

Ambio Ciencias

REVISTA DE DIVULGACIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES. UNIVERSIDAD DE LEÓN



Revista nº 10
Diciembre 2012



★ 1968 ★

★ 2012 ★



Consejo de redacción

Director:

José Luis Acebes Arranz Profesor Titular del Área de Fisiología Vegetal

Secretario:

Francisco Javier Rúa Aller Profesor Titular del Área de Bioquímica y Biología Molecular

Miembros:

Ana Alonso Simón Profesora Asociada del Área de Fisiología Vegetal
María Luz Centeno Martín Vice-Decana de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales
Antonio Encina García Profesor Contratado Doctor del Área de Fisiología Vegetal
Delia Fernández González Profesora Titular del Área de Botánica
Penélope García Angulo Profesora Ayudante Doctor del Área de Fisiología Vegetal
Estanislao Luis Calabuig Catedrático de Universidad del Área de Ecología
Juan Antonio Regil Cueto Profesor Titular del Área de Zoología

Edita: Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León y Área de Publicaciones de la Universidad de León.

Maquetación: Ana Alonso Simón.

© **Universidad de León**

© **Los autores**

ISSN: 1988-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa)

Dep. Legal: LE-903-07



En portada:

La especie arbórea dominante suele determinar las características estructurales de la comunidad. En este número Alonso García et al. (pp. 39 y ss.) comparan diversos parámetros estructurales de las comunidades de sotobosque en un robledal y en un pinar de repoblación. En la foto se aprecia la comunidad de sotobosque en un robledal de Rioseco de Tapia.

ÍNDICE

Editorial

El Nobel de Medicina para las “células madre”

Javier Rúa Aller3

A fondo

Epigenética en la era postgenoma

María José Barrero Núñez7

Poniendo en claro

Producción de nuevas variedades de *Saintpaulia ionantha* mediante variación somaclonal

Juan Ignacio Mendoza Fernández, Miguel Ángel Muñoz Serrano, Iván Parra Izquierdo, Sergio Villazala Merino..... 14

Migraciones humanas por causas ambientales: secuelas del cambio global antropogénico

Leticia Doormann27

Siguiendo la pista

Efecto de los factores abióticos en los parámetros estructurales de una comunidad de sotobosque de un pinar de repoblación y un robledal

Alba Alonso García, Elisa Neila Peruyero, Alba Sanmiguel Vallelado, Olaia Sobrado Conde39

Baúl de la ciencia

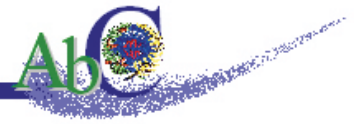
La importancia de la contribución paterna en el desarrollo embrionario: los ARN espermáticos

David García Valcarce, Florentino Garrido González, Elsi Suárez Álvarez, Ángel J. Luengos Martínez, Vanesa Robles Rodríguez52

Mi proyecto de tesis

Optimización de los protocolos de congelación de eyaculados de oso pardo (*Ursus arctos*)

Manuel Álvarez Rodríguez.....64



Ambiólogos de aquí

Zoólogos sin fronteras: aprender en León, enseñar en París

Santiago Aragón Albillos70

De todo un poco

Noticias de actualidad74

EDITORIAL

El Nobel de Medicina para las “células madre”

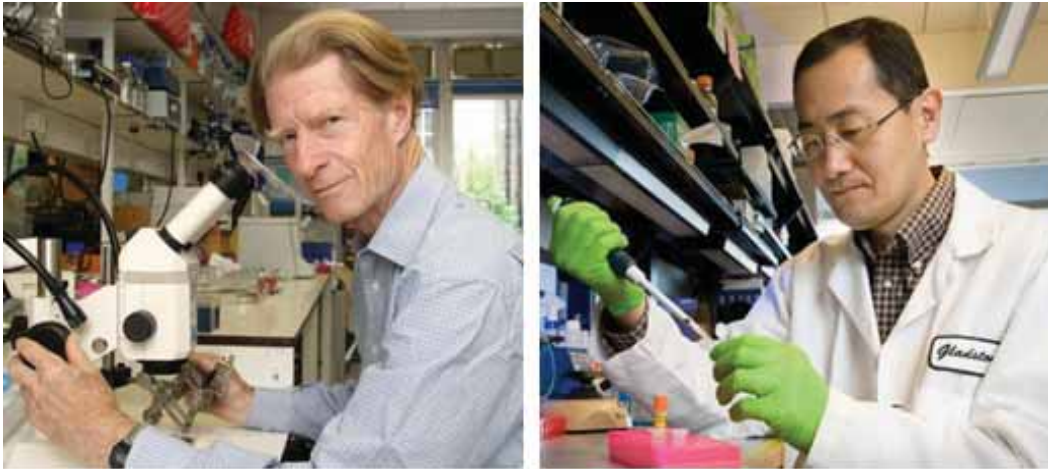
El pasado 10 de diciembre, coincidiendo con el aniversario de la muerte de Alfred Nobel, se entregaron la mayoría de los premios que la Academia sueca concede anualmente en honor del insigne químico, inventor y fabricante de armas. Los galardonados en la disciplina de Fisiología y Medicina fueron los doctores Shinya Yamanaka (japonés) y Sir John B. Gurdon (inglés) por los trabajos realizados con las llamadas “células madre”, si bien en distintas épocas y niveles de estudio. El primero consiguió los mayores éxitos de su trabajo en el año 2006, creando células madre a partir de células adultas, mientras que Gurdon fue un pionero en el uso de las técnicas de clonación, generando células madre en los años cincuenta y sesenta del pasado siglo.

En el comunicado que emitió la Asamblea Nobel para anunciar la concesión del Premio a primeros de octubre de 2012, se incluyen los aspectos más relevantes del trabajo de ambos científicos, por los que se han hecho acreedores al prestigioso galardón: “Por el descubrimiento de que las células maduras se pueden reprogramar para convertirse en pluripotentes”; Gurdon descubrió en 1962 que “la especialización de las células es reversible”, mientras que Yamanaka describió cuarenta años después, cómo las “células maduras intactas podían ser reprogramadas para convertirse en células madre”; estos avances “han creado nuevas oportunidades para investigar enfermedades y desarrollar métodos para diagnóstico y terapias”. En resumen, “estos descubrimientos han proporcionado nuevas herramientas a científicos de todo el mundo y han conducido a avances notables en muchas áreas de la medicina”, citando como ejemplo que “se pueden obtener células de la piel de pacientes con distintas enfermedades, se pueden reprogramar y examinar en el laboratorio para observar en qué difieren de las personas sanas... representan herramientas muy valiosas para comprender los mecanismos de las enfermedades y, por lo tanto, abren nuevas oportunidades para desarrollar tratamientos médicos”.

Gurdon y los primeros pasos de la clonación

Sir John B. Gurdon (Dippenhall, 1933) es profesor del Departamento de Zoología de la Universidad de Cambridge desde 1983 y miembro de la Royal Society de Londres desde 1971. Es uno de los biólogos más destacados del Reino Unido y ha sido galardonado con varios premios, entre ellos el Wolf de Medicina en 1989. En 1995 fue condecorado con el título de Caballero por la reina Isabel II

de Inglaterra. Su carrera brillante en la ciencia, no fue pronosticada en sus estudios de enseñanza secundaria por alguno de sus docentes, tal y como muestra el siguiente informe que emitió una de sus profesoras cuando Gurdon tenía quince años y que el científico conserva enmarcado en su mesa de trabajo: *“Creo que Gurdon tiene idea de convertirse en científico. Por lo que muestra en este momento, esto es bastante ridículo. Si no puede entender datos biológicos simples, no tendría ninguna oportunidad de hacer el trabajo de un especialista y sería una absoluta pérdida de tiempo tanto para él como para los que le enseñan”*.



El zoólogo británico John B. Gurdon (izda.) y el médico japonés Shinya Yamanaka (dcha.) merecedores del Premio Nobel de Fisiología y Medicina 2012 por sus trabajos en “células madre”.

A pesar de ello, y tras algunos intentos de seguir una carrera en las fuerzas armadas, el sector financiero o incluso en el estudio de las lenguas clásicas (Latín y Griego) en el Colegio Christ Church, de Oxford, Gurdon llegó a estudiar Zoología en esta Universidad, comenzando posteriormente una productiva carrera investigadora, cuyos logros más importantes se plasmarían en la década de los sesenta del pasado siglo, cuando llegó a cuestionar el dogma establecido por entonces en biología sobre la unidireccionalidad del desarrollo de los organismos, según el cual biólogos y médicos pensaban que desde la concepción hasta la muerte, las células se transformaban dando lugar a determinados tejidos y órganos, y una vez transformadas, no podían volver atrás, es decir no podían reprogramarse. En sus experimentos, Gurdon extrajo el núcleo de un óvulo de rana y lo sustituyó por el núcleo de una célula intestinal tomada de un renacuajo; el ovocito modificado se desarrolló en un renacuajo normal, algo que no hubiera ocurrido si el desarrollo de un organismo fuera de una trayectoria única. Había reprogramado el óvulo y había mostrado que la especialización de las células es reversible.

Sus resultados fueron recibidos inicialmente con escepticismo por la comunidad científica, pero finalmente fueron aceptados, una vez que otros investigadores los confirmaron. A partir de entonces, los experimentos realizados en ranas fueron seguidos por otros trabajos de clonación en mamíferos, entre los que se incluyeron los renombrados de Ian Willmut, creador de la oveja Dolly en 1997, y pionero en la técnica de transferencia de núcleos de células somáticas (TNCs).

Yamanaka y las células iPS

Los trabajos de Gurdon implicaban la extracción de núcleos de células desarrolladas para introducirlos en otras; pero no aportaban respuestas a la pregunta de si sería posible convertir una célula adulta intacta en una célula pluripotente. Cuarenta años después, el médico japonés Yamanaka, galardonado también con el Premio Nobel de Fisiología de este año, fue capaz de responder a este interrogante. Shinya Yamanaka (Osaka, 1962), especialista en cirugía ortopédica, logró en 2006 generar células madre similares a las embrionarias, conocidas como “células madre pluripotentes inducidas” (iPS o CMPI), a partir de epitelio de ratones y un año después a partir de células de la piel humana.

Para el proceso de obtención de iPS, Yamanaka tomó células epiteliales cultivadas en laboratorio y les transfirió, por medio de virus, cuatro genes que codifican para los factores de transcripción Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc, seleccionados de entre veintiseis genes que se sabía que podían participar en la reprogramación celular. Los factores de transcripción son proteínas que intervienen en el proceso de copia del DNA a RNA; éstos, en concreto, están presentes en las células embrionarias de forma natural y, si bien no se conoce exactamente cómo funcionan en la reprogramación de las iPS (los genes insertados podrían constituir un circuito regulador central o podrían activar otros genes), lo cierto es que su inclusión dentro de las células epiteliales transforman a éstas en células madre a las pocas semanas de su inserción.

Unos meses después del 2006, otros grupos de investigación, incluido el del propio Yamanaka, publicaron la obtención de iPSs a partir de células de prepucio de neonato y de células de la epidermis y de tejido articular de adultos. La técnica, aunque hasta ahora es ineficiente (menos del 1% de las células llegan a ser pluripotentes), se considera que es una vía rápida para obtener células adecuadas para la investigación de enfermedades y de medicina regenerativa.

La obtención de células iPS presenta una serie de ventajas e inconvenientes en su aplicación terapéutica. Entre las primeras se encuentra el

hecho de que no solo prescinde del uso de embriones humanos (más escaso, ya que las células madre embrionarias humanas se obtienen de embriones sobrantes donados por parejas que se han sometido a programas de fecundación in vitro), sino que además permite generar células pluripotentes totalmente compatibles con el paciente, lo que reduce el riesgo de rechazo. Otra ventaja radica en la posibilidad de curar las enfermedades genéticas, ya que mediante terapia génica se pueden reparar in vitro las mutaciones o suministrar copias corregidas del gen mutado, con lo que se producen células sanas para el trasplante. Uno de los inconvenientes se encuentra en el propio vehículo de introducción de los genes, ya que éstos se integran en el genoma y modifican el material genético; además, las células iPS podrían guardar cierta memoria epigenética de la célula a partir de la cual se obtuvieron y ser menos eficaces en la producción de células diferenciadas distintas a las del origen, esto es, podrían regresar al tipo de célula que anteriormente formaban. Por otra parte, la reprogramación crea estrés celular, que puede llevar a la acumulación de mutaciones en el genoma y se desconoce, en el momento actual, la naturaleza de las variaciones que pueden ocurrir en éstas células durante el cultivo prolongado y la diferenciación.

Como reconoce el bioquímico español Juan Carlos Ispizúa, experto en células madre y en medicina regenerativa, “es difícil predecir las consecuencias de esas manipulaciones en la seguridad de las terapias y también se ignora si las CMPI resultan menos seguras que las embrionarias, un conocimiento que será esencial para valorar los riesgos de la terapia con células pluripotentes”. Con todo, no cabe duda que los trabajos de Yamanaka, y los anteriores de Gurdon han contribuido a dar un paso gigante en la comprensión del desarrollo de las células y los organismos y en la aplicación de las células pluripotentes en el campo de la medicina, algo, que como se indicó al comienzo de este artículo, les ha hecho merecedores del Premio Nobel de Fisiología y Medicina de 2012.

Javier Rúa

A FONDO

Epigenética en la era postgenoma

María José Barrero Núñez

Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona

La herencia ha sido motivo de reflexión para científicos y filósofos durante años. Aunque hoy sabemos que heredamos el material genético de nuestros padres, estudios generacionales que correlacionan la nutrición y la probabilidad de que la descendencia sufra ciertas patologías metabólicas sugieren que heredamos algo más. La epigenética (por encima del genoma) estudia aspectos que heredan nuestras células al dividirse y que pueden ser heredados incluso a través de las generaciones y que no conllevan cambios en la secuencia de ADN. Mientras que los cambios genéticos (mutaciones, inserciones, translocaciones, etc.) son irreversibles, los cambios epigenéticos son susceptibles de ser revertidos. Esta plasticidad nos ofrece la posibilidad de diseñar fármacos para moldear nuestro epigenoma. Actualmente algunos de estos fármacos ya se están utilizando para el tratamiento del cáncer y prometen ser una herramienta efectiva para el tratamiento de otras enfermedades en el futuro.

Introducción

Hace varias décadas que se conoce que el ADN situado en el núcleo celular no se encuentra desnudo sino que se empaqueta alrededor de proteínas llamadas histonas, para formar la cromatina. Desde un principio se asumió que el papel de las histonas era simplemente estructural y se ignoró la enorme repercusión que esta estructura tiene sobre la expresión de los genes. Durante los años 70 se realizaron los primeros experimentos *in vitro* en los cuales fue posible sintetizar ARN a partir de ADN (transcripción) mediante la enzima ARN Polimerasa II en un tubo de ensayo (Anthony Weil et al., 1979). Sin embargo, el ADN utilizado en estos experimentos de transcripción *in vitro* no estaba empaquetado alrededor de histonas y fue más tarde cuando se descubrió que la presencia de histonas ofrecía una barrera para el avance de la ARN Polimerasa II a través de los genes (Knezetic y Luse, 1986). De manera general, se asume que las zonas del genoma que están fuertemente asociadas a histonas y presentan una estructura compactada son de difícil acceso para la ARN Polimerasa II y otros factores de transcripción, y por tanto los genes embebidos en estas áreas no se expresan (**Fig. 1**). Otras zonas del genoma se asocian con las histonas de manera más laxa permitiendo el acceso de factores de transcripción y la expresión de los genes. ¿Cómo se regula la compactación o accesibilidad del genoma?

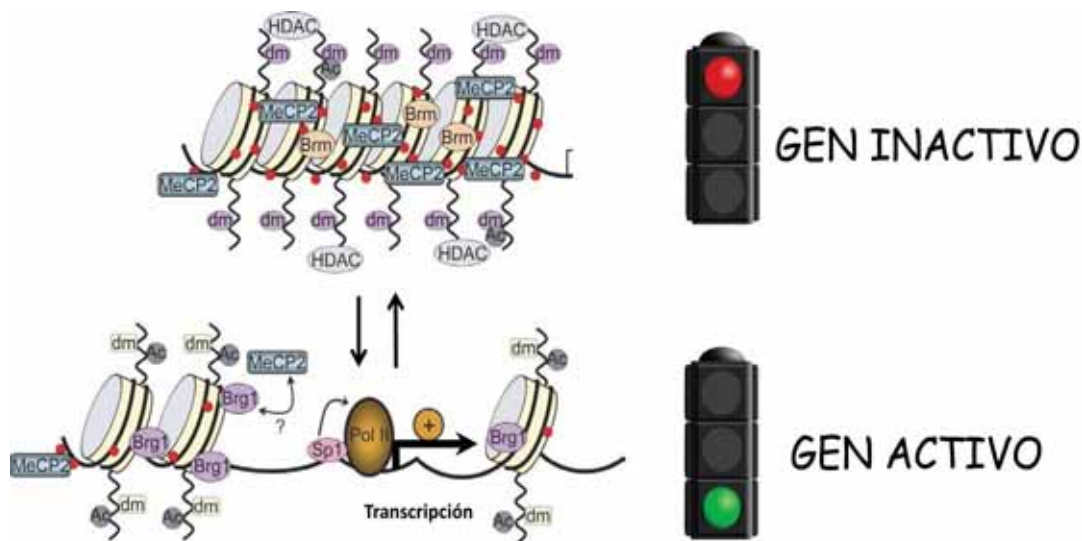


Figura 1. El grado de compactación de la cromatina determina la accesibilidad de factores de transcripción y la RNA Polimerasa II a los genes. Adaptado de Tsukiyama (2002).

Modificaciones de histonas

La asociación del ADN con las histonas es fundamental para su correcta organización dentro del núcleo celular y juega un papel clave en procesos como la reparación y replicación del ADN y el control de la expresión génica. El ADN se empaqueta alrededor de un octámero de histonas que contiene dos copias de cada histona H2A, H2B, H3 y H4. A las estructuras de ADN asociado a histonas se las denomina nucleosomas y se suceden aproximadamente cada 250 pares de bases (**Fig. 2**). A pesar de formar una estructura compacta, los extremos N-terminales de las histonas son relativamente accesibles y pueden ser modificados mediante acetilación, metilación, ubiquitinación, etc. Estas modificaciones las llevan a cabo enzimas especializadas, capaces de reconocer los extremos N-terminales de las histonas. De manera similar, las modificaciones pueden ser eliminadas de forma activa por otras enzimas haciendo que el proceso sea dinámico y reversible. Si tenemos en cuenta que las colas de histonas cuentan con decenas de residuos susceptibles de ser modificados de diferentes maneras, que cada nucleosoma cuenta con ocho histonas y que cada 250 pares de bases encontramos un nucleosoma, aparentemente las posibles combinaciones a lo largo del genoma son innumerables. Sin embargo, hay ciertas modificaciones de histonas que tienden a localizarse juntas en el genoma así como otras que raramente coinciden. Algunas de ellas, como la acetilación, se encuentran en genes que se expresan activamente, mientras que otras solo se encuentran en genes

reprimidos. Estos hechos han llevado a postular la hipótesis del “Código de Histonas” (Jenuwein y Allis, 2001) en el que la co-presencia de ciertas modificaciones nos puede ayudar a predecir el estado de expresión de los genes y la susceptibilidad de ciertos genes a ser activados o reprimidos por un determinado tratamiento. Además, las modificaciones de histonas también se utilizan para mapear la presencia de ciertos elementos funcionales del genoma, tales como exones, intrones, inicios de transcripción y “enhancers” (Heintzman et al., 2009).

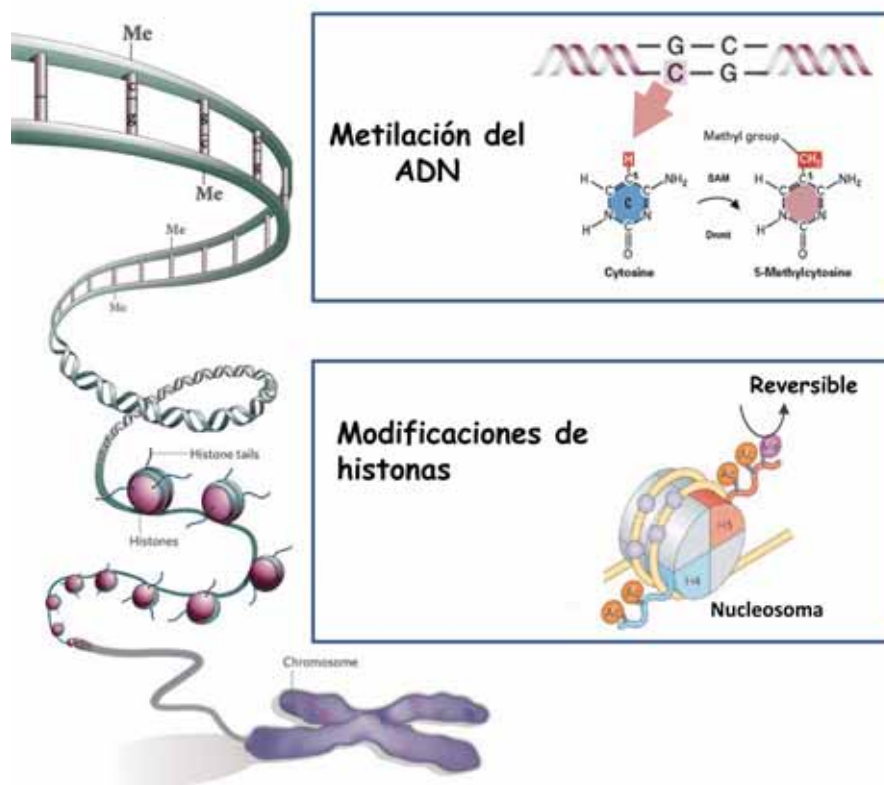


Figura 2. Los dos componentes principales del código epigenético. Adaptado de Qiu (2006).

Metilación del ADN

El DNA es susceptible de ser modificado químicamente mediante la metilación de citosinas (**Fig. 2**). Los residuos citosina susceptibles de ser metilados suelen estar seguidos de residuos guanina. La presencia de ADN metilado en las regiones reguladoras de los genes suele correlacionarse con represión transcripcional. Se conocen varias enzimas metiltransferasas de ADN capaces de transferir residuos metilo a los residuos citosinas. La metilación del ADN es reversible,

pero la existencia de enzimas capaces de demetilar los residuos citosina metilados es controvertida. Opuestamente, la metilación podría perderse de manera pasiva al replicarse el ADN durante la división celular.

La metilación del ADN juega un papel clave en el desarrollo embrionario. Tras la fecundación se suceden fenómenos de demetilación del ADN seguidos de remetilación. Este proceso permite establecer los patrones de metilación adecuados implicados en la inactivación del cromosoma X en las hembras, el silenciamiento de genes con impronta materna o paterna y el silenciamiento de genes tejido específicos.

Mapas epigenéticos

Hace prácticamente una década que el proyecto Genoma Humano nos desveló la secuencia de nuestro ADN. Nos enfrentamos ahora a la ardua tarea de entender su funcionalidad. Las tecnologías recientes como los chips de ADN o la ultrasecuenciación permiten abarcar todo el genoma y elaborar mapas globales precisos de las modificaciones epigenéticas. Teniendo en cuenta los numerosos residuos de los extremos de las colas de histonas que pueden ser modificados, sumado a la potencial presencia de ADN metilado y al hecho de que estas modificaciones son plásticas, modulables por factores externos y específicas para cada tipo celular, la elaboración e interpretación de estos mapas no es tarea fácil. Iniciativas como el proyecto ENCODE (Enciclopedia de Elementos del ADN) reúnen equipos de investigación de todo el mundo con el fin de integrar la información procedente de esos mapas e inferir la funcionalidad de los elementos del genoma.

Los mapas epigenéticos, además de aportar información básica sobre nuestro genoma, pueden ser valiosos para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Un ejemplo es el diagnóstico de cánceres de origen primario desconocido, en los que el paciente presenta tumores en diferentes órganos siendo difícil determinar cuál es el tumor de origen y cuáles corresponden a metástasis. Este tipo de cáncer tiene mal pronóstico debido a la imposibilidad de tratar el tumor principal. Cada tipo celular tiene un patrón de metilación del ADN muy particular que lo hace claramente distinguible de otros tipos celulares o tejidos. Aunque este patrón se altera con el cáncer, la mayoría de tumores metastáticos todavía conservan memoria del patrón del tejido de origen haciendo posible determinar con alta probabilidad el tejido u órgano que alberga el tumor principal (Fernández et al., 2012). En este caso, los patrones globales de metilación del ADN actúan a modo de código de barras que nos permite identificar la procedencia de las células tumorales. En otros casos, los mapas epigenéticos nos

pueden aportar información respecto a la plasticidad del genoma del paciente y la probabilidad de que responda al uso de un fármaco u otro, haciéndose así posible la medicina personalizada.

Escritores, borradores, lectores y efectores

Las modificaciones de histonas o del ADN por si solas raramente llevan a cambios estructurales importantes capaces de alterar el grado de empaquetamiento o compactación de la cromatina. Únicamente la acetilación de histonas introduce una carga positiva en el nucleosoma que causa cierta relajación de la cromatina. ¿Cuál es entonces el papel de estas modificaciones? ¿Qué función tiene este complejo código? Los residuos modificados pueden ser identificados por proteínas o complejos proteicos que son atraídos a ciertas zonas del genoma para realizar su función. En muchos casos estos complejos proteicos son capaces de alterar la compactación del ADN e incluso promover la movilización de las histonas para potenciar la compactación o la relajación de la cromatina.

En definitiva nos encontramos ante un código complejo que es escrito por las enzimas modificadoras de histonas o del ADN, que es susceptible de ser borrado por otras enzimas y que finalmente es leído por proteínas capaces de reconocer el código y de atraer complejos efectores capaces de compactar o relajar la cromatina (**Fig. 3**).

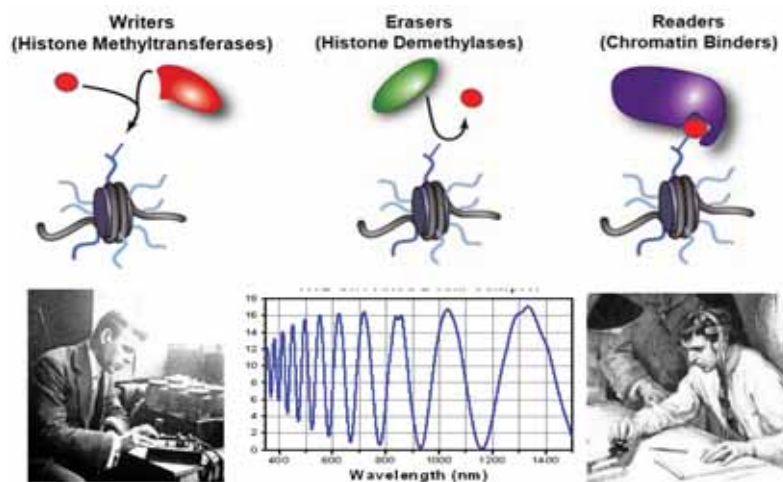


Figura 3. Interpretación del código epigenético. Las modificaciones son insertadas o borradas por los escritores o los borradores y el código es finalmente leído por los lectores. Los tres tipos de proteínas son susceptibles de ser inhibidas por moléculas sintéticas diseñadas con el fin de modular el epigenoma y tratar enfermedades. Adaptado de Constellation Pharmaceuticals <http://www.constellationpharma.com>.

Fármacos para modular el epigenoma

Conocer la estructura de las enzimas que catalizan las modificaciones de las histonas o el ADN, así como de las proteínas capaces de reconocer estas modificaciones, nos permite el diseño de moléculas sintéticas capaces de modular su actividad. En la actualidad se utilizan fármacos que inhiben la actividad de ciertas metiltransferasas de ADN (5-azacitidina) y deacetilasas de histona (ácido valproico) para el tratamiento del cáncer, en especial los que afectan al sistema sanguíneo. Estos fármacos potencian la reactivación de genes que han sido silenciados de manera aberrante, tales como los genes supresores de tumores.

De manera todavía experimental, y gracias a los avances en el conocimiento de la estructura de las proteínas, hoy en día es posible diseñar moléculas específicas que inhiben el reconocimiento de las histonas modificadas por los lectores. Un ejemplo es la molécula JQ1 capaz de inhibir los dominios BET (Bromodomain and Extra Terminal) que reconocen histonas acetiladas, y que se ha demostrado efectiva en el tratamiento de leucemias en animales de experimentación (Filippakopoulos et al., 2010). Si además las proteínas diana están presentes solo en ciertos tejidos, podemos limitar la acción de los fármacos específicamente a estos tejidos. Este es el caso del lector de histonas acetiladas BRDT (Bromodomain Testis-specific), que se expresa únicamente en testículo, y cuya inhibición mediante el uso de moléculas específicas previene la fertilidad en ratones de manera completa y reversible (Matzuk et al., 2012).

Perspectiva

La ciencia de la epigenética nos desvela que lo que somos no es solo el resultado de nuestros genes, sino que existe la posibilidad de modularlos. Los factores externos como la nutrición y nuestro estilo de vida pueden condicionar nuestro epigenoma y el de nuestra descendencia. Además, el estudio de los factores que lo regulan nos permite el diseño de fármacos específicos capaces de modularlo, y que se han demostrado útiles para el tratamiento del cáncer. Finalmente, la elaboración de mapas epigenéticos nos permitirá el avance hacia la medicina personalizada.

Bibliografía

- Fernández, A.F., et al. 2012. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. *Genome Research*. 22:407-419.
- Filippakopoulos, P. et al. 2010. Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature*. 468:1067-1073.

- Heintzman, N.D. et al. 2009. Histone modifications at human enhancers reflect global cell-type-specific gene expression. *Nature*. 459:108-112.
- Jenuwein, T. y Allis, C.D. 2001. Translating the histone code. *Science*. 293:1074-1080.
- Knezetic, J. A. y Luse, D. S. 1986. The presence of nucleosomes on a DNA-template prevents initiation by RNA polymerase-II. *In vitro Cell*. 45:95-104.
- Matzuk, M.M. et al. 2012. Small-molecule inhibition of BRDT for male contraception. *Cell*. 150:673-684.
- Qiu, J. 2006. Epigenetics: Unfinished symphony. *Nature*. 441:143-145.
- Tsukiyama, T. 2002. The in vivo functions of ATP-dependent chromatin-remodelling factors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 3:422-429.
- Weil, P.A., Luse, D.S., Segall, J. y Roeder, R.G. 1979. Selective and accurate initiation of transcription at the AD2 major late promoter in a soluble system dependent on purified RNA polymerase-II and DNA. *Cell*. 18:469-484.



La Dra. María José Barrero se licenció en Biología en la Universidad de Barcelona. Sus estudios han abarcado diversos aspectos de la expresión génica y en especial se han centrado en los mecanismos de regulación transcripcional mediada por receptores nucleares. Realizó su tesis doctoral en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona. Su trabajo, se centró en el estudio de la regulación de la expresión de genes implicados en el metabolismo de los ácidos grasos y la cetogénesis.

En el 2003 se incorporó al grupo de investigación del Dr. Robert G. Roeder en la Rockefeller University de Nueva York, donde disfrutó de una beca postdoctoral Fulbright para estudiar el papel de diversos coactivadores en la transcripción mediada por el receptor de hormona tiroidea. Seguidamente trabajó con el Dr. Sohail Malik y recibió una beca postdoctoral de la Rockefeller University Woman and Science.

En el 2007 la Dra. Barrero se incorporó al Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona como investigador Ramón y Cajal. Su investigación se centra en el papel de las enzimas modificadoras de histonas en la pluripotencia y la diferenciación de las células madre y en la reprogramación de células somáticas a pluripotencia.

PONIENDO EN CLARO

Producción de nuevas variedades de *Saintpaulia ionantha* mediante variación somaclonal

Julián Ignacio Mendoza Fernández¹, Miguel Ángel Muñoz Serrano², Iván Parra Izquierdo³, Sergio Villazala Merino⁴

Facultad de C. C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León. Alumnos de 3º curso de grado en Biotecnología (curso 2011-2012)

¹(imendjoo@estudiantes.unileon.es), ²(mmunos01@estudiantes.unileon.es),
³(iparrio0@estudiantes.unileon.es), ⁴(svillmo0@estudiantes.unileon.es)

En este artículo se presenta un proyecto que describe el proceso productivo completo para generar y comercializar nuevas variedades de violeta africana (*Saintpaulia ionantha*), sin utilizar transgénesis. Para ello, se utilizan distintas técnicas biotecnológicas, basadas generalmente en el cultivo *in vitro*. No obstante, existen otros métodos con los que se podría estudiar la obtención de nuevas variantes somaclonales, como son cultivo de haploides, fusión de protoplastos y utilización de agentes mutágenos. El método más usado en esta especie es el cultivo de callos en medio MS suplementado con benziladenina (BA) 0,5 μM , bajo una intensidad de luz de 35 $\mu\text{moles} / \text{m}^2 \text{s}$ y una temperatura de 25°C. Algunas de las variantes obtenidas podrían tener interés comercial. Sobre estas plantas se hace necesario testar si el cambio producido en la variante existe a nivel genético o epigenético (en este último caso no nos interesa) mediante el uso de marcadores moleculares como RFLP. Si el cambio se ha producido sobre la secuencia de ADN, se necesitará comprobar su adaptación a condiciones de campo y estabilizar su genotipo mediante sucesivas rondas de micropropagación por vía directa. Posteriormente se micropropagará masivamente y se elaborará un banco de germoplasma, con un estricto control fitosanitario, para poder satisfacer la demanda del mercado.

Palabras clave: Micropropagación, violeta africana, marcadores, variación somaclonal, cultivo *in vitro*

Introducción

La *Saintpaulia* o “violeta africana” es una de las plantas ornamentales más usadas y populares para interiores, principalmente por su capacidad para producir, casi en cualquier época del año, abundantes y coloridas flores. Es originaria de las zonas tropicales del África central. Posee carnosas hojas de color verde intenso y delicadas flores violáceas, bastante atractivas para la decoración. La especie más utilizada es en concreto la *Saintpaulia ionantha*.

Perteneciente a la familia de las Gesneriáceas (un género que comprende una docena de especies perennifolias), su tamaño no suele superar los 15 cm y se reproduce por semillas o por esquejes. De su tallo, poco perceptible, parten los pecíolos que portan hojas redondeadas y carnosas de color verde oscuro. Lo habitual es que sus flores aparezcan en verano, pero pueden tener más de una floración al año, que puede producirse en cualquier temporada. Entre cada floración hay un ciclo de descanso de unas seis semanas como mínimo.

Normalmente sus flores brotan en grupos de 6. El color más común es el violeta con estambres amarillos en el centro, aunque también hay blancas, rosas, rojas, azules e incluso de varios colores.

La temperatura de mantenimiento no debe bajar de los 18°C y requiere un riego constante en verano y muy moderado en invierno; pero siempre con agua templada. Es recomendable usar para su cultivo un sustrato no calcáreo a base de turba. Las flores son sensibles a algunos patógenos como el pulgón verde y algunas cochinillas y ácaros.

Las variedades que se encuentran actualmente en el mercado realmente ya guardan poco parecido con las que crecen de manera natural en la zona de Tanzania. Podemos ver algunos ejemplos en la **Fig. 1**.

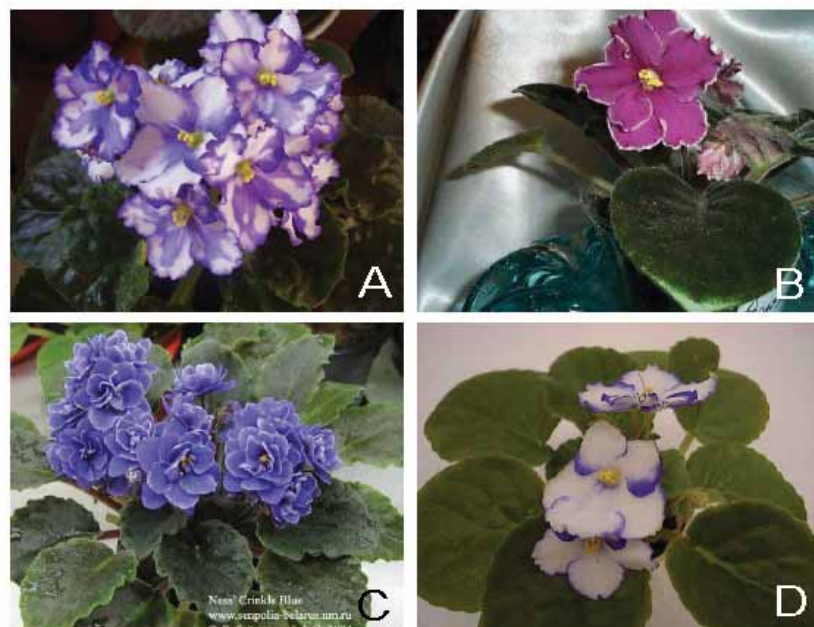


Figura 1. Imágenes de distintas variedades de violeta africana obtenidas mediante el uso de técnicas de transgénesis y variación somaclonal. A: Alwyn; B: Frosted Midnight; C: Ness' Crinkle Blue; D: chiko. Fuente: www.infojardin.com.

Nuestro proyecto consta de varios pasos que pueden resumirse en el esquema de la **Fig. 2**.

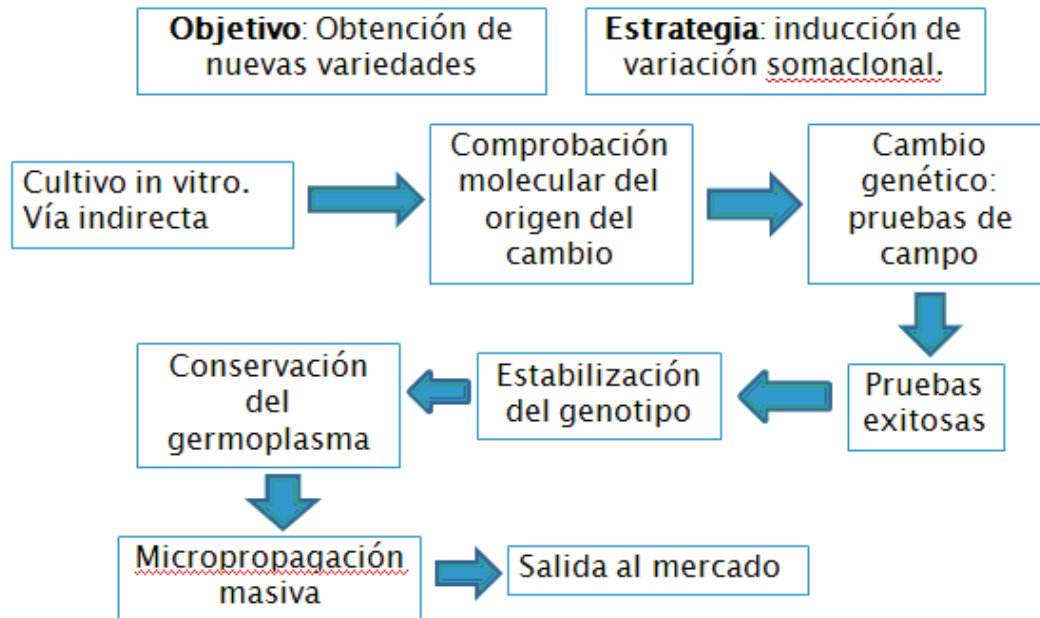


Figura 2. Esquema de los pasos de los que consta el proceso de obtención y cultivo de variedades de violeta africana.

En las instalaciones del vivero se dispone de todo el material necesario para aplicar cualquier estrategia biotecnológica destinada a la consecución de nuestro objetivo.

Variación somaclonal

La variación somaclonal se define como la variación genética o epigenética que se genera durante el cultivo in vitro de plantas que provengan de células somáticas. En programas de mejoramiento genético, puede ser un recurso importante que genera variabilidad y permite obtener características deseables.

Además de la tasa normal de variación, hay factores externos, propios del cultivo in vitro, que pueden inducir una acumulación de variaciones genéticas y epigenéticas, que se manifiestan en el fenotipo:

- Método de cultivo in vitro
- Edad del cultivo y subcultivos (aumenta con la edad del cultivo).
- La composición del medio de cultivo y el estado físico del medio de cultivo (líquido o sólido).

Para inducir variación somaclonal en nuestro proyecto valoramos dos

posibilidades: la primera consiste en el cultivo de explantos por vía indirecta, usando pétalos o meristemos, ya que muchos autores han comprobado que se genera una mayor variación. La otra posibilidad es proponer nuevas técnicas para obtener variantes, que no hayan sido descritas para *Saintpaulia ionantha*.

Cultivos definidos para inducir variación somaclonal en *Saintpaulia ionantha*

La obtención de callo permite obtener una mayor cantidad de ejemplares con variaciones (vía indirecta). El método estándar para generar callos en *Saintpaulia*, consiste en el cultivo de explantos en medio MS con BA 0,5 μM . Posteriormente estos explantos son subcultivados en el mismo medio en intervalos de 4-5 semanas. Algunos factores importantes a regular son la intensidad de luz, que debe estar en torno a 35 $\mu\text{moles} / \text{m}^2 \text{s}$, y temperatura (25 $^{\circ}\text{C}$) (Jain, 1992).

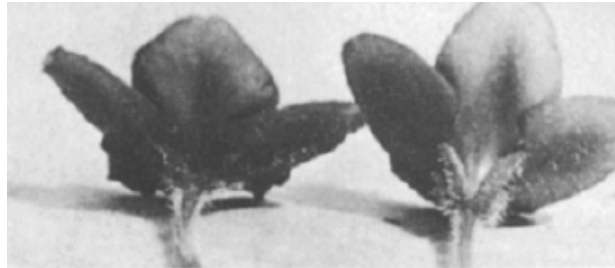


Figura 3. Ejemplo de la variación de la morfología de la flor en violeta africana tras aplicar variación somaclonal. Fuente: Jain, 1992.

Después se enraízan las plantas con medio MS suplementado con ácido naftalenacético (NAA) 0,6 μM , bajo una intensidad de luz de 4 $\mu\text{moles} / \text{m}^2 \text{s}$ y un fotoperiodo de 16 horas.

Los explantos regenerados se transfieren a bandejas de plástico y se mantienen con 100% de humedad en invernadero, disminuyendo luego la humedad al 70% (Jain, 1992). En este punto es en el que se detectan las variaciones somaclonales, y se seleccionan las más interesantes.

Utilizando explantos de pétalos y meristemos en estas condiciones se obtienen, sobretodo, diferencias en la morfología de la planta y de la flor, en el número de flores por planta, el tamaño de la flor, la altura de la planta y el tiempo de floración (Jain, 1992). Se podría probar el uso de otros explantos y observar la tasa de variación obtenida.

La presencia de BA en el medio de cultivo induce variación somaclonal, que también aumenta con el número de subcultivos antes de la regeneración. Pero un exceso en la concentración de BA o en los pases de subcultivo disminuye la estabilidad y calidad de las plantas.

Para obtener un mayor número de plantas y aumentar la probabilidad de encontrar variantes de interés se utilizará un homogenizador (Molgaard, 1991), que tiene la función de disgregar los callos, incrementando así el potencial de

micropropagación, al poder obtener una suspensión celular. El homogenizador (**Fig. 4**) se introduce acoplado a un motor en el frasco donde esté el callo en suspensión. Gracias al movimiento giratorio, las cuchillas que posee disgregan el callo.

Cultivo optimizado para obtener variaciones en el color de la flor

Recientemente se ha descrito que las variaciones en el color de las flores son debidas a la escisión de un transposón que se integra en la región promotora de la flavonoida 3', 5'- hidroxilasa, (enzima que se relaciona con la coloración de la flor). Para la modificación del color con este tipo de transposón, algunos autores definieron un nuevo medio de cultivo que favorece una mayor tasa de variación en cuanto al color de la flor: utilizaron unas condiciones de cultivo con una intensidad de luz de 140-200 $\mu\text{moles} / \text{m}^2\text{s}$ y una temperatura de 10-35°C, en medio MS con 1 ppm de NAA y 1 ppm de BA, con un 3% de sacarosa y un 0,3 % de gelatina. El pH fue aproximadamente de 5,8 -6,0. (Sato, 2011). Se utilizará este medio optimizado para el cambio de color de las flores.

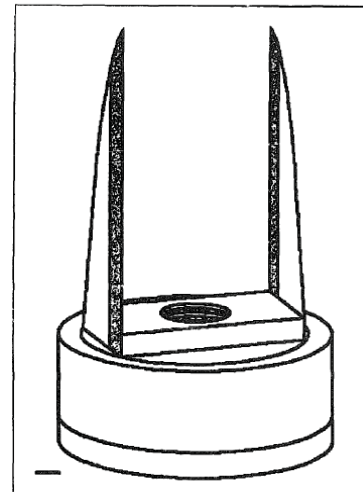


Figura 4. Homogenizador utilizado para disgregar callos. Fuente: Molgaard, 1991.

Otras técnicas

Existe la posibilidad de experimentar con otras técnicas que hasta ahora no han dado buenos resultados o no se han descrito en violeta africana.

Cultivo de haploides

El color de la flor de la violeta africana depende de 8 genes (I, S, W, Bd, Bw, P, R, A). Según la combinación génica se obtendrán flores de un color o de otro:

- I y S: inhiben la pigmentación si tienen un alelo dominante.
- W es necesario para la pigmentación y solo requiere un alelo dominante para que se exprese color.
- Bd, Bw y A influyen en la intensidad del color. Para una coloración de flor lila el genotipo sería, “ii-ss-W-P-R”; el genotipo “ii-ss-W-pp-R” codifica para flores de color rosa y si el genotipo es “ii-ss-W-P-rr” serán rojas.
- Un alelo inestable en el locus P da lugar a flores rosas con puntos lilas, a este tipo de fenotipo se le llamara fantasía (Griesbach, 1997). Podría resultar interesante la generación de haploides para conseguir una nueva coloración. Podría plantearse la obtención de diplohaploides.

Los haploides suelen presentar un tamaño reducido (**Fig. 5**), y por tanto esta estrategia puede ser ornamentalmente interesante; pero se obtiene muy poca cantidad de planta y no son muy vigorosas. Se podría llegar a utilizar esta técnica para obtener plantas en miniatura de la variedad deseada (1/3 del tamaño normal) (Smith et al., 1980).

Cultivo de protoplastos

Existen métodos para obtener planta, pero las plantas obtenidas no presentan variación somaclonal significativa con respecto al color y a la forma de la hoja. Se sabe que para obtener variación somaclonal los explantos más utilizados son los pétalos o los meristemos, por tanto se

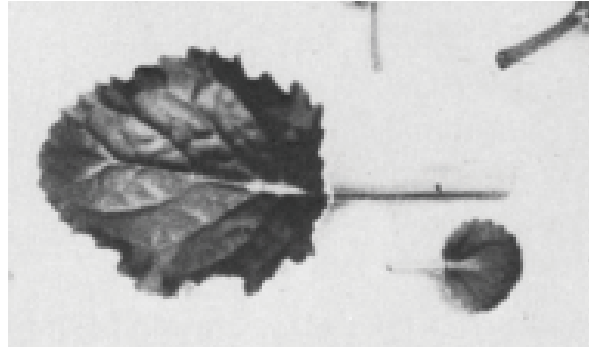


Figura 5. Imagen en la que se puede apreciar la diferencia de tamaño entre una hoja normal y una hoja obtenida por cultivo de haploides Fuente: Smith, 1980.

podrían realizar estudios para ver si con el cultivo de protoplastos a partir de estos explantos y variando las concentraciones de BA y NAA, se pueden obtener variantes somaclonales de interés (color de la flor, forma de la hoja, etc.) (Hoshino et al., 1994; Winkelmann y Grunewalt, 1995).

Agentes mutágenos

La cafeína o la colchicina son agentes que adicionados al cultivo *in vitro* producen variantes somaclonales.

- La colchicina genera aneuploidías y poliploidías en prácticamente todas las especies vegetales. La colchicina es un agente fusógeno, se une a los microtúbulos del huso mitótico impidiendo que se separen los cromosomas durante la mitosis. Las plantas que se obtendrían serían poliploides y estas suelen presentar una coloración de la flor oscura (Espino, 1979).
- La cafeína, que es un alcaloide, también funciona como agente mutágeno generando gran cantidad de plantas quimeras, pero no aneuploidías ni poliploidías (Espino y Vázquez, 1979).

Existen otros tratamientos con agentes mutágenos con los cuales se podrían realizar experimentos para obtener variantes de interés (Bairu et al., 2010). Se usarán métodos químicos y físicos (Rayos X y Gamma). Respecto a los rayos X, con un primer tratamiento más suave se genera resistencia, que servirá de protección para un tratamiento posterior más intenso. Produce muerte celu-

lar al igual que los rayos gamma.

A continuación se muestra una tabla con diferentes agentes químicos que pueden generar mutaciones, y por tanto, constituyen una posible vía de obtención de variación somaclonal.

Tabla 1. Resumen de los distintos agentes mutágenos químicos que podrían ser usados en el estudio

Agentes mutagenizantes	
Efecto auxínico	2,4-D (ácido 2,4-diclorofenilacético); NAA (ácido naftalenacético); IAA (ácido indolacético); 2,4,5-T (ácido 2,4,5 triclorofenoxiacético)
Efecto citoquinínico	BA (benciladenina); Kinetina; 2,3 MDPU (N,N'-bis-2,3-metilenodioxifenilurea); 4- CPPU N-(2-Cloro-4-piridil-N-fenilurea); TDZ (tidiazuron)
Efecto giberélnico	Ácido giberélico
Agentes físicos	Rayos X; Rayos Gamma
Otros compuestos químicos	Azaciditina; Nitrosometilurea; Etil-metilsulfonato; Trifluralina; Azida sódica.

No todos estos agentes se han usado para obtener variantes en violeta africana, pero sí en otras especies vegetales. Se pueden utilizar para realizar pruebas y cultivar explantos en medios de cultivo con estos compuestos, obteniendo variantes de interés.

Marcadores moleculares

Como ya se ha indicado, se conoce la mayor parte de los genes que codifican para el tamaño, forma y color de las flores. Se pueden obtener las secuencias de estos genes en los progenitores y en las nuevas variedades obtenidas y comprobar su grado de coincidencia (si son iguales el cambio será epigenético, y no interesa, **Fig. 6**). Con los marcadores moleculares podremos detectar la presencia o no de esas variaciones de forma rápida. Normalmente se admite que la variación no es epigenética cuando tras el paso de 4 generaciones no se ha perdido esa variación, pero nuestros intereses hacen más recomendable

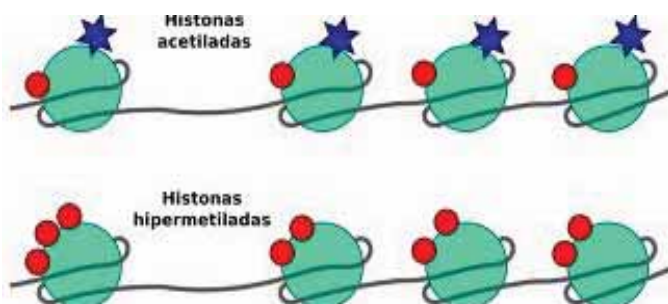


Figura 6. Los cambios epigenéticos pueden ser debidos a acetilaciones y metilaciones en las histonas. Fuente: <http://quimicosonador.wordpress.com>.

el uso de otras técnicas que nos permitan saberlo rápidamente.

Los marcadores del ADN se basan fundamentalmente en el análisis de las diferencias en pequeñas secuencias del ADN entre individuos. Las técnicas empleadas para ello son muy diversas y dan el nombre a los distintos tipos de marcadores, los cuales pueden ser de carácter dominante o codominante. Ejemplos de marcadores utilizados normalmente en plantas (explicaremos los más usados para nuestro objetivo) son:

- Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP).
- Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD).
- Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP).
- Microsatélites o Secuencias simples repetidas (SSR).

RFLP

Es un marcador basado en la hibridación de ADN.

Los RFLPs (**Fig. 7**) son polimorfismos entre individuos dados por el tamaño de los fragmentos que son cortados por enzimas de restricción. Los fragmentos de ADN son separados según su movilidad electroforética y luego se hibridan con sondas específicas marcadas. Son altamente reproducibles pero requieren cantidades altas de ADN.

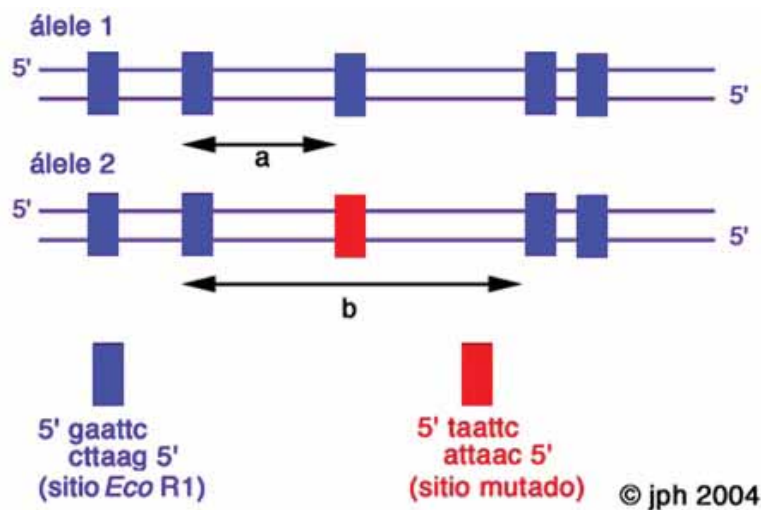


Figura 7. Esquema de un RFLP, donde se observan los diferentes sitios de corte entre dos secuencias de ADN. Fuente: Jean-Pierre Herveg (Université de Louvain), genemol.org/biomolespa/Enzimas/enzimas-de-restricc.html.

RAPD

La RAPD consiste en la amplificación de secuencias de ADN con un cebador de 10 pb aleatorias que hibrida con el DNA (**Fig. 8**). Posteriormente se visualizan en un gel de agarosa. Las diferencias en el patrón de bandas entre individuos evidencian diferencias en su secuencia de bases.

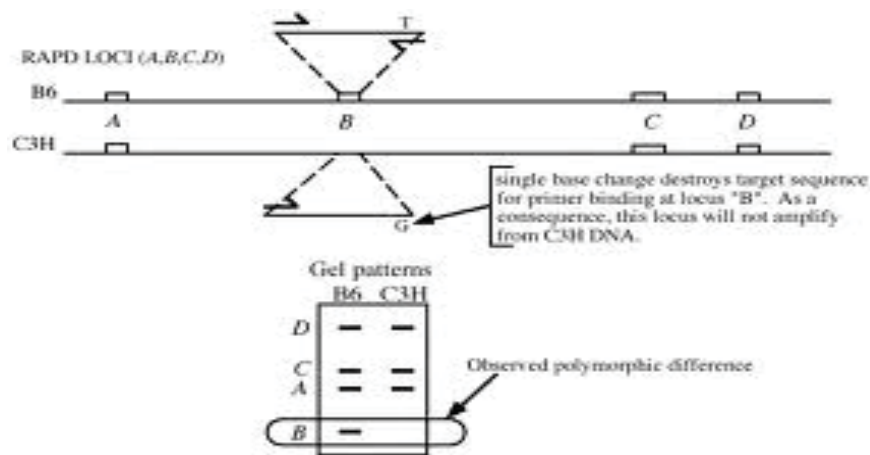


Figura 8. Esquema de un RAPD. Se observan las diferencias en el patrón de bandas de las dos secuencias de ADN comparadas. Fuente: <http://www.informatics.jax.org/silver/figures/figure8-9.shtml>.

Micropropagación del genotipo deseado

Pruebas de campo y conservación de germoplasma

Tras las pruebas con marcadores se deben realizar pruebas de campo, es decir, se ha de someter a esas variantes somaclonales de interés a condiciones ex-vitro similares a las que se encontrarán al ser comercializadas (cultivo en macetas). Se ha de analizar la expresión génica en estas condiciones, y ver que se expresa de manera correcta.

También se hace necesario conservar este genotipo de interés, una vez ha superado las primeras pruebas de campo. Se conservará en bancos de germoplasma. Para la especie *Saintpaulia ionantha* se han descrito distintos métodos de conservación de germoplasma basados en la crioconservación. Los más usados para crioconservar stocks de plantas de *Saintpaulia ionantha* son los tratamientos de encapsulación-vitrificación, encapsulación-deshidratación y vitrificación. En estos tratamientos se embebe el explanto en una solución con agentes crioprotectores, previa deshidratación en algunos casos, como son el DMSO, glicerol o la sacarosa, que producen una progresiva pérdida de agua en el explanto sin que pierda viabilidad. Se puede conservar germoplasma proveniente de distintos explantos vegetales, pero lo más recomendable es conservar germo-

plasma mediante crioconservación tomando ápices caulinares, ya que se obtienen los mejores resultados de viabilidad tras la descongelación. En este caso los mejores resultados de conservación de germoplasma y viabilidad de los explantos se obtienen con soluciones de deshidratación (DMSO 10% y sacarosa 0,5 M, o DMSO 5% y sacarosa 0,75 M) seguido de un tratamiento con solución PVS2 (etilenglicol, glicerol y DMSO) (Moges et al, 2003).

En el caso de no ser viable el método anteriormente descrito, económicamente hablando, podría plantearse el uso de agentes retardantes del crecimiento con el fin de mantener el stock de las variantes obtenidas. Se pueden mantener ápices caulinares durante 12 semanas, cultivados en medios con sacarosa 0,18 M, o manitol o sorbitol 0,16 M durante 16 horas de oscuridad y 8 de luz (Moges et al 2003).

Estabilización de la variante somaclonal seleccionada

Una vez comprobada la expresión genética correcta se procede a micropropagar esa variante somaclonal para poder comercializarla, pero primero es necesario estabilizar el genotipo. Hay que evitar que aparezcan mutaciones en el cultivo. A continuación se analiza que técnica de micropropagación es más adecuada.

En cuanto a la micropropagación de *Saintpaulia inoantha* a partir de células de callo está descartada. En este caso se obtienen unas altas tasas de variación somaclonal debido a las continuas divisiones de las células desdiferenciadas, que forman el callo (Echenique et al, 2004).

Se podría optar por micropropagar a partir de tejidos meristemáticos como son los segmentos nodales o las yemas axilares y apicales. En este método el poder de micropropagación está limitado, ya que han de obtenerse los tejidos meristemáticos de la planta madre, y estos no son demasiado numerosos. Por otro lado, este método de micropropagación muestra buenas tasas de regeneración de planta para *Saintpaulia inoantha* especialmente usando segmentos nodales como explanto, y además la tasa de variación somaclonal es bastante reducida (Pierik, 1991). De todas maneras, este modo de micropropagación no es el más idóneo para conseguir una gran cantidad de planta.

En el caso de optar por la micropropagación directa partir de explantos de hojas o pétalos de *Saintpaulia inoantha* se ha observado cierta variación en el número de flores por plantas, morfología de la flor y periodo de floración, pero no así en cuanto a la coloración de las flores (Jain et al, 1998). En este caso el poder de micropropagación es mucho mayor que partiendo de explantos de tejido meristemático. La micropropagación por vía directa nos da la posibilidad de

inducir sobre el explanto un proceso organogénico o embriogénico, aunque en ambos casos se puede producir cierta variación somaclonal. Se ha comprobado que la micropropagación de explantos de hojas en medio de cultivo MS suplementado con BA (0,22 ó 0,5 μM) produce una alta tasa de formación de tallos. Asimismo tras tres ciclos de cultivo en estas condiciones se observa cómo se estabiliza el número de flores por planta y la coloración de la flor (nunca varía, probablemente debido a la citoquinina usada), pero no así el período de floración o la morfología de las hojas y las flores (Jain, 1997). Si se continúan realizando ciclos de micropropagación a través de la toma de explantos foliares y una posterior inducción de la formación de tallos, se consigue estabilizar el genotipo deseado y que desaparezcan las variantes somaclonales, debidas probablemente a variaciones epigenéticas (Jain, 1993).

Micropropagación a gran escala de la variante somaclonal obtenida

En este punto, con el genotipo de interés ya completamente estabilizado se hace necesario realizar de nuevo pruebas de campo. Se testará de nuevo y durante varias generaciones la estabilidad genética, que se había observado ya en condiciones *in vitro*, y la heredabilidad de estos caracteres. Tras superar estas pruebas es necesario conservar dicha variante en un banco de germoplasma, siguiendo el protocolo ya descrito. Se tendrá el genotipo deseado ya estabilizado y listo para micropropagarse en grandes cantidades y comercializarse.

Para la producción del genotipo estabilizado en grandes cantidades se seguirá el mismo protocolo que se señaló con anterioridad, micropropagación por vía directa, debido a su baja tasa de variación y a su alta tasa de producción de vitroplantas. Se inducirá la formación de tallos a partir de explantos foliares, que luego se someten a un tratamiento con auxinas para que se produzca su enraizamiento.



Figura 9. La imagen de la izquierda muestra un ejemplar de *Saintpaulia ionantha* cultivada *in vitro*. La imagen de la derecha muestra la planta madre de la que se tomarán los explantos. Fuente: <http://www.invitrocarnivoras.4t.com>.

Las vitroplantas producidas han de aclimatarse a las condiciones ex-vitro, para lo que se hará necesario disponer de un invernadero de aclimatación. En todo este proceso es muy importante el control fitosanitario de distintas plagas que afectan a *Saintpaulia ionantha*, como son distintos hongos (*Oidium*, *Phytium* o *Phytophthora*), nematodos, bacterias (*Erwinia chrysantemi*) e insectos; que pueden afectar a todo el stock de vitroplantas y causar importantes pérdidas económicas. Se hace necesario un control diario de las vitroplantas, poniendo en cuarentena las sospechosas de estar enfermas. Ha de cuidarse el sistema de riego, para evitar una posible infección fúngica. Las plantas no han de estar demasiado próximas entre sí, evitando así la transmisión de enfermedades. Ha de controlarse también la aparición de algunas vitroplantas sin las características deseadas por mutaciones en el cultivo, que reducen la productividad del proceso.

En conclusión, la variación somaclonal se revela como un método eficaz y factible para poder obtener nuevas variedades de *Saintpaulia ionantha*, y en ningún caso se recurre a la transgénesis, sino que se induce un proceso morfogénico o embriogénico en el explanto. Se ha conseguido diseñar un proceso productivo basado en la micropropagación in vitro, que nos permitirá sacar al mercado nuevas variedades de violeta africana, obteniéndose un beneficio económico.

Bibliografía

- Asmara, D.M., Rida, A.S. y Nabila, S.K. 2004. Cryopreservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) shoot tips. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 40:389-395.
- Bairu, M.W., Aremu, A.O. y Van Staden, J. 2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regulation*, 63:147-173.
- Echenique V., Rubinstein C., Mroginski, L, Levitus, G. y Hopp, E. 2004. Parte III, Métodos para generar variabilidad. Biotecnología y mejoramiento vegetal. Editorial INTA (Instituto nacional de tecnologías agropecuarias, Argentina). Páginas 81-96.
- Espino, F.J. y Vázquez, A.M. 1979. Chromosome numbers of *Saintpaulia ionantha* plantlets regenerated from leaves cultured in vitro with caffeine and colchicine. *Euphytica*. 30:847-853.
- Griesbach, R. J. 1997. Flavonoids in *Saintpaulia ionantha* expressing the fantasy mutation. *Phytochemistry*. 48:829-830.
- Moges, A. D., Karam, N. S., Shibli, R. A. 2003. Slow growth in vitro preservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). *Advances in Horticulture*

- Science*. 2033: 223-230.
- Jain, S.M. 1993. Somaclonal variation in *Begonia x elatior* and *Saintpaulia ionantha* L. *Scientia Horticulturae*. 54:221-231.
- Jain, S.M. 1997. Micropropagation of selected somaclones of *Begonia* and *Saintpaulia*. *Journal of biosciences*. 22:585-592.
- Jain, S.M., Brar, D.S. y Ahloowalia, B.S. 1998. Sección I, capítulo 2, Somaclonal variation: mechanism and applications in crop. Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement. Kluwer Academic Publishers. Reino Unido. Pp. 15-37.
- Molgaard, J.P., Roulund, N., Deichmann, V., Irgens-Moller, L., Andersen, S.B. y Fareslveit, B. 1991. In vitro multiplication of *Saintpaulia ionantha* Wendl. by homogenization of tissue cultures. *Scientia Horticulturae*. 48: 285-292.
- Pierik, R.L.M. 1991. Micropropagation of ornamental plants. *Acta Horticulturae* (ISHS). 289: 45-54.
- Sato, M., Kawabe, T., Hosokawa, M., Tatsuzawa, F. y Doi, M. 2011. Tissue culture-induced flower-color changes in *Saintpaulia* caused by excision of the transposon inserted in the flavonoid 3', 5' hydroxylase (F3050H) promoter. *Plant Cell Reports*. 30:929-939.
- Smith, R.H., Kamp, M. y Davies, R.S. 1980. Reduced plant size of haploid african violets. *In vitro*. 17:385-387.
- Winkelmann, T., Grunewaldt, J. 1995. Analysis of protoplast-derived plants of *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. *Plant Breeding*. 114:346-350.
- Hoshino, Y., Nakano, M., Mii, M. 1995. Plant regeneration from cell suspension-derived protoplasts of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *Plant Cell Reports*. 14:341-344.
- <http://extension.psu.edu/plant-disease-factsheets/all-factsheets/spanish/enfermedades-de-la-violeta-africana> (acceso 23/4/2012)
- <http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?p=2094341> (acceso 24/4/2012)

Migraciones humanas por causas ambientales: secuelas del cambio global antropogénico

Leticia Doormann

Master en Riesgos Naturales (2011-12). Facultad de C.C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León

leticia.doormann@gmail.com

En los últimos 100 años, los seres humanos han transformado los ecosistemas, reservorios y dinámicas naturales, de manera más rápida y extensa que en ningún período de tiempo comparable en la historia humana, induciendo además profundos impactos negativos sobre las comunidades afectadas. Sin embargo, a pesar de que muchas respuestas biofísicas a estos cambios se encuentran modelizadas, la respuesta humana es aún incierta.

En este contexto, el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) resaltaba en 1990 que la migración humana podría ser la consecuencia más grave del cambio climático. Hoy, ya muchos investigadores se han atrevido y se atreven a realizar predicciones sobre el número actual y futuro de desplazados por causas ambientales, y cuáles son y serán los socio-ecosistemas más propensos y vulnerables a ser afectados.

En un mar de incertidumbres y desacuerdos políticos, el presente artículo pretende explorar las relaciones existentes entre los desplazamientos y migraciones humanas contemporáneas, y los riesgos naturales asociados al cambio global antropogénico como respuesta al mismo. Dicha exploración se encuentra sustentada en la realización de una revisión y análisis bibliográfico, de modo descriptivo, analítico y prospectivo.

Palabras clave: migraciones ambientales, refugiados ambientales, desplazados ambientales, cambio global, antropoceno, justicia ambiental.

Introducción

Se ha denominado Antropoceno al período geológico iniciado hace 100 años, en el cual el humano es la fuerza de control de los procesos biofísicos (Crutzen y Stoermer, 2000). En éste, se han transformado los ecosistemas, reservorios y dinámicas naturales de manera más rápida y extensa que en ningún período de tiempo comparable en la historia humana. Como resultado, se configuran hoy nuevos escenarios para los socio-ecosistemas mundiales, cuyas respuestas biofísicas han sido modelizadas, pero en los que la respuesta humana es aún una incógnita.

En este contexto, en 1990 el IPCC observaba que la migración humana podría ser la consecuencia más grave del cambio climático. Así, a pesar de contar con cifras aproximadas, en 1993, Myers calculaba la existencia de 25 millones de personas que habían debido refugiarse en otro sitio o estaban en condición de

hacerlo por factores fundamentalmente ambientales; resaltando la desertificación, las inundaciones y los fenómenos meteorológicos extremos, como los principales inductores del movimiento.

Por tal motivo, el presente artículo pretende explorar las relaciones existentes entre los desplazamientos y migraciones humanas contemporáneas, y los riesgos naturales asociados al cambio global antropogénico como respuesta al mismo.

El cambio global

Dado que los cambios en el ambiente, son tanto un proceso espacial como social, solo con un conocimiento estructural de éste, dentro de un más amplio contexto político y cultural, se podría comenzar a comprender el papel que desempeña como factor en el movimiento de poblaciones (Lonergan, 1998).

El modelo de apropiación industrial de la naturaleza, iniciado a principios del siglo XX y profundizado luego en la Segunda Guerra Mundial, ha modificado los ecosistemas terrestres y las dinámicas naturales a escala planetaria, llevando una serie de transformaciones que han establecido una nueva lógica dominante en las relaciones hombre-naturaleza a escala global. Esto se encuentra reflejado tanto en los ecosistemas confinados geográficamente, que han modificado su extensión y dinámica de funcionamiento, como también en los grandes compartimentos ambientales (atmósfera, océanos, suelos, masas forestales, etc.) cuyos flujos de energía y materia determinan el funcionamiento del planeta (Duarte et al., 2006).

Las macro consecuencias ambientales de dicho modelo pueden definirse bajo el concepto de cambio global (Duarte et al., 2006). El mismo se refiere al impacto de la actividad humana sobre los mecanismos fundamentales del funcionamiento de la biosfera, incluidos los impactos sobre el clima, los ciclos del agua y elementos fundamentales, la transformación del territorio, la pérdida de biodiversidad y la introducción de nuevas sustancias químicas en la naturaleza; y posee dos características que lo hacen único en la historia del planeta: la rapidez con la que este cambio está teniendo lugar, en espacios de tiempo tan cortos para la evolución del planeta como décadas; y el hecho de que una única especie, el *Homo sapiens*, sea el motor de todos estos cambios.

De modo genérico, a finales del siglo XIX la sociedad mundial consumía casi cien mil veces la energía consumida por los seres humanos a principios del neolítico, y durante el siglo XX se ha utilizado más energía que en toda la historia anterior de la humanidad (McNeill, 2003). Esto se debe tanto al aumento de la

población mundial, como al modelo socio-económico del último siglo, su magnitud e intensidad en los ritmos de extracción y cambio. Desde 1960 el consumo de petróleo se multiplicó por 10 (Banco Mundial, 2010), se ha convertido más superficie en tierra laborable desde 1945 que en los siglos XVIII y XIX juntos (MA, 2005); desde 1992, la producción de plásticos aumentó un 130% (UNEP, 2011); y se utilizan hoy cien mil productos sintéticos antes desconocidos para la biosfera (Schwarzenbach, 2003).

Es innegable que todas estas transformaciones han contribuido a mejorar la calidad de vida de muchas personas, pero es también cada vez más evidente que han debilitado la capacidad de los sistemas naturales para brindar servicios esenciales para nuestro bienestar, introduciendo además profundas desigualdades ecológico-distributivas entre las distintas regiones del planeta (Martínez Alier, 2005). Por ejemplo, por un lado la población de países industrializados consume en promedio el doble de granos, el doble de pescado, tres veces más carne, nueve veces más papel y once veces más gasolina que la población de países en vías de industrialización (Steffen, 2004); y, por el otro, a pesar del aumento general en la producción de alimentos (un 45% desde 1992) (FAO, 2010), todavía 852 millones de personas se encuentran subalimentadas, número superior a los 823 millones que había en 1990 (FAO, 2006).

La agricultura, la urbanización y las actividades comerciales han transformado sustancialmente entre un 30% y un 50% de la superficie terrestre del planeta (WRI, 2002), y actualmente el 83% de la superficie terrestre se encuentra influenciada de manera directa por la actividad humana (WCS, 2002). El Informe de Ecosistemas del Milenio (MA) ha concluido que aproximadamente el 60%-15 de los 24 servicios ecosistémicos evaluados- se encuentran degradados o están siendo utilizados de modo insostenible. El ritmo de desaparición de especies se calcula entre 100 y 1000 veces más rápido que su velocidad natural, de manera que solo entre 1970 y 2005 la biodiversidad de vertebrados ha caído en un 31% (SCDB, 2010). La pérdida anual de hábitat se calcula en 0,5% en bosques tropicales, entre un 4 y 9% en los arrecifes de coral y entre 1 y 2% en bosques y marismas de manglar (Duarte et al., 2006). En otra esfera, el IPCC estima que la temperatura promedio global aumentó en casi 0,8°C en los últimos 100 años, al igual que el nivel del mar, que lo hizo a una tasa de 1,8 mm anuales entre 1961 y 2003. Por su parte el número de desastres naturales ha aumentado en un promedio de 50 eventos en los años 1950, a 400 en la década del 2000 (CRED, 2011).

En este contexto, la degradación del ambiente ya afecta anualmente a unos 235 millones de personas y se estima que esa suma ascienda a 310 millones

por año para el año 2030 (OMS, 2004). Para ese mismo año, 660 millones de personas también serían gravemente afectadas por los desastres naturales causados por la degradación ambiental (GHF, 2009). Actualmente, el total anual de muertes por la degradación del ambiente asciende a 300.000 personas por año y es de esperar que el número suba a 470.000 para el 2030 (OMS, 2004).

Se estima que dos mil millones de personas habitan en áreas especialmente vulnerables a la degradación ambiental (MA, 2005), mientras que cerca de 2,8 mil millones de personas viven en áreas propensas a más de una manifestación física del cambio climático (GHF, 2009), y 4 mil millones de personas son vulnerables socio-ambientalmente al mismo cambio (el 60% de la población mundial) (Maplecroft, 2012).

Actualmente, los desastres naturales afectan a 210 millones de personas anualmente (Red Cross, 2010) y su número ha aumentado entre 50 y 60 mil afectados por década desde 1970 (FIC, 2008). Siendo que el 90% de los desastres se encuentran relacionados con el agua (Unesco, 2006), 600 millones de personas habitan en áreas costeras con menos de 10 msnm (Balk et al., 2008) y 160 millones de personas viven en zonas costeras propensas a inundaciones (Nicholls, 2004). Sin embargo, la mayor amenaza para el bienestar humano se encuentra relacionado con las sequías, ya que en los últimos 30 años se duplicó el número de personas afectadas por sequías en comparación con los afectados por tormentas (1600 millones de personas, frente a 718 millones) (OIM, 2010). Mientras que las áreas muy secas se han duplicado desde 1970 (IPCC, 2007), actualmente 1300 millones de personas ya se encuentran expuestas a estrés hídrico (GHF, 2009), y se espera que entre 70 y 250 millones de personas se encuentra expuestos a aumentarlo hacia el 2020 (IPCC, 2007).

Dada la disminución y carencia de un soporte biofísico para el sustento de la vida, el aumento de los fenómenos naturales asociados a muertes, hambrunas y enfermedades, y el incremento de manifestaciones ya asociadas a la caída de civilizaciones pasadas (ver Diamond, 2005), es conveniente preguntarnos si el desplazamiento ha sido, es y será una respuesta y una consecuencia al cambio global (**Fig. 1**).

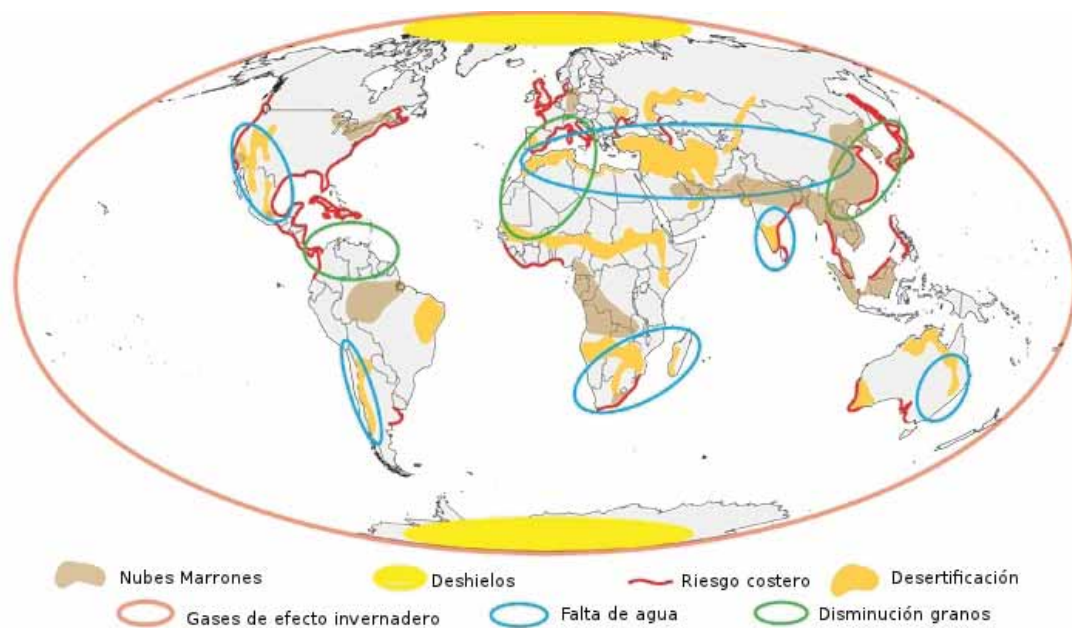


Figura 1. Daños y riesgos asociados al cambio global (Modificado de Vogel, 2010).

Migrantes, desplazados y refugiados por causas ambientales

Existen hoy 214 millones de migrantes internacionales, representando hace 50 años el 3% de la población mundial; los migrantes internos suman 740 millones de personas, es decir, 4 veces la cantidad de los que se desplazan hacia otro país (PNUD, 2009). Hacia finales de 2010, 43,7 millones de personas se encontraban forzosamente desplazadas, la cifra más alta de los últimos 15 años. De éstas, 15,4 millones eran refugiados y 27,5 millones se trataban de desplazados internos (ACNUR, 2011; IDMC, 2011).

El movimiento humano multicausal ha sido un fenómeno omnipresente en la historia y se encuentra en casi todas las comunidades de las cuales hay datos históricos o arqueológicos. Sin embargo, las grandes manifestaciones del cambio global, el grado de amenaza actual y la escala de la posible problemática, sobrepasan cualquier revisión histórica, tanto por la velocidad del cambio, como por la envergadura y cantidad de gente que resultaría afectada (Brown, O., 2008).

Aunque no exista aún un consenso, un marco legal preciso ni una institucionalización formal sobre la problemática, se podría definir al migrante, desplazado o refugiado ambiental como toda persona en necesidad de migrar, desplazarse o refugiarse, de manera temporal o permanente, cruzando o sin cruzar una frontera política y por factores impulsores asociados principalmente con el medio ambiente, su degradación, la pérdida en la provisión de bienes y servicios ecosistémicos, los desastres naturales o cualquier otra amenaza de índole

ambiental que no permita la supervivencia y/o afecte sustancial y negativamente al bienestar humano y social.

Mientras que Jacobson (1988) indicaba que en la década de 1980 había 10 millones de refugiados por causas ambientales en todo el mundo, El-Hinnawi (1985) estimaba que estos eran 30 millones y alertaba que el número se incrementaría con el deterioro de las condiciones ambientales y económicas. A mediados de 1990, Myers (1993), estimaba que los refugiados ambientales sumaban 25 millones de personas, superando a los 17 millones de refugiados reconocidos de aquel momento, siendo África subsahariana, con 7 millones de refugiados, la región más afectada. Consideraba, además, que la cifra era “cauta y conservativa”, ya que en el mundo más pobre, 135 millones de personas estaban amenazadas por la desertización de sus tierras y 550 millones sufrían carencia crónica de agua (Myers, 1993).

Para el año 2010, Myers (2001) calculaba la existencia de 50 millones de refugiados ambientales, considerando que el número de afectados por carencia crónica de agua era de 1000 millones de personas y que la desertización afectaba a otras 235 millones de personas. Estimaba también que para el 2050 la suma sería de entre 150 y 200 millones de personas, es decir, aproximadamente el 2% de la población mundial estimada para ese año (Myers, 2001). El UNU-EHS y la Universidad de Columbia también han ratificado la suma de 50 millones de refugiados ambientales para el año 2010, y estiman otra de 700 millones para el 2050, al considerar que la subida del nivel del mar podría amenazar la existencia directa de 40 países (UC-UNU-EHS, 2009). El Alto Comisionado de las Naciones Unidas para los Refugiados (ACNUR), ha estimado que para el 2050 los afectados serían entre 200 y 250 millones de personas, y la Cruz Roja, además de estimar 150 millones de afectados para ese año, afirma que actualmente el 10% de los movimientos están influenciados, en mayor o menor grado, por factores ambientales (Castillo, 2011).

Sin embargo, a pesar de las aproximaciones y estimaciones, la necesidad de refugio, los desplazamientos y las migraciones, y sus nexos con el cambio global, son asuntos multidimensionales y complejos (Boano, 2008). Por lo tanto, es difícil establecer una linealidad en las relaciones existentes, ya que se rigen por dinámicas de difícil predicción y se encuentran influenciadas por una gran cantidad de factores sociales, políticos y ambientales que le dan forma, donde la degradación de una faceta puede causar la de otra, y dando como resultado círculos de degradaciones cada vez mayores en los que puede resultar difícil identificar un origen preciso.

De este modo, a pesar de contarse con estudios que reflejan la repetición de algunos factores inductores (tales como la desertización, pérdida de suelo, falta de agua, pérdida de soporte ecosistémico, desastres naturales, entre otros), el análisis de las causas de desplazamiento y migración por impulsores ambientales no es simple, y requiere ser abordado de manera compleja, dieléctrica y dinámica (Döös, 1997). Esto se debe a que tanto la degradación del ambiente, como las otras manifestaciones del cambio global, juegan un rol fundamental al afectar el bienestar humano, y porque las circunstancias socio económicas y políticas interaccionan con las ambientales condicionando conjuntamente la forma y la calidad de vida (Castillo, 2011).

Pese a las dificultades para establecer un marco conceptual y una técnica precisa para abordar la problemática, y considerando además que este tipo de migrantes es prácticamente invisible dentro del sistema internacional, algunos estudios han podido estimar cualitativamente las zonas donde las consecuencias del cambio global antropogénico tienen y tendrán mayor incidencia. Esto, analizado de modo conjunto con la vulnerabilidad propia de las poblaciones, ha permitido deducir las áreas más propensas para la existencia, la aparición y el aumento de desplazados ambientales.

Por ejemplo, el estudio “Climate Change as a Security Risk” ha analizado las regiones de presencia de estresores ambientales que pueden inducir la migración, definiéndolas como “hotposts” (GAC, 2007) y concluye que estas son:

- el norte de África,
- la Región del Sahel,
- el sur de África,
- Asia central,
- India, Pakistan y Bangladesh,
- China,
- el Caribe y Golfo de México,
- la región de los Andes y la Amazonia,

Myers (2001) señala otras regiones que también se encuentran en riesgo: Indonesia, Tailandia, Mozambique, Gambia, Senegal y Surinam, e identifica los estados insulares con mayor peligro: Maldivas, Kiribati, Tuvalu, Islas Marshall y otros del Caribe. El estudio “In search of shelter” (2009) también concluye que los grandes deltas son zonas de alto riesgo (el Ganges, Mekong y el Nilo), junto con los estados insulares y las áreas secas de América central y oeste de África.

La **Figura 2** ilustra los “hotspots” definidos por el German Advisory Council on Global Change (2007).

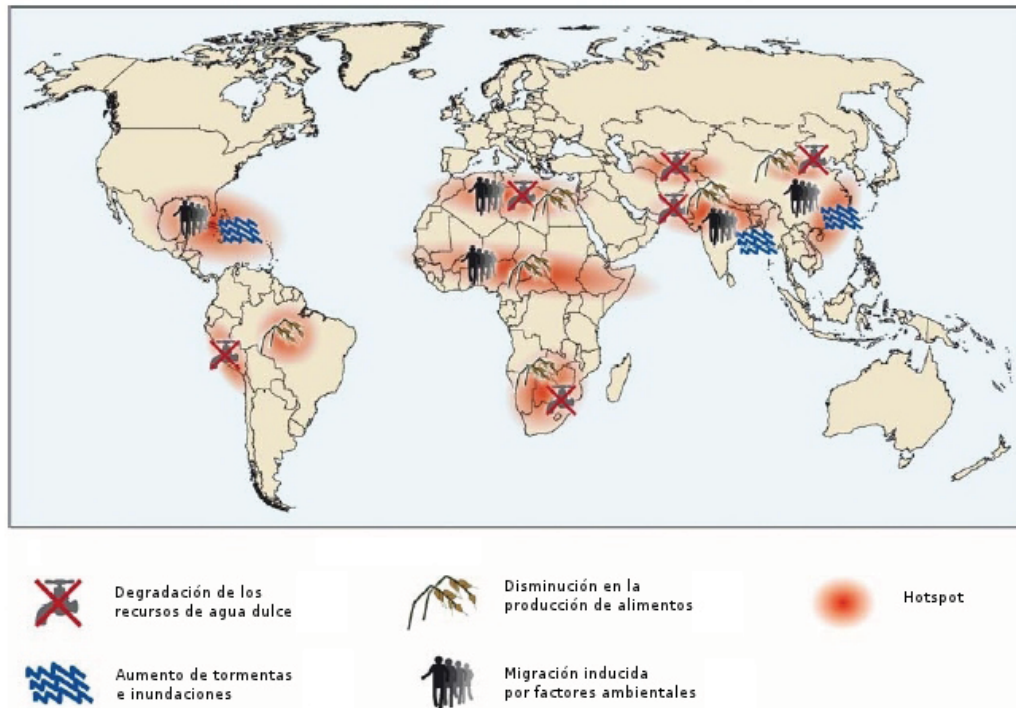


Figura 2. Migración inducida por estresores ambientales. (Modificado de *Climate Change as a Security Risk*; German Advisory Council on Global Change, 2007).

Conclusión

Por un lado, abundan evidencias que dan cuenta que durante el antropoceno se ha realizado un cambio sustantivo, global y de origen antrópico, en los reservorios y las dinámicas naturales, que ha intensificado las manifestaciones naturales más extremas y que ha reducido adicionalmente los bienes y servicios brindados por los ecosistemas, que son la base del sustento de las actividades humanas y del bienestar social. Esto ha dado lugar a un conjunto de impactos negativos directos e indirectos sobre el conjunto humano, que ha aumentado la susceptibilidad y la vulnerabilidad socio-ecológica ante riesgos, y disminuido el bienestar de ciertas poblaciones. Por otro lado, se observa una relación lógica y causal entre diversas manifestaciones ambientales del cambio global antropogénico, con la predisposición y necesidad de desplazamiento de personas, la migración y la búsqueda de otro refugio, pero dada la complejidad del fenómeno y exceptuando determinadas singularidades, no se trata de una respuesta lineal y automática, ya que estos movimientos se encuentran asociados a diversos facto-

res sociales, económicos y políticos que configuran un origen multicausal. Lo último, pone en evidencia que el estudio de las relaciones entre medio ambiente y migración requiere de un análisis complejo, dinámico y basado en la cooperación entre las ciencias sociales y naturales.

A pesar de los extensos debates, aun se carece de un consenso científico y político para dotar de un marco legal internacional que brinde amparo a esta categoría de personas. El reconocimiento de la problemática, reflejaría la aceptación de que la civilización dominante se encuentra fuera de sintonía con los soportes naturales, y denotaría la admisión de las desigualdades sociales propias del sistema. No obstante, la falta de institucionalización sobre la temática no debería ser entendida como una fundamentación para continuar ignorando la problemática, y es necesario, además de ampliar en calidad y cantidad las investigaciones sobre las consecuencias sociales de los impactos biofísicos derivados del cambio global y de extender y profundizar los estudios en materia de las migraciones humanas derivadas de factores ambientales, que se incorpore ésta de modo inmediato en las agendas públicas y privadas, para dar curso a una solución coyuntural que revierta los impactos, reduzca aquellos ya presentados, y que ampare las situaciones del presente y futuro.

Bibliografía

- Balk, D. y MacGranahan, G. 2007. The rising tide: assessing the risks of climate change and human settlements in low elevation coastal zones. *Environment and Urbanization*. 19:17-37.
- Boano, C. 2008. FMO Research Guide on Climate Change and Displacement. Forced Migration Online.
- Brown, O. 2008. Migration and Climate Change-IOM Migration Research Series Paper 31/2008. IOM. Geneva, Switzeland.
- Castillo, J. 2011. Migraciones ambientales: Huyendo de la crisis ecológica en el siglo XXI. Editorial Virus. Barcelona, España.
- Columbia University—UNU-EHS-UNHCR-World Bank-CARE International. 2009. In Search of Shelter: Mapping the Effects of Climate Change on Human Migration and Displacement. Ed. CARE.
- Crutzen, P. y Stoermer, E. 2000. The “Anthropocene”. *Global Change Newsletter*. 41: 12-13.
- Debarati, G.S. 2011. Disasters in numbers: 2010. Ed. CRED - Catholic University of Louvain, Brussels. Geneva, Switzeland.
- Diamond, J. 2005. Colapso: Por qué unas sociedades perduran y otras desapare-

- cen. Barcelona, España.
- Döös, B.R. 1997. Can large scale environmental migrations be predicted? *Global Environmental Change*. 7:41-61.
- Duarte, C. (Coord.), Alonso, S., Benito, G., Dachs, J., Montes, C., Pardo, M., Rios, A., Simon, R. y Valladares, F. 2006. Cambio global: Impacto de la actividad humana sobre el sistema Tierra. Ed. CSIC. Madrid, España.
- El Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos-UNESCO-UNWater. 2006. Agua, una responsabilidad compartida. UNWATER/WWAP/2006/3.
- El-Hinnawi for UNEP. 1985. Environmental Refugees. Nairobi, Kenia.
- FAO-STAT Online: <http://faostat.fao.org>.
- Global Humanitarian Forum (GHF). 2009. Human Impact Report: Climate Change-The Anatomy of a Silent Crisis. Ed. GHF. Geneva, Switzerland.
- Guha-Sapir, D., Vos, F., Below, R. y Ponserre, S. for WHO-CRED-UCL. 2011. Annual Disaster Statistical Review 2010: The Numbers and Trends. Brussels, Belgium.
- International Organization of Migrations (IOM). 2010. Disaster Risk Reduction, Climate Change Adaptation and Environmental Migration. Ed. IOM. Geneva, Switzerland.
- International Displacement Monitoring Centre (IDMC). 2011. Internal Displacement Global Overview of Trends and Developments in 2010. Ed. IDMC. Geneva, Switzerland.
- International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies (RedCross). 2010. World Disaster Report (WDR) 2010: Focus on human risk. Ed. RedCross. Geneva, Switzerland.
- IPCC. 1990. Climate Change: First Assessment Report. Cambridge University Press, UK; NY, USA and Melbourne, Australia.
- IPCC. 2007. Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. Equipo de redacción principal: Pachuri, R. y Reisinger, A. (directores de la publicación). IPCC. Ginebra, Suiza.
- Jacobson, J. 1988. Environmental Refugees: a Yardstick of Habitability. World Watch Paper 86. Ed. World Watch Institute. Washington, USA.
- Lonergan, S. 1998. The role of environmental degradation in population displacement. *Environmental Change and Security Project Report*. Issue 4: 5-15.
- Maplecroft. 2012. Climate Change and Environment Risk Atlas. UK.

- Martinez Alier, J. 2005. El ecologismo de los pobres. Ed. Icaria. Barcelona, España.
- McNeill, J. 2003. Algo nuevo bajo el sol: historia medioambiental del mundo en el siglo XX. Alianza-Ensayo.
- Millennium Ecosystem Assessment (MA). 2005. Ecosystems and Human Well-being: Synthesis. Island Press. Washington, USA.
- Myers, N. 1993. Environmental Refugees in a Globally Warmed World. *BioScience*. 43, 11:753-761.
- Myers, N. 1994. Environmental Refugees: a crisis in a making. People and the planet. No. 4/199.
- Myers, N. 2001. Environmental refugees: a growing phenomenon of the 21st century. *Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences*, 357:609-613.
- Nicholls, R. 2004. Coastal flooding and wetland loss in the 21st century: changes under the SRES climate and socioeconomic scenarios. *Global Environmental Change*. 14:69-86.
- PNUD. 2009. Informe sobre Desarrollo Humano 2009. Superando barreras: movilidad y desarrollo humanos. Ed. PNUD. New York, USA.
- Schwarzenbach, R. 2003. Environmental Organic Chemistry. Wiley-Interscience. New York, USA.
- Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica (SCDB). 2010. Perspectiva Mundial sobre la Diversidad Biológica 3. Ed. SCDB. Montreal, Canada.
- Steffen, W. 2004. Global Change and the earth system-A planet under pressure. The IGBO Series, 287.
- The Wildlife Conservation Society (WCS), Center for International Earth Science Information Network (CIESIN). 2002. Human footprint. Last of the wild project.
- UNEP. 2011. UNEP Yearbook 2011: United Nations Environment Programme. Ed. UNEP. Nairobi, Kenia.
- UNHCR (ACNUR)-UN. 2008. Cambio climático, desastres naturales y desplazamiento humano: la perspectiva del ACNUR.
- UNHCR-UN. 2011. Global trends 2010-60 years and still counting. Ed. UNHCR. Geneva, Switzeland.
- Vogel, R. 2010. Combating Globalization: Confronting the Impact of Neoliberal Free Trade Policies on Labor and the Environment. From the Left: A US Forum combating globalization. <http://combatingglobalization.com>.
- Webster, Ginnetti, Walker, Coppard, Kent for Feinster International Center

(FIC). 2009. The Humanitarian Costs Of Climate Change. Ed. FIC. Medford, USA.

WHO. 2004. The global burden of disease: 2004 update.

World Bank. 2010. World Development Report 2010: Development and Climate Change. Ed. World Bank. Washington, USA.

World Resources Institute (WRI), United Nations Development Programme, United Nations Environment Programme and World Bank. 2002. World Resources 2000-2001: People and ecosystems-The Fraying web of life. Washington, USA.

SIGUIENDO LA PISTA

Efecto de los factores abióticos en los parámetros estructurales de una comunidad de sotobosque de un pinar de repoblación y un robleal

Alba Alonso García¹, Elisa Neila Peruyero², Alba Sanmiguel Vallelado³, Olaia Sobrado Conde⁴

Área de Ecología. Alumnas del tercer curso del Grado en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales. Universidad de León. Curso 2011/2012.

¹(aalong01@estudiantes.unileon.es), ²(eneilp00@estudiantes.unileon.es),
³(asanmvo0@estudiantes.unileon.es), ⁴(osobrco0@estudiantes.unileon.es)

Trabajo de investigación dirigido y supervisado por la Dra. Leonor Calvo Galán (leonor.calvo@unileon.es)

Comparamos la diversidad y composición de especies del sotobosque en un pinar de repoblación (*Pinus sylvestris*) y un robleal o melojar de *Quercus pyrenaica*. Nuestro principal objetivo fue conocer el efecto de la especie arbórea dominante sobre las características estructurales dentro de nuestra comunidad. Los bosques objeto de estudio tienen las mismas condiciones ambientales; para llevar a cabo el experimento se realizaron catorce muestreos en cada bosque, según un muestreo sistemático a partir de la cobertura lineal. La prueba de disimilaridad y posterior clasificación determinó que ambos sotobosques constituyen una única comunidad, sabiendo que el robleal alberga mayor riqueza de especies; esto último guarda relación con la cantidad de radiación solar que llega al sotobosque.

Los parámetros estructurales (riqueza, diversidad alfa y cobertura media por especies y biotipos) fueron significativamente superiores en el robleal frente al pinar de repoblación. Respecto a este último obtenemos mayor heterogeneidad. No se encontraron diferencias significativas en la uniformidad y diversidad global entre los dos tipos de sotobosque, aunque afectados a diferente nivel por el factor abiótico determinante. Así concluimos que, el efecto del bosque de *Pinus sylvestris* ejerce una influencia más negativa sobre la comunidad de sotobosque que *Quercus pyrenaica*.

Palabras Clave: cobertura, diversidad, índice de superficie foliar, *Pinus sylvestris*, *Quercus pyrenaica*, riqueza, sotobosque.

Introducción

Quercus pyrenaica presenta la parte más significativa de su distribución mundial en la Península Ibérica (Allue et al., 1991). Su corología es debida a tres características propias: su carácter submediterráneo, que le permite soportar la

sequía estival y la continentalidad acusada, su intolerancia a los suelos calizos (salvo circunstancias puntuales) y su gran capacidad para rebrotar de raíz y cepa que le beneficia en zonas con presión por incendios o pastoreo. En León es muy abundante en las estribaciones de la Cordillera Cantábrica y en la zona de los Montes de León, donde domina de 600 a 1600 m (López et al., 2009).

Importantes extensiones de bosques de rebollo se han eliminado para repoblar con pinos, como el *Pinus sylvestris*. En las primeras fases de la repoblación predominan las especies heliófilas pioneras. En las fases sucesivas, el dosel arbóreo se cierra, por lo que progresivamente las especies del sotobosque menos tolerantes a las condiciones de sombra son sustituidas por especies esciófilas. De la mano del hombre se realizan desbroces para eliminar, principalmente las especies herbáceas y de matorral. La finalidad de estas actuaciones es eliminar la competencia sobre las especies principales, además de la disminución del peligro de incendios y el aumento de los pastos (Gil y Torre, 2007).

La vegetación de los estratos inferiores del bosque (sotobosque) constituye la base de las redes alimentarias y el refugio de gran parte de la micro y mesofauna y además, sirve de protección al suelo frente a la erosión. Las características del sotobosque están asociadas a la cobertura del dosel, que regula diversos procesos físicos como la intercepción de las precipitaciones, la exposición al viento y la radiación solar (Quinteros et al., 2010). Este último es el factor abiótico determinante de los cambios en la composición de las comunidades vegetales del sotobosque (Candan et al., 2006). Además la luz es considerada el principal factor limitante de la cobertura vegetal y la riqueza (Barbier et al., 2007). Una mayor riqueza de especies del sotobosque podría deberse a una mayor disponibilidad de luz (Tárrega et al., 2006), es decir, la apertura del dosel arbóreo pone de manifiesto el incremento de especies (Schuman, 2003; Candan et al., 2006). Donde la cubierta del dosel arbóreo es densa, la diversidad del sotobosque disminuye; aumentando la dominancia de algunas especies tolerantes a la sombra (Quinteros et al., 2010).

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la especie arbórea dominante (repoblación de *Pinus sylvestris* o robledal de *Quercus pyrenaica*) sobre las características estructurales de las comunidades del sotobosque. Las repoblaciones de *Pinus sylvestris* son prácticas silviculturales. Estas prácticas generan la apertura del dosel y modifican estos procesos, influyendo sobre la cobertura y la estructura del sotobosque (Quinteros et al., 2010). Por ello una de las principales críticas a la repoblación con coníferas de rápido crecimiento es que presentan, en cuanto a parámetros estructurales, una baja diversidad, tanto horizontal (he-

terogeneidad espacial) como vertical (estratificación); componentes fundamentales de la diversidad del bosque. En algunos estudios (Tárrega et al., 2011) la diversidad de especies de plantas del sotobosque es mayor en los bosques de roble que en los pinares de repoblación. Estos últimos proporcionan sotobosques vasculares menos diversificados que los bosques de hoja ancha (Barbier et al., 2007). A pesar de la relevancia de la estratificación vertical, hay otros factores importantes relacionados con la identidad de las especies arbóreas dominantes que pueden afectar a la vegetación de sotobosque como el índice de superficie foliar (ISF) (Tárrega et al., 2011) que se define como la relación que existe entre la superficie de la hoja por unidad de superficie del suelo.

La hipótesis de partida es que al compararse robledales de *Quercus pyrenaica*, de hoja marcescente, con pinares de repoblación de *Pinus sylvestris*, de hoja perenne, debido a que los primeros poseen un ISF menor, se obtendrá una mayor abundancia y uniformidad de especies (Molles, 2006; Candan et al., 2006). Además, a mayor variabilidad de las condiciones de luz, también aumentará la riqueza de especies (Begon, 1999).

Material y métodos

Área de estudio

El lugar elegido para la realización del estudio, se encuentra en el municipio de Rioseco de Tapia, provincia de León, NW de la Península Ibérica (42° 43' 31"N, 5° 46' 43" W). En este lugar se encuentran las dos comunidades a estudiar: la repoblación de *Pinus sylvestris* (con una superficie de 5179 m²) y un melojar de *Quercus pyrenaica* (con una superficie aproximada de 43000 m²). Las dos se encuentran en la misma zona de estudio, entre el Arroyo del Valle de la Villa (al lado izquierdo del arroyo) y la carretera que une el pinar de Camposagrado y Rioseco de Tapia (LE-460).

El tipo de suelo sobre el que se asientan las comunidades estudiadas es el inceptisol. El perfil de este suelo en la zona concreta se caracteriza por ser suelo franco-arenoso con elementos gruesos y bastante pedregosidad. El contenido en materia orgánica alcanza 2,5 %. El pH está comprendido entre 4,5 y 5. La vocación de este suelo es claramente forestal (Aguado-Jolís, 1973).

Quercus pyrenaica es una especie esencialmente silicícola, que se desarrolla sobre rocas de carácter ácido. *Pinus sylvestris* también se desarrolla sobre estos sustratos, aunque se considera indiferente edáfica (López et al., 2009). El pinar de repoblación está formado por individuos de la especie *Pinus sylvestris*. Al tratarse de un pinar de repoblación la distribución de los pinos es

homogénea, habiendo una distancia vertical entre ellos de 1,80 metros y horizontal de 2 metros. En determinadas zonas, algunos individuos presentaban una altura inferior al resto. No se observaron usos ni modificación antrópica en el mismo. El melojar o robledal se clasificó como un bosque abierto, con algunos claros dispersos. Es un robledal joven, por el bajo porte de muchos de los individuos de *Quercus pyrenaica*.

Muestreo

Se ha usado en este estudio el muestreo de campo, para así luego determinar los parámetros estructurales. Para ello se ha utilizado el método de la cobertura lineal, que se define como la intercepción lineal de la proyección vertical de los individuos sobre una cinta métrica (**Fig. 1**). Se expresa como la relación entre el número de unidades que ocupa la especie y la longitud total considerada. El tipo de muestreo es sistemático esto quiere decir que las unidades de muestreo se distribuyen a intervalos regulares, según un criterio establecido y generalmente a partir de una unidad de muestreo elegido al azar. En estudios similares (Gallego Fernández, 2004; Druckenbroda et al., 2008; Tárrega et al., 2011) se ha utilizado este tipo de muestreo (Mostacedo, 2000).

Los muestreos en el pinar de repoblación se llevaron a cabo la última semana de marzo de 2012. En el caso del robledal en la segunda semana de abril de 2012. Tanto en el pinar de repoblación como en el robledal se tomó una parcela uniforme de 2500 m². En cada una de las parcelas se realizaron un total de 14 réplicas (de 10 metros de longitud cada una), dispuestas en dos filas de 7 réplicas, separadas horizontalmente 5 metros y verticalmente 10 metros. La disposición elegida fue N – S.



Figura 1. Metodología de muestreo empleada -cobertura lineal de las especies presentes en ambos sotobosques- Autor: Olaia Sobrado Conde.

Análisis de datos

Los datos recogidos en el campo se expresaron en forma de coberturas por especie y por inventario, como la relación entre el número de unidades (cm) que cubría cada especie en proyección vertical sobre la cinta y la longitud total de la misma (10 m), en tanto por cien. El cálculo del área mínima se ha realizado mediante un método que consiste en representar el número de especies acumuladas durante el muestreo, de forma que se identifica el tamaño óptimo del tamaño de la muestra cuando no aparecen más especies nuevas aunque se incremente el número de unidades de muestreo. Para establecer si los inventarios pertenecían a la misma comunidad, o por el contrario, cada tipo de inventario constituía una comunidad de sotobosque distinta, se calculó la disimilaridad o distancia euclídea entre ambos tipos de inventario (Piñol y Vilalta, 2006). El software utilizado fue el applet facilitado por Piñol y Vilalta en la versión online de su libro “Ecología con números”. Primeramente se calculó la matriz de disimilaridades, a partir de la cual se obtuvo a posteriori la clasificación jerárquica de los inventarios en forma de dendrograma. Se analizó la cobertura tanto a nivel de especie como a nivel de biotipo. Y con el promedio de los inventarios se obtuvieron los valores medios de cobertura de cada comunidad. Mediante la realización de un diagrama de rango-abundancia por comunidad y su comparación con los modelos teóricos (Begon et al., 1999), fue posible determinar qué tipo de distribución seguía cada una. La riqueza de especies (S = número de especies), como componente de la diversidad, fue calculada en cada inventario, además a nivel de comunidad se determinó la riqueza media y la total. La uniformidad ($J = H' / H'_{\text{máx}}$, siendo $H'_{\text{máx}} = \log_2 S$), como componente de la diversidad, se calculó a nivel de inventario.

A partir del cálculo de los parámetros anteriores, se determinó la diversidad alfa ($H'\alpha$) o diversidad microcósmica aplicando el Índice de Diversidad de Shannon-Weaver ($H = \sum p_i \cdot \ln p_i$, donde p_i = abundancia la especie i / abundancia total; Shannon y Weaver, 1949) en cada inventario. A partir del Índice de Shannon, la diversidad alfa se expresó como el promedio de las diversidades de los inventarios pertenecientes a esa comunidad; la diversidad gamma ($H'\gamma$) o diversidad macrocósmica como el valor total de diversidad de cada zona de estudio; y la diversidad beta ($H'\beta = H'\gamma - H'\alpha$) o heterogeneidad. El análisis de varianza se realizó para un nivel de significación (P) del 0,05 y con este se determinó si existían diferencias significativas entre ambas comunidades en cuanto a cobertura, riqueza y los valores de diversidad ($H'\alpha$, $H'\gamma$, $H'\beta$). El software empleado fue SPSS Statistics 19.

Resultados

Se comprobó que el tamaño muestral escogido para los muestreos fue el suficiente, tanto para el muestreo realizado en el sotobosque del pinar de repoblación, como en el del robledal (**Fig. 2**), dado que para el tamaño muestral de 14 unidades de muestreo el valor del número de especies acumulado tiende a estabilizarse.

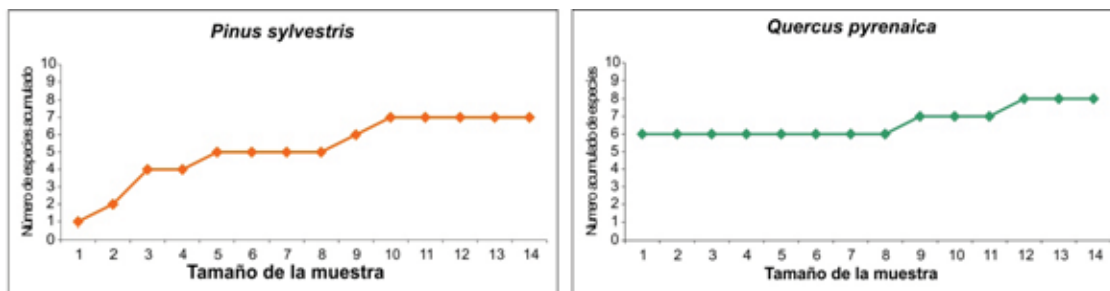


Figura 2. Número acumulado de especies en función del número de unidades de muestreo en sotobosque de pinar de repoblación de *Pinus sylvestris* (sup.) y del robledal de *Quercus pyrenaica* (inf.).

El análisis de disimilaridad y la posterior clasificación de las comunidades consideradas, mostró que ambas áreas de estudio pertenecían en realidad a la misma comunidad de sotobosque (**Fig. 3**). Por tanto, se comprobó que se estaba ante dos grupos diferenciados pertenecientes a una misma comunidad.

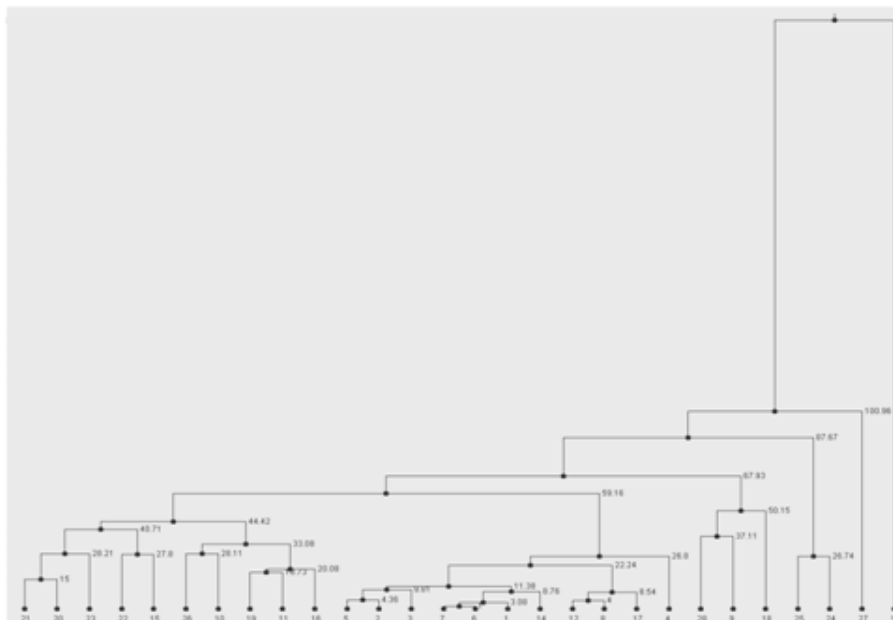


Figura 3. Clasificación jerárquica del total de inventarios realizados en el pinar y en el robledal. Los números del 1 al 14 pertenecen al sotobosque del pinar de repoblación de *Pinus sylvestris*, y los numerados del 15 al 28 son los correspondientes al sotobosque del robledal de *Quercus pyrenaica*.

Los grupos se unen a una distancia de 59,16. El primer grupo se corresponde con los inventarios realizados en el sotobosque del robledal y el segundo grupo con los realizados en el sotobosque del pinar de repoblación. Sin embargo, algunos inventarios pertenecientes tanto a una zona de estudio como a la otra, no siguen ese patrón de clasificación (siguientes cuatro grupos). Las especies vegetales comunes a ambos sotobosques fueron *Festuca sp.*, *Erica arborea*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Calluna vulgaris* y *Genista florida*, además de varias especies musgos y líquenes (Musci). Encontramos diferencias significativas en cuanto a su cobertura en *Festuca sp.* (F=5,511; P=0,027), *Erica arborea* (F=13,013; P=0,001), *Arctostaphylos uva-ursi* (F=4,423; P=0,045) y Musci (F=23,768; P=0,000); presentando mayores valores de cobertura de estas el sotobosque de *Quercus pyrenaica*. *Rubis ulmifolius* se presentó exclusivamente en el sotobosque del pinar de repoblación, así como *Salix atrocinerea* y *Pterospartum tridentatum* se encontraron únicamente en el sotobosque del robledal (**Tabla 1**).

ESPECIES	INVENTARIOS														MEDIA	SD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
AREA DE ESTUDIO #1																
<i>Egletes herbácea spermas</i>																
<i>Festuca sp.</i>	4	1	0	10	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1,18	2,75
<i>Egletes arbóreas</i>																
<i>Erica arborea</i>	0	0	0	0	3	0	0	19	41	8	30	23	40	0	11,71	15,75
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0,64	2,41
<i>Calluna vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	5	18	5	0	0	7	2,50	5,08
<i>Genista florida</i>	0	0	4	0	1	0	0	0	0	0	3	0	19	0	1,93	5,08
<i>Rubus ulmifolius</i>	0	0	8	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,21	6,35
<i>Musci</i>																
<i>Musci</i>	0	10	8	5	13	1	0	11	1	26	50	11	32	5	12,36	14,38
AREA DE ESTUDIO #2																
<i>Egletes herbácea spermas</i>																
<i>Festuca sp.</i>	3	8	8	2	6	2	2	0	0	8	7	5	3	26	5,71	6,51
<i>Egletes arbóreas</i>																
<i>Erica arborea</i>	19	44	20	98	30	21	36	4	51	88	75	26	26	65	43,07	28,46
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	33	0	0	0	15	0	0	17	0	0	17	21	79	0	13,00	21,85
<i>Calluna vulgaris</i>	7	10	0	0	5	0	0	0	0	0	0	14	27	0	4,50	7,52
<i>Genista florida</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	23	0	2,79	7,21
<i>Salix atrocinerea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0,86	3,21
<i>Pterospartum tridentatum</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,21	0,80
<i>Musci</i>																
<i>Musci</i>	58	42	9	16	41	72	72	73	83	91	75	31	76	11	53,57	28,17

Tabla 1. Valores de cobertura (%) de cada especie en cada inventario, valor medio y desviación estándar (SD). (SP = sotobosque del pinar de repoblación de *Pinus sylvestris*, SQ = sotobosque del robledal de *Quercus pyrenaica*).

A través de los diagramas de rango-abundancia (**Fig. 4**) se observa que el sotobosque del robledal presenta mayor riqueza de especies vegetales. Si bien, en ambas comunidades no muestran grandes diferencias en el parámetro uniformidad.

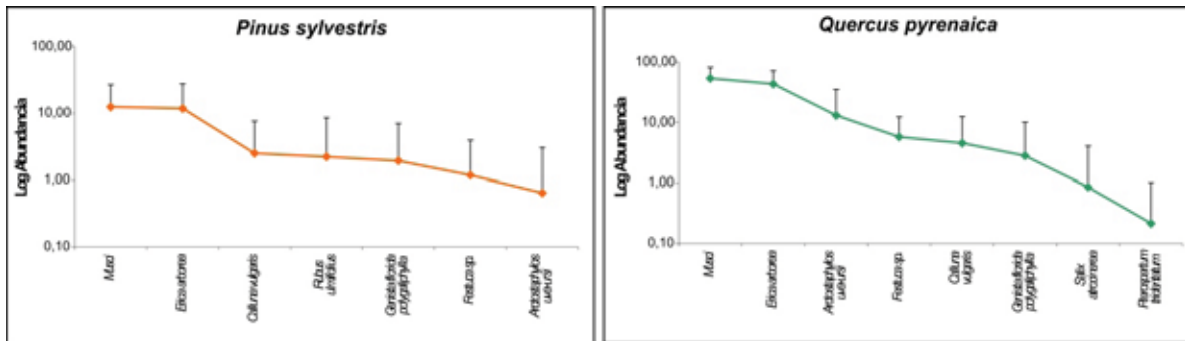


Figura 4. Diagrama rango-abundancia a partir de los valores medios de cobertura de las especies en cada inventario (desviación estandar) en el pinar (*Pinus sylvestris*) y en el robledal (*Quercus pyrenaica*).

En general, la especie que más cobertura presentó en ambos tipos de sotobosque fueron los musgos y líquenes, seguidos de *Erica arborea* (Tabla 1). El resto de las especies presentaron valores de cobertura notablemente más bajos. Ambos tipos de sotobosque presentan una distribución normal logarítmica de sus abundancias. Por ello se puede determinar que en la comunidad general de sotobosque predominan las especies de una abundancia intermedia, que está determinada por muchos factores ecológicos, que se sitúa en un ambiente rico y que el reparto de los recursos existentes es proporcional a la abundancia de cada especie.

El sotobosque del robledal presenta una cobertura media significativamente mayor ($F=36,023$; $P=0,000$) que el sotobosque del pinar de repoblación (Fig. 5).

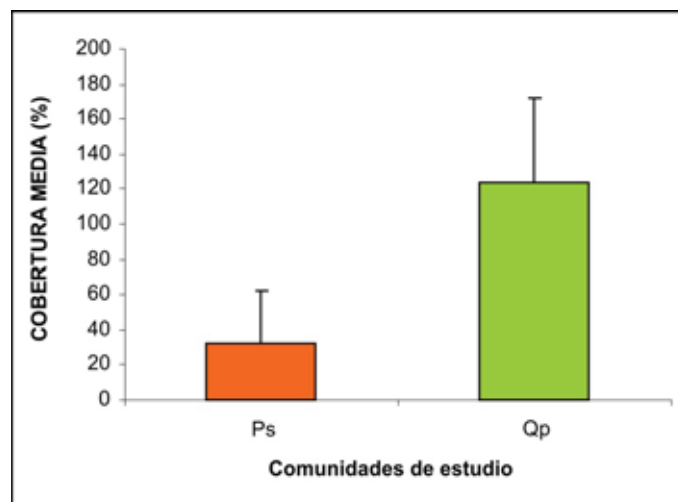


Figura 5. Valor de la cobertura media y desviación estándar de las dos comunidades de estudio Ps= *Pinus sylvestris*; Qp= *Quercus pyrenaica*.

El biotipo más abundante es el constituido por los musgos y líquenes, ya que es el que más cobertura media presenta en ambas áreas de estudio; tomando unos valores significativamente mayores en el sotobosque del robleal ($F=23,768$; $P=0,000$). Las especies arbustivas son el siguiente biotipo con mayor cobertura media, tanto en el sotobosque del pinar de repoblación como en el del robleal; siendo los valores de este último significativamente más altos ($F=12,70$; $P=0,00$). El biotipo que menor cobertura media presenta en ambos tipos de sotobosque, es el correspondiente a las especies herbáceas perennes. Este presenta valores significativamente mayores en el sotobosque del robleal que en el del pinar ($F=5,51$, $P=0,00$) (**Fig. 6**).

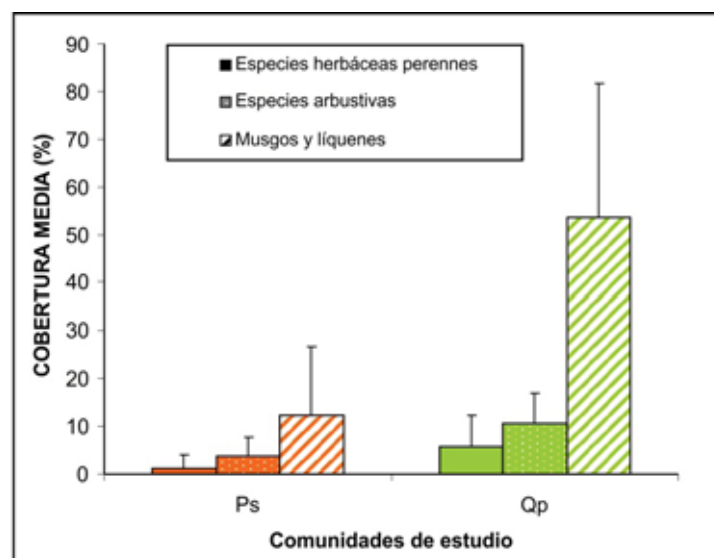


Figura 6. Valores medios y desviación estándar de cobertura por biotipos en las dos comunidades de estudio: Ps= *Pinus sylvestris*; Qp= *Quercus pyrenaica*.

El sotobosque del robleal presenta una mayor riqueza total, ya que el número de especies existentes en esa área de estudio (8 especies) fue mayor que las presentes en el sotobosque del pinar de repoblación (7 especies). Más significativa es la diferencia de sus riquezas medias, siendo significativamente mayor la del sotobosque del robleal ($F=9,58$; $P=0,004$) (**Fig. 7**). Las uniformidades de ambos sotobosques no presentan diferencias significativas entre ellos ($F=0,54$; $P=0,47$) (**Fig. 8**). Es decir, no hay una fuerte dominancia en ninguna de las especies. Es reseñable la mayor desviación de los valores de uniformidad de los inventarios pertenecientes al sotobosque del pinar de repoblación.

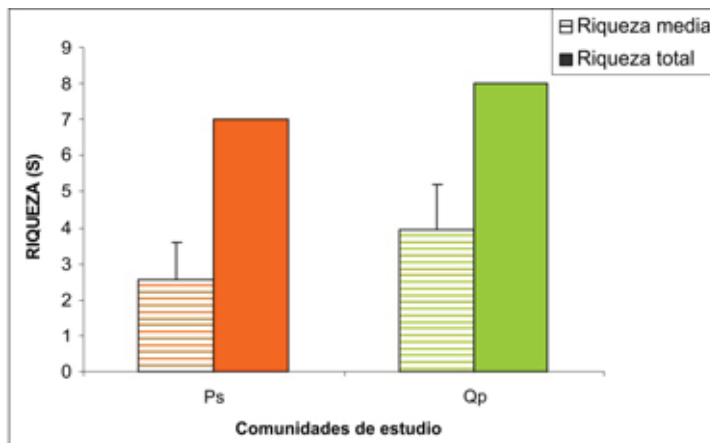


Figura 7. Valor de la riqueza media y riqueza total de las áreas de estudio. Aparece representada la desviación estándar en la riqueza media en las dos comunidades de estudio: Ps= *Pinus sylvestris*; Qp= *Quercus pyrenaica*.

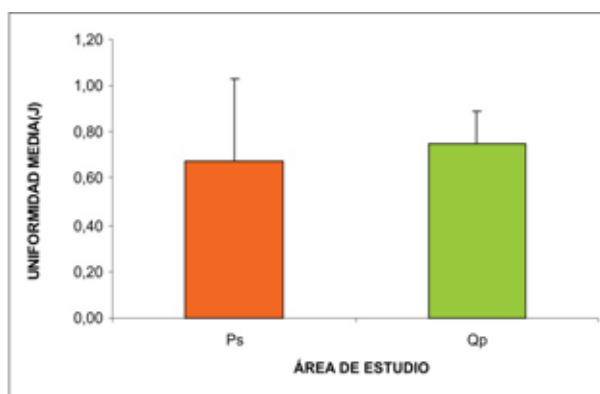


Figura 8. Valor de la uniformidad media y desviación estándar en las dos comunidades de estudio: Ps= *Pinus sylvestris*; Qp= *Quercus pyrenaica*.

Los valores de diversidad alfa son mayores en los inventarios pertenecientes al área de estudio del sotobosque del roble que en los inventarios del sotobosque del pinar de repoblación. Por tanto, la diversidad alfa media del sotobosque del roble es significativamente mayor ($F= 5,85$; $P=0,02$) (**Fig. 9**, izda). En cuanto a la diversidad global, no se encontraron diferencias significativas entre ambos sotobosques (**Fig. 9** dcha). Lo mismo ocurre con la heterogeneidad ($H'\beta$), que presentó un valor mayor para el sotobosque del pinar de repoblación que para el del roble (**Fig. 10**).

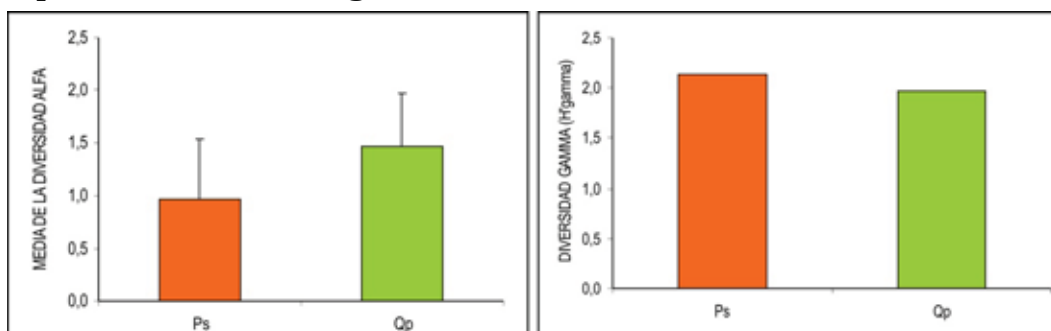


Figura 9. Valor de la diversidad alfa media y desviación estándar (izda) y valor de la diversidad gamma en las dos comunidades de estudio: Ps= *Pinus sylvestris*; Qp= *Quercus pyrenaica*.

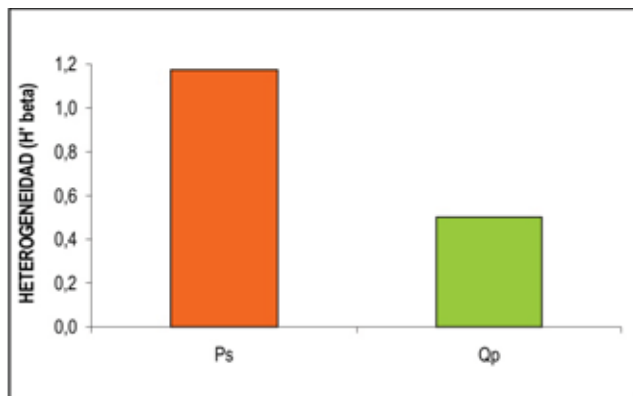


Figura 10. Valor de la heterogeneidad en las dos comunidades de estudio: Ps= *Pinus sylvestris*; Qp= *Quercus pyrenaica*.

Discusión

La especie que forma el dosel arbóreo de un bosque condiciona los factores abióticos que determinan los parámetros estructurales de la comunidad de sotobosque. Cada área de estudio muestreada constituyó un grupo dentro de una misma comunidad de sotobosque albergados bajo dos cubiertas arbóreas diferentes.

La cobertura por especies como la cobertura por biotipos, resultó ser significativamente mayor en el sotobosque del robledal que en el del pinar de repoblación. Los musgos resultaron ser el biotipo más abundante en ambas áreas de estudio. Consideramos que esto es debido a que la comunidad de sotobosque se sitúa en una ladera de umbría, lo que conlleva mayor humedad y predominio de especies esciófilas.

La riqueza del sotobosque del robledal fue mayor que la del pinar de repoblación, de forma más significativa en términos de riqueza media que en riqueza total. Dado que la riqueza de especies del sotobosque es función de la disponibilidad de luz (Tárrega et al., 2006), el dosel arbóreo que presenta el robledal permite una mayor entrada de luz al sotobosque, ya que, parte del año este queda al descubierto (debido a la marcescencia de sus hojas). Esta condición la refleja su menor Índice de Superficie Foliar. Este resultado se ve potenciado porque el robledal era un bosque abierto, ya que la apertura del dosel implica un mayor número de especies en el sotobosque, como han observado otros autores (Shuman et al., 2003).

En cuanto a la uniformidad de ambos grupos de estudio obtuvimos valores no previstos, ya que no presentaron diferencias significativas entre ellos, debido a que comparamos dos sotobosques pertenecientes a la misma comunidad (Tárrega et al., 2006).

Referente a la diversidad alfa media, resultó ser significativamente mayor en el sotobosque de robledal que en el sotobosque del pinar, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Tárrega et al. (2006). Esta idea también es reflejada por Barbier et al. (2008) cuando afirma que las especies de coníferas son menos favorables a la diversidad en el sotobosque que las de hoja caduca. Esta diferencia se debe fundamentalmente a que el dosel arbóreo es menos denso en el primero (Quinteros et al. 2010). Así, coincidiendo con la hipótesis planteada, mayores valores de riqueza y uniformidad en comunidades vegetales, implican mayores valores de diversidad.

El sotobosque del pinar de repoblación resultó ser más heterogéneo a causa de que el equirreparto fue menos uniforme. Este resultado no concuerda con lo establecido por Tárrega et al., (2006) que afirma que a una menor diversidad corresponde una menor heterogeneidad. Sin embargo, otros estudios (Neumann et al., 2001) no han encontrado ninguna relación evidente entre estos dos parámetros.

En resumen, concluimos que la luz es el factor abiótico que determina los parámetros estructurales de la comunidad de sotobosque estudiada, verificándose de este modo la hipótesis de partida. Los valores de riqueza, uniformidad, heterogeneidad y diversidad son más elevados en el sotobosque del robledal que en el sotobosque del pinar de repoblación. Así mismo, el biotipo más representativo en los sotobosques fue el de líquenes y musgos.

Por ello, es fundamental tener en cuenta estos aspectos para la adecuada gestión de este tipo de ecosistemas y de este modo conservar su biodiversidad.

Bibliografía

- Aguado-Jolís I. y colaboración Brigada I del Mapa Agronómico Nacional. 1973. Mapas provinciales de suelos. León. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Ministerio de Agricultura. Madrid.
- Allue M. y San Miguel A. 1991. Estructura, evolución y producción de tallares de *Quercus pyrenaica* Wild. en el centro de España. Departamento de Sistemas Forestales. CIT-INIA. Madrid.
- Alonso E., Baretino D., Celis J., Gallego E., García M.E. y De Godos M. 1995. Instituto Tecnológico Geominero de España. Atlas del medio natural de la provincia de León. Diputación de León.
- Barbier S., Gosselin F. y Balandier P. 2008. Influence of tree species on understory vegetation diversity and mechanisms involved—a critical review for temperate and boreal forests. *Forest Ecology and Management*. 254:1-15.
- Begon M., Harper J.R. y Townsend C.R. 1999. Ecología. Individuos, poblaciones y

- comunidades. Ed. Omega. Barcelona. 1172 pp.
- Candan F., Broquen P. y Pellegrini V. 2006. Cambios en el sotobosque asociados al reemplazo de la vegetación natural por *Pinus ponderosa* Dougl. con diferentes manejos (SO de Neuquén, Argentina). *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*. 15:50-65.
- Druckenbrod D. y Virginia D. 2008. Experimental response of understory plants to mechanized disturbance in an oak-pine forest. *Forest Ecological Indicators* 15:181-187.
- Gallego J.B. 2004. Factores que condicionan el espectro de distribución del matorral mediterráneo de la sierra de Grazalema, sur de España. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61:73-80.
- Gil L. y Torre M. 2007. Atlas forestal de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente. Valladolid.
- López Leiva C., Espinosa Rincón J. y Bengoa J. 2009. Mapa de vegetación de Castilla y León. Síntesis 1:400.000. Junta de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente.
- López C., Espinosa J., Bengoa J. 2009. Mapa de vegetación de Castilla y León. Síntesis 1:400000. Junta de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente.
- Molles C. 2006. Ecología: Conceptos y aplicaciones. 3ª edición. Ed. Mac Graw-Hill. Barcelona.
- Mostacedo B. y Fredericksen T.S. 2000. Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.
- Neumann M. y Starlinger, F. 2001. The significance of different indices for stand structure and diversity in forests. *Forest Ecology and Management*. 145:91–106.
- Piñol J. y Martínez-Vilalta J. 2006. Ecología con números. Una introducción a la ecología con problemas y ejercicios de simulación. Lynx Editions, Bellaterra. Barcelona.
- Quinteros P., Hansen, N. y Kutschker, A. 2010. Composición y diversidad del sotobosque de ñire (*Nothofagus antarctica*) en función de la estructura del bosque. *Ecología Austral*. 20:225-234.
- Schumann, M.E., White, A.S. y Witham, J.W. 2003. The effects of harvest created gaps on plant species diversity, composition and abundance in a maine oak-pine forest. *Forest Ecology and Management*. 176: 543-561.
- Shannon, C.E. y Weaver, W. 1949. The Mathematical Theory of Communication. University of Illinois Press, Urbana.
- Tárrega, R., Calvo, L., Marcos, E. y Taboada, A. 2006. Forest structure and understory diversity in *Quercus pyrenaica* communities with different human uses and disturbances. *Forest Ecology and Management*. 227:50-58.

BAÚL DE LA CIENCIA

La importancia de la contribución paterna en el desarrollo embrionario: los ARN espermáticos

David García Valcarce¹, Florentino Garrido Gonzalez², Elsi Suárez Álvarez², Ángel J. Luengos Martínez², Vanesa Robles Rodríguez¹

¹Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal (INDEGSAL) y Departamento de Biología Molecular (Área de Biología Celular) de la Universidad de León.

²Centro Ginecológico de León, Clínica San Francisco.

Estudios clínicos han descrito una mayor incidencia de ciertas enfermedades en los nacidos a partir de tecnologías de reproducción asistida tales como los síndromes de Prader-Willi, Angelman o Beckwith-Wiedemann. Aunque los espermatozoides son células transcripcionalmente inactivas, durante los últimos años se ha demostrado que algunos de sus ARN mensajeros pueden tener un importante papel como marcadores de interés clínico (de fertilidad masculina y de éxito en el embarazo). Además, cada vez se encuentran más datos que hacen pensar que estas moléculas tienen un importante papel en las primeras etapas del desarrollo embrionario. Por lo tanto, es crucial conocer si los protocolos rutinarios en las técnicas de reproducción asistida afectan a las poblaciones de transcritos espermáticos y es necesario ahondar en sus verdaderas funciones. En este trabajo se describen las diferentes poblaciones de ARN espermáticas y sus posibles usos como herramientas diagnósticas en clínica.

Palabras clave: ARNm, semen, humano, ARTs, biotecnología.

ARN espermáticos y las tecnologías de reproducción asistida

Las técnicas de fecundación *in vitro* (IVF) e inyección intracitoplasmática (ICSI) han supuesto, desde los inicios de su aplicación en los años 70, una verdadera revolución en el campo de la biomedicina como tecnologías de reproducción asistida (ARTs). Sin embargo, se ha comprobado tras realizar estudios clínicos, que existe una mayor incidencia de ciertos problemas y enfermedades en los nacidos a partir de estas técnicas. Por ejemplo, el bajo peso al nacer se ha relacionado con diferentes factores tales como nacimientos múltiples, edad materna o la propia técnica per se (Maher et al., 2003a). No obstante, algunos de los procedimientos utilizados en ARTs, no han sido contemplados como posibles factores causantes de la aparición de tales problemas médicos. Algunas de las técnicas que son comúnmente utilizadas para la conservación de espermatozoides que posteriormente serán utilizados para IVF, por sí mismas, pueden provocar cam-

bios en la presencia de transcritos, cambios epigenéticos y diversos tipos de daño genético.

A nivel molecular, se ha comprobado que existen alteraciones epigenéticas directamente implicadas en algunas de estas patologías con mayor incidencia en los nacidos a partir de ARTs. Ejemplos de estas perturbaciones son: el síndrome Beckwith-Wiedemann, el síndrome de Angelman o el síndrome de Prader-Willi (Maher et al., 2003b; Carrell et al., 2010).

El síndrome de Beckwith-Wiedemann es un modelo de enfermedad congénita asociada a la impronta genómica resultante de mutaciones o epimutaciones que afectan a los genes en el cromosoma 11p15.5. Asimismo, el síndrome de Angelman puede ser producido por una delección en el cromosoma 15, disomías uniparentales, mutaciones en el gen *UBE3A* o por defectos en la impronta. Del mismo modo, el síndrome de Prader-Willi, muy semejante al de Angelman, es una enfermedad genética producida por la ausencia de la expresión de un alelo localizado en la región 15q11-q13. Todas estas enfermedades presentan una serie de síntomas comunes tales como problemas cognitivos, alteraciones en el desarrollo, capacidad lingüística reducida, falta de atención y de coordinación motriz.

Además de las alteraciones epigenéticas, se ha comprobado que el daño genético es un importante factor a tener en cuenta, ya que se ha visto que es un elemento común entre hombres con problemas de infertilidad y también se asocia con un aumento significativo de pérdidas embrionarias tras IVF e ICSI (Zini et al., 2008). Además de la importancia de preservar la integridad del ADN espermático, durante los últimos años se ha reconocido la gran importancia de las moléculas de ARN presentes en los espermatozoides para el correcto desarrollo embrionario temprano (Boerke et al., 2007). En este artículo nos centraremos en estas poblaciones de ARN espermáticos y en la necesidad de preservarlas, aunque esto supusiera adaptar o modificar algunas de las técnicas empleadas en las ARTs.

El papel de los ARN espermáticos

Los espermatozoides que se liberan en el eyaculado son el resultado de un importante proceso de diferenciación llamado espermatogénesis. La cabeza de estas células solo contiene dos orgánulos con doble membrana: el núcleo hipercompactado y el acrosoma (Boerke et al., 2007). Sin embargo, no encontramos retículo endoplasmático, aparato de Golgi, lisosomas, peroxisomas ni ribosomas. Así pues, nos hallamos ante células altamente diferenciadas, transcripcio-

nalmente inactivas, con el mínimo citoplasma posible y núcleo compactado, como se puede ver en la **Fig. 1**. Su diseño está perfectamente adaptado a su función: la fertilización del ovocito.

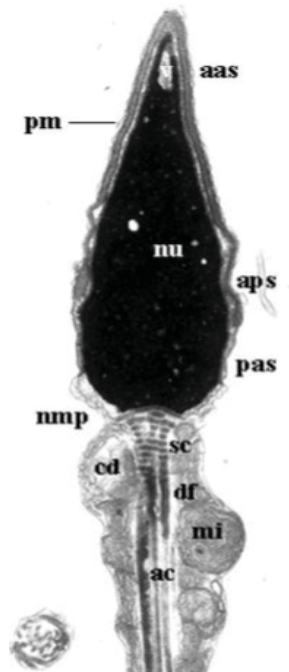


Figura 1. Ultraestructura del espermatozoide humano maduro (aas: segmento anterior acrosomal; pm: membrana plasmática; nu: núcleo; aps: segmento acrosomal posterior; pas: envoltura acrosomal posterior; nmp: poros de la membrana nuclear; sc: columnas segmentadas; cd: gota citoplasmática; df: fibras densas; mi: mitocondria; ac: complejo axonemal). Modificado de Dadoune et al., 2009.

Hoy en día es evidente que el papel del espermatozoide no se reduce únicamente a transmitir el genoma haploide paterno, sino también a proporcionar otras moléculas al cigoto como parte de la contribución multilateral paterna. El macho, además de suministrar el genoma esencial en la fertilización, también aporta orgánulos (centriolo en humanos y primates), proteínas específicas masculinas y ARN (Ostermeier et al., 2004). La presencia de ARN en el espermatozoide está actualmente certificada pero su significado funcional aún sigue siendo cuestión de debate. La cantidad de ARN presente en las células espermáticas maduras es muy baja en comparación con la del ovocito, que contiene grandes cantidades de ARN mensajeros (ARNm) (Stitzel et al., 2007). El bajo número de moléculas (10-20 fg) refleja la proporción significativa de ARN sintetizado antes de la detención de la transcripción en las últimas etapas terminales de la diferenciación espermática. Este ARNm es almacenado de forma estable hasta el momento de ser traducido. Por lo tanto, las moléculas de ARN que están presentes en los espermatozoides maduros, incluyendo los ARN mensajeros, se pueden considerar remanentes. Éstos se mantienen estables hasta el comienzo de la expresión del genoma embrionario (Boerke et al., 2007). Se han publicado estudios en los que se sugiere que este ARNm espermático tiene un significado fun-

cional en las primeras etapas del desarrollo embrionario (Gur et al., 2006).

El papel de los ARN espermáticos ha sido ampliamente discutido durante cincuenta años y en la actualidad, la comunidad científica ha alcanzado un consenso. El debate comenzó tras la observación inicial de Abraham y Bhargava (Abraham et al 1963) en la que se comprobó que el espermatozoide podía incorporar ribonucleótidos marcados radioactivamente y posteriormente éstos eran activos. Esto fue descartado más tarde, ya que se demostró que tal apreciación era debida a la actividad ribosómica mitocondrial. Posteriormente, la ausencia de actividad transcripcional ha sido reafirmada en esta última década. Del mismo modo, la presencia de ARN ribosómico fue descrita (Betlach et al., 1973) pero nunca fue confirmada. Por el contrario, la existencia de transcritos espermáticos fue establecida por estudios independientes en los que se realizaron transcripción reversa por PCR e hibridación in situ. La veracidad de estas observaciones se demuestra por el continuo aumento del número de estudios independientes que evalúan la presencia de transcritos específicos en los espermatozoides de mamífero (De Ambrogi et al., 2007). Por otro lado, el uso de micromatrices ha incrementado la descripción de los transcritos presentes en estas células (Dadoune et al., 2005). De este modo, se han empezado a conocer qué ARNm existen en los espermatozoides. Además, se ha visto que estas células poseen ARN antisentido y microARN (Amanai et al., 2006). Es interesante destacar que en un estudio reciente se ha publicado que los transcritos que se encuentran en el espermatozoide maduro correlacionan con zonas hipometiladas del genoma y están relacionadas con genes importantes para el desarrollo, factores de transcripción y loci biosintéticos o de metabolismo (Wu et al., 2011). La demostración de Ostermeier y colaboradores (2004) en la que se confirmó la entrega del ARN espermático al ovocito en el momento de la fertilización ha sido esencial para el desarrollo de las hipótesis acerca del papel crítico de estas moléculas en el desarrollo embrionario. Los diferentes cometidos que pueden tener las diversas poblaciones de ARN espermáticos están por confirmar. Como se resume en la **Fig. 2**, se pueden suponer diferentes papeles para estos ARN: funciones estructurales, funciones empaquetadoras del genoma paterno y/o funciones esenciales para el desarrollo embrionario temprano.

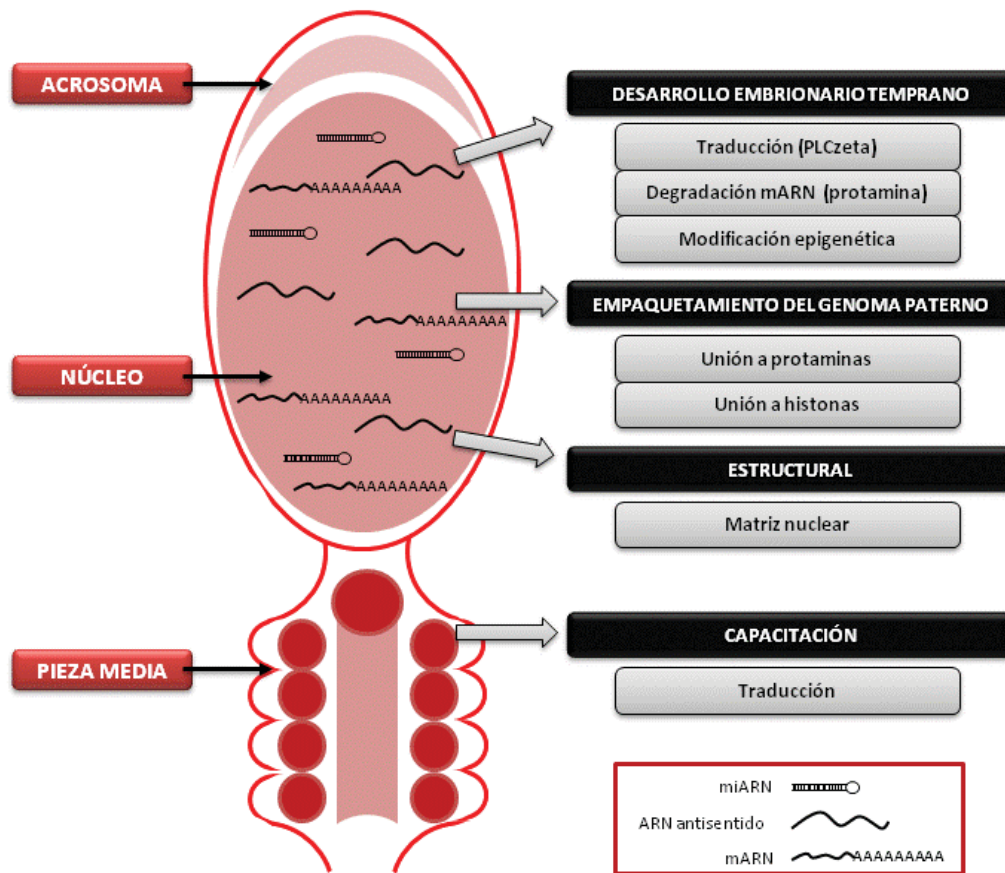


Figura 2. Funciones del ARN espermático. Diferentes propuestas funcionales para las poblaciones de ARN presentes en el espermatozoide maduro: mARN, antisentido y micro-ARN (miARN). El mARN podría ser traducido en el desarrollo embrionario temprano, por ejemplo, PLC- ζ . Algunos mRNA serían degradados, como por ejemplo las protaminas. Los ARN antisentido y los microARN estarían relacionados con modificaciones epigenéticas y modularían la expresión génica embrionaria temprana. El ARN espermático puede tener también un papel estructural formando parte de la matriz nuclear e interviniendo en la compactación cromosómica. El ARN localizado en la pieza media puede ser traducido, en los ribosomas mitocondriales, bajo determinadas condiciones, como por ejemplo, durante la capacitación. Esquema basado en una imagen de un artículo (Lalancette et al., 2008).

No obstante, no todos los ARN retenidos en el espermatozoide tienen una función que afecte a la embriogénesis y algunos serán degradados. Hayashi y colaboradores (2003) compararon el perfil de varios ARN paternos, entre ellos, las protaminas 1 y 2 en embriones de ratón derivados de inyección intracitoplasmática de espermátidas redondas (ROSI) y de ICSI observando la desaparición de los transcritos paternos durante las etapas tempranas de la embriogénesis.

Dicho grupo corroboró la ausencia de los ARN desde el estadio de 4 células, sugiriendo, por lo tanto, que algunos de los ARN entregados al ovocito murino son desechados durante las etapas iniciales del desarrollo embrionario. La destrucción de aquellas moléculas de ARN asociadas a la compactación del material genético del espermatozoide, como por ejemplo, las protaminas, es esperada y lógicamente, requerida.

Considerando la cantidad y la diversidad de transcritos que son proporcionados por parte del espermatozoide, se espera que al menos algunos de ellos sean necesarios para desempeñar alguna función biológica. Un claro ejemplo de esto es la fosfolipasa C zeta (PLC- ζ), que señala la activación del ovocito a través de una serie de oscilaciones en la concentración del catión calcio tras la fertilización (Swann et al., 2004). El transcrito de esta proteína ha sido detectado en el esperma humano (Platts et al., 2007). Quizás su traducción tras la fertilización asegura esta respuesta prolongada.

El ARN espermático también puede tener un papel como modificador epigenético en los primeros estadios embrionarios. Rassoulzadegan y colaboradores (2006) inyectaron microARN de espermatozoides en ovocitos de ratón fertilizados para ver el efecto generado. Se comprobó la aparición de un fenotipo mutante heredable por parte de la descendencia. Fue imposible corroborar tal mutación por genotipado. Estos datos apoyan de forma contundente la idea de que el ARN espermático puede actuar como modificador epigenético.

La importancia de la integridad de la matriz nuclear espermática para el éxito de la fertilización ha sido probada en ratón (Ward et al., 2000). También ha sido confirmada la conjetura formal que considera al ARN como parte de la matriz nuclear (Miller et al., 2005).

Los transcritos espermáticos como marcadores de interés clínico

La aplicación y el uso de los transcritos espermáticos como marcadores del estatus de fertilidad masculina sigue siendo un tema en constante evolución. La idea de considerar estos ARN como indicadores de calidad, parte de la hipótesis que define la espermatogénesis como un proceso preciso y orquestado que proporcionaría, de forma natural, una batería conservada de transcritos en varones sanos. Esta hipótesis sigue siendo evaluada con cada avance tecnológico. Y así ha ocurrido con el uso de las micromatrices de alta resolución, que están permitiendo a la comunidad científica comenzar a diseccionar los elementos moleculares que toman parte en la infertilidad masculina (Platts et al., 2007). Los grandes estudios de transcriptómica que se han realizado en muestras humanas

han permitido examinar el grado de covarianza entre transcritos de hombres fértiles y estériles. Estos estudios han empezado a revelar una serie de prometedores marcadores clínicos de infertilidad masculina. Es por esto que se ha sugerido realizar el análisis del perfil de ARNm presente en el espermatozoide como herramienta diagnóstica para la fertilidad masculina y como factor pronóstico del éxito de la fecundación (García-Herrero et al., 2010; García-Herrero et al., 2011).

En un interesante trabajo realizado por científicos del Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI) y la Universidad de Valencia (García-Herrero et al., 2010), se encontraron 741 transcritos exclusivos de muestras seminales que producían embarazo y 976 que solo estaban presentes en aquellas muestras seminales que no lo hacían. El mismo grupo de investigación, comparando el perfil del transcriptoma entre espermatozoides que logran embarazo y los que no lo hacen, vía ICSI, encontró un alto número de transcritos con expresión diferencial o incluso exclusiva en ambos grupos. Además, se realizó un estudio de rutas metabólicas y un análisis ontogénico con los datos obtenidos de las micromatrices, lo que les permitió conseguir una mejor interpretación de los datos. Este estudio propone un grupo de genes como marcadores potenciales del éxito del embarazo y otro grupo considerado como marcador potencial de fertilidad. Pero además, estos ARNm del espermatozoide también parecen jugar un papel importante en el desarrollo embrionario temprano. Se ha comprobado, por ejemplo, que hay una relación entre los niveles de ARNm de las protaminas PRM1 y PRM2 en el espermatozoide y la calidad de los embriones (Depa-Martynow et al., 2007) y se ha contemplado la posibilidad de que la ausencia de algunos de estos ARN presentes en el espermatozoide pudieran contribuir a una muerte embrionaria temprana (Gil Villa et al., 2007).

Transcritos espermáticos e infertilidad masculina

En la actualidad, uno de los proyectos llevados a cabo dentro de nuestro grupo de investigación tiene como objetivo valorar el impacto a nivel molecular de algunas de las técnicas empleadas en ARTs y desarrollar métodos diagnósticos que garanticen la total seguridad de las mismas. Además, nos interesa ahondar en el papel concreto que pueden jugar estos transcritos en las primeras etapas del desarrollo embrionario.

Dentro del marco de este proyecto, y en colaboración con el Centro Ginecológico de León, realizamos un estudio diferencial de las poblaciones de transcritos presentes en muestras seminales de hombres sanos y hombres con patolo-

gías seminales diagnosticadas. En reproducción, se utilizan distintos términos para hacer referencia a la calidad seminal: normozoospermia (semen normal), oligozoospermia (muestras con concentraciones espermáticas por debajo de los valores establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS)), astenozoospermia (movilidad por debajo de los valores establecidos por la OMS), terazoospermia (cantidad de células morfológicamente anormales superior a los límites de la OMS) y oligoastenoteratozoospermia (perturbaciones de más de dos de los tres factores en un mismo caso).

En el estudio que resumimos a continuación, nos centramos en pacientes con astenozoospermia diagnosticada. La astenozoospermia es una alteración del semen del hombre que se caracteriza por la baja movilidad de los espermatozoides. Se considera astenozoospermia cuando el número de espermatozoides que se desplazan en el eyaculado es menos de la mitad (50%) o bien cuando los que se desplazan con trayectoria rectilínea y velocidad de $25 \mu\text{m/s}$ es inferior al 25%. Esto puede provocar un problema de infertilidad. Los valores que se consideran normales en cuanto a movilidad son 50% o más de espermatozoides móviles con desplazamiento, o bien valores iguales o superiores al 25% de espermatozoides móviles con trayectoria rectilínea y velocidad de $25 \mu\text{m/s}$. Las alteraciones de la movilidad y la forma de los espermatozoides generalmente son de origen desconocido y no tienen tratamiento específico, a pesar de que en ocasiones pueden ensayarse tratamientos antioxidantes como la vitaminas C y E.

En nuestro estudio, partimos de muestras donadas, bajo consentimiento informado, de varones jóvenes y normozoospermicos, y por otro lado, de eyaculados donados por pacientes diagnosticados como astenozoospermicos llegados desde el Centro Ginecológico de León. Tras realizar la extracción de ARN de las muestras se sintetiza el ADN complementario utilizando un kit comercial. Los oligonucleótidos diseñados para realizar PCR cuantitativa (qPCR) de los transcritos de estudio son analizados por PCR convencional en gradiente de temperatura y electroforesis para optimizar las temperaturas de anillamiento en cada transcrito. Además se realizan las curvas de eficiencia antes de desarrollar el ensayo final. Tras la qPCR, obtenemos los valores Ct (threshold cycle) que es un parámetro que podemos correlacionar de forma directa con la cantidad de transcritos presentes en los espermatozoides. Puesto que la cantidad de transcritos en los espermatozoides es baja (comparándolo con células transcripcionalmente activas), se puede apreciar que los valores de Ct aparecen en ciclos tardíos en el programa de amplificación. Esto es debido a que en los espermatozoides solo tenemos transcritos remanentes del proceso de espermatogénesis.

Como ejemplo de las diferencias que hemos encontrado en la cantidad de transcritos espermáticos entre individuos normo y astenozoospermicos, hemos representado los resultados de dos transcritos que podrían ser marcadores potenciales de calidad seminal y éxito de embarazo: BCL2-interacting killer (*bik*); NM_001197.4, y adducin 1 alpha (*add1*); NM_001119.4. Tal como se observa en la **Fig. 3** existe un retraso estadísticamente significativo en el Ct de la muestra de individuos astenozoospermicos: para *bik* alrededor de 29,75 en normozoospermicos frente a 32,94 en los donantes astenozoospermicos y en el caso de *add1* en torno a 26,68 frente a 31,23, respectivamente.

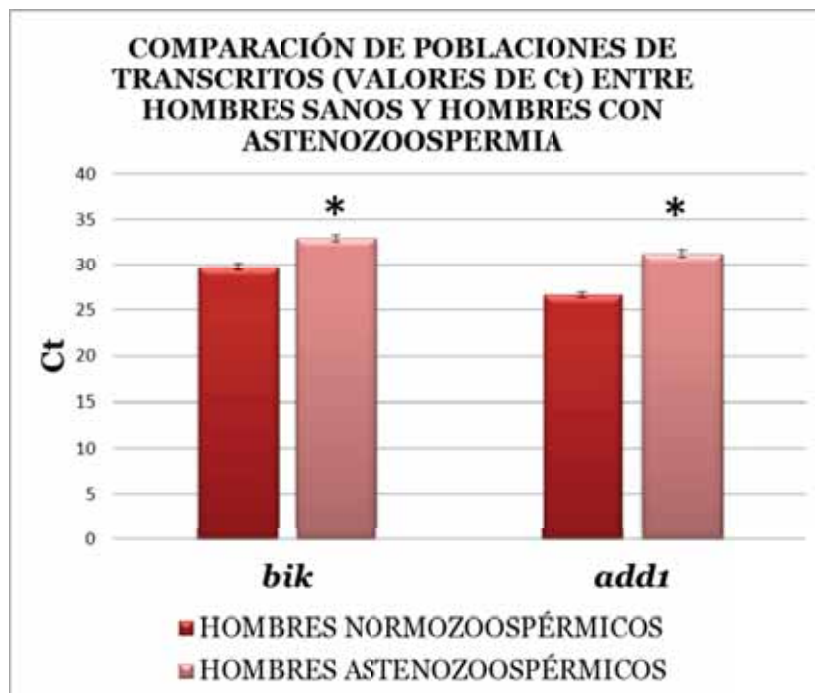


Figura 3. Comparación de las poblaciones de transcritos (Ct) entre hombres normozoospermicos y hombres astenozoospermicos. *bik*: BCL2-interacting killer (ejemplo de transcrito identificado como potencial marcador de calidad espermática); *add1*: adducin 1 alpha (ejemplo de transcrito identificado como potencial marcador de éxito de embarazo). Población n=3. Las barras de error se corresponden con error típico.

Podemos concluir, por tanto, que conocer el impacto a nivel molecular de las ARTs sobre el espermatozoide (concretamente las modificaciones en la presencia de determinados transcritos relevantes) redundará sin duda en mejorar la eficiencia y la seguridad de las técnicas de reproducción asistida.

Bibliografía

- Abraham, K.A. y Bhargava P.M. 1963. The uptake of radioactive amino acids by spermatozoa. The intracellular site of incorporation into proteins. *Biochemical Journal*. 86: 308-313
- Amanai, M., Brahmajosyula M. y Perry A.C. 2006. A restricted role for sperm-borne microRNAs in mammalian fertilization. *Biology of Reproduction*. 75: 877-884.
- Betlach, C.J. y Erickson R.P. 1973. A unique RNA species from maturing mouse spermatozoa. *Nature*. 242: 114-115.
- Boerke, A., Dieleman S.J. y Gadella, B.M. 2007. A possible role for sperm RNA in early embryo development. *Theriogenology*. 68 Suppl 1: S147-55.
- Carrell, D.T. y Hammoud, S.S. 2010. The human sperm epigenome and its potential role in embryonic development. *Molecular Human Reproduction*. 16: 37-47.
- Dadoune, J.P., Pawlak A., Alfonsi M.F. y Siffroi J.P. 2005. Identification of transcripts by macroarrays, RT-PCR and in situ hybridization in human ejaculate spermatozoa. *Molecular Human Reproduction*. 11: 133-140.
- De Ambrogi, M., Spinaci M., Galeati G. y Tamanini C. 2007. Leptin receptor in boar spermatozoa. *International Journal of Andrology*. 30: 458-461.
- Depa-Martynow M., Kempisty B., Lianeri M., Jagodzinski P.P. y Jedrzejczak P. 2007. Association between fertilin beta, protamines 1 and 2 and spermatid-specific linker histone H1-like protein mRNA levels, fertilization ability of human spermatozoa, and quality of preimplantation embryos. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 45 Suppl 1: S79-85.
- García-Herrero S., Garrido N., Martínez-Conejero J.A., Remohi J., Pellicer A. y Meseguer M. 2011. Differential transcriptomic profile in spermatozoa achieving pregnancy or not via ICSI. *Reproductive Biomedicine Online*. 22: 25-36.
- García-Herrero S., Meseguer M., Martínez-Conejero J.A., Remohi J., Pellicer A. y Garrido N. 2010. The transcriptome of spermatozoa used in homologous intrauterine insemination varies considerably between samples that achieve pregnancy and those that do not. *Fertility and Sterility*. 94: 1360-1373.
- Gil Villa, A.M., Cardona-Maya W.D. y Cadavid Jaramillo A.P. 2007. Early embryo death: Does the male factor play a role? *Archivos Españoles de Urología*. 60: 1.057-68.
- Gilbert, I., Bissonnette N., Boissonneault G., Vallee M. y Robert C. 2007. A

- molecular analysis of the population of mRNA in bovine spermatozoa. *Reproduction*. 133:1073-1086.
- Gur, Y. y Breitbart H. 2006. Mammalian sperm translate nuclear-encoded proteins by mitochondrial-type ribosomes. *Genes & Development*. 20:411-416.
- Hayashi, S., Yang J., Christenson L., Yanagimachi R. y Hecht N.B. 2003. Mouse preimplantation embryos developed from oocytes injected with round spermatids or spermatozoa have similar but distinct patterns of early messenger RNA expression. *Biology of Reproduction*. 69:1170-1176.
- Lalancette, C., Miller D., Li Y. y Krawetz S.A. 2008. Paternal contributions: New functional insights for spermatozoal RNA. *Journal of Cellular Biochemistry*. 104:1570-1579
- .Maher, E.R., Afnan M. y Barratt C.L. 2003a. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: Epigenetics, imprinting, ART and icebergs? *Human Reproduction*. 18: 2508-2511.
- Maher, E.R., Brueton L.A., Bowdin S.C., Luharia A., Cooper W., Cole T.R., et al. 2003b. Beckwith-wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *Journal of Medical Genetics*. 40: 62-64.
- Miller, D., Ostermeier G.C. y Krawetz S.A. 2005. The controversy, potential and roles of spermatozoal RNA. *Trends in Molecular Medicine*. 11:156-163.
- Ostermeier, G.C., Miller, D., Huntriss, J.D., Diamond, M.P. y Krawetz, S.A. 2004. Reproductive biology: Delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature*. 429:154.
- Platts, A.E., Dix, D.J., Chemes, H.E., Thompson, K.E., Goodrich, R., Rockett, J.C., et al. 2007. Success and failure in human spermatogenesis as revealed by teratozoospermic RNAs. *Human Molecular Genetics*. 16:763-773.
- Rassoulzadegan, M., Grandjean, V., Gounon, P., Vincent, S., Gillot, I. y Cuzin, F. 2006. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature*. 441 469-474.
- Stitzel, M.L. y Seydoux, G. 2007. Regulation of the oocyte-to-zygote transition. *Science*. 316:407-408.
- Swann, K., Larman, M.G., Saunders, C.M. y Lai, F.A. 2004. The cytosolic sperm factor that triggers Ca^{2+} oscillations and egg activation in mammals is a novel phospholipase C: PLCzeta. *Reproduction*. 127:431-439.
- Ward, W.S., Kishikawa, H., Akutsu, H., Yanagimachi, H. y Yanagimachi, R. 2000. Further evidence that sperm nuclear proteins are necessary for embryogenesis. *Zygote*. 8:51-56.

Wu, S.F., Zhang, H. y Cairns B.R. 2011. Genes for embryo development are packaged in blocks of multivalent chromatin in zebrafish sperm. *Genome Research*. 21: 578-589.

Zini, A., Boman, J.M., Belzile, E. y Ciampi, A. 2008. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: Systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction*. 23:2663-2668.



David García Valcarce se licenció en Biotecnología en la Universidad de León (2011) y realizó el Máster en Metodología de Investigación en Biología Fundamental y Biomedicina (2012). Este trabajo forma parte de su tesis de máster, dirigida por la Dra. **Vanesa Robles Rodríguez**, investigadora Ramón y Cajal de la ULE. Vanesa Robles se doctoró en la Universidad de León (2004) y realizó dos estancias postdoctorales en la Universidad de Algarve (Portugal) y en el Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona CMR(B). Durante el periodo pre y postdoctoral, ha realizado varias estancias en centros de investigación y universidades extranjeras (MBL, Woods Hole, MS, USA;

University of Alberta, Canada, University of Newfoundland, Canada; University of Bedfordshire Luton, UK; University of Salento, Italia) y ha participado en más de 10 proyectos de investigación siendo investigadora principal de 2 de ellos. Fruto de su labor investigadora, posee 47 publicaciones científicas (artículos en revistas SCI, libros y capítulos de libro), 42 comunicaciones a congresos, en su mayor parte internacionales y es revisora habitual de 12 revistas científicas. En la actualidad realiza su actividad investigadora en el Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal (INDEGSAL) y está adscrita al área de Biología Celular del Departamento de Biología Molecular, donde imparte docencia.

El Dr. **Florentino Garrido González** (ginecólogo) y los biólogos **Elsi Suárez Álvarez** y **Ángel José Luengos Martínez**, forman parte del Equipo Médico del Centro Ginecológico de León (Clínica San Francisco). La unidad de Reproducción asistida de dicho centro nace en el año 1997 y en la actualidad ofrece numerosos servicios entre los que se encuentran: inseminación artificial, fecundación in vitro, microinyección espermática y diagnóstico genético preimplantacional, entre otros.



MI PROYECTO DE TESIS

Optimización de los protocolos de congelación de eyaculados de oso pardo (*Ursus arctos*).

Manuel Álvarez Rodríguez

Licenciado en Biología

Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria. Unidad de Reproducción y Obstetricia. Universidad de León

La situación crítica del oso pardo (*Ursus arctos*) en España establece la necesidad de aplicar diferentes estrategias de conservación, dentro de las cuales podemos mencionar la creación de un banco de recursos genéticos, en colaboración con el parque de la naturaleza de Cabárceno (Cantabria) (**Fig. 1**). Un banco de recursos genéticos se puede definir como el almacenamiento, de manera eficaz, del material genético para su posterior uso con fines de investigación y/o conservación (en este caso muestras espermáticas con buena calidad y con un esperado alto potencial de fertilidad).



Figura 1. Oso pardo anestesiado e inmovilizado para la obtención posterior de muestras seminales. Foto tomada en el interior del recinto del Parque de la Naturaleza de Cabárceno (Santander). Foto: www.diariomontanes.es.

La eficacia de esta herramienta imprescindible depende, en gran medida, de la adaptación de los protocolos de congelación espermática. El protocolo bási-

co de congelación de espermatozoides de oso pardo comprende el estudio de múltiples parámetros diferentes.

En la presente tesis doctoral desarrollada en el grupo ITRA-ULE (Investigación en Tecnologías de la Reproducción Asistida de la Universidad de León) (**Fig. 2**) se planteaba la mejora y evolución de un protocolo de congelación de espermatozoides de oso pardo valorando diferentes experimentos., bien para muestras obtenidas mediante electroeyaculación (Anel et al., 2008) o bien con de origen epididimario (Anel et al., 2011).



Figura 2. Parte de los miembros del grupo ITRA-ULE (Investigación en Técnicas de Reproducción Asistida de la Universidad de León). Foto: Manuel Álvarez-Rodríguez.

Partiendo del conocimiento previo de varios estudios de nuestro grupo que avalan la centrifugación de las muestras inmediatamente después de obtenerlas mediante electroeyaculación (Nicolás et al., 2012a), así como los diluyentes utilizados en el procesamiento inicial de las muestras (Nicolás et al., 2011), el objetivo de primer punto de esta tesis es el estudio del modo de adición del agente crioprotector (glicerol) (Álvarez-Rodríguez et al., 2011). Los resultados de este primer trabajo permitieron concluir que se pueden llevar a cabo diferentes pautas de adición del crioprotector (glicerol) sin efecto negativo sobre la calidad espermática, constituyendo una aplicación práctica en condiciones de trabajo de campo: no importa si añadimos el glicerol antes, después o la mitad en cada paso de la refrigeración. Complementariamente a este objetivo, se llevó a cabo un segundo experimento combinado de concentración de glicerol y rampas de congelación (velocidad de congelación de las muestras espermáticas, estudiadas con el fin de establecer un equilibrio entre el tamaño y cantidad de cristales de hielo que se forman durante la congelación) (de Paz et al., 2012). Para ello, con el conocimiento de parte de la composición básica de los diluyentes de conservación

espermática (Anel et al., 2008; Anel et al., 2010), logramos establecer la concentración de glicerol ideal para la congelación de espermatozoides de oso pardo (6%) así como la rampa de congelación de $-20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, ya que para el rango de 4-8% de glicerol no importa la rampa de congelación utilizada ($-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $-20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $-40^{\circ}\text{C}/\text{min}$).

Un segundo objetivo planteado en la tesis consistió en la adaptación del estabilizador de membrana (sustancias capaces de minimizar el daño sufrido por los espermatozoides durante el proceso de criopreservación) al caso particular de conservación de muestras de oso pardo. Si bien la yema de huevo ha sido rutinariamente utilizada en laboratorios de andrología durante muchos años (incluido el oso pardo (Anel et al., 2010)), en la búsqueda de alternativas a la yema de huevo (Álvarez Rodríguez et al., 2012 a), la lecitina de soja no parece ser adecuada como sustituto (para una concentración de hasta el 5%) ya que se obtienen unas pérdidas tanto en movilidad como en viabilidad muy acusadas. Sin embargo, la viabilidad obtenida con los diluyentes de LDL (lipoproteínas de baja densidad) se postulan como buena una opción sustitutoria de la yema de huevo. Complementariamente, un estudio de la capacidad antioxidante total del medio confirma los resultados obtenidos, ya que obtenemos mayores capacidades en las concentraciones más altas de LDL (10-15%).

Los diluyentes pueden estar constituidos, además de los componentes básicos, por aditivos que mejoren la “congelabilidad”, es decir, la capacidad de los espermatozoides para resistir los daños sufridos durante la congelación. Surgió la necesidad, por tanto, de estudiar componentes como las proteínas de choque térmico (HSPA8) (Álvarez-Rodríguez et al., 2012 b). Este estudio permitió demostrar el efecto beneficioso de la proteína a muy bajas concentraciones (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), contrarrestado por el efecto supresor de la movilidad que ejerce la proteína al llevar a cabo un test de progresión espermática a través de mucus artificial (compuesto por ácido hialurónico).

Por último, la recongelación espermática (Álvarez-Rodríguez et al., 2012 c: enviado para publicación en PLOS One) constituye una acción clave en el aprovechamiento de los biorecursos, debido al alto valor de las muestras obtenidas en esta especie y, en general en especies silvestres. Los buenos resultados de calidad obtenidos, tras el segundo ciclo de congelación, suponen una confirmación del protocolo especie-específico optimizado que ha desarrollado nuestro grupo a lo largo de los años. Además, la selección de los espermatozoides con mayor movilidad mediante gradientes de densidad, previamente testado por nuestro grupo en oso pardo (Nicolás et al., 2012b), permite la separación de subpoblaciones esper-

máticas con mayor movilidad. En combinación, recongelación y selección espermática, estos resultados abren una nueva vía de investigación en cuanto a la aplicación de nuevas estrategias biotecnológicas entre ciclos, como el sexado espermático (separación de espermatozoides X e Y).

En resumen, la optimización de las técnicas de valoración seminal, como la citometría de flujo (**Fig. 3**) así como las investigaciones llevadas a cabo por nuestro grupo suponen un paso de gigante hacia el conocimiento pormenorizado de los factores clave en el desarrollo y adaptación de un protocolo específico para la conservación de espermatozoides de oso pardo.

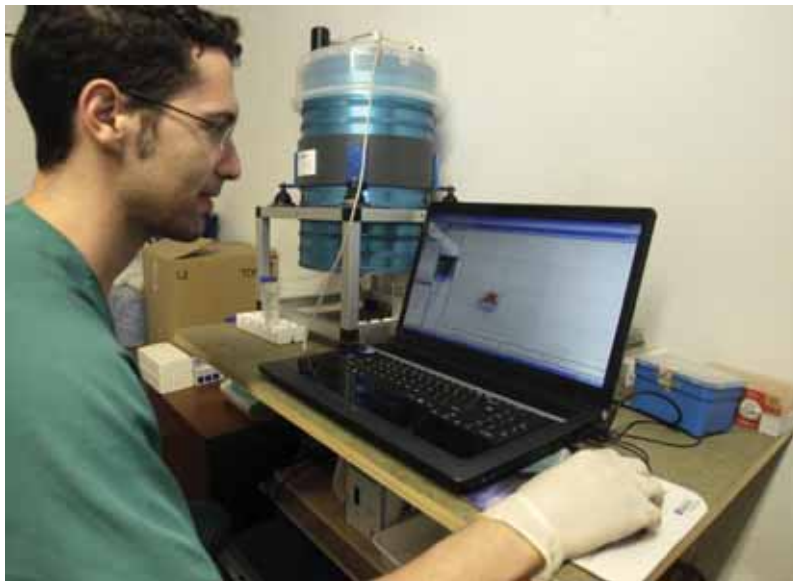


Figura 3. El autor del presente trabajo de tesis manejando un equipo portátil de citometría de flujo del grupo ITRA-ULE. Foto: www.diariomontanes.es.

Reflexión final

Me gustaría hacer mía por un instante la frase de José Vasconcelos: “Un libro, como un viaje, se comienza con inquietud y se termina con melancolía”. Si consideramos la tesis como “mi libro”, la inquietud de la investigación y el trabajo de laboratorio surgió como una expectativa real en mi vida y termina, al menos por esta etapa, con la melancolía de finalizar un sueño, el de unos padres que han sudado lo impensable por poder costear mi formación. ¡Gracias!

Bibliografía

Álvarez-Rodríguez, M., Álvarez, M., Anel-López, L., Martínez-Rodríguez, C., Martínez-Pastor, F., Borragán, S., Anel, L. y de Paz, P. 2012a. Antioxidant effect of extenders based on soybean lecithin or LDL for the

- cryopreservation of sperm from brown bear (*Ursus arctos*). *Reproduction, Fertility and Development*. Aceptado: Noviembre 2012.
- Álvarez-Rodríguez, M., Álvarez, M., Borragán, S., Martínez-Pastor, F., Holt, W.V., Fazeli, A., Anel, L. y de Paz, P. 2012b. The addition of heat shock protein HSPA8 to cryoprotective media improves the survival of brown bear (*Ursus arctos*) spermatozoa during chilling and after cryopreservation. *Theriogenology*. Aceptado: Noviembre 2012.
- Álvarez-Rodríguez, M., Álvarez, M., Borragán, S., Martínez-Pastor, F., de Paz, P. y Anel, L. 2012c. Brown bear sperm refreezing: effect of elapsed time and use of PureSperm® gradient between freeze-thaw cycles. *PLOS One*. Enviado: Diciembre 2012.
- Alvarez-Rodríguez, M., Alvarez, M., Gomes-Alves, S., Borragan, S., Martinez-Pastor, F., de Paz, P. y Anel L. 2011. Quality of frozen-thawed semen in brown bear is not affected by timing of glycerol addition. *Theriogenology* 75:1561-1565.
- Anel, L., Alvarez, M., Martínez-Pastor, F., Gomes, S., Nicolás, M., Mata, M., Martínez, A.F., Borragan, S., Anel, E. y de Paz, P. 2008. Sperm cryopreservation in brown bear (*Ursus arctos*): preliminary aspects. *Reproduction in Domestic Animals*. 1. 43: 9–17.
- Anel, L., Gomes-Alves, S., Álvarez, M., Borragán, S., Anel, E., Nicolás, M., Martínez-Pastor, F. y de Paz, P. 2010. Effect of basic factors of extender composition on post-thawing quality of brown bear electroejaculated spermatozoa. *Theriogenology*. 74:643–651
- Anel, L., Alvarez, M., Anel, E., Martínez-Pastor, F., Martínez, F., Chamorro, C. y de Paz, P. 2011. Evaluation of three different extenders for use in emergency salvaging of Epididymal spermatozoa from a Cantabrig brown bear. *Reproduction in Domestic Animals*. 46:85–90.
- de Paz, P., Alvarez-Rodríguez, M., Nicolás, M., Alvarez, M., Chamorro, C.A., Borragán, S., Martínez-Pastor, F. y Anel, L. 2012. Optimization of glycerol concentration and freezing rate in the cryopreservation of ejaculate from Brown bear (*Ursus arctos*). *Reproduction in Domestic Animals*. 47: 105-112.
- Nicolás, M., Alvarez, M., Gomes-Alves, S., Mata-Campuzano, M., Borragan, S., Martínez-Pastor, F., de Paz, P. y Anel, L. 2011. Effects on brown bear (*Ursus arctos*) spermatozoa freezability of different extender and dilution ratios used for pre-freezing centrifugation. *European Journal of Wildlife Research*. 57:259–266.

- Nicolás, M., Alvarez, M., Anel, E., Martínez, F., Borragán, S., Martínez-Pastor, F., de Paz, P. y Anel, L. 2012a. Spermatozoa recovery and post-thawing quality of brown bear ejaculates is affected for centrifugation regimes. *European Journal of Wildlife Research*. 58: 77–84.
- Nicolás, M., Alvarez, M., Borragán, S., Martínez-Pastor, F., Chamorro, C.A., Alvarez-Rodríguez, M., de Paz, P. y Anel, L. 2012b. Evaluation of the qualitative and quantitative effectiveness of three media of centrifugation (MaxiFreeze®, Cushion Fluid Equine® and PureSperm® 100) in preparation of fresh or frozen-thawed brown bear spermatozoa. *Theriogenology*. 77:1119–1128.

Directores de la tesis

Dr. Luis Anel Rodríguez

Dr. Paulino de Paz Cabello

AMBIOLOGOS DE AQUÍ

Zoólogos sin fronteras: aprender en León, enseñar en París

Santiago Aragón Albillos

Una lombriz de tierra, un cangrejo de río, una cucaracha, una ascidia, un arenque y un ratón han sido los organismos empleados en las prácticas de zoología para ilustrar el plan de organización de tres de los principales filos animales: los anélidos, los artrópodos y los cordados. En la Universidad *Pierre et Marie Curie* de París acabamos de terminar el primer cuatrimestre de docencia. Nos hemos despedido con una sesión de revisión y, una vez más, empezaremos el nuevo año civil con los exámenes. Curso tras curso, y ya van catorce para mi, esa clase de repaso ha sido el preludio de las vacaciones de fin de año y la confirmación de que, aunque debilitada por la pujanza de las disciplinas moleculares, la zoología, o si se prefiere, la biología animal, siempre será necesaria en la formación de los biólogos.



Foto reciente del autor del artículo

Me gusta decir que soy profesor de zoología. Tiene algo de romántico, de excepcional. Mucha gente se sorprende al saber que esa es tu ocupación y es que, sorprendentemente, todavía son muchos los que se preguntan acerca del interés de estudiar los animales. También hay que decir que somos pocos y apasionados. Raro es aquel que se hizo profesor de zoología porque no quedaba otra opción. Como ya han reconocido otros colaboradores de esta sección, en nosotros, en algún momento, se encendió una llama difícil de extinguir. En los de mi generación, lo dice Víctor Casas en su escrito (*Ambiociencias* nº 1), los documentales de Félix Rodríguez de la Fuente tuvieron mucho que ver. Además, y aunque no considero que el padecimiento sea condición necesaria, he de admitir que la dificultad asociada a la consecución de un puesto tan escaso en el ámbito universitario hace que uno se sienta satisfecho en su ejercicio diario.

No recuerdo en qué momento empecé a tener fascinación por los animales. Lo que sí recuerdo es la alegría que sentí al recibir, hace ya unos cuantos años, un sobre de correos en mi casa de Medina de Rioseco, en esa parte de la provincia de Valladolid que ya mira hacia León. Era la confirmación de mi matrícula en la

Facultad de Biología. Entre otros papeles había una especie de cuadernillo de tapas azules en el que se detallaba el contenido de los cursos y de las asignaturas. Por él me enteré de que el plan de estudios en León había cambiado en 1982. También supe que la mía sería la segunda promoción del nuevo plan. Pero lo mejor de todo fue saber que estudiaría zoología desde el primer año, la de los invertebrados no artrópodos. En segundo vendrían los artrópodos y en tercero los cordados. ¡Tres años enteros de zoología! La cosa no podía empezar mejor.

Los años de carrera fueron fantásticos y la zoología que pude aprender dejó más que colmadas mis expectativas. Luego pegué un giro extraño, difícil de explicar pero que, no lo puedo negar, me ha sido de gran utilidad en mi actividad profesional. En lugar de seguir la especialización en ciencias ambientales opté por las fundamentales. Incluso inicié una tesina en bioquímica que, pese a la buena voluntad de mis directores, nunca llegó a buen puerto. Sentía la necesidad de retomar la zoología en su acepción más clásica y alejarme de la molécula para recuperar el organismo. Y a partir de ahí empecé a encadenar becas e inicié mi imprescindible etapa de dispersión. Primero vino la pre-doctoral del Plan de Formación de Personal Investigador. La obtuve en la Estación Biológica de Doñana (CSIC), donde desarrollé un proyecto de biología de la conservación centrado en las escasas poblaciones de corzo que habitan en las sierras de Cádiz y Málaga.



Imagen del museo pedagógico de zoología de la Universidad *Pierre et Marie Curie* durante la visita de uno de los grupos de prácticas.

Después la primera post-doctoral, en la Universidad de Copenhague, esta vez para realizar una filogenia molecular del grupo de los cuculiformes, una herramienta indispensable a la hora de discutir la evolución del comportamiento de parasitismo de puesta en esas aves. El proyecto lo pude concluir con una nueva beca, una Marie Curie de la Unión Europea en el departamento de Ecología de la Universidad *Pierre et Marie Curie* de París.

Y estando en Francia surgió la oportunidad. La Universidad ofertó una plaza de profesor asociado de zoología y pude hacerme con ella. Para ser honestos, en todo momento pensé que la heterogeneidad de mi currículum, en el que se mezclaban corzos con cucos y una más que leve experiencia con las levaduras y el *Penicillium chrysogenum*, jugaría en mi contra. Sin embargo, el efecto fue el contrario. Por encima de cualquier especialización, mi perfil era el de un naturalista, exactamente lo que el tribunal estaba buscando. Mis cursos de zoología, mi desconcertante tránsito por el laboratorio, las sierras andaluzas y la sangre de los cucos al final habían encontrado un sentido. La ayudantía terminó convirtiéndose en titularidad y desde entonces enseñé la disciplina, me ocupé de la enorme colección pedagógica que mi Universidad heredó de la histórica Sorbona y dedi-



El autor del artículo explicando el esqueleto de una tortuga durante las Jornadas del Patrimonio celebradas en la Universidad *Pierre et Marie Curie* de París.

co mi tiempo de investigación a la historia de la ciencia, eso sí, a la de la zoología, que por lo visto es el único distintivo que parece adaptarse bien a mi trayectoria de corte generalista.

Ahora, con frecuencia observo a mis alumnos en clase. Sin querer, y pese a que el tiempo transcurrido ya es mucho, enseguida me vienen a la cabeza imágenes de lo que fue mi paso por la Facultad de Biología de León. Recuerdo lo que yo experimentaba entonces y trato de entender lo que les sucede a los que hoy estudian conmigo. No es tarea fácil, pero siempre acabas percibiendo esa pequeña llama en parte de los chicos y chicas que llenan el aula. Y es en ese momento cuando eres consciente de en qué consiste tu trabajo. Tu entusiasmo no puede haber perdido ni un ápice de lo que fue para lograr que el suyo siga adelante. Cada año te pones a prueba y cada año estás obligado a salir airoso, por encima de rutinas y aburrimientos. Por eso, espero que en enero los resultados muestren que, al menos en una parte significativa de los alumnos, la presencia del profesor ha servido para algo. En León, y en mi caso, así fue. Veremos lo que ocurre aquí, en París, este año. Les volveré a preguntar por esos organismos con anatomías que reflejan lo fundamental del plan de organización de un anélido, de un artrópodo y de un cordado, aunque esta vez les hablaré *du lombric, l'écrevisse, la blatte, la cione, le hareng et la souris* para que me entiendan.

DE TODO UN POCO

Noticias de actualidad

Celebración de San Alberto Magno 2012

Nuestra Facultad celebró la festividad de su patrono, San Alberto Magno, con una serie de actividades entre las que cabe destacar dos:

1- El Acto Académico de conmemoración de San Alberto, que tuvo lugar el día 9 de noviembre en el Aula Magna San Isidoro de El Albeitar. Este año pudimos contar con la presencia de Dña. Carmen Vela, Secretaria de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación, que impartió la conferencia “La salida al mundo laboral”. También participaron, junto con el Rector de la Universidad, la Decana y las dos Vicedecanas de la Facultad, en la imposición de insignias a los Licenciados y alumnos de Máster que finalizaron sus estudios en el curso 2011-2012, así como de la beca de la Facultad a la 16ª Promoción de Licenciados en Ciencias Biológicas con motivo de la celebración de sus Bodas de Plata. Por último, en el mismo acto se anunció la concesión de los premios “Vitatene awards for academic excellence” y “Premio fin de carrera Gadea Biopharma”. Desde este espacio queremos agradecer a ambas empresas su colaboración y apoyo en diversos aspectos de la formación de nuestros estudiantes.



Momento del Acto Académico en conmemoración de San Alberto Magno. En la fotografía, junto a la Decana y dos Vicedecanas de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales, podemos ver al Dr. Hermida, Rector Mgco. de la Universidad de León, y a Dña. Carmen Vela, Secretaria de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación.

2- La exposición de fotografías “FOTCIENCIA9”, albergada en la sala de exposiciones de la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales durante el mes de octubre. Se trataba de una selección de las 50 fotografías más destacadas del noveno certamen de fotografía científica que organizan la Fundación Española para la Ciencia y Tecnología (FECYT) y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Las imágenes expuestas ilustraban aspectos de la investigación científica y de sus aplicaciones, con el objetivo de acercar la ciencia y la tecnología a la sociedad y de potenciar la cultura científica entre los ciudadanos, a través de una visión artística y estética.

Congresos, reuniones y otras actividades

La Facultad participó muy activamente en la organización del VIII Curso de Actualidad Científica y Cultural, que organizaron la Universidad de León y la Fundación Carolina Rodríguez. El curso consistió en un ciclo de conferencias a cargo de profesionales relevantes en temas de actualidad sobre diferentes ámbitos del conocimiento, desde la Biomedicina humana y animal a la Filosofía y el Derecho. Las conferencias se impartieron en el paraninfo de la Facultad de Veterinaria entre los días 16 de octubre y 27 de noviembre y el curso fue coordinado por la Dra. Marta Eva García González, Vicedecana de nuestra Facultad. A continuación se relacionan los títulos y el nombre de los conferenciantes:

- “Narcotráfico: estrategias y capacidades ante el tráfico de drogas como instrumento del crimen organizado transnacional”. D. Ricardo Magaz Álvarez.
- “La epigenética en la era postgenómica”. Dña. María José Barrero Núñez.
- “El espíritu del Derecho”. D. César Rascón García.
- “La magia de los caballos sanadores”. D. Gonzalo Giner Rodríguez.
- “Donación de órganos y tejidos: podemos regalar vida. ¿Hay algo mejor?”. Dña. Ana María Domínguez Berrot.
- “Las regiones polares ante el cambio climático”. D. Jerónimo López Martínez.
- “El lugar del estudiante en la Universidad”. D. Juan José Díez Sánchez.
- “El protocolo universitario: togas, mucetas y birretes”. D. Juan José Lanero Fernández.
- “Células madre y cáncer infantil”. D. Pablo Menéndez Buján.
- “El fascinante mundo de las plantas”. Dña. Marta Eva García González y D. Antonio Encina García.
- “Enfermedades raras: problemas socio-sanitarios y desafíos para el

conocimiento”. D. Manuel Posada de la Paz.

- “Mitos y realidades sobre el consumo de lácteos y la salud: evidencia científica”. D. Sergio Calsamiglia Blancafort.

Un grupo de estudiantes de la Facultad realizó una visita el pasado 15 de noviembre a las instalaciones del Parque Tecnológico y de una de las empresas ubicadas en el mismo, Laboratorios Ozer, en el marco de la X Semana de la Ciencia, que coordina la Fundación Universidades de Castilla y León y cuyo objetivo es aumentar la cultura científica de los ciudadanos de la Comunidad. Desde aquí queremos agradecer su atención a todos aquellos que nos acogieron.

Noticias de nuestros estudiantes y egresados

El premio “Vitatene awards for academic excellence 2012” fue concedido a Dña. Sara García Alonso. El premio es otorgado por la empresa VITATENE al mejor expediente de la Licenciatura de Biotecnología y está dotado con 3.000 €. Así mismo, recibieron mención especial los Licenciados D. Javier García Bernardo y Dña. Silvia Villahoz Lázaro.

También se otorgó el premio “Fin de carrera Gadea Biopharma” a Dña. Romina Martínez, seleccionada por haber obtenido el mejor expediente de la Licenciatura en Biología en el curso 2011-2012. El premio es concedido por la empresa GADEA BIOPHARMA S.L. y está dotado con 3.000 €. El Licenciado D. Sergio Valbuena Álvarez recibió mención especial.

Desde estas páginas queremos darles la enhorabuena a todos.



Foto tomada en la entrega de los premios otorgados por VITATENE y GADEA BIOPHARMA S.L.

Si tienes alguna sugerencia o quieres enviarnos tus artículos, tu proyecto de tesis o alguna fotografía para la portada, ponte en contacto con nosotros:

ambiociencias@unileon.es

La edición electrónica de la revista se puede consultar en:

<http://biologia.unileon.es/descargas.htm>



En contraportada: el *Johnnysaurius legionensis* observa impávido la vida diaria del Campus de Vegazana.



Foto: J. García del Canto

★ 1968 ★



★ 2012 ★