi:10.1371/journal.pbio.1000068.
- 28 Lu and Collins (2007) Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage.
29 *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 11197 – 11202.
- 30 Mah, T.F. and O’Toole, G.A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial
31 agents. *Trends Microbiol.*, 9: 34-39.
- 32 Marsh, P.D. (1995). Dental plaque. In: Lappin-Scott HM, Costerton JW, editors.
33 *Microbial biofilms*. Cambridge: Cambridge University Press; p. 282–300.
- 34 Marshall, K.C.; Stout, R. and Mitchell, R. (1971). Mechanisms of the initial events in
35 the sorption of marine bacteria to surfaces. *J. Gen. Microbiol.* 68:337–48.

- 1 May, E.; Papida, S.; Abdulla, H.; Tayler, S. and Dewedar, A. (2000). Comparative
2 studies of microbial communities on stone monuments in temperate and semi-arid
3 climates. In: Ciferri O, Tiano P, Mastromei G, editors. *Of microbes and art: the role*
4 *of microbial communities in the degradation and protection of cultural heritage.*
5 Dordrecht: Kluwer, pp. 49–62.
- 6 McNamara, C.J.; Perry, T.D.; Bearce, K.A.; Hernandez-Duque, G. and Mitchell R. (2006).
7 Epilithic and endolithic bacterial communities in limestone from a Maya
8 archaeological site. *Microb Ecol.*, 51:51–64. doi: 10.1007/s00248-005-0200-5.
- 9 Meng, X.; Bonasera, J.M.; Kim, J.F.; Nissinen, R.M. and Beer, S.V. (2006). Apple
10 proteins that interact with DspA/E, a pathogenicity effector of *Erwinia amylovora*, the
11 fire blight pathogen. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 19: 53–61.
- 12 Mittelman, MW. (1996) Adhesion to biomaterials. In: Fletcher M, editor. *Bacterial*
13 *adhesion: molecular and ecological diversity.* New York: Wiley-Liss, Inc.; p. 89–127.
- 14 Mohammadi, P. and Krumbein W.E. (2008). Biodeterioration of ancient stone materials
15 from the Persepolis monuments (Iran) *Aerobiologia.* 24: 27–33.
- 16 Morelli, G.; Didelot X.; Kusecek B.; Schwarz S.; Bahlawane, Ch.; Falush, D.; Suerbaum,
17 S. and Achtman, M. (2010). Microevolution of *Helicobacter pylori* during prolonged
18 infection of single hosts and within families. *PLoS Genetics*, 6, ISSN 1553-7390
- 19 Nagy, L. A. and Olson, B. H. (1982). The occurrence of filamentous fungi in drinking
20 water distribution systems. *Can. J. Microbiol.* 28: 667-671.
- 21 Navarro, J.; Rainisio, M.; Harms, H.K.; Hodson, M.E.; Koch, C.; Mastella, G.; Strandvik,
22 B. and McKenzie, S.G. (2001). Factors associated with poor pulmonary function:
23 cross-sectional analysis of data from the ERCF. European Epidemiologic Registry of
24 Cystic Fibrosis. *Eur. Respir. J.* 18, 298–305.
- 25 Nealson, K.H.; Platt, T. and Hastings, J.W. (1970). Cellular control of the synthesis and
26 activity of the bacterial luminescent system. *J. Bacteriol.* 104: 313–322.
- 27 Norton T. A., Thompson R. C., Pope J., Veltkamp C. J., Banks B., Howard C. V. and
28 Hawkins S. J. (1998). Using confocal laser scanning microscopy, scanning electron
29 microscopy and phase contrast light microscopy to examine marine biofilms. *Aquatic*
30 *Microbial Ecology*, 16:199-204.
- 31 O’Toole G.; Kaplan H.B. and Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial
32 development. *Ann. Rev Microbiol*, 54: 49-79.
- 33 O’Toole, G.A. and Kolter, R. (1998). Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas*
34 *fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic
35 analysis. *Mol Microbiol.* 28: 449-461.

- 1 O'Toole, G.A.; Gibbs, K.A.; Hager, P.W.; Phibbs, P.V. Jr. and Kolter, R. (2000). The
2 global carbon metabolism regulator CRC is a component of a single transduction
3 pathway required for biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Mol. Biol.*,
4 182: 425-431.
- 5 Odum, E. (1975). *Fundamentals of Ecology*, Moscow, 742 pp.
- 6 Ofek, I. and Doyle, R.J. (1994). Bacterial adhesion to cells and tissues. In: Ofek, I. and
7 Doyle RJ, editors. New York: Chapman & Hall.
- 8 Okabe, S.; Kuroda H. and Watanabe Y. (1998). Significance of biofilm structure on
9 transport of inert particulates into biofilm. *Water Sci. Technol.* 38: 163-170.
- 10 Okada, M.; Sato, I.; Cho, S.J.; Iwata, H.; Nishio, T.; Dubnau, D. and Sakagami, Y.
11 (2005). Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX.
12 *Nat. Chem. Biol.* 1:23-24.
- 13 Onaka, H.; Ando, N.; Nihira, T.; Yamada, Y.; Beppu, T. and Horinouchi, S. (1995).
14 Cloning and characterization of the A-factor receptor gene from *Streptomyces griseus*,
15 *J. Bacteriol.* 177: 6083-6092.
- 16 Ortega-Morales, B. O.; Ortega-Morales, F. N.; Lara-Reyna J.; De la Rosa-García, S. C.;
17 Martínez-Hernández, A. and Montero M.J. (2009). Antagonism of *Bacillus spp.*
18 Isolated from Marine Biofilms, Against Terrestrial Phytopathogenic Fungi. *Mar*
19 *Biotechnol* 11: 375-383. DOI 10.1007/s10126-008-9152-3
- 20 O'Toole G, Kaplan HB, and Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial
21 development *Ann. Rev. Microbiol.* 54: 49-79.
- 22 Palmer, F.; Emery, D. R.; Stemmler, J. and Staley, J. T. (1987). Survival and growth of
23 microcolonial rock fungi as affected by temperature and humidity. *New Phytol* 107:
24 155-162.
- 25 Perry, R. S. and Adams, J. B. (1978). Desert varnish: evidence for cyclic deposition of
26 manganese. *Nature* 276, 489-491.
- 27 Persson, J.; Wittgren and H.B. (2003) How hydrological and hydraulic conditions affect
28 performance of ponds, *Ecol. Eng.* 21: 259-269.
- 29 Pirt, J. (1967). A kinetic study of the mode of growth of surface colonies of bacteria and
30 fungi. *J. Gen. Microbiol.* 47: 181-197.
- 31 Powlson, D.S.; Smith, P. and Smith, J. (Eds.) (1996). Evaluation of Soil Organic Matter
32 Models, NATO ASI Series. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, p. 138.
- 33 Prigent-Combaret, C.; Vidal, O.; Dorel, C. and Lejeune, P.(1999). Abiotic surface
34 sensing and biofilm-dependent regulation of gene expression in *Escherichia coli*. *J*
35 *Bacteriol.* 181: 5993-6002.

- 1 Pringle, J.H. and Fletcher, M. (1983). Influence of substratum wettability on attachment
2 of freshwater bacteria to solid surfaces. *Appl Environ Microbiol.*, 45: 811–17.
- 3 Prosser, J.I. and Tough, A.J. (1991). Growth mechanisms and growth kinetics of
4 filamentous microorganisms. *CRC Crit. Rev. Biotech.* 10: 253–274.
- 5 Prosser, J.I. and Trinci, A.P.J. (1979). A model for hyphal growth and branching, *J. Gen.*
6 *Microbiol.* 111, 153-164
- 7 Prosser, J.I. (1995a). Kinetics of filamentous growth and branching. In: Gow, N.A.R.,
8 Gadd, G.M. (Eds.), *The Growing Fungus*. Chapman & Hall, London, pp. 301-318.
- 9 Prosser, J.I. (1995b). Mathematical modelling of fungal growth. In: Gow, N.A.R., Gadd,
10 G.M., (Eds.), *The Growing Fungus*. Chapman & Hall, London, pp. 319–335.
- 11 Rader, B.A.; Campagna, S. R.; Semmelhack, M. F.; Bassler, B. L. and Guillemin, K.
12 (2007). The quorum-sensing molecule autoinducer 2 regulates motility and flagellar
13 morphogenesis in *Helicobacter pylori* *J. Bacteriol.* 189: 6109-6117. doi:10.1128/JB.
14 00246-07.
- 15 Rajan, S. and Saiman, L. (2002). Pulmonary infections in patients with cystic fibrosis.
16 *Semin. Respir. Infect.* 17: 47-56.
- 17 Rangel-Castro, J.I., Levenfors, J.J., and Danell, E. (2002). Physiological and genetic
18 characterization of fluorescent *Pseudomonas* associated with *Cantharellus cibarius*.
19 *Can. J. Microbiol.* 48: 739–748.
- 20 Razumovsky, S.M. (1981). *Zakonomernosti Dinamiki Biotsenozov (Peculiarities of*
21 *Biocoenoses Dynamics)*. Moscow, Nauka, 232 pp. (in Russian).
- 22 Richards, P. (1961). *Tropical Rain Forest*. Russian translation. Mir, Moscow, 448 pp.
- 23 Rincón, A.; Ruiz-Diez, B.; García-Fraile, S.; García, J.A.; Fernández-Pascual, M.; Pueyo,
24 J.J. and de Felipe, M.R. (2005). Colonisation of *Pinus halepensis* roots by
25 *Pseudomonas fluorescens* and interaction with the ectomycorrhizal fungus *Suillus*
26 *granulatus*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 51: 303-311.
- 27 Roeselers G., van Loosdrecht M. C. M. and Muyzer G. (2007) Heterotrophic pioneers
28 facilitate phototrophic biofilm development, *Microbial Ecology* 54:578-585.
- 29 Rosenberg, M.; Bayer, E.A.; Delarea, J. and Rosenberg, E. (1982) Role of thin fimbriae in
30 adherence and growth of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 on hexadecane. *Appl*
31 *Environ Microbiol.* 44: 929–37.
- 32 Rosenberg, M. and Kjelleberg, S. (1986). Hydrophobic interactions in bacterial adhesion.
33 *Advances in Microbial Ecology*, 9:353–93.
- 34 Rosenzweig, W. D.; Minnigh, H. and Pipes. W. O. (1983). Chlorine demand and
35 inactivation of fungal propagules. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:182-186.

- 1 Rosenzweig, W. D.; Minnich, H. and Pipes, W. O. (1986). Fungi in potable water
2 distribution systems. *J. Am. Water Works Assoc.* 78:53-55.
- 3 Sagen Wikmark H. (2008) Co-existence of bacteria and filamentous fungi in experimental
4 biofilms. Master degree of Food Safety. Norwegian School of Veterinary Science.
- 5 Sanford, W.E.; Steenhuis, T.; Surface J. and Peverly, J.H. (2005). Flow characteristics of
6 rock-reed filters for treatment of landfill leachate, *Ecol. Eng.*, 5: 37–50.
- 7 Schopf, J.W. (1999). *Cradle of Life: The Discovery of Earth's Earliest Fossils*. Princeton
8 University Press, New Jersey, 368 pp.
- 9 Schwabe, G.H., (1972). Blue-green algae as pioneers on postvolcanic substrate
10 (Surtsey/Iceland). In: Desikachary, T.V. (Ed.). *Taxonomy and Biology of Blue-Green*
11 *Algae*. Bangalore Press, Bangalore, India, pp. 419–424.
- 12 Silagyi K.S. (2007). Biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7. Doctoral Thesis.
13 University of Maryland.
- 14 Singh, P.K.; Schaefer, A.L.; Parsek, M.R.; Moninger, T.O.; Welsh, M.J. and Greenberg,
15 E.P. (2000). Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected
16 with bacterial biofilms. *Nature* 407: 762–764.
- 17 Smith, T. G., Pereira, L. and Hoover, T. R. (2009). *Helicobacter pylori* FlhB processing-
18 deficient variants affect flagellar assembly but not flagellar gene expression.
19 *Microbiology*, 155: 1170-1180.
- 20 Soncini-Junior, G. ; Martins Franchetti, S. M. and Marconato, J.C. (2003) Architecture
21 and relevance of several strongly adhered biofilms over a polyester imide (PEI)
22 surface. *Brazilian Journal of Microbiology* 34 :105-107. ISSN 1517-8382.
- 23 Staley, J. T.; Jackson, M. J.; Palmer, F. E.; Adams, J. B.; Borns, D. J.; Curtiss, D. J. and
24 Taylor-George, S. (1983). Desert varnish coatings and microcolonial fungi on rocks of
25 the Gibson and Great Victoria Deserts, Australia. *BMR Journal of Australian*
26 *Geology and Geophysics* 8: 83-87.
- 27 Staley, J. T.; Palmer, F. E. and Adams, J. B. (1982). Microcolonial fungi: common
28 inhabitants on desert rocks?. *Science* 215: 1093-1095.
- 29 Staley, J.T.; Adams, J.B. and Palmer, T.E. (1992). Desert varnish: a biological
30 perspective. *Soil Biol. Biochem.* 7: 173–195.
- 31 Sterflinger, K. (2000). Fungi as geologic agents. *Geomicrobiol. J.* 17: 97–124. doi:
32 10.1080/ 01490450050023791.
- 33 Stewart, P.S. and Costerton, J.W. (2001) Antibiotic resistance of bacteria in biofilms.
34 *Lancet*, 358: 135-138.
- 35

- 1 Stinson, M., Ezra, D., Hess, W.M., Sears, J. and Strobel, G. A. (2003). An endophytic
2 *Gliocladium* sp. of *Eucryphia cordifolia* producing selective volatile antimicrobial
3 compounds. *Plant Sci.* 165: 913–922.
- 4 Strobel G. A.; Knighton, B.; Kluck, K.; Ren, Y.; Livinghouse, T.; Griffin, M.; Spakowicz,
5 D. and Sears J. (2008). The production of myco-diesel hydrocarbons and their
6 derivatives by the endophytic fungus *Gliocladium roseum* (NRRL 50072)
7 *Microbiology*, 154: 3319 - 3328.
- 8 Sun, J., R. Daniel, I. Wagner-Dobler, and A. P. Zeng. (2004). Is autoinducer-2 a universal
9 signal for interspecies communication: a comparative genomic and phylogenetic
10 analysis of the synthesis and signal transduction pathways. *BMC Evol. Biol.* 4:36.
- 11 Swift S, Downie JA, Whitehead NA, Barnard AML, Salmond GPC. and Williams P
12 (2001) Quorum sensing as a population-density-dependent determinant of bacterial
13 physiology. *Adv Microb Physiol*, 45:199-270.
- 14 Swift, S.; William, P. and Stewart, G.S.A.B. (1999) *N*-Acylhomoserine lactones and
15 quorum sensing in proteobacteria. In *Cell–Cell Signaling in Bacteria*. Edited by
16 Dunny GM, Winans SC. Washington, DC: ASM Press, pgs 291-314.
- 17 Tanner, C.C. and Sukias, J.P.S. (1995). Accumulation of organic solids in gravel bed
18 constructed wetlands, *Water Sci. Technol.* 32: 229–239.
- 19 Tanner, C.C.; Sukias, J.P.S. and Upsdell, M.P. (1998). Organic matter accumulation
20 during maturation of gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters,
21 *Water Res.* 32: 3046–3054.
- 22 Taylor-George, S.; Palmer, F. E.; Staley, J. T.; Borns, D. J.; Curtiss, D. J. and Adams J. B.
23 (1983). Fungi and bacteria involved in desert varnish formation. *Microbial Ecology* 9,
24 227-245.
- 25 Thullner M.; Zeyer J. and Kinzelbach, W. (2002) Influence of microbial growth on
26 hydraulic properties of pore network, *Transport Porous Media* 49: 99–122.
- 27 Timonen, S. and Hurek, T. (2006). Characterization of culturable bacterial populations
28 associating with *Pinus sylvestris*: *Suillus bovinus* mycorrhizospheres. *Can. J.*
29 *Microbiol.* 52: 769–778.
- 30 Toledo-Arana, A.; Valle, J.; Solano, C.; Arrizubieta, M.J.; Cucarella, J.; Lamata, M.
31 (2001). The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis*
32 biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*, 67: 4538-4545.
- 33 Tomasz, A. (1965). Control of the competent state in *Pneumococcus* by a hormone-like
34 cell product: an example for a new type of regulatory mechanism in bacteria. *Nature*,
35 208: 155–159.

- 1 Toth, I.K.; Bell, K.S.; Holeva, M.C. and Birch, P.R.J. (2003) Soft rot erwiniae: from
2 genes to genomes. *Molecular Plant Pathology*, 4: 17–30.
- 3 Tripathi, A. (2001) Fungal remains from Early Cretaceous Intertrappean Beds of
4 Rajmahal Formation in Rajmahal Basin, India. *Cretaceous Res.* 22: 565–574.
- 5 Uchida, E.; Ogawa, Y.; Maeda, N. and Nakagawa, T. (2000). Deterioration of stone
6 materials in the Angkor monuments, Cambodia. *Eng Geol.* 55: 101–112.
- 7 Underwood A. J. (1984) Vertical distribution and seasonal abundance of intertidal
8 microalgae on a rocky shore in New South Wales, *J. Experimental Marine Biology*
9 *and Ecology* 78:199-220.
- 10 Van Wensem, J.; Van Straalen, N.M. and Kooijman, A.L.M. (1997). Carbon and nitrogen
11 fluxes in decomposing leaf-litter with microbial-detritivore interactions: model
12 simulations compared to microcosm ecotoxicity tests, *Ecol. Modell.* 96: 75–189.
- 13 Vandevivre, P. and Baveye, P. (1992). Saturated hydraulic conductivity reduction caused
14 by aerobic bacteria in sand columns, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 1–13.
- 15 Vega, E.; Lesikar, B. and Pillai, S.D. (2003). Transport and survival of bacterial and viral
16 tracers through submerged-flow constructed wetland and sand-filter system,
17 *Bioresour. Technol.* 89: 49–56.
- 18 Warscheid, T. and Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *Int Biodeterior*
19 *Biodegrad.* 46: 343–368. doi: 10.1016/S0964-8305(00)00109-8.
- 20 Warscheid, Th. (2008). Heritage research and practice: towards a better understanding?
21 In: Heritage, microbiology and science – microbes monuments and maritime
22 materials, May E, Jones M, Mitchell J (ed), Springer Verlag, Great Britain, pp 11-25.
- 23 Watanabe, K.T. and Kuroda, M. (2002). The effect of the physical structure of a porous
24 Ca-based sorbent on its phosphorus removal capacity. *Water Res.* 36: 3711–3718.
- 25 Waters, C.M. and Bassler, B.L. (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in
26 bacteria, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21: 319–346.
- 27 Weisburg, W.G.; Barns, S.M.; Pelletier, D.A. and Lane, D.J. (1991). 16S ribosomal DNA
28 amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol.* 173: 697–703.
- 29 Whipps, J.M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp.*
30 *Bot.* 52, 487–511.
- 31 Whitehead, N.A.; Barnard, A.M.; Slater, H.; Simpson, N.J. and Salmond, G.P. (2001).
32 Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 25: 365–404.
- 33 Whiteley, M.; Lee, K.M. and Greenberg, E.P. (1999). Identification of genes controlled
34 by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:13904-
35 13909.

- 1 Willey, J.M.; Willems, A.; Kodani S. and Nodwell, J.R. (2006). Morphogenetic
2 surfactants and their role in the formation of aerial hyphae in *Streptomyces coelicolor*,
3 *Mol. Microbiol.* 59: 731–742.
- 4 Williams, V. and Fletcher, M. (1996) *Pseudomonas fluorescens* adhesion and transport
5 through porous media are affected by lipopolysaccharide composition. *Appl Environ*
6 *Microbiol.* 62:1004.
- 7 Xavier, K.B. and Bassler, B.L. (2005). Interference with AI-2-mediated bacterial cell-cell
8 communication, *Nature* 437: 750–753.
- 9 Zhao, L.; Zhu, W. and Tong, W. (2009). Clogging processes caused by biofilm growth
10 and organic particle accumulation in lab-scale vertical flow constructed wetlands.
11 *Journal of Environmental Sciences* 21: 750-757 doi:10.1016/S1001-0742(08)62336-0.
- 12 Zhu, H.; Thuruthyil, S.J.; Rice, S.; Kjelleberg, S.; Givskov, M. and Willcox, M.D.P.
13 (2002a.) Contribution of quorum-sensing systems to the virulence of *Pseudomonas*
14 *aeruginosa* during corneal infections [abstract]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42:S514.
- 15 Zhu, H.; Thuruthyil, S.J. and Willcox, M.D.P. (2002b). Determination of quorum-sensing
16 signal molecules and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from
17 contact lens-induced microbial keratitis. *J Med Microbiol* 51: 1063-1070.
- 18 Zobell, C.E. (1943) The effect of solid surfaces on bacterial activity. *J Bacteriol.* 46:39-
19 56.
- 20 Zottola, E.A. (1991) Characterization of the attachment matrix of *Pseudomonas fragi*
21 attached to non-porous surfaces. *Biofouling.* 5:37-55.
- 22

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14

DISCURSO DE CONTESTACIÓN
DEL EXCELENTISIMO SR.
DR D. MIGUEL LADERO ÁLVAREZ
ACADEMICO DE NÚMERO

1
2 *Excelentísimo Señor Presidente*
3 *Excelentísimas Señoras y Señores Académicos*
4 *Señoras y Señores*
5

6 Mis primeras palabras han de ser para agradecer, por un lado, al Prof.
7 Salvador González Carcedo y, de otro a la Presidencia de la Real
8 Academia de Farmacia de Castilla y León, por el encargo que me han
9 hecho de contestar el discurso de ingreso en esta Real Academia de un
10 nuevo académico. Siempre resulta agradable intervenir cuando se reconoce
11 y premia la labor científica y docente de un compañero de profesión y por
12 añadidura alumno de Botánica en mi primer año como docente en la
13 Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

14 Nos resulta grato reconocer que, a lo largo de su trayectoria
15 universitaria, el Prof. González Carcedo ha transitado por todos los
16 estamentos de la docencia desde sus primeros años de vida académica, una
17 vez finalizada la Licenciatura en Farmacia en la Universidad Complutense
18 de Madrid, incorporándose a realizar el doctorado en el Centro Asociado
19 del CSIC en el Departamento de Bioquímica, en la Facultad de Farmacia
20 de la Universidad Complutense de Madrid, y convirtiéndose en profesor
21 fundador del Colegio Universitario de Burgos.

22 El Profesor González Carcedo nace en la ciudad de Burgos en 1946,
23 habiendo obtenido el Grado de Licenciatura en Farmacia en 1970 en la
24 Universidad Complutense de Madrid, donde posteriormente se doctoró en
25 1972 con la máxima calificación y obteniendo el Premio Profesor Santos
26 Ruiz en la rama de Bioquímica de la Academia Nacional de Farmacia.

27 Su primer nombramiento académico como Profesor Ayudante de
28 Clases Prácticas lo ostenta en la Facultad de Farmacia de la Universidad
29 Complutense de Madrid entre los cursos 1970-72, pasando luego al
30 Colegio Universitario de Burgos donde obtiene el nombramiento de Prof.
31 Agregado Contratado, puesto que desempeñó entre 1973 y 1983, año en
32 alcanza el cargo de Profesor Titular y finalmente, en 1999 la Cátedra de
33 Edafología y Química Agrícola en la Universidad de Burgos.

34 Desde que llegó a la Universidad de Burgos ha impartido docencia en
35 la Facultad de Ciencias a alumnos de Químicas y de Tecnología de los

1 Alimentos y en la Escuela Politécnica Superior a alumnos de las
2 Titulaciones de Ingeniería Técnica Agrícola y de Obras Públicas. Es
3 interesante destacar sus trece años como Director del Área de Biología y
4 Bioquímica, y desde 1985, el de Director del Área de Edafología y
5 Química Agrícola en la Universidad de Burgos, ambos cargos son
6 equivalentes al de Director de Departamento en otras Universidades
7 españolas.

8 Durante este largo periodo de tiempo, ha ejercido una intensa labor
9 docente e investigadora, contribuyendo a la formación de jóvenes
10 docentes e investigadores, desde Catedráticos de Universidad, hasta
11 Profesores de Enseñanza Media y Técnicos de Empresa, y ha dirigido 9
12 Tesis Doctorales y 62 Tesis de Licenciatura, siendo su principal área de
13 investigación la Enzimología y Metabolismo de Suelos.

14 Por lo que se refiere a su formación, ha llevado una interesante
15 trayectoria científica, en una primera etapa, bajo la dirección de los
16 Profesores Ángel Giménez Solves y María Cascales Angoso, siendo la
17 Profesora Cascales la directora de su Tesis Doctoral que finalizó en 1972,
18 obteniendo la máxima calificación, con el título “Ácido glutámico y
19 actividades enzimáticas relacionadas, en *Pinus pinea*, durante la
20 germinación”.

21 Entre los años 1976 y 1979 lleva a cabo varias estancias en el Centro
22 de Pedologie Biologique del CNRS de Nancy (Francia), al objeto de
23 formarse en el “Estudio y manejo de la materia orgánica del suelo”, bajo la
24 dirección de los Profesores Silvain Bruckert y Philip Duchaufour.

25 Durante los cuarenta años de actividad docente, primero en la
26 Universidad de Valladolid (Colegio Universitario de Burgos) y
27 posteriormente en la Universidad de Burgos, ha impartido docencia, en
28 todo o en parte, de un amplio ramillete de asignaturas como son: Biología
29 General, Bioquímica Metabólica, Producción de Materias Primas,
30 Edafología, Química Agrícola, Agricultura Biológica y Sostenible,
31 Contaminación de Suelos, Desarrollo Vegetal y Producción Animal. Esto
32 demuestra que el Profesor González Carcedo es un hombre polifacético y
33 un excelente docente, al cubrir un amplio espectro no solo de las Ciencias
34 del Suelo sino sus Ciencias afines.

1 Dentro de su actividad docente, destaca su labor como coordinador y
2 profesor del programa de Tercer Ciclo en las Universidades de Valladolid
3 y Burgos durante el periodo de tiempo comprendido entre 1986 y 2001,
4 con temas tan interesante como: Bioquímica del Suelo, Producción
5 Vegetal y Sanidad del Medio Ambiente. Como profesor invitado en
6 programas de Tercer Ciclo ha participado en el Programa Internacional de
7 Doctorado “Enseñanza de las Ciencias” durante el bienio 1998-2000, en
8 función del Convenio entre el Departamento de Física de la Universidad
9 de Burgos y la Universidad Federal de Río Grande do Sul, Porto Alegre
10 (Brasil), y en el Máster en Ciencias Medio-Ambientales impartido por el
11 Departamento de Edafología y Geología, de la Facultad de Ciencias
12 Biológicas de la Universidad de la Laguna. Su intensa labor docente se
13 completa como Director / Coordinador de los Cursos de Verano de la
14 Universidad de Burgos, entre los años 1999 y 2005, con programas tan
15 sugerentes como “Nuevos avances en conservación y manejo de
16 agrosistemas”, “Impacto ambiental de las actividades agrarias y
17 ganaderas” o “Tecnologías aplicables a la reutilización de los residuos
18 orgánicos urbanos, agrícolas o alimentarios”.

19 Su labor docente y profesional se ha visto premiada con la medalla de
20 Plata de la Universidad de Burgos al cumplir los 25 años de servicio y la
21 Medalla de Bronce concedida por el Ilmo. Colegio de Farmacéuticos de
22 Burgos, a uno de sus colegiados más destacados.

23 Como datos más sobresaliente del *currículum* del Profesor González
24 Carcedo, destacan los cursos impartidos en las Universidades Hispano-
25 americanas de Argentina, El Salvador y Venezuela, donde se estudiaron
26 “La Interacción de suelos/residuos”, “El Reciclado”, “El Impacto de los
27 Pesticidas”, y “La Utilización de la Materia Orgánica y Residuos
28 Municipales, Agropecuarios e Industriales en la Agricultura Sostenible”.

29 Interesa destacar que el Profesor González Carcedo, es miembro de
30 número de diez Sociedades Científicas españolas y extranjeras, entre las
31 que se encuentran la Sociedad Española de Ciencias del Suelo, Real
32 Sociedad Española de Química, International Soil Science Societies
33 (ISSS), American Society of Agronomy (ASA), Crop Science Society of
34 America (CSSA), International Solid Wastes and Publing Cleansing
35 Association (ISWA), etc.

1 Al reseñar su labor investigadora debemos comenzar por las grandes
2 líneas de investigación donde ha participado, desde “La germinación de
3 semillas y metabolismo nitrogenado” y el “Aislamiento y caracterización
4 de compuestos humificados” de su primera etapa como investigador, hasta
5 la “Enzimología de suelos, “Disponibilidad enzimática de nutrientes en
6 suelos “, “Descontaminación de materia orgánica residual de ciudad“,
7 “Inmovilización de enzimas sobre soportes inorgánicos“ y “Recuperación
8 de materia orgánica residual: Generación de sustratos en el momento
9 actual. Es necesario comentar en el *curriculum* del nuevo académico, su
10 papel como investigador principal en 25 proyectos de investigación a nivel
11 estatal, regional (Castilla y León) y local (Burgos), estos últimos tanto con
12 empresas privadas como públicas. Ha participado como colaborador en 9
13 proyectos, sufragados por los Ministerios de Ciencia y Tecnología, y de
14 Medio Ambiente, Junta de Castilla y León y Grupo Español de
15 Enzimología de Suelos, del que es socio fundador.

16 Dentro de las 20 conferencias impartidas tanto en España como en el
17 extranjero, destacan por su repercusión, las dictadas en distintas
18 Universidades Hispanoamericanas, como la Universidad Católica de
19 Occidente, Santa Ana (El Salvador), las Universidades Nacionales de
20 Jujuy, y de Tucumán (Argentina), la Universidad Central de Caracas /
21 Fundación DANAC (Venezuela), así como las impartidas con motivo del
22 XVIII Congreso Latinoamericano de las Ciencias del Suelo, celebrado en
23 San José de Costa Rica o la dictada durante la X Conferencia Científica
24 del Programa CYTED, con motivo de la XII Cumbre Iberoamericana de
25 Jefes de Estado y de Gobierno. También destacaremos la impartida en la
26 Universidad de Agronomía, Cluj Napoka, Rumania. Sus títulos están
27 relacionados con las Ciencias del Suelo, los tratamientos de residuos
28 sólidos y lodos y la difusión de la enseñanza infantil de la Edafología.

29 A la mencionada actividad investigadora, hay que añadir la
30 publicación de 100 artículos, aparecidos en revistas nacionales e
31 internacionales de reconocido prestigio. Entre estas revistas destacan:
32 Anales de Edafología y Agrobiología, Suelo y Planta, Ingeniería Química,
33 Edafología, Agroquímica, Revue D'ecologie et Biologie du Sol, Biology
34 and Fertility of Soils, Biological Agriculture & Horticulture, Soil Sci. Soc.
35 American Journal, Soil Biology & Biochemistry, Bioresource Technology,

1 Geomicrobiology Journal. A este apartado hay que añadir los capítulos
2 publicados en 8 libros, donde se tratan distintos problemas de aguas
3 residuales, residuos urbanos, enzimología y metabolismo de suelos,
4 monografías y 80 comunicaciones presentadas y defendidas en congresos
5 nacionales e internacionales.

6 Tras esta breve semblanza, donde se señala la trayectoria científica
7 del nuevo académico, resulta obligado glosar la importante lección que en
8 su discurso nos acaba de dar y que todos hemos seguido con el máximo
9 interés y atención.

10 El discurso que lleva por título “Biofilms y su relación con la
11 Edafología y la Sanidad” que ha impartido el Prof. Dr. González Carcedo,
12 nos ha mostrado una visión del comportamiento social más antiguo que se
13 conoce de los seres vivos. Iniciado por las bacterias con la capacidad de
14 asociación (biofilm) de bacterias plactónicas (libres) para supervivencia en
15 medios ambientales sumamente adversos, (las lagunas de las áreas
16 volcánicas del Parque de Yalestown, superficies de los glaciares o
17 regosoles en ámbitos de montaña, hoy nos los encontramos en muy
18 diversos lugares, como el estómago, el pulmón o los huesos humanos, los
19 ácidos húmicos o las superficies de las partículas texturales de los suelos, o
20 condicionando la patogenicidad y nutrición vegetal en el ámbito rizosférico.

21 En esta exposición, el conocimiento de los biofilms, se hace desde la
22 óptica del conocimiento del propio biofilm, y la transferencia de aquel a
23 otros ámbitos: básico (edafológico) aplicado (sanitario) y de innovación
24 tecnológica (alimentación e industria).

25 La conferencia se inicia recordando sus orígenes (anterior al de los
26 líquenes), de los primeros y casuales casos de visualización de su
27 existencia (Leeweneck), de uso (sin saberlo) por Widnograsky (al
28 recolectar las primeras colecciones de bacterias del suelo utilizando portas
29 de cristal), hasta la evaluación del estado de conservación de los grandes
30 de grandes monumentos culturales, patrimonio de la Humanidad, o una
31 nueva forma de limpieza de las fuentes de la Alhambra de Granada.

32 Un recorrido en el conocimiento de los biofilms, nos muestra el
33 amplio camino que hay que reconocer y recorrer en ámbito edáfico. Desde
34 los procesos de formación del regolito, de formación y estabilidad de los
35 constructos, definidos como agregados a partir de las unidades texturales,

1 la participación de los biofilms en los procesos de degradación de la
2 materia orgánica natural (y de los aportes de restitución algunos de los
3 cuales con capacidad contaminante), de los procesos de degradación de la
4 copromasa depositada por los seres vivos del suelo y de aquellos que por
5 neoformación condicionan los compuestos humificados, y la modificación
6 de las propiedades asociadas, claves en la fertilidad y productividad de los
7 suelos.

8 Si hablar de su ámbito edafológico, es importante para el Profesor, el
9 ámbito sanitario también lo es para el Farmacéutico que hay en Salvador.

10 Por ello nos ha expuesto en primer lugar los sistemas de armonización
11 y ruptura funcional de los biofilm, con el ánimo de reflexionar sobre
12 cuáles son las estrategias que hoy existen, y usarles científicamente para
13 conocer las causas del porqué algunas enfermedades se convierten
14 crónicas. Ello supone el desarrollo de tecnologías de diagnóstico que
15 identifiquen cada biofilm, sus conjuntos moleculares de quórum, y como
16 interferir su funcionamiento, evitando de esta forma su manifestación de
17 virulencia o la resistencia a las terapias antibióticas, al devolver sus
18 constituyentes biológicos a su estado planctónico. La identificación de
19 biofilms complejos, permitirá establecer en casos los protocolos de
20 tratamiento tengan que combinar antibióticos y antimicóticos, y el
21 momento en preciso y la duración del tratamiento.

22 En ciertos casos, hablando de prótesis, los controles de calidad
23 farmacéutica tendrán que definir, características tales como la ausencia de
24 rugosidad superficial, su hidrofobicidad, su resistencia, y en todo caso,
25 revisar el concepto de esterilidad previa y resistencia a la contaminación
26 cuando estemos hablando de biofilms “adaptados al medio” como un
27 criterio para establecer la idoneidad de la prótesis elegida.

28 Aunque no lo ha mencionado, no me queda duda de que Salvador es
29 hijo de un farmacéutico que ejerció las tareas de Inspector Rural de
30 Farmacia. Su interés por la actividad de este sector farmacéutico se
31 manifiesta de muchas maneras. Con se ejemplo, se justifica el porqué la
32 Edafología se encuentra aún entre las materias formativas del Grado de
33 Farmacia. Pero me ha llamado su insistencia en la falta de atención que se
34 presta al control de las aflatoxinas en suelos y residuos, de la misma forma
35 que se analizan nitratos o plaguicidas en las masas de agua.

