

# Ambio Ciencias

REVISTA DE DIVULGACIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES. UNIVERSIDAD DE LEÓN



Revista nº 11  
Diciembre 2013

★ 1968 ★



★ 2013 ★



## Consejo de redacción

### Director:

José Luis Acebes Arranz      Profesor Titular del Área de Fisiología Vegetal

### Secretario:

Francisco Javier Rúa Aller      Vice-Decano de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales

### Miembros:

María Luz Centeno Martín      Profesora Titular del Área de Fisiología Vegetal

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

**Colabora:** 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:**

Bella panorámica de las Cinco Lagunas (Ávila), en la vertiente norte del macizo central de la sierra de Gredos. Ver artículo de Baúl de la Ciencia (p. 59). Foto: Francisco García Criado.

## ÍNDICE

### Editorial

#### Título

Blanca Razquín Peralta ..... 3

### A fondo

#### Constantes actualizaciones y recalitrantes creencias

Juan Manuel Nieto Nafría ..... 5

### Poniendo en claro

#### Un “pequeño” detalle: los riesgos de las nanotecnologías

Miguel García Guerrero, Guillermo Foladori .....15

#### Uso de los isótopos estables en investigaciones en Ecología

Natalia Felipe Medina, Verónica Miguel Herranz .....25

### Siguiendo la pista

#### Dejando huella: conservación de yacimientos con icnitas de dinosaurio

Esperanza García-Ortiz, Víctor Francisco Manzano, Unai Olabarrieta Palencia, Aitor Muñoz López, Julia Natalia Torres Mijarra, Mikel Echevarría Astorquiza, Natalia Marcos Vidal, Claudia Damián Cortejoso, Miguel Ángel Barrios Sánchez, Iris Belarra Salgado .....34

#### Primeros pasos para el análisis de las lesiones en secuencias específicas del ADN de ciervo: secuenciación del ADN

Jéssica Alonso Molero .....47

### Baúl de la ciencia

#### Una introducción al estudio de presiones ambientales e impactos en lagunas de montaña de Castilla y León

Francisco García Criado.....59



**Mi proyecto de tesis**

**Papel de la proteína ABCG2 en la secreción de fármacos y compuestos naturales a leche**

Jon Andoni Otero .....75

**Ambiólogos de aquí**

**20 años pasan en un suspiro...**

Sara Rodríguez Sansegundo.....81

**De todo un poco**

Noticias de actualidad .....86

## EDITORIAL

El pasado 15 de noviembre la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales celebró, un año más, la festividad de su patrón San Alberto Magno. Sin embargo, esta celebración del año 2013 tuvo un significado muy especial. En el curso 2012-13 la Facultad finalizó el proceso de implantación de los Grados y la extinción progresiva de las Licenciaturas. Por eso, en el Acto Académico, despedimos y entregamos la insignia de la Facultad a las últimas promociones de Licenciados en Biología, Ciencias Ambientales y Biotecnología, y a la primera promoción de Graduados en Biología, en Biotecnología y en Ciencias Ambientales.

Hace cuatro años, recién iniciada la implantación de los Grados, escribía en este mismo foro: *“estamos en el punto de partida de una gran carrera en la que nos jugamos el futuro de esta Facultad que siempre se ha caracterizado por la calidad de sus enseñanzas”*. Tengo que reconocer que estos años, con seis Titulaciones en marcha –ocho si incluimos los dos Masters oficiales– han sido complicados y han exigido el esfuerzo, la dedicación, el compromiso y la comprensión de todos. Nunca han sido tan aplicables los versos de Antonio Machado *“caminante no hay camino, se hace camino al andar”*. Pero en esta ocasión, creo que compartiréis conmigo que al volver la vista atrás, podemos sentirnos orgullosos de los resultados conseguidos. Por eso, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a los profesores, estudiantes y personal de administración y servicios, ya que gracias al trabajo de todos la Facultad sigue avanzando.

Quiero también desear el mayor de los éxitos a los licenciados y graduados que habéis finalizado vuestros estudios con nosotros. Os ha llegado el momento de soltar ligaduras y volar y probablemente estáis pensando que os ha tocado hacerlo en una época muy difícil; pero eso no puede ser una excusa para el victimismo. Por si os pueden ser útiles, quiero compartir con vosotros cuatro ideas que a mí me han transmitido mis maestros y que siempre me han ayudado, sobre todo en los momentos más duros.

La **primera**, hay que luchar por hacer lo que nos gusta, porque sólo así somos capaces de poner pasión en nuestro trabajo y de inspirar a otros. Yo he tenido la suerte de trabajar con investigadores y profesores que sentían esa pasión, y estar a su lado ha sido la mejor motivación.

La **segunda**, no hay que tener miedo, hay que atreverse. Rita Levi Montalcini, premio Nobel de Medicina en 1986, que tuvo que enfrentarse tanto a

las convenciones sociales como al fascismo italiano durante la Segunda Guerra Mundial, decía “*no temáis a las dificultades, lo mejor surge de ellas*”.

La **tercera**, tenemos derecho a equivocarnos, los errores no son fracasos, nos hacen más sabios y más fuertes, como decía Henry Ford, fundador de la Ford Motor Company, que no alcanzó el éxito hasta su tercer proyecto empresarial, “*el fracaso es sólo la oportunidad de comenzar de nuevo de forma más inteligente*”.

Y la **cuarta**, es necesario unir nuestras fuerzas con las de otros; ningún gran descubrimiento es obra de una sola persona. El trabajo en equipo puede parecer más lento, pero se llega más lejos. Lynn Margulis, una de las figuras más destacadas de la Biología Evolutiva, decía “*la vida es una unión simbiótica y cooperativa que permite triunfar a los que se asocian*”.

Con estos pensamientos en voz alta quiero animaros a luchar por vuestros objetivos y daros las gracias por haber compartido estos años tan importantes de vuestra vida con nosotros.

Blanca Razquín

## A FONDO

### Constantes actualizaciones y recalcitrantes creencias

Juan Manuel Nieto Nafría

Catedrático de Zoología. Universidad de León.

En esta ocasión hemos incluido en esta sección la conferencia impartida por el Dr. Nieto Nafría con motivo de la festividad de san Alberto Magno en el año 2013.

Hace unos días cuando jugaba con el esbozo de esta conferencia, oí a don Antonio Muñoz Molina, último premio Príncipe de Asturias de las Letras, algo con lo que podía mejorar mucho el comienzo de la conferencia. Decía Muñoz Molina a propósito de “escribir”: *«El sueño, el deseo, el capricho —como el de ser biólogo, ambientalista, biotecnólogo añadido yo—, no llegan a cuajar en nada si no se convierten en un oficio. Un oficio, cualquier oficio, requiere una inclinación poderosa y un largo aprendizaje. Un oficio es una tarea que unas veces resulta agotadora o tediosa por la paciencia y el esfuerzo sostenido que exige».*

Y añadía Muñoz Molina acto seguido: *«Un oficio es una tarea práctica: uno hace algo que le gusta y que a costa de aprendizaje y empeño ha logrado hacer con cierta garantía de solvencia, pero no lo hace para sí mismo [...] el resultado que se obtiene de ella alcanza una existencia objetiva [...] y pasa a integrarse beneficiosamente en las vidas de sus destinatarios».*

Quiero hacer notar que estas palabras de Muñoz Molina, o quizás la interpretación que yo he hecho de ellas, encajan bien con el título de esta conferencia.

De esos párrafos quiero resaltar:

- 1.º) Que a los oficios —en este caso a los amplios oficios de biólogo, ambientólogo o biotecnólogo— se accede por algo, por una inclinación suficientemente poderosa.
- 2.º) Que el oficio exige un largo y nunca finalizado aprendizaje.
- 3.º) Que la práctica solvente del oficio beneficiará al cuerpo social en su conjunto, aunque sea en una nanounidad de medida.

El oficio hay que mantenerlo constantemente, con más estudio, con más trabajo de estudio, de observación, de búsqueda, que permita que los conocimientos y capacidades ya poseídos no se anquilosen y que, por el contrario se acrecienten. La actualización exige añadir, pero también exige podar —sí, he dicho podar, que es diferente a desgajar—; podar para que lo que se sepa no sea un conglomerado sino una correcta mixtura. No deberíamos consentir que nada

de lo que sabemos sea desgajado de nuestro conocimiento; como mucho podríamos consentir en hibernarlo, en congelarlo en nitrógeno líquido, para poder recuperarlo cuando lo necesitemos.

Además, es necesario que todo lo que conservemos en la memoria esté bien podado, bien florido, sin ramas viejas y en gran medida deterioradas que, si dieran frutos, serían frutos agraces e incluso mohosos. No pueden mezclarse las ramas de ciencia pulcra, actualizada, refulgente, con ramas de creencias con orín, anticuadas, mates. Puede uno estar convencido —puede uno creer— que es fácil podar esas ramas, pero no es así —¡de verdad!—, no es así porque no siempre distinguimos bien qué es lo que debemos podar y qué debemos conservar.

Las ramas que hay que podar no siempre se nos muestran roñosas, anticuadas, mates, sino que las vemos lozanas, porque somos nosotros mismos quienes las limpiamos y lustramos; somos nosotros mismos quienes les damos categoría de creencia en cualquiera de las dos acepciones que da el Diccionario para ese vocablo: «Firme asentimiento y conformidad con alguna cosa», y «Completo crédito que se presta a un hecho o noticia como seguros o ciertos».

Incluso porque en su día nos las injertamos —las incorporamos a nuestro acervo de conocimientos— con fecha de caducidad ya vencida. Lo cual sin duda ha sucedido entre las paredes de centros de enseñanza, incluso entre las paredes de esta Facultad. Y éstas últimas son creencias auténticamente recalcitrantes.

### **Creencias recalcitrantes**

El ya fallecido catedrático de Harvard, Stephen Gould, en *La vida maravillosa* expuso un ejemplo paradigmático de creencias recalcitrantes, al describir cómo los prejuicios de muchos científicos —probos, competentes, considerados—, más que las carencias instrumentales, impidieron interpretar correctamente los fósiles de los esquistos de Burgess.

Veamos otros ejemplos, relacionados todos con lo zoológico, por motivos obvios.

Los animales se han usado como figuras literarias de vicios, virtudes y estados de ánimo de nosotros los humanos; así ha sido y así sigue siendo en nuestra cultura y en todas las demás. Algunas veces esas figuras han quedado relegadas al olvido, en otros casos perduran. Pero es innegable que para que la figura literaria se produjese algo tenía que haber sido percibido, creído como real por los hombres de la cultura correspondiente.

Para el testero del coro alto de la iglesia de San Esteban de Salamanca, pintó Antonio Palomino el *Triunfo de la Iglesia* (**Fig. 1**). En este cuadro, el carro



de la Iglesia Triunfante atropella a los siete vicios, representados por animales. Palomino asignó la soberbia al pavo, la avaricia al lobo, la lujuria a la cabra, la ira al oso, la gula al avestruz, la envidia al perro, la pereza a la tortuga. Es evidente que los españoles de la época no necesitaban explicaciones. Hoy casi todas esas asignaciones han perdido valor. ¿Pero han perdido vigencia para nosotros las relaciones: lobo maldad, zorro astucia, león nobleza, gallo gallardía y en cambio gallina cobardía? No, no la han perdido.



**Figura 1.** El Triunfo de la Iglesia, de Antonio Palomino.

¿Cuántas veces hemos oído e incluso dicho que el hombre es lobo para el hombre? “El hombre es lobo para el hombre” repetimos siguiendo a Hobbes, o ¿debería decir sacando de contexto la frase de Hobbes? No voy a entrar en si lo que en el fondo afirma Hobbes es cierto o no —¡hay mucho escrito sobre ello!— pero sí en lo que a primera vista pone en evidencia la frasecita: ¡la maldad del lobo! Bien está como figura literaria valida en su momento, pues hay que ponerse en los conocimientos que Hobbes podía tener sobre la bionomía y sobre la diversidad animal, pero ¿no es menos cierto que muchos de nuestros conciudadanos lo siguen creyendo así, y que por ello “no hay mejor lobo que el lobo muerto”?, y muchos de quienes así piensan han seguido cursos de ciencias naturales en nuestros centros de enseñanza, impartidos por egresados de nuestras universidades.

Presuntas astucia y nobleza libran respectivamente al zorro y al león de ser catalogados como malos redomados. Bien está como figura literaria

—repito—, pero también sabemos que en el zorro la astucia viene determinada por su actuación solitaria y no en grupo, y de la nobleza del león mejor que no hablemos, pues quizás sea entre los félidos actuales el que más se aparte de un comportamiento que pudiéramos calificar como tal.

Muchos de esos animales figuras literarias surgen de la Fábulas de Esopo, quien vivió —si es que fue una persona real— en la Grecia del siglo VI antes de Cristo, aunque por muchos puede ser conocido gracias a la pluma de otros autores más cercanos, como La Fontaine o Samaniego, de la Francia de finales del XVII y de la España del XVIII.

Algunas de las fábulas atribuidas durante siglos a Esopo, no son suyas sino de Babrio, que vivió a caballo de los siglos I y II; una de éstas es la de la cigarra y la hormiga (**Fig. 2**).



**Figura 2.** Ilustración basada en la fábula de la cigarra y la hormiga.

Esta fábula es una de las que muestra un choque más evidente entre las acciones que se atribuyen a los animales y lo que estos realmente hacen, y que en buena parte ya se conocía en época de los autores.

¿Qué tiene que ver el canto de atracción sexual —por cierto inmediato anterior a la muerte— de las cigarras que se han pasado varios años hurgando en el suelo en busca de raíces, con esa holgazana cantarina con la que nos las retratan?; y en cuanto a la laboriosidad de las hormigas... ¿qué he de contar yo de su control feromonal desde el nacimiento?

Pero —me dirán ustedes— esos son figuras literarias.

Bien, veamos algunos otros ejemplos, si no más serios, sí académicamente más formales.

Ejemplos de tres clases: uso recalcitrante de conceptos antiguos, uso recalcitrante de conceptos periclitados ya cuando se aprendieron, uso de conceptos recalcitrantemente mal atribuidos.

### **Uso de conceptos antiguos**

Tres ejemplos de creencias recalcitrantes en conceptos antiguos son las posiciones taxonómicas de las familias Linguatulidae, Siboglinidae y Myxobolidae y sus respectivas afines.

Los integrantes de la familia Linguatulidae son, junto con los integrantes de otras familias próximas —unas 130 especies en total— parásitos de vías respiratorias de algunos reptiles, aves y mamíferos.

Con el nombre de Pentastomida, fueron clasificados en un taxón de posición dudosa, Pararthropoda. Pasaron después a ser considerados un filo más en la clasificación de Animalia.

Los estudios moleculares desvelaron su posición real: son crustáceos maxilópodos, miembros del filo Arthropoda por lo tanto. Hay quien prefiere colocarlos como una subclase más de la clase Maxillopoda y hay quien gusta de colocarlos claramente en la subclase Copepoda.

¿Por qué durante decenios no se pudo admitir que eran crustáceos? Considerando la cantidad de copépodos parásitos que se conocen y que presentan aspectos estrambóticos en nada parecidos a los de un copépodo planctónico no hubiera sido raro hacerlo así.

La respuesta es sencilla: porque no tienen fase larvaria, no tienen nauplio, y porque son parásitos de amniotos, mientras que los parásitos de vertebrados siempre considerados copépodos lo son de osteíctios.

La actual familia Siboglinidae incluye unas 100 especies marinas y bentónicas, muchas de ellas abisales. Su paseo por la clasificación taxonómica de los Animales ha sido mucho más espectacular que el de los Pentastómidos. Muchos de nuestra edad los estudiamos y los explicamos durante años como un filo de animales muy peculiares —no tienen tubo digestivo— integrado en los Deuterostomados.

Cuando en los dragados del fondo marino aparecieron ejemplares completos y se reescribió su organización pasaron a ser un filo de Protostomados, cercano a Annelida; filo complejo, con dos clases. Tras varias vicisitudes hoy se clasifican en el orden Sabellida de la clase Polychaeta.

Si vistoso es ese deambular por la clasificación, lo es más el seguido por las familias que se agrupaban en los Cnidosporidios.

Aún recuerdo los apuros por los que pasaba mi profesor de Zoología en Salamanca, Dr. de Haro, para explicarnos que aquellos seres eran protozoos, pese a su pluricelularidad. No fueron apuros menores los que pasamos muchos profesores de mi generación y de algunas posteriores para seguir manteniendo la posición protística de estos seres; y los pinitos que hacíamos para explicar si la presencia de zarcillos en las esporas —realmente cnidos— eran convergencia evolutiva o preadaptación.

Zoólogos soviéticos de los ochenta los llevaron a los Cnidaria —ipasándolos del reino Protista al reino Animalia!— ante la incredulidad de los occidentales. Las secuencias nucleínicas no dejan lugar a dudas, son Cnidarios, aunque su posición taxonómica exacta sigue en discusión.

### **Uso de conceptos ya periclitados cuando se aprendieron**

Dos ejemplos de recalitrantes creencias de conceptos ya periclitados cuando se aprendieron: peces e invertebrados como entidades naturales.

En uno de sus libros, el profesor Wilson recoge un proverbio chino que me gusta repetir: «La base de la sabiduría es saber llamar a las cosas por su nombre».

Es indudable que los nombres invocan conceptos, aunque las polisemias a veces nos jueguen malas pasadas por no tener en cuenta los contextos. Y en el tiempo que corre es indudable también que los nombres de los taxones —y también de los zootaxones obviamente— deben significar algo natural, algo naturalmente evolutivo, algo filogenético.

¿Por qué hay tantos biólogos, iy de tantas leguas!, que siguen utilizando los términos «peces cartilagosos» y «peces óseos» en vez de condriictios y osteictios, respectivamente? Me dirán: por la dificultad de los nombres. Pero ¿a que no es por eso?

Me dirán: porque eso es lo que significan esos vocablos, ¿no es así? Pero ¿por qué decimos entonces odontocetos y mistacocetos en vez de cetáceos dentados y cetáceos barbados —nombres bien descriptivos— e incluso podríamos mejorarlo: ballenas dentadas y ballenas barbadas? Me dirán: porque a fin de cuentas son peces, ¿no? Y ahí está el problema.

Don Carlos Linneo, escribió en su celeberrimo *Systema Naturae* (**Fig. 3**) que el reino Animal —utilizando la forma de expresarse de Linnaeus, Animales debemos decir hoy— se divide en 6 clases, siendo Piscis una de ellas.

Peces es un taxón con extensión linneana, y tan poco natural como

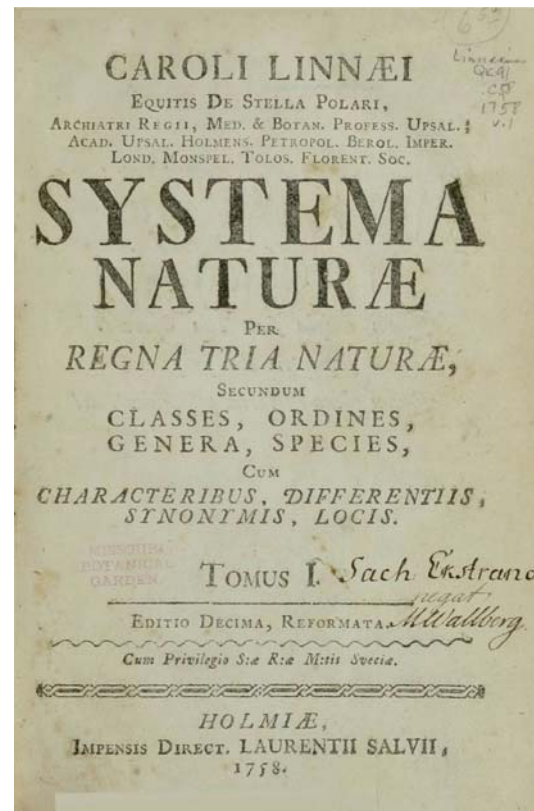
muchos otros de su clasificación. Pero a pesar de sus lógicas deficiencias, la clasificación linneana —la propia de Linnaeus— no incluye a los «invertebrados».

Tampoco Cuvier, quien introdujo una nueva categoría taxonómica, la que ahora en Zoología llamamos filo -usó ese nombre-. Tras estudiar ampliamente la anatomía de muchos animales, consideró Cuvier que el reino se debía dividir en *Animalia vertebrata*, *Animalia mollusca*, *Animalia articulata* y *Animalia radiata*. Ciertamente para él, predarwinista, los invertebrados no tenían entidad científica ninguna. Tampoco han utilizado el término invertebrados ilustres darwinistas decimonónicos. Como ejemplo valga Haeckel, nada dudoso de acientifismo ni de conservadurismo.

¿En quién, pues está el origen de la dicotomía vertebrado / invertebrados?

En Lamarck, que desde 1794 impartía cursos de Zoología de los Invertebrados en el *Muséum national d'Historie naturelle* de París, y a quien le pareció que las denominaciones de *Animaux à vertèbres* y *Animaux sans vertèbres*, es decir “Animales con vértebras” y “Animales sin vértebras” se ajustaba mejor a la realidad que las denominaciones aristotélicas de animales con sangre (Enaima) y animales sin sangre (Anaima).

Pero es necesario destacar que en su *Philosophie Zoologique* dejó patente que esta división tenía motivos didácticos, escribiendo que el estudio de los animales sin vértebras es singularmente interesante porque, entre otras cosas, las variaciones en su organización son mucho mayores que las que se pueden observar en los animales con vértebras. Mientras se dé, pues, al término invertebrados ese sentido primigenio relacionado con la enseñanza, nada hay que objetar a su uso, pero mucho hay que objetar si se utiliza con otras intenciones o si con su uso se da pie a pensar que se trata de una entidad natural.



**Figura 3.** Portada de la edición de 1758 de *Systema Naturae*, de Carlos Linneo.

## Uso de conceptos mal atribuidos

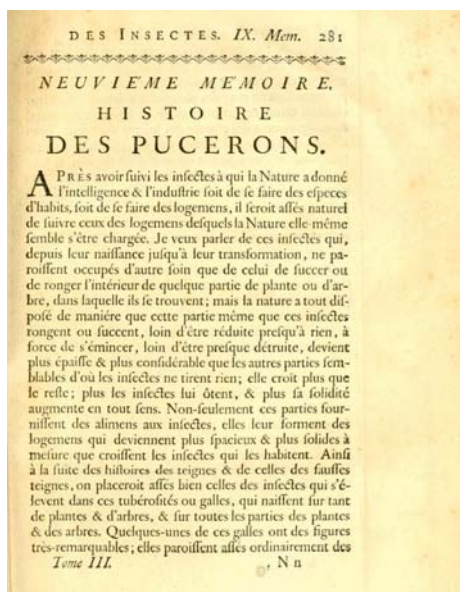
Y para terminar, un ejemplo de recalitrantes creencias de conceptos mal atribuidos, en relación con la reproducción de los pulgones y con la producción de melaza por esos mismos insectos.

Sabemos que los pulgones o áfidos son heterogónicos, es decir, presentan una generación anfigónica, con machos y hembras ovíparas, que ponen los huevos de invierno, y varias generaciones sucesivas de hembras partenogénicas; diploides tanto los machos como todas las hembras. Presencia de alas y apterismo no tienen que ver con el sexo, sino que depende de la situación de la generación en el ciclo y de las especies.

También sabemos que la melaza que producen es la deyección o defecación —vía anal, por supuesto— de la savia no digerida; realmente de la savia que ni tan siquiera ha transitado por todo el digestivo, sino que se ha saltado parte de él, mediante transportes a través de membrana en la cámara filtrante, peculiaridad anatómica de la que están provistos éstos y otros insectos emparentados con ellos.

Sabemos —decía—. Pero en muchos lugares se leen aún cosas como que los pulgones tienen hembras ápteras y machos alados, o que la melaza es excretada por los cornículos.

El suizo Charles Bonnet sabía allá por 1745 qué era lo cierto, aunque no utilizaba la jerga técnica que yo acabo de utilizar. Él fue quien descubrió, describió y valoró la partenogénesis por primera vez, aunque no la llamara así. Él fue quien vio que las hembras de pulgón que parían no habían tenido contacto con ningún macho, inexistentes por otra parte. Él fue quien vio que a finales del otoño sí que había machos, que había cópulas y que había puestas de huevos. En



la misma obra que relata todo lo anterior, *Observations sur les pucerons*, expone también cómo y por dónde los pulgones eliminan la melaza.

Se suelen atribuir todas las inexactitudes antes relatadas a Réaumur, que lo habría escrito en sus *Mémoires pour servir a l'histoire des insectes* (Fig. 4), de 1737, en concreto en la *Neuvième mémoire, Histoire des pucerons*.

**Figura 4.** Una de las páginas de *Mémoires pour servir a l'histoire des insectes*, de Réaumur.

En ella se refiere a la reproducción vivípara — como vemos que dibuja — y expone que se produce sin que se perciban machos, llegando a evaluar la hipótesis de si los machos no pasarán desapercibidos o si actuarán sobre hembras aún no maduras. Para alcanzar este supuesto se basa en lo escrito por van Leeuwenhoek sobre la presencia de embriones en varios estados de desarrollo en el interior de hembras aún no maduras pero ya grávidas de pulgones. Y también escribe, con ilustraciones, sobre la existencia de hembras vivíparas ápteras y aladas.

Y en cuanto a la melaza no me resisto a traducirles lo que dice: «El motivo que lleva a las hormigas a buscar a los otros pulgones, es el mismo que las lleva a buscar a éstos —está escribiendo sobre una especie de *Stomaphis*—. Ellos expulsan por su ano un agua azucarada, que de seguro gusta a las hormigas. He visto a una hormiga lamer una gota que el insecto acababa de poner fuera de su cuerpo y que aún estaba adherida a su trasero; la hormiga no dejó nada».

¿De dónde han salido esas creencias incorrectas y recalcitrantes? Lo siento, no se lo puedo decir; no sé quién fue el inventor, ni sé quien fue el que las atribuyó inadecuadamente a Réaumur. Pero ahí están repitiéndose y repitiéndose.

Si comenzaba esta intervención apoyándome en don Antonio Muñoz Molina, quiero terminar haciéndolo en don Felipe de Borbón, Príncipe de Asturias, que en ese mismo acto de entrega de Premios decía hablando de España: «*Pero muchas veces nos olvidamos de que el activo más sólido —el activo de mayor valor con el que contamos— es precisamente nuestra gente*». Y también: «*Son muchos, son millones los españoles que cada día batallan para salir adelante con honestidad, con esfuerzo, con valentía y con humildad; ellos son los que realmente hacen de España una gran Nación que vale la pena vivir, y querer, y por la que merece la pena luchar*».

Biotechnólogos, ambientólogos y biólogos por la Universidad de León: que por vosotros no quede; trabajad con ilusión, con honestidad, con esfuerzo, con valentía y con la humildad necesaria para actualizar vuestros conocimientos y capacidades y para desechar creencias inútiles. ¡Hacedos grandes, sed el florón de nuestra universidad y haced grande a España, y con ella a la humanidad toda!



**Juan Manuel Nieto Nafría** es licenciado y doctor en Ciencias (Sección de Biológicas) por la Universidad de Salamanca, y profesor de la Universidad de León desde su fundación, pues se había incorporado a la entonces Facultad de Biología de León de la Universidad de Oviedo en 1977 como Profesor Agregado de Zoología (Artrópodos); es catedrático de universidad de Zoología en 1981.

Además de director de departamento en varios periodos, ha sido secretario de la facultad de Biología, Decano de la facultad de Biología, Secretario General de la Universidad, Vicepresidente para la investigación de la Comisión Gestora, y Rector (en el cuatrienio 1986-1990).

Su investigación está centrada en la taxonomía, bionomía y faunística de los pulgones, de España, y también de Argentina, Chile, Bélgica y países del Oriente Medio. De sus publicaciones de investigación destacan los tres volúmenes dedicados a ese grupo de insectos en la serie Fauna Ibérica y el bilingüe *Registers of family-group and genes- group taxa of Aphidoidea – Registros de los taxones del nivel familia y del nivel género de Aphidoidea*. Es Group Coordinator de Aphidoidea en el proyecto Fauna Europaea. Ha descrito nuevos géneros y una treintena de nuevas especies. Ha participado activamente en los congresos ibéricos de Entomología y en los simposios internaciones de Afidología, organizando el primero (en León) y décimo (en Zamora) de aquéllos, y el quinto de éstos (en León también). Socio fundador de la Asociación Española de Entomología y su primer secretario y director del Boletín de la AeE. Participó en la gestación de la Asociación de Licenciados en Biología de España y años después en la del Colegio Oficial de Biólogos.



## PONIENDO EN CLARO

### Un "pequeño" detalle: los riesgos de las nanotecnologías

Miguel García Guerrero<sup>1</sup>, Guillermo Foladori<sup>2</sup>

Red Latinoamericana de Nanotecnología y Sociedad, [www.relans.org](http://www.relans.org)

1.- [miguel@grupoquark.com](mailto:miguel@grupoquark.com); 2.- [gfoladori@gmail.com](mailto:gfoladori@gmail.com)

Las nanotecnologías se perfilan como una de las más importantes revoluciones científicas del nuevo milenio: ya son una realidad en la producción de textiles, cosméticos y electrónicos; además, ofrecen la promesa de beneficios importantes para la salud humana, la producción de energía y el avance de la electrónica. Pero no todo es color de rosa, como ocurre con cualquier nueva tecnología, las nanotecnologías implican riesgos que deben ser tomados en cuenta para sacarles un máximo provecho sin afectar elementos como la salud humana, el medio ambiente o el empleo. La Red Latinoamericana de Nanotecnología y Sociedad (RELANS) realizó un trabajo para identificar estudios científicos que refieren riesgos asociados a las nanotecnologías y establecer la importancia de la regulación de su producción, distribución comercial y manejo de residuos.

**Palabras clave:** nanociencias y nanotecnologías, riesgos de nuevas tecnologías, principio de precaución, revoluciones tecnológicas.

El inicio de un nuevo campo del conocimiento siempre es un hecho emocionante, especialmente para sus protagonistas. Imagina la oportunidad de ser un pionero científico, abrir brecha para generaciones futuras y -¿por qué no?- hasta llevarte un Premio Nobel en el proceso. Suena como "La Oportunidad" de la vida, ¿verdad? Probablemente es por esto que con frecuencia los investigadores, en su entusiasmo, se centran en las bondades de sus hallazgos y no ponen mucha atención a los riesgos. Quizá esto también tiene que ver con el hecho de que buscan conseguir recursos para mantener sus investigaciones y los descubrimientos peligrosos no siempre emocionan a los posibles patrocinadores.

Así ocurrió hace poco más de un siglo con el estudio y aprovechamiento de la radiactividad natural. Si bien en un inicio el descubrimiento de Henri Becquerel no recibió mucha notoriedad, cuando Madame y Pierre Curie empezaron a obtener resultados más importantes muchas personas se animaron bastante con el asunto.

Y no era para menos: había materiales radiactivos -como el Uranio, el Polonio y el Radio- que sin ayuda de ningún agente externo estaban liberando

energía; emitían rayos X, rayos gamma, así como partículas a grandes velocidades -electrones y núcleos de helio. Rápidamente se encontraron aplicaciones como el uso de los rayos X para producir imágenes del interior del cuerpo de las personas, una verdadera revolución para la medicina.

Esto generó un entusiasmo que fue más allá de la comunidad científica. Muchas empresas empezaron a incluir elementos radiactivos en productos como pastas de dientes, tónicos "medicinales", cremas faciales, manecillas de reloj, supositorios y hasta vigorizadores sexuales. Las supuestas virtudes de la radiactividad incluso encontraron un territorio fértil en la fantasía del mundo de los héroes de historieta, recordemos que el Hombre Araña obtuvo sus poderes luego de ser picado por una araña radiactiva.

Desafortunadamente, todo esto se lanzó al mercado sin tomar en cuenta los riesgos a los que los productos radiactivos podían exponer a sus usuarios y a las mismas personas que los fabricaban. Existían antecedentes al respecto pero pocas personas los conocían: a inicios del siglo XX un equipo alemán dio a conocer un informe sobre los efectos nocivos de las emisiones radiactivas en el cuerpo humano. El daño podía ir desde quemaduras, malestar general, náuseas y hasta, con mayores exposiciones, cáncer.

Los resultados no fueron tomados muy en serio ni fueron divulgados de forma adecuada, de modo que los laboratorios y las fábricas mantuvieron sus labores sin tomar las precauciones necesarias. No se trataba de dejar de lado este importante hallazgo científico, la clave era dar a conocer -a todas las personas involucradas- los peligros asociados a los materiales radiactivos y tomar las medidas necesarias para minimizar los riesgos al aprovecharlos. Para el caso específico de la radiactividad, después de varias décadas de problemas se consiguió corregir el error; existen muchas regulaciones para proteger a los individuos expuestos, pero para llegar a esta situación miles de personas -entre investigadores, obreros y consumidores- fueron víctimas de la radiación.

Sin embargo, aún cuando se considera que un riesgo ya está controlado surgen nuevos conocimientos que obligan a modificar los criterios de protección. Nuevas regulaciones y procedimientos de seguridad, aplicados en la década de 1990, redujeron 4 veces el porcentaje de riesgo de cáncer derivado de radiaciones. Ahora bien, con el tiempo también surgen presiones para aumentar el uso de aparatos que implican riesgo: actualmente existen muchos aeropuertos que escanean el cuerpo de los pasajeros con máquinas de rayos X de baja intensidad (250 dispositivos, tan sólo en Estados Unidos), aún sabiendo que el efecto de las radiaciones se acumula en el organismo.

No debemos olvidar que, como dice el Hombre Araña, todo gran poder implica grandes responsabilidades (de hecho la frase original, en su esencia, viene del filósofo francés Voltaire). Y, en una sociedad dominada por los avances tecno-científicos, se debe tener presente un hecho ineludible: cualquier tecnología nueva trae consigo riesgos que deben ser tomados en cuenta antes de introducirla al mercado. Debe ponerse atención y cuidado a los impactos negativos que el nuevo desarrollo podría implicar para las personas involucradas en las actividades de investigación, innovación, manufactura, transporte, consumo y disposición final de los residuos.

En la última década hemos atestiguado el enorme crecimiento de las nanociencias y nanotecnologías, un conjunto de sistemas tecnocientíficos que se perfilan para tener un gran impacto en el mundo del siglo XXI. Hay quienes la proyectan como una nueva revolución industrial con aplicaciones en un sin número de actividades humanas. Pero no se trata sólo de un potencial futuro, de lo que podría venir, en realidad ya está presente en el mercado a través de una gran variedad de productos que incluyen alimentos, cosméticos, electrodomésticos, equipos de cómputo, teléfonos, medicinas, textiles, cerámicas y materiales de construcción, entre otros.

Aunque los productos con componentes nano no representan un peligro tan grave como el de los materiales radiactivos en su momento, los riesgos existen. Es una realidad a la que, para bien o para mal, ya estamos expuestos y en muchos casos sin darnos cuenta siquiera. Y es que el entusiasmo ante estos nuevos desarrollos ha sido tan grande por parte de investigadores, gobiernos y empresas que ha faltado más cuidado a la hora de lanzar al mercado los productos de las nanociencias y las nanotecnologías.

Debemos aclarar que se habla de estos desarrollos en plural, porque se trata de sistemas tecnocientíficos muy diversos, con aportes y avances en varias disciplinas: física, química, biología, ciencia de materiales, computación, medicina, etc. Asociar estos aportes tan variados a la misma tecnología sería como incluir en la misma categoría a una jeringa, un lápiz labial y un apuntador láser. Para las nanotecnologías -con todos sus enfoques y aplicaciones- sólo existe un factor de convergencia que se encuentra en el tamaño: la dimensión nano.

Un nanómetro mide 0,00000001 metros ( $10^{-9}$  m), es decir, se trata de la millonésima parte de un milímetro. El trabajo de estas nuevas tecnologías consiste en la creación de materiales, dispositivos y sistemas útiles a través de la manipulación de la materia a escala atómica y molecular. Esto comprende

objetos con tamaños entre 1 y 100 nanómetros.

Pero para tener una mejor idea del tamaño al que nos referimos, vale la pena tomar un poco de perspectiva. El metro es el patrón por excelencia para medir el tamaño de las cosas y viene siendo algo así como la altura de una estufa (mil millones de nanómetros). El lado más corto de una foto tamaño postal mide 0.1 metros, un decímetro. El ancho promedio de la uña del dedo índice de las personas mide un centímetro. Un grano de azúcar morena mide alrededor de 1 milímetro de diámetro (1 millón de nanómetros), mientras el cabello humano promedio tiene un grosor diez veces más pequeño (0,0001 metros).

Hasta aquí todos los objetos mencionados los podemos ver a simple vista, si queremos observar objetos más pequeños necesitamos microscopios; los más comunes -y menos potentes- son los ópticos que usan lentes para concentrar la luz proveniente del cuerpo en cuestión y mostrarnos una imagen más grande. Así podemos ver las células de piel humana que miden alrededor de 30 micras (30.000 nanómetros), los glóbulos blancos de la sangre -de unas 10 micras- y las mitocondrias de las células, cuyo grosor ronda los 1000 nanómetros (1 micra).

Pero para cosas aún más diminutas los microscopios ópticos ya no sirven. Esto se debe a que la luz es una onda y sólo permite observar objetos más grandes que su longitud de onda (que va de 400 a 750 nanómetros, dependiendo del color de la luz). Cuando la luz se encuentra con un objeto más pequeño que su longitud de onda, en vez de rebotar en él para permitirnos verlo, simplemente lo atraviesa como si no hubiera nada ahí.

Para producir imágenes de cosas de menor tamaño se necesitan rayos con una longitud de onda aún más diminuta. Los rayos X -con una longitud de entre 0,1 y 100 nanómetros- serían una buena opción pero son muy penetrantes y simplemente atraviesan los objetos que se pretende observar. En su lugar se aprovecha que los electrones, una de las partículas que forman el átomo, pueden portarse como ondas y, con la energía adecuada, funcionan como rayos para tomar imágenes de objetos de 10 nanómetros o más. Con los microscopios de electrones es posible observar algunos virus -como el del sida y la influenza- con un tamaño de 100 nanómetros, así como los anticuerpos que defienden nuestro organismo de agentes externos y que andan por los 12 nanómetros.

Ya estamos en el tamaño de interés, pero si queremos llegar a objetos aún más pequeños necesitamos aparatos todavía más sofisticados. A pesar de que en sentido estricto a éstos podríamos llamarles nanoscopios, y suena muy bien, en realidad se les conoce como microscopios de fuerza atómica. Se trata de aparatos que exploran la superficie de un material a nivel molecular o incluso de átomos

individuales. Gracias a estos aparatos, creados en los laboratorios de IBM a inicios de la década de 1980, es posible observar -entre muchas otras cosas- la molécula de la glucosa (azúcar) que mide aproximadamente un nanómetro y el átomo de cloro, con un diámetro de 0,1 nanómetros.

Precisamente la aparición de los microscopios de fuerza atómica fue una especie de banderazo para el desarrollo de las nanociencias y nanotecnologías. Aunque una importante idea que condujo a estos avances fue planteada por el físico norteamericano Richard Feynman en 1959, por lo general se identifica el inicio real del trabajo en la materia con la creación de los "nanoscopios". Gracias a estos aparatos por primera vez se hizo posible observar y manipular la materia con una precisión prácticamente atómica.

Y las cosas se pusieron realmente interesantes. A esta escala la materia presenta propiedades muy distintas a las que podemos encontrar en la vida cotidiana: entran en juego los principios de la mecánica cuántica, los ajustes en el acomodo de átomos y moléculas pueden cambiar radicalmente las propiedades de un material y, además, cuando crece el área de contacto entre materiales también aumenta su reactividad química. Todo esto se puede aprovechar para un enorme número de aplicaciones que van de la biología a la ciencia de los materiales, la electrónica y la química, por mencionar algunos campos.

Muchos consideran que la nanotecnología es un sistema clave para el futuro, a tal grado que en los últimos 11 años a nivel mundial los gobiernos han destinado 67,5 miles de millones de dólares para apoyar investigaciones en el área. No se podría decir que ha sido una mala inversión: el valor de los productos que contienen nanocomponentes se estima en cerca de 1,4 billones (millones de millones) de dólares para mediados de esta década.

Desafortunadamente en algunos aspectos el boom de los productos con nanocomponentes ha replicado algunos de los problemas que se vivieron con la radiación un siglo atrás. Se han creado productos efectivos para aplicaciones específicas pero que se lanzan al mercado antes de comprobar la ausencia de impactos negativos para los consumidores o las personas que los fabrican.

Pareciera que muchas empresas no consideran una prioridad las medidas de precaución para estas nuevas tecnologías. Pero no siempre es suya toda la responsabilidad, hay casos en que la falta de cuidado resulta del desconocimiento; los riesgos pocas veces se dan a conocer fuera de los círculos académicos, los gobiernos aún no reglamentan el asunto y así los empresarios a veces ni se enteran.

Pero cuando se trata de la salud, más vale un "por si acaso" que un "quién

lo iba pensar". A todos los niveles debe procurarse un enfoque precautorio que ayude a evitar situaciones de riesgo para sacar un máximo provecho de las nanotecnologías. No se trata de caer en un amarillismo en la información o en un fanatismo anti-nano, por el contrario, la mejor forma de promover las nanociencias y nanotecnologías es aprovechándolas de la forma más segura posible.

Aquí entra en juego el principio de precaución, que señala: "Cuando una actividad amenaza a la salud humana o al ambiente, deben tomarse medidas de precaución, inclusive cuando la relación causa-efecto no esté totalmente establecida de manera científica". Básicamente, esto es lo opuesto de lo que se observa actualmente; los productos con elementos nanofabricados se introducen al mercado y si sobre la marcha se comprueban riesgos entonces tal vez se retiren.

Un gran problema radica en que no existen regulaciones adecuadas para garantizar la seguridad de los productos con nanocomponentes o para avisarle al público que un producto los incluye. Pareciera que el entusiasmo por el desarrollo y el potencial de las nuevas tecnologías rebasaron las exigencias de precaución que desde hace años realizan múltiples organismos no gubernamentales, académicos y laborales. No se trata de demandas basadas en un miedo a lo desconocido y con afanes retrógrados, existen evidencias que invitan a la precaución.

Entre 2000 y 2010 se produjeron más de 560 artículos científicos sobre los riesgos de las nanotecnologías para la salud y/o el medio ambiente. Debe tenerse en cuenta que se trata de resultados de estudios *in vitro* o con seres vivos de experimentación, realizados en laboratorio, que no se han desarrollado con seres humanos sino con ratas, peces, moscas y bacterias, entre otros. Así mismo la disponibilidad de nanomateriales utilizada no es la misma que se encuentra en muchos de los procesos y productos. Son situaciones muy específicas pero aún no está totalmente demostrado que no puedan presentarse con los nanoproductos y no se podría esperar años, o décadas, para ver si alguien se enferma o no; sin duda es importante establecer la existencia de riesgos específicos asociados a nanomateriales.

En todo caso las investigaciones han arrojado importantes llamadas de atención: los procedimientos de seguridad para producción de sustancias químicas en muchos casos no son válidos para los nanomateriales; por otro lado se ha probado que, fuera de su matriz, los nanotubos de carbono -unos de los productos más versátiles y utilizados en las nanotecnologías- causan al

organismo esencialmente el mismo efecto que el asbesto: son un agente cancerígeno. Hay que decir que normalmente los nanotubos van integrados a una matriz, amarrados todos juntos, en contraste con los estudios en que los usaron sueltos; pero también hace falta establecer con claridad en qué condiciones los nanotubos pueden desprenderse de su "amarre".

Aún suponiendo que el uso indicado de productos con nanopartículas no implique riesgo alguno para los consumidores –algo que no se sabe a ciencia cierta-, existe el problema del ciclo de vida de los materiales y las condiciones de desecho necesarias para evitar que puedan tener efectos negativos sobre el medio ambiente. Por ejemplo, la quema de basurales con textiles, baterías u otros productos con nanomateriales podría separarlos de su matriz e introducirlos a las cadenas alimenticias por diferentes medios.

Además, materiales como dióxido de titanio y óxido de zinc -muy usados en la industria cosmética- han mostrado impactos muy negativos en peces y se estudia también el riesgo que presenta su tamaño para la penetración en la piel de humanos (algunas de nuestras barreras de defensa no sirven para partículas tan pequeñas). Otros estudios han arrojado que, cuando se llegan a inhalar, las nanopartículas pasan con facilidad los filtros de los pulmones para incorporarse al torrente sanguíneo y -en caso de ser tóxicas- su efecto negativo es mucho mayor en proporción a su masa que el de partículas más grandes.

Un importante factor a considerar es que, debido a la dimensión de las partículas, cuando los materiales entran en el cuerpo de una persona -a través de la piel o por inhalación- no se siente nada. Los factores de riesgo de otras tecnologías te pueden hacer sentir mal en unos días con quemaduras, náuseas u otros síntomas, pero cuando las nanopartículas invaden a una persona ésta no siente nada hasta que es demasiado tarde y su salud se ha visto seriamente comprometida.

A final de cuentas el problema no son los riesgos en sí mismos sino que no se les otorga la seriedad debida. Las autoridades de diferentes niveles aún no toman las medidas necesarias para regular el desarrollo de nanoproductos, las precauciones y los estudios adecuados para permitir su entrada al mercado, así como la información que se le debe ofrecer a los consumidores y a los trabajadores involucrados en el proceso de producción.

Es innegable que las nanotecnologías han llegado para quedarse y sus múltiples y benéficas aplicaciones muy probablemente ayudarán a mejorar la calidad de vida de millones de personas. Quienes promueven las nanotecnologías sugieren que podrían ayudar a resolver grandes problemas:

como la crisis energética, la escasez de agua potable o la forma de atacar enfermedades como el cáncer y el sida sin afectar al paciente.

Sin embargo sus grandes beneficios no pueden hacer que ignoremos una realidad ineludible: toda tecnología implica riesgos. Como hemos aprendido en el pasado -sea con la máquina de vapor, la radiactividad o la energía nuclear- ignorar los riesgos sólo los hace más peligrosos, mientras que tomarlos en cuenta permite asumir las precauciones necesarias para no tener que pagar un costo mayor a la larga.

Tomando en cuenta que día con día aumenta el número de productos con materiales nanofabricados disponibles en el mercado, la importancia de conocer las principales ventajas y factores de riesgo implícitos a estas nuevas tecnologías también crece. El conocimiento y la conciencia de las características, ventajas y riesgos de los nanocomponentes resulta de especial importancia para aquellos sectores expuestos -vinculados directamente a las actividades de investigación y desarrollo con nanopartículas, a la elaboración de productos que las contienen y también el personal ligado al transporte, mantenimiento de instalaciones donde se investiga y produce, así como quienes trabajan en el manejo de los desechos y basura que pueda incluir productos nano.

A este respecto la Red Latinoamericana de Nanotecnología y Sociedad (ReLANS, con sede en la Universidad Autónoma de Zacatecas), como parte de su compromiso social y con el apoyo de la Red Internacional de Eliminación de Contaminantes Orgánicos Persistentes (IPEN), elaboró un folleto de divulgación centrado en América Latina y el Caribe, orientado a ofrecer información sobre 2 temas clave: los riesgos de la nanotecnología y el posible impacto que sus avances pueden tener en el empleo. Aquellas personas interesadas en este tema pueden consultar el folleto completo en la dirección electrónica [http://www.relans.org/IPEN\\_NT\\_SP.html](http://www.relans.org/IPEN_NT_SP.html)

### **Bibliografía**

Arvidsson, R. 2012. Contributions to Emission, Exposure and Risk Assessment of Nanomaterials. Gothenburg, Sweden: Chalmers University of Technology.

<http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/162283.pdf>

Chaudhry, Q., Castle, L. 2011. Food applications of nanotechnologies: an overview of opportunities and challenges for developing countries. *Trends of Food Science and Technology* 22: 595–603.

Científica 2011. Global nanotechnology funding 2011.



- <http://www.cientifica.com/research/white-papers/global-nanotechnology-funding-2011/>
- ETUC (European Trade Unions Conference). 2008. ETUC resolution on nanotechnology and nanomaterials. [www.etuc.org](http://www.etuc.org)
- Federici, G., Shaw, B.J., Handy, R.D. 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology* 84: 415-430.
- Foladori, G., Invernizzi, N., Bejarano, F. 2012. Implicaciones sociales y ambientales del desarrollo de las nanotecnologías en América Latina y el Caribe. ReLANS/IPEN. [www.relans.org](http://www.relans.org)
- ICON (International Council on Nanotechnology). (s/f). Database. <http://icon.rice.edu/>
- Joy, B. 2000. Why the future doesn't need us? *Wired*, 8-04. <http://www.wired.com/wired/archive/8.04/joy.html>
- Musee, N. 2009. Proposed approach in nanotechnology risk assessment research: The South African context. *Natural Resources and the Environment*, CSIR, Pretoria.
- NanoCeo (Nanotechnology Citizen Engagement Organization). (s/f). Database. [www.nanoceo.net/nanorisks](http://www.nanoceo.net/nanorisks)
- Patterson, C., Anderson, A., Sinha, R., Muhammad, N., and Pearson, D. 2012. Nanofiltration Membranes for Removal of Color and Pathogens in Small Public Drinking Water Sources. *Journal of Environmental Engineering* 138: 48–57.
- Poland, C.A., Duffin, R., Kinloch, I., Mayonard, A., Wallace, W.A.H., Seaton, A.; Stone, V., Brown, S., MacNee, W., Donaldson, K. 2008. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnology* 3:423-428.
- Ppw (The Precautionary Principle Website). (s/f). The Precautionary Principle. European Union. <http://www.precautionaryprinciple.eu/>
- Roco, M., Bainbridge, W. 2003. Converging technologies for improving human performance. NSF/DOC-sponsored report. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Takagi, A., Hirose, A., Nishimura, T., Fukumori, N., Ogata, A., Ohashi, N., Kitajima, S., Kanno, J. 2008. Induction of mesothelioma in p53<sup>+/-</sup> mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *Journal of Toxicological Sciences* 33: 105-116.



Tuncak, B. 2013. Driving Innovation. How stronger laws help bring safer chemicals to market. The Center for International Environmental Law (CIEL).

[http://www.ciel.org/Publications/Innovation\\_Chemical\\_Feb2013.pdf](http://www.ciel.org/Publications/Innovation_Chemical_Feb2013.pdf)

UITA (Unión Internacional de Trabajadores de la Alimentación, Agricultura y afines). 2007. The IUF Resolution. [www.rel-uita.org](http://www.rel-uita.org)

WWICS (Woodrow Wilson International Center for Scholars). 2011. Inventory of Consumer Products. Project on Emerging Nanotechnologies. Washington D.C.: WWICS.

[www.nanotechproject.org/inventories/consumer/](http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/)

## Uso de isótopos estables en investigaciones en ecología

Natalia Felipe Medina<sup>1</sup>, Verónica Miguel Herranz<sup>2</sup>

Facultad de CC. Biológicas y Ambientales. Universidad de León. Alumnas de 5<sup>o</sup> curso de Licenciatura en Biotecnología (curso 2012-2013)

1.- nfelimoo@estudiantes.unileon.es; 2.- vmiguhoo@estudiantes.unileon.es

La amplia distribución diferencial de los isótopos estables en la naturaleza permite su uso como trazadores naturales de procesos fisicoquímicos en los ecosistemas. Así, la concentración relativa de los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno o azufre, ha permitido realizar estudios sobre el patrón de movimiento de los animales, ya que las proporciones isotópicas geográficas se conservan en los tejidos de los individuos tras la migración. También sobre cadenas tróficas, teniendo en cuenta que entre niveles tróficos sucesivos, se produce un ligero enriquecimiento en los isótopos pesados de C y N respecto de su dieta debido al propio metabolismo. Por otra parte, el <sup>15</sup>N puede utilizarse como indicador de una eutrofización incipiente causada por el aumento de los aportes de nitrógeno antropogénico, ya que los vertidos residuales de origen humano suelen estar enriquecidos en este isótopo respecto al ambiente. Además su aplicación en ecofisiología vegetal permite determinar el tipo de fotosíntesis que utilizan las plantas (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> y CAM) en base a la relación entre <sup>13</sup>C y <sup>12</sup>C; y en ecología microbiana, para identificar funciones metabólicas de microorganismos crecidos sobre sustratos marcados con <sup>13</sup>C, identificando cuáles lo han incorporado en su DNA, RNA o fosfolípidos.

**Palabras clave:** trazador isotópico, migración, cadenas tróficas, eutrofización, ecofisiología vegetal, ecología microbiana.

### Introducción

En la naturaleza existen átomos de un mismo elemento químico con distinto número de neutrones: los isótopos. Aunque algunos son inestables y tienden a desintegrarse (radioisótopos); otros son estables y no se descomponen con el tiempo. Entre ellos se incluyen los isótopos de hidrógeno (<sup>1</sup>H y <sup>2</sup>H), carbono (<sup>13</sup>C y <sup>12</sup>C), nitrógeno (<sup>14</sup>N y <sup>15</sup>N), oxígeno y azufre (<sup>34</sup>S y <sup>32</sup>S), denominados en conjunto HCNOS (Bigeleisen, 1965).

Estos últimos, ampliamente distribuidos en forma de diferentes moléculas, constituyen excelentes trazadores naturales de los procesos fisicoquímicos que ocurren en la naturaleza. De los isótopos estables de un elemento, los más ligeros son los más abundantes en la materia, encontrándose

los pesados en mucha menor proporción. Su concentración relativa puede usarse para estudiar el flujo de energía y materia en los ecosistemas, su estructura y los procesos que tienen lugar en ellos, debido a que diferentes partes de los mismos a menudo contienen distintas concentraciones de estos isótopos (Fry, 2006).

La diferente distribución de los isótopos, viene determinada por los fenómenos de mezcla y fraccionamiento. La mezcla es la combinación de dos o más fuentes con composiciones isotópicas diferentes y distintivas, cuyo resultado es un producto cuya identidad viene determinada por la composición y masa de las fuentes, mientras que el fraccionamiento es la diferencia de concentración del isótopo más pesado, entre el producto que se forma y la fuente material de la que procede. Este está muy condicionado al comportamiento diferencial que muestran los isótopos en las reacciones químicas (Bigeleisen, 1965).

La medida isotópica se lleva a cabo aprovechando las diferencias de masa atómica entre los isótopos, en base a su relación carga/masa (Brand, 1996).

### **Aplicaciones de los isótopos estables como trazadores en ecología**

En los últimos años se ha extendido enormemente el uso de los isótopos estables no solo en ecología, sino también en otras áreas. Algunas de sus aplicaciones son:

#### Patrones de movimiento de animales

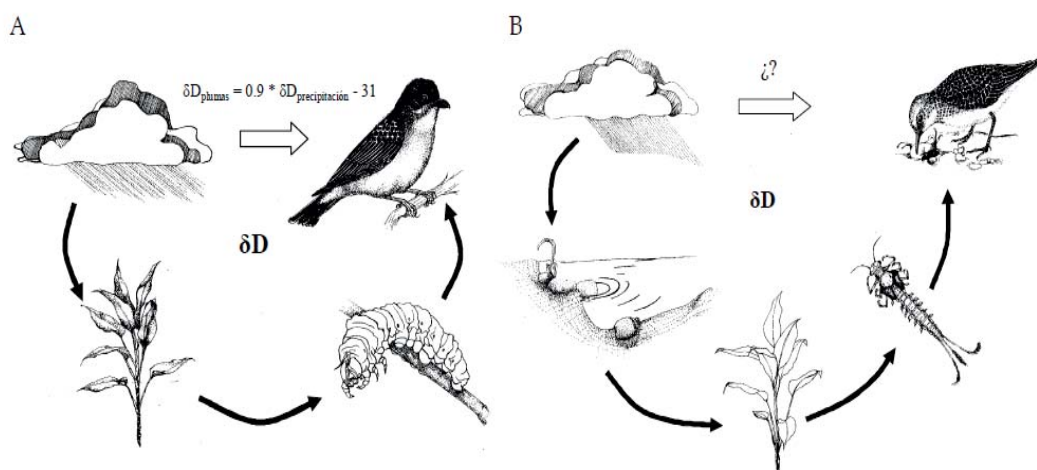
La determinación de los patrones de movimiento de los animales salvajes es crucial para comprender su historia vital y comportamiento, además de ser un requisito previo para su conservación efectiva (Torres et al., 2006).

La conectividad en aves migratorias (vínculos entre áreas reproductivas y no reproductivas) ha sido estudiada tradicionalmente usando marcadores extrínsecos -anillas, collares, etc. - que presentan el inconveniente de la captura inicial y posterior recaptura o reavistamiento del individuo. Otras técnicas extrínsecas más avanzadas son la radiotelemetría o tecnología satélite, que además de tener alto coste económico, pueden afectar el comportamiento de los animales (Rubenstein y Hobson, 2004).

Como alternativa se presentan los isótopos estables. Se encuentran naturalmente en el ambiente y su abundancia varía geográficamente. Al ingerir alimentos, un individuo está asimilando las proporciones isotópicas del ambiente donde se está alimentando (firma isotópica del ambiente), y esto se refleja en sus tejidos, cuyo análisis en un individuo capturado en una

determinada región geográfica, permitirá distinguir si este reside en esta zona o proviene de otra. Debido a que todas las aves de un lugar comparten la misma firma isotópica, no es necesario recapturar al mismo individuo para poder inferir su lugar de origen. Sin embargo, el conocimiento de la firma isotópica limita esta técnica.

Existen dos aproximaciones para determinar la firma isotópica: Una es determinando la firma isotópica de la localidad de interés, pero raramente se puede hacer un muestreo de toda el área, haciéndose necesario la intrapolación en los sitios no muestreados, lo que resulta poco preciso. La otra es inferir la firma isotópica a partir de mapas de variación espacial de isótopos estables, por ejemplo, a partir de una relación constante entre los valores de concentración isotópica de deuterio en las precipitaciones y en las plumas de las aves migratorias (**Fig. 1**), por ser estas metabólicamente inactivas y ser un método de muestreo no destructivo, aunque los niveles sanguíneos son comúnmente utilizados para desplazamientos de corta distancia debido a su mayor tasa de recambio (Torres et al., 2006).



**Figura 1.** Camino de los isótopos estables desde procesos productores de variación espacial hasta las plumas de las aves, para el deuterio (Hobson y Wassenaar, 1997).

El hidrógeno es un buen trazador por su claro fraccionamiento isotópico. Durante el ciclo del agua, la fase vapor se enriquece en los isótopos más ligeros, mientras que la fase líquida lo hace en el más pesado. Este efecto se magnifica en los polos, observándose valores muy negativos para la composición isotópica en deuterio ( $\delta D$ ).

Las aves migratorias forman sus nuevas plumas al final del verano y conservan esa composición isotópica hasta la próxima muda. Así, los valores de

$\delta D$  mostrarán dónde el ave cambió su plumaje. Aves de altas latitudes tienen bajos valores de  $\delta D$ , mientras que los que están cerca del ecuador tienen altos valores, reflejando sus plumas la  $\delta D$  del agua local. Por otra parte, las aves que pasan largos periodos en altas montañas, pueden presentar bajos valores de  $\delta D$  debido a los valores del agua de la montaña, y no por la migración a altas latitudes (Kelly et al., 2002).

### Estudio de cadenas tróficas

Los isótopos estables de carbono ( $^{13}C$ ) y nitrógeno ( $^{15}N$ ) permiten estudiar los flujos de energía en las cadenas alimenticias, desde las plantas y el material detrítico, hasta los herbívoros y consumidores secundarios (Guerrero y Berlanga, 2000).

La composición isotópica de los tejidos de un animal no es exactamente la de las fuentes de materia orgánica que utiliza, pero sí depende directamente de su dieta. Debido a que en muchos ecosistemas distintas fuentes de materia orgánica tienen diferentes relaciones isotópicas  $^{13}C:^{12}C$  y  $^{14}N:^{15}N$ , las dietas de los animales se podrían inferir a partir de la señal isotópica de sus tejidos. Además, el uso de isótopos estables permite determinar el nivel trófico, ya que entre niveles sucesivos, ocurre un cambio en las proporciones isotópicas debido al propio metabolismo de los compuestos de C y N. En general, existe un ligero enriquecimiento en los componentes isotópicos ( $^{13}C$  y  $^{15}N$ ) en el animal respecto a su dieta (Muñoz et al., 2009). Los tejidos animales se enriquecen levemente en  $^{13}C$  respecto a su comida (1,1‰ por nivel trófico), debido a:

1. Pérdida preferencial de  $^{12}CO_2$  en la respiración.
2. Captación selectiva de compuestos  $^{13}C$  durante la digestión.
3. Fraccionamiento metabólico durante la formación de distintos tipos de tejidos.

Sin embargo, debido a que el enriquecimiento es mayor en  $^{15}N$ , éste es el que se utiliza como indicador del nivel trófico. Este aumento puede deberse a la excreción preferente de  $^{14}N$  y se estima que es un 3‰ por nivel trófico (Muñoz et al., 2009).

### Estudios de contaminación (eutrofización)

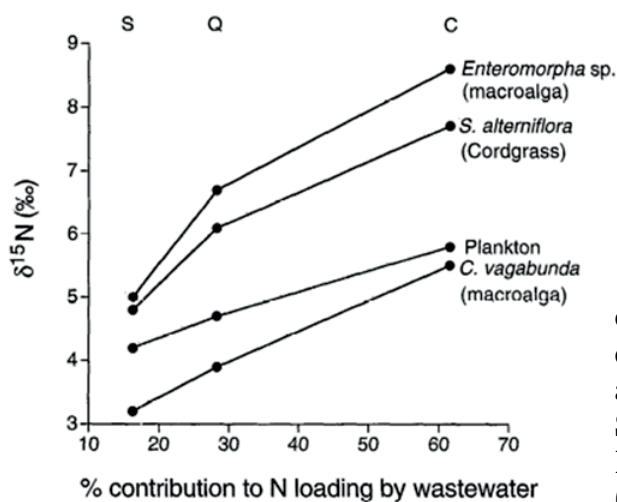
El enriquecimiento en nutrientes en un ecosistema causado por el aumento de los aportes de nitrógeno antropogénico es uno de los mecanismos más importantes de alteración de hábitats acuáticos. Concretamente en los estuarios puede producir proliferaciones masivas de algas fitoplanctónicas y

microalgas que compiten con las praderas de fanerógamas sumergidas, lo que conlleva a una pérdida de hábitats e implica importantes pérdidas económicas. De ahí el interés en buscar indicadores de la eutrofización, útiles y tempranos, para poder tomar a tiempo medidas de gestión adecuadas (Alcorlo, 2008).

La mayoría de los índices utilizados para cuantificar el grado de eutrofización por N se basan en cambios taxonómicos y de abundancia en productores y consumidores, derivados de la eutrofización, que ya se han producido (evaluación *a posteriori*). Dado que la restauración de los hábitats ya alterados es difícil, sería muy útil encontrar métodos que detecten el incremento y las fuentes de esos aportes de nutrientes mientras éstos aún son bajos. Para ello se ha utilizado la medida de los ratios de isótopos estables de N en las redes alimentarias de los estuarios (McClelland et al., 1997).

Varios estudios han probado la eficacia de las medidas de  $\delta^{15}\text{N}$  de distintos organismos como indicadores de contaminación, utilizando este fraccionamiento para rastrear el origen de los aportes de N. Esto es posible debido a que los vertidos residuales de origen humano suelen estar más enriquecidos en  $^{15}\text{N}$  respecto al ambiente, que el N procedente de deposición atmosférica natural o de fertilizantes. Esto es debido a la alta posición trófica de los humanos y la desnitrificación y volatilización del amonio en las depuradoras (Alcorlo, 2008).

Los organismos acuáticos que están expuestos a este tipo de efluentes de aguas residuales, suelen mostrar estos cambios en la composición isotópica en  $^{15}\text{N}$  (**Fig. 2**), de manera que el análisis isotópico del N en la biota proporcionaría señales de alerta de una eutrofización incipiente (Alcorlo, 2008).



**Figura 2.** Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  en diferentes productores frente a la contribución al N de carga de las aguas residuales en 3 hábitats: Sage Lot Pong(S), Quashnet River(Q) y Childs River(C) (McClelland et al., 1997).

### Estudios de ecofisiología vegetal

La relación entre los isótopos de carbono se puede utilizar para determinar el tipo de fotosíntesis de las plantas: C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> y CAM; en base al fraccionamiento del carbono durante este proceso.

Las plantas C<sub>3</sub> fijan el CO<sub>2</sub> mediante la enzima RUBISCO. En las plantas C<sub>4</sub> y CAM la enzima PEP-carboxilasa toma el CO<sub>2</sub> atmosférico y lo incorpora formando un ácido orgánico de 4 carbonos, que es descarboxilado y el CO<sub>2</sub> resultante es utilizado por la RUBISCO en el ciclo de Calvin. Las plantas CAM suelen vivir en hábitats áridos, abren sus estomas durante la noche y fijan CO<sub>2</sub> mediante la PEP-carboxilasa. Durante el día cierran los estomas, se produce la descarboxilación y el ciclo de Calvin, de manera que en plantas CAM, la separación entre las dos carboxilaciones es temporal (noche-día) y, en las C<sub>4</sub>, la separación es espacial (enzimas en dos tipos de células distintas) (Gannes et al., 1998).

Las propiedades químicas del <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> son idénticas a las del <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>, pero debido a la pequeña diferencia en masa, la mayoría de las plantas asimilan menos <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> que <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>, debido principalmente al fraccionamiento del CO<sub>2</sub> cuando éste difunde de la atmósfera al sitio de carboxilación en la hoja, al ser el <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> menos pesado que el <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, difunde más rápido al sitio de carboxilación; y a la mayor afinidad de las carboxilasas (RUBISCO en plantas C<sub>3</sub> y PEP-carboxilasa en C<sub>4</sub> y CAM) por el <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> que por el <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, incorporándolo preferentemente (Guerrero y Berlanga, 2000). Sin embargo, la relación entre <sup>13</sup>C y <sup>12</sup>C es función del tipo de fotosíntesis, debido al diferente grado de discriminación del <sup>13</sup>C por las enzimas carboxilasas. La RUBISCO tiene un efecto de discriminación mucho mayor que la PEP-carboxilasa (Santiago et al., 2005). La fotosíntesis C<sub>3</sub> ocurre en un sistema relativamente abierto, de manera que el CO<sub>2</sub> enriquecido en <sup>13</sup>C que queda dentro de las hojas (al usar la RUBISCO preferencialmente <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>) puede difundir hacia la atmósfera. Sin embargo, en la fotosíntesis C<sub>4</sub> el paso catalizado por la RUBISCO, se lleva a cabo en un sistema relativamente cerrado. Por ello el CO<sub>2</sub> enriquecido en <sup>13</sup>C (por el uso preferencial de <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> por parte de la PEP-carboxilasa) no es liberado a la atmósfera y acaba siendo utilizado por la RUBISCO (Gannes et al., 1998).

Debido a esto, las plantas con una fotosíntesis C<sub>3</sub> presentan una composición isotópica en <sup>13</sup>C menor que las plantas C<sub>4</sub> y CAM obligadas. Por otra parte, existen plantas CAM facultativas que presentan valores intermedios de δ<sup>13</sup>C, al usar uno u otro tipo de fotosíntesis en función de las condiciones ambientales. En condiciones de sequía, cierran sus estomas durante el día y fijan



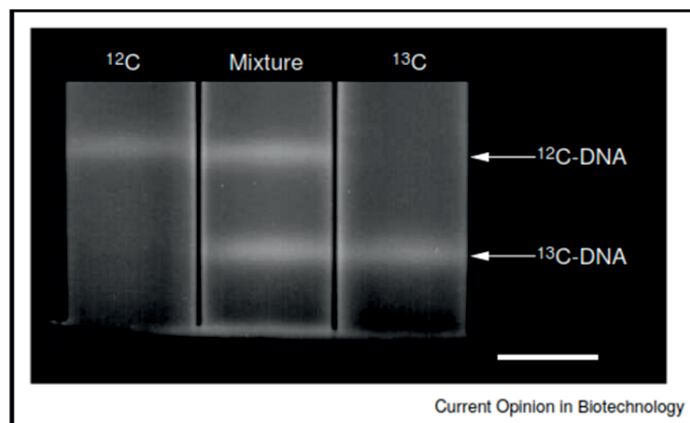
el CO<sub>2</sub> por la noche mediante la PEP-carboxilasa y su δ<sup>13</sup>C se parece más al de las plantas C<sub>4</sub>, pero si tienen disponibilidad de agua utilizan una fotosíntesis C<sub>3</sub> y su δ<sup>13</sup>C se acerca más al de plantas C<sub>3</sub>; lo que permite determinar qué mecanismo fotosintético están utilizando preferentemente (Gannes et al., 1998).

Las variaciones de δ<sup>13</sup>C en plantas también han sido utilizadas para estudiar la evolución de las rutas fotosintéticas (Santiago et al., 2005), distinguir el azúcar de caña (C<sub>4</sub>) del de remolacha (C<sub>3</sub>) con fines económicos (Guerrero y Berlanga, 2000); o comparar la eficiencia en el uso de agua en distintas especies, parámetro relacionado con la respuesta de las plantas ante un estrés hídrico (Aguilera et al., 2010).

### Ecología microbiana

La ecología microbiana estudia la identidad y las funciones de los microorganismos en su ambiente natural. Hasta ahora, los estudios funcionales basados en las nuevas técnicas de biología molecular requerían el aislamiento de las cepas microbianas. Sin embargo, muchos microorganismos no pueden ser crecidos en laboratorio. El uso de isótopos estables es una alternativa para identificar las funciones metabólicas de los microorganismos en muestras complejas (Boschker y Middelburg, 2002).

La técnica SIP (stable-isotope probing) relaciona el crecimiento de microorganismos sobre sustratos marcados con <sup>13</sup>C con funciones metabólicas, identificando cuáles de ellos tienen su DNA, RNA o fosfolípidos marcados con <sup>13</sup>C. Se realiza una centrifugación en gradiente de densidad (CsCl) con el DNA aislado de microorganismos de muestras de suelo o cultivos enriquecidos, crecidos sobre sustratos marcados (<sup>13</sup>CH<sub>3</sub>OH, <sup>13</sup>CH<sub>4</sub>), de manera que las moléculas marcadas con <sup>13</sup>C son más densas y migran más que las enriquecidas en <sup>12</sup>C (**Fig. 3**).



**Figura 3.** Centrifugación en gradiente de densidad de DNA marcado isotópicamente (Radajewski et al., 2003).

La fracción de DNA  $^{13}\text{C}$  contiene los genomas de la población microbiana que ha sido capaz de usar el sustrato marcado e incorporar el átomo pesado a su DNA. Utilizando cebadores para regiones conservadas del RNAr de la subunidad pequeña (de bacterias, arqueas o eucariotas) se puede amplificar ese gen para identificar los microorganismos implicados en el proceso de interés. Además, es posible usar cebadores para genes que codifican enzimas clave conocidas de las vías metabólicas de utilización de ese sustrato.

Esta técnica ha sido utilizada para identificar microorganismos implicados en procesos de oxidación aeróbica autótrofa de amonio y de metilotrofia, sugiriéndose que podría ser una función de ciertos miembros de la división *Acidobacterium*, grupo muy diverso y ampliamente distribuido con pocos representantes cultivados entre los que nunca se encontró ninguno que pudiera crecer en metanol. Además, puede utilizarse en la búsqueda de microorganismos capaces de degradar compuestos xenobióticos o contaminantes (Radajewski et al., 2003).

### **Conclusión**

El uso de isótopos estables como trazadores naturales representa una poderosa herramienta para estimar procesos, conexiones y flujos de energía. Sus aplicaciones, aunque limitadas por el grado en el que se cumplen las asunciones teóricas, son muy diversas; encontrándose cada vez más utilidades para los mismos, tanto en el campo de la ecología como en otras muchas ciencias aplicadas.

### **Agradecimientos**

A Gustavo González Fernández, profesor de la asignatura Bases Ecológicas en Biotecnología, por la revisión del texto y sus ánimos para sacar adelante esta publicación.

### **Bibliografía**

- Alcorlo, P. 2008. Distintas aplicaciones de isótopos estables ( $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ ) en el estudio de ecosistemas acuáticos continentales. *Técnicas y aplicaciones multidisciplinares de los isótopos ambientales* 1:347-374.
- Aguilera, M., Voltas, J., Ferrio, J.P. y Serrano, L. 2010. Evolución estacional de  $\delta^{13}\text{C}$  en hojas y madera de dos quercíneas mediterráneas concurrentes (*Quercus ilex* subps. *ballota* L. y *Quercus faginea* Lam.): dinámica de la eficiencia en uso del agua. *Ecosistemas* 19:6-13.

- Bigeleisen, J. 1965. Chemistry of isotopes. *Science* 147:463–471.
- Boschker, H.T.S. y Middelburg, J.J. 2002. Stable isotopes and biomarkers in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 40:85–95.
- Brand, W.A. 1996. High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* 31:225–235.
- Fry, B. 2006. Isotope notation and measurement. *Stable Isotope Ecology*. pp 23–31. Springer, USA.
- Gannes, L.Z., del Rio, C.M. y Koch, P. 1998. Natural Abundance Variations in Stable Isotopes and their Potential Uses in Animal Physiological Ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 119:725–737.
- Guerrero, R. y Berlanga, B. 2000. Isótopos estables: Fundamento y aplicaciones. Actualidad Sociedad Española de Microbiología. (29).
- Hobson, K.A. y Wassenaar, L. 1997. Linking breeding and wintering ground of neotropical migrant song-birds using stable hydrogen isotopic analysis of feathers. *Oecologia* 109:142–148.
- Kelly, J.F., Atudorei, V., Sharp, Z.D. y Finch, M.D. 2002. Insights into Wilson's Warbler migration from analyses of hydrogen stable-isotope ratios. *Oecologia* 130:216–221.
- McClelland, J.W., Valiela, I. y Michener, R.H. 1997. Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: a record of increasing urbanization in coastal watersheds. *Limnology and Oceanography* 42:930–937.
- Muñoz I., Romani A., Rodrigues-Capítulo A., González J. y García-Berthou E. 2009. Relaciones tróficas en el ecosistema fluvial. Conceptos y técnicas en ecología fluvial. Fundación BBVA. España.
- Torres, J., Farmer, A. y Bucher, E.H. 2006. Uso de isótopos estables para determinar conectividad migratoria en aves: alcances y limitaciones. *Hornero*. 21:73–84.
- Radajewski, S., McDonald, I. R. y Murrell, J.C. 2003. Stable-isotope probing of nucleic acids: a window to the function of uncultured microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology* 14:296–302.
- Rubenstein, D.R. y Hobson, K.A. 2004. From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends in Ecology & Evolution* 19:256–263.
- Santiago, L.S., Silvera, K., Andrade, J.L. y Dawson T.E. 2005. El uso de isótopos estables en biología tropical. *Interciencia* 30:536–542.

## SIGUIENDO LA PISTA

### Dejando huella: conservación de yacimientos con icnitas de dinosaurio

Esperanza García-Ortiz<sup>1</sup>, Víctor Francisco Manzano<sup>2</sup>, Unai Olabarrieta Palencia<sup>3</sup>, Aitor Muñoz López<sup>4</sup>, Julia Natalia Torres Mijarra<sup>5</sup>, Mikel Echevarría Astorquiza<sup>6</sup>, Natalia Marcos Vidal<sup>7</sup>, Claudia Damián Cortejoso<sup>8</sup>, Miguel Ángel Barrios Sánchez<sup>9</sup> e Iris Belarra Salgado<sup>10</sup>

1. Becaria de investigación del área de Paleontología de la Universidad de León y profesora de prácticas de Registro Fósil (Cursos 2010/11 y 2011/12). Facultad de C. C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León.

4 y 7. Alumnos de 3<sup>o</sup> y 2<sup>o</sup> curso de Grado en Biología (Curso 2013/14). Facultad de C. C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León.

2. Alumno de 3<sup>o</sup> curso de Grado en Historia (Curso 2013/14). Facultad de Filosofía B. Universidad Complutense de Madrid. Campus de Moncloa, Madrid.

5. Alumna de 2<sup>o</sup> curso de Grado en Conservación y Restauración del Patrimonio Cultural (Curso 2013/14). Facultad de Bellas Artes. Universidad Complutense de Madrid. Campus de Ciudad Universitaria. Madrid.

3 y 6. Alumnos de 2<sup>o</sup> y 5<sup>o</sup> curso de Grado en Geología (Curso 2013/14). Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco. Campus de Bizkaia. Leioa.

8, 9 y 10. Alumnos de 3<sup>o</sup> curso de Grado en Biología (Curso 2013/14). Facultad de Biología. Universidad de Salamanca. Campus Miguel de Unamuno. Salamanca.

\* Todos los alumnos han contribuido de manera idéntica en la elaboración de este artículo.

1.- [egarol@unileon.es](mailto:egarol@unileon.es); 2.- [victorfranciscomanzano@hotmail.es](mailto:victorfranciscomanzano@hotmail.es);  
3.- [olabarrieta.unai@gmail.com](mailto:olabarrieta.unai@gmail.com); 4.- [amunoloo@estudiantes.unileon.es](mailto:amunoloo@estudiantes.unileon.es);  
5.- [juliator@estumail.ucm.es](mailto:juliator@estumail.ucm.es); 6.- [mechevarria019@ehu.es](mailto:mechevarria019@ehu.es);  
7.- [nmarcvoo@estudiantes.unileon.es](mailto:nmarcvoo@estudiantes.unileon.es); 8.- [claudiadc@usal](mailto:claudiadc@usal);  
9.- [miguel29gow@hotmail.com](mailto:miguel29gow@hotmail.com); 10. [iris.belarra@usal.es](mailto:iris.belarra@usal.es).

La Rioja es una de las regiones más importantes a nivel internacional por su abundancia de yacimientos de icnitas de dinosaurios, tema que siempre ha suscitado el interés del público en general, desde niños y jóvenes a adultos y personal especializado. Como iniciativa para su difusión y conservación se llevan realizando, desde hace más de treinta años, campos de trabajo internacionales para su rehabilitación y mantenimiento. Dichos cursos están organizados por la Universidad de La Rioja y están dirigidos a jóvenes universitarios con especialidades afines al tema tales como biología, geología, ciencias ambientales, restauración... Constan de una parte teórica donde se inculcan conocimientos sobre biología de estos animales, etología, evolución, procesos de formación de estas huellas... y se aprende a analizar un rastro de un dinosaurio. Finalmente, hay otra parte práctica muy importante en la que se aprenden técnicas de limpieza mecánica y sellado de huecos y fisuras de los yacimientos.

**Palabras clave:** paleoicnología, dinosaurios, pisada, campos de trabajo, acondicionamiento, La Rioja.

## Introducción

A pesar de que la gran mayoría de nosotros damos por hecho que los dinosaurios existieron, es cierto que aún hay personas que dudan de que esto sea cierto o al menos se muestran recelosos ante dicha afirmación. Sin embargo, los dinosaurios han inundado numerosos aspectos de nuestras vidas como son el cine, la literatura, el turismo... Además, existen numerosas iniciativas por toda la geografía española de puesta en valor y divulgación de yacimientos con evidencias tanto osteológicas como paleoicnológicas (huellas, rastros...) de estos animales.

En La Rioja se encuentran varios de los yacimientos más ricos en icnitas del mundo tanto en número de huellas como por su excepcional preservación.

El primer dato que habla sobre icnitas en La Rioja es de finales de los 60, aunque ya antes eran conocidas a nivel popular pero las interpretaciones eran muy diversas: gallinas gigantes, leones, caballo de Santiago... (IGME, acceso 15/9/2013) (**Fig. 1**).



**Figura 1.** Panel cerámico del s. XVIII situado en la capilla de la “Ermida da Memória” en el Cabo Espichel (Portugal). En ella aparece representada la leyenda popular que interpreta un rastro fósil de dinosaurio cuadrúpedo existente en los acantilados de ese lugar como las huellas dejadas por la mula que transportó a la Virgen María y al Niño Jesús.

A finales del siglo pasado, cerca de la población de Enciso y siguiendo por toda la región de Cameros, se encontraron en torno a un centenar de

yacimientos, tanto de icnitas como de otros fósiles corporales. Con el paso de los años el número de yacimientos ha ido aumentando, sumándose importantes hallazgos con relevancia nacional e internacional. Entre todos estos, se encuentra el yacimiento de La Pellejera, que trataremos más en profundidad en este artículo.

Es precisamente en esta zona de Cameros donde, durante el Cretácico Inferior, se dieron las condiciones óptimas para la conservación de rastros, ya que eran áreas lacustres con gran cantidad de agua y alternancia de episodios de desecación, y es este ciclo lo que favorece la preservación. Estas zonas contaban con una multitudinaria afluencia de animales dispuestos a saciar su sed y donde se producían escenas de caza y en definitiva un ferviente dinamismo vital.

Desde el año 1991, la Universidad de La Rioja, en colaboración con el Gobierno de La Rioja, realiza cursos universitarios cuyo objetivo prioritario es la rehabilitación de parte de los afloramientos anteriormente excavados (Díaz-Martínez et al., 2010). Estos cursos están dirigidos a jóvenes universitarios, tanto nacionales como extranjeros. En este artículo trataremos de explicar en qué consisten los mismos a través de la experiencia y del trabajo personal realizado por el grupo de estudiantes de la segunda quincena de julio de 2013, con sede en Hornillos de Cameros (La Rioja) (**Fig. 2**).



**Figura 2.** Integrantes del curso de verano de Paleoicnología y restauración de huellas de dinosaurio de Hornillos de Cameros (edición julio de 2013). **a)** En el yacimiento de La Pellejera. **b)** Junto a la reproducción de un dinosaurio ornitópodo (*Iguanodon*) situada junto al mismo yacimiento.

### Historia de los campos de trabajo

Los primeros artículos científicos publicados referidos a icnitas de dinosaurios en La Rioja son de principios de los 70 (Casanovas y Santafé, 1971; 1974) y desde entonces se han realizado más de un centenar de publicaciones.

En lo que se refiere a los trabajos de campo, se iniciaron en 1980 (Díaz-Martínez et al., 2010), con el objetivo de excavación y limpieza de los yacimientos ya conocidos y de los que se fueron descubriendo posteriormente. A partir 1991, visto el éxito obtenido, empezaron cursos universitarios con el fin de rehabilitar las excavaciones anteriores.

Durante los primeros años los recursos e infraestructuras disponibles eran más limitados ya que se dormía en tiendas de campaña y eran los propios alumnos los que cocinaban. Sin embargo, en la actualidad, el alojamiento es en albergues y se cuenta con monitores especializados.

El primer campo de trabajo tuvo lugar en la localidad de Enciso en 1980 (Casanovas et al., 1985). Excepto en 1989, este curso ha sido promovido anualmente por la Universidad de la Rioja en la segunda quincena de Julio. Se ha intervenido en diversos yacimientos como: El Barranco de Valdecevilla, La Virgen del Campo, La Senoba, Las Losas, etc.

En 1990, al descubrir nuevos yacimientos, se organizó otro campo de trabajo en Igea (Pérez-Lorente, 1990) y aun se trabaja en algunos de aquellos yacimientos como la Era del Peladillo. En el año 2000, el alcalde de Hornillos de Cameros descubrió el yacimiento de La Pellejera, que se incluyó por su potencial en la oferta de campos de trabajo en el año 2002 (Pérez-Lorente, 2000).

Desde 1994, a finales de julio se dan ciclos de conferencias de verano por los que han pasado profesionales, tanto nacionales como extranjeros, de diferentes especialidades relacionadas con la temática de los campos (**Fig. 3**).



**Figura 3.** Charla a cargo del Dr. José Ramón Rodríguez Pérez (Universidad de León) durante el ciclo de conferencias 2013 que tuvo lugar en la sala de audiovisuales del Parque de Paleoaventura del Barranco Perdido, Enciso (La Rioja).

Hoy en día continúan dichos cursos universitarios en los cuales se desarrolla una labor práctica de conservación de yacimientos con un total de ocho horas diarias de trabajo siendo una de ellas de teoría, en la cual se imparten conceptos sobre paleoicnología de dinosaurios y se enseña a estudiar e interpretar una rastrillada. El perfil de los asistentes es estudiantes universitarios de carreras relacionadas con la paleontología, tales como geología, biología, restauración,...

### Contexto patrimonial

En el sector riojano de la región de Cameros se conocen más de 150 yacimientos y cerca de 10.000 huellas (Díaz-Martínez et al., 2010). Esto conlleva problemas debido a que hay tal cantidad de yacimientos que no todos se pueden conservar y poner en valor. Aún hay muchos yacimientos sin excavar, inventariar ni estudiar dado que se da prioridad a la conservación de los ya excavados.

En 1994 se aprobó el Plan Especial de Protección de Icnitas de La Rioja cuya finalidad es conservar, proteger y catalogar el patrimonio paleontológico (Caro y Pérez-Lorente, 1997; Díaz-Martínez et al., 2010). De todos los afloramientos conocidos, 120 de ellos agrupados en 40 yacimientos según su proximidad geográfica fueron declarados Bien de Interés Cultural (BIC) con la categoría de "Sitio Histórico" en el Decreto 34/2000, de 23 de junio de 2000 y posteriormente, la Ley 7/2004, de 18 de octubre, de Patrimonio Cultural, Histórico y Artístico de La Rioja mantuvo estas figuras.

Una de las iniciativas de puesta en valor de este patrimonio consiste en colocar infraestructuras tales como vallados (**Fig. 4.a**), techados, paneles (**Fig. 4.b**) e incluso reproducciones de dinosaurios (**Fig. 4.c**), con el objetivo de fomentar el atractivo turístico de la zona.



**Figura 4.** Infraestructuras del yacimiento de La Pellejera. **a)** Vallado y señalización que indica el camino hasta el yacimiento. **b)** Panel horizontal de información. **c)** Reproducción de un dinosaurio ornitópodo (*Iguanodon*) característico del yacimiento.



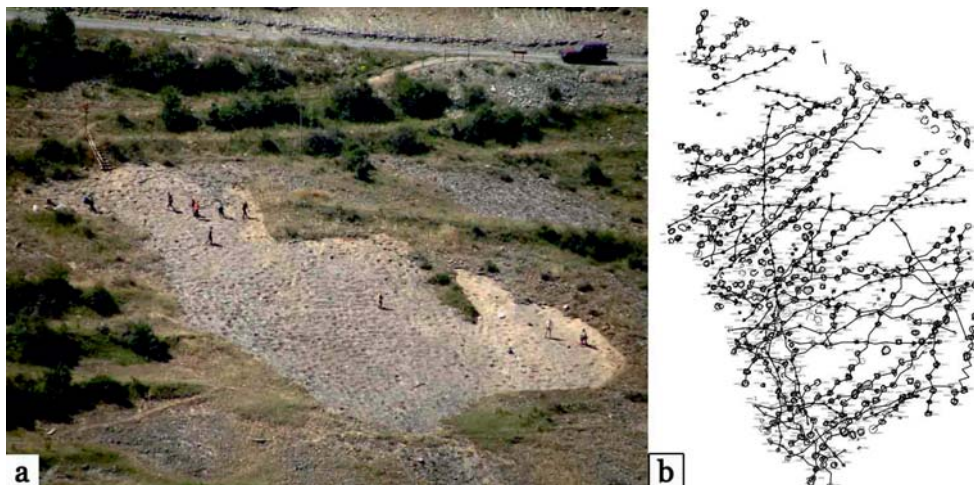
Además, a nivel nacional se aprobó la Ley 42/2007, de Patrimonio natural y biodiversidad, que por primera vez trata la conservación y gestión del patrimonio geológico y la geodiversidad (Díaz-Martínez et al., 2008).

Cabe destacar que en 1998 se incluyó la candidatura IDPI (Icnitas de Dinosaurio de la Península Ibérica) en la lista indicativa de la UNESCO, cuya intención era el reconocimiento de los yacimientos hispano-portugueses, que actualmente sigue en curso. El expediente se comenzó a elaborar en el año 2001 y finalmente fue admitido en 2003, estando en la actualidad aún pendiente de resolución.

### El yacimiento objeto de trabajo: La Pellejera

El yacimiento de La Pellejera (**Fig. 5.a**) se encuentra en el término municipal de Hornillos de Cameros (La Rioja), a unos 1.025 m en la ladera sur del arroyo de Barbadillos, presentando una extensión de 840 m<sup>2</sup>. Su descubrimiento fue gracias a Juan José Santos, alcalde de Hornillos de Cameros, en el año 2001 (Requeta et al., 2006-2007).

Se trata de un yacimiento de gran valor, que al haber sido excavado, está expuesto a todo tipo de agentes que propician su degradación y la pérdida de información científica y valor patrimonial. Por ello, La Pellejera ha sido objeto de conservación en los campos de trabajo de 2013 y lo seguirá siendo en próximas campañas.



**Figura 5. a)** Vista panorámica del yacimiento de La Pellejera, Hornillos de Cameros (La Rioja). **b)** Mapa del yacimiento donde se pueden observar los diferentes rastros y sus trayectorias.

La primera limpieza se realizó en el verano de 2002 por estudiantes voluntarios (Díaz-Martínez et al., 2010). El reticulado de las icnitas fue llevado a

cabo un año después por los alumnos del curso de Paleoicnología de la Universidad de la Rioja, comenzando en ese mismo año su estudio que reveló su gran valor.

En el año 2009 el Gobierno de La Rioja reconoció este yacimiento como punto de interés turístico debido a su gran valor patrimonial por lo que colocó una reproducción a tamaño real de un dinosaurio ornitópodo (*Iguanodon*) junto al yacimiento.

En cuanto al contenido icnológico, las huellas se encuentran en una capa de areniscas limosas de dirección N100E y buzamiento 18N incluida en la unidad de Hornillos de Cameros-Munilla (Unidad 21 del Grupo Enciso). Dicha unidad esta constituida por alternancias de margas, margo-calizas y calizas, a veces arenosas, con esporádicos niveles de areniscas intercaladas. Según dataciones recientes pertenecería al Aptiense superior-Albiense inferior (Cretácico Inferior; 120 – 110 Ma) (Requeta et al., 2006-2007).

La importancia de este yacimiento reside en su potencial icnológico por ser el segundo de La Rioja en cuanto a abundancia de huellas descubiertas. Presenta tanto calcos como estampas y subhuellas, el mayor rastro de terópodo pequeño de La Rioja (que mide 30 m y consta de 31 icnitas) y las únicas huellas ornitópodas semiplantígradas de Europa, siendo éstas de tal rareza que solo se han descrito en otro yacimiento de Estados Unidos (Requeta et al., 2006-2007).

Por otro lado, es un yacimiento que presenta gran complejidad ante su estudio debido a diversos factores, entre los que sobresalen la heterocronía de las impresiones, la gran cantidad de icnitas y la variabilidad del comportamiento del sustrato (Requeta et al., 2006-2007).

El yacimiento presenta 717 icnitas (**Fig. 5.b**), las cuales varían entre los 0'05 m y los 0'20 m de profundidad. De todas ellas, 6 son marcas de mano asociadas a pie, 579 forman parte de rastros, 4 pertenecen a dos pares de huellas y 138 son impresiones aisladas o no relacionables.

Todas ellas están signadas con las letras LP (La Pellejera) y cada icnita sigue un código numérico según sea aislada (Ej: 1LP8) o pertenezca a un rastro (Ej: 1LP13.7, rastro 13, icnita 7). Además van precedidas de un número que indica el sector en el que se encuentran.

### **Técnicas de conservación de yacimientos paleoicnológicos**

La superficie de estos yacimientos se encuentra sometida a varios procesos de meteorización. En primer lugar, la erosión producida por el viento y el agua, que al fluir sobre la superficie va disolviendo parte de la roca creando

pequeños canales y grietas. Éstos favorecen que durante el invierno el proceso de gelifracción aumente la meteorización interna de las rocas. Por otro lado, la acción de las raíces de las plantas que penetran en las grietas induce la fracturación de las mismas. Y finalmente, la acción antrópica, fundamentalmente actividades ganaderas y turísticas.

En los campos de trabajo antes mencionados se realizan tareas cuya finalidad es paliar los agentes de deterioro de los mismos y optimizar su mantenimiento, entre las cuales se encuentran una limpieza mecánica inicial y una posterior intervención para su conservación.

### Limpieza mecánica

La limpieza mecánica consiste en primer lugar en la eliminación superficial de los fragmentos de roca rodados que se encuentran en superficie (**Fig. 6.a**). Durante este proceso se intenta paliar el “efecto macetero” (**Fig. 6.b**) que provocan las plantas que crecen en los huecos de las huellas, provocando que la grieta aumente y también se intenta drenar el agua acumulada procedente de la lluvia para que no se filtre.

Posteriormente se realiza una limpieza más exhaustiva eliminando todo aquello que se deposita en las grietas como pequeñas raíces, sedimentos e incluso restos animales.



**Figura 6. a)** Participante del campo de trabajo limpiando una parte del yacimiento para su posterior sellado. **b)** Muestra de la clara agresión causada por el “efecto macetero”.

Este proceso de limpieza se lleva a cabo mediante distintos tipos de utensilios dependiendo del nivel de degradación de la icnita. Entre los materiales utilizados destacan cepillos (**Fig. 6.a**) para eliminar la tierra más superficial que se deposita en la roca, alambres de diferentes tamaños para limpiar las grietas, alicates para extraer las raíces y evitar su posterior rebrote y pajitas para eliminar

el polvo acumulado en las grietas mediante soplado.

Una vez terminado este proceso se procede al sellado de todos los huecos y fisuras.

### Técnicas de sellado

La erosión que sufre la piedra se pone de relieve tras el proceso de limpieza antes detallado, tras el cual se hacen patentes los daños causados por factores de deterioro tales como los propios agentes atmosféricos y biológicos, así como las oscilaciones de temperatura y la acción del agua. Estos amenazan la perdurabilidad de las huellas provocando fisuras, grietas, rotura de bloques y finalmente, fracturas en toda la superficie del yacimiento.

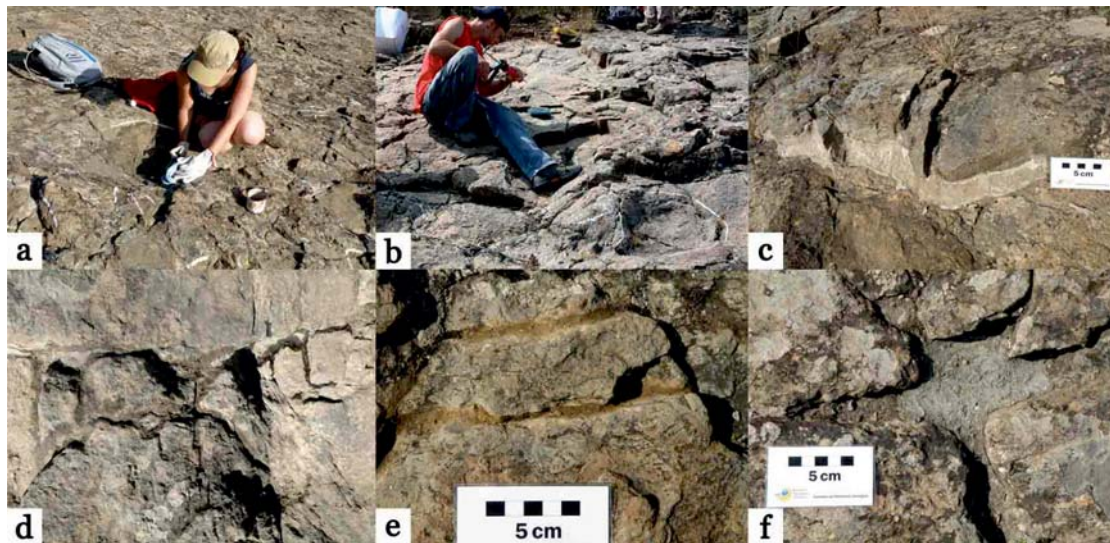
Para evitar que el deterioro avance se llevan cabo protocolos de intervención de la roca, restaurando aquellos puntos afectados y también aquellos susceptibles al ataque de los agentes antes mencionados. Cada alteración de la piedra se trata usando productos y procedimientos específicos que aseguran la reparación y protección de la roca.

La gran variedad de indicadores de alteración hace difícil clasificar de forma absoluta los distintos protocolos, dejando así un margen relativo abierto al criterio del restaurador. De forma general, podríamos emplear la división de las alteraciones en cuatro grandes bloques, en cuyos tratamientos intervendrán los tres materiales empleados, que son cemento Portland, silicona y resina epoxídica. Éstos han sido previamente seleccionados mediante estudios de compatibilidad de materiales y efectividad en los mismos en las intervenciones de restauración (Caro et al., 2003; Caro, 2006).

En primer lugar, para las pequeñas fisuras repartidas por toda la superficie se emplea resina epoxídica (**Fig. 7.a y d**) teniendo en cuenta la inclinación del terreno y la profundidad de la grieta. En casos excepcionales, se recurre a una mezcla de cemento muy diluida, tras lo cual debe valorarse la necesidad de aplicación de resina para sellar e impermeabilizar el acabado final.

En segundo lugar, existe un tipo de grieta de mayor tamaño a las antes referidas, la cual nos permite la aplicación de silicona (**Fig. 7.b y e**).

Otra de las grandes patologías que encontramos en los yacimientos son las oquedades, ya sea por la propia anatomía de la roca o por la pérdida de materia, lugares perfectos para el asentamiento de los antes mencionados “maceteros” (**Fig. 6.b**). En este punto, se emplea principalmente cemento (**Fig. 7.c y f**), sellando con posterioridad las posibles imperfecciones en el acabado, subsanando así pequeñas faltas de cohesión entre el cemento y la roca.



**Figura 7.** **a)** Alumna de los cursos de verano aplicando resina epoxídica en una fisura. **b)** Integrante del campo de trabajo sellando una grieta con silicona. **c)** Contrafuertes del estrato realizados con cemento Portland. **d)** Zona del yacimiento donde se ha empleado resina. **e)** Resultado final del sellado utilizando silicona. **f)** Hueco rellenado con cemento al que se ha añadido media cucharada de grafito para que obtenga un color más acorde con el color de las rocas del yacimiento.

Por último y de forma menos habitual, se pueden dar roturas simples o múltiples, los llamados “puzles” (**Fig. 8**), en las cuales se emplea un criterio de restauración por anastilosis, poniendo sumo cuidado en el perfecto encaje de las piezas según su lugar de origen. En este proceso se emplea preferiblemente la resina epoxídica, ya que es la única que actúa como adhesivo. Sin embargo, la envergadura de alguna de las roturas, y en especial de los puzles (**Fig. 8**), requiere el uso de cemento, reforzado posteriormente con dicha resina, o el empleo de morteros de cemento aglutinado con la propia resina, lo que aporta



**Figura 8.** Muestra de la disgregación de un bloque rocoso, conocido coloquialmente como “puzle”.

Además, los materiales empleados se integran estéticamente en el conjunto del yacimiento, respetando en todo momento los criterios para discernir los materiales incorporados frente a los originales.

Finalmente, hay que señalar que es importante discernir entre qué tiene que ser intervenido, qué morfologías son deterioros, y cuáles pertenecen al ciclo natural de la piedra, sin olvidar que con el sellado de las alteraciones, se evitan, en la medida de lo posible, futuros ataques como la penetración del agua y su circulación por el interior de la roca, o los asentamientos de raíces de plantas, prevaleciendo así un criterio de conservación preventiva.

### **Conclusiones**

Los campos de trabajo de paleoicnología de dinosaurios son una actividad con una larga trayectoria que, aun hoy en día, resulta una iniciativa muy interesante por los conocimientos adquiridos, la convivencia y, en definitiva, la experiencia vital que cada uno se lleva de ellos. Además, son una actividad imprescindible para el mantenimiento de estos yacimientos año tras año.

### **Glosario**

Basado en Díaz-Martínez et al. (2009):

ICNITA: cada una de las huellas dejadas en el sustrato por un vertebrado durante su locomoción.

Calco: deformación dejada en una capa inferior a la superficie de marcha, es decir, la capa en que el animal ha pisado. En general, son de contornos más redondeados que las huellas reales.

Contramolde: en icnología, roca que constituye el relleno del molde o depresión creada por un animal al pisar sobre un suelo blando.

Estampa: huella que conserva las estructuras directas (estructuras que se forman en el contacto con la piel) y que reproduce la parte inferior del autópodo.

Huella real o verdadera: aquella que se ha formado en la superficie de la interfase sedimento/aire o sedimento/agua cuando un animal pisa en un sustrato blando o semiconsolidado.

Subhuella: se forma cuando el pie del animal arrastra (rompe y desplaza) el sustrato pisado a una capa inferior mientras pisa.

### **Agradecimientos**

A Félix Pérez-Lorente, director de los campos de trabajo, por su interés y sus enseñanzas. Al revisor de este trabajo (Antonio Encina), cuyas constructivas

sugerencias han contribuido notablemente a mejorar el trabajo. A todos los asistentes, año tras año, a los campos de trabajo, sin cuyo esfuerzo y dedicación esto no sería posible.

### **Bibliografía**

- Caro, S. 2006. Alteración de la roca con huellas de dinosaurio y su evaluación de los productos para su conservación y preservación. En: Actas del simposio internacional “Huellas que perduran. Icnitas de dinosaurio: patrimonio y recurso”. (ed. Fundación del Patrimonio Histórico de Castilla y León), pp. 219-242, Valladolid, España.
- Caro, S., Pavía, S. y Pérez-Lorente, F. 2003. Intervenciones en la conservación de las huellas de dinosaurio de La Rioja (España). En: Dinosaurios y otros reptiles mesozoicos de España. (ed. Universidad de La Rioja: Instituto de Estudios Riojanos), pp. 225-238, Instituto de Estudios Riojanos, Logroño, España.
- Caro, S. y Pérez-Lorente, F. 1997. Concepto y valoración del patrimonio paleo-icnológico, pisadas de dinosaurio, de La Rioja: España. *Zubía*, 15: 35-38.
- Casanovas, M.L., Pérez-Lorente, F., Santafé, J.V., y Fernández, A. 1985. Nuevos datos icnológicos del Cretácico Inferior de la Sierra de los Cameros. *Paleontologia i evolució* 19: 3-18.
- Casanovas-Cladellas, M.L. y Santafé-Llopis, J.V. 1971. Icnitas de reptiles mesozoicos en la provincia de Logroño. *Acta Geológica Hispánica VI* 5:139-142
- Casanovas-Cladellas, M.L. y Santafé-Llopis, J.V. 1974. Dos nuevos yacimientos de icnitas de Dinosaurios. *Acta Geológica Hispánica* 9, 88-91.
- Díaz-Martínez E., Guillén-Mondéjar, F., Mata J.M., Muñoz P., Nieto L., Pérez-Lorente F. y Santisteban, C. 2008. Nueva legislación española de protección de la Naturaleza y desarrollo rural: implicaciones para la conservación y gestión del patrimonio geológico y la geodiversidad. *Geo-Temas* 10:1311-1314.
- Díaz-Martínez, I., Pérez-Lorente, F., Canudo, J.I. y Pereda-Suberbiola, X. 2009. Causas de la variabilidad en icnitas de dinosaurios y su aplicación en icnotaxonomía. En: (P. Huerta y F. Torcida, Eds). Actas de las IV Jornadas Internacionales sobre Paleontología de dinosaurios y su entorno, Salas de los Infantes: 207-220.
- Díaz-Martínez, I. 2010. Treinta años de trabajo de campo en los yacimientos icnológicos de la Rioja (1980-2010). *Zubía* 28:1-188, 167-178.
- Pérez-Lorente, F. 1990. Excavaciones sobre icnitas de dinosaurio en Enciso e

- Igea (La Rioja). Estrato: Revista riojana de arqueología, 2:47-50.
- Pérez-Lorente, F. 2000. Restauración y catalogación de nuevos yacimientos durante la campaña del año 2000. Estrato: Revista riojana de arqueología, 12:125-129.
- Requeta, L.E., Hernández-Medrano, N. y Pérez-Lorente, F. 2006, 2007. La Pellejera: descripción y aportaciones. Heterocronía y variabilidad de un yacimiento icnológico de La Rioja (España). *Zubía* 18-19: 21-114.
- IGME: <http://www.igme.es/internet/paleocameros/investigacion/paleo/vertebrados/paleoicnologia/texto.htm> (acceso 15/9/2013)



## Primeros pasos para el análisis de las lesiones en secuencias específicas del ADN de ciervo: secuenciación del ADN

Jéssica Alonso Molero<sup>1</sup>

Alumna de 5<sup>o</sup> de Licenciatura en Biología y Becaria en el Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal de la Universidad de León. Curso 2012/2013

1.- jalonmoo@estudiantes.unileon.es

Trabajo de investigación dirigido y supervisado por el Dr. Felipe Martínez Pastor (felipe.martinez@unileon.es).

El ciervo rojo tiene una gran proyección como especie ganadera: pero se conoce poco de su genética en comparación con otras especies domésticas. Tanto es así que, tres años después de anunciarse la completa secuenciación del genoma de vaca (*Bos taurus*) apenas hay secuencias nucleares de cérvidos disponibles. En el Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal (INDEGSAL) de la Universidad de León existe una línea de investigación sobre la calidad espermática de esta especie. En estos estudios estamos intentando aplicar técnicas de biología molecular para determinar lesiones en sus secuencias específicas de ADN. Esto requiere la disponibilidad de la secuencia de los genes de interés, motivo por el cual estamos en proceso de secuenciar varios fragmentos de su ADN. En este artículo repasamos la técnica de secuenciación que estamos utilizando, los obstáculos con los que nos hemos encontrado y algunos resultados que vamos obteniendo.

**Palabras Clave:** Ciervo rojo, secuenciación, ADN, PCR, electroforesis capilar.

### Introducción

Mi nombre es Jéssica Alonso, y como muchos de los lectores de esta revista, soy estudiante en la Facultad de Ciencias Ambientales y Biológicas. En este momento estoy cursando 5<sup>o</sup> de Licenciatura de Biología, pero ya llevo algún tiempo en el mundo de la investigación. Llegué a este mundo al ponerme en contacto con el Dr. Felipe Martínez, investigador del INDEGSAL y del Departamento de Biología Molecular. Él me recibió, hace ya dos años, en su grupo de investigación, incluyéndome en algunas de las líneas de investigación que coordina. Nuestra intención es estudiar cómo afectan los daños del ADN a diferentes funciones y procesos celulares, centrándonos en los espermatozoides.

En este momento me encuentro colaborando en un proyecto que tiene como objetivo utilizar técnicas de biología molecular para evaluar estos daños en

el ADN espermático. Estas técnicas se basan en la utilización de PCR en tiempo real (Rothfuss et al., 2010), comparando la velocidad de acumulación de producto de la reacción en la muestra problema y en una muestra control, ya que la progresión de la polimerasa se verá entorpecida, e incluso impedida, si la cadena molde presenta daños.

Con este tipo de estrategia, un requisito esencial es conocer las secuencia de ADN de las especies con las que trabajamos, para poder diseñar cebadores (primers) específicos. Este es un problema si no están disponibles estas secuencias (por ejemplo en NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>), en cuyo caso debemos diseñar cebadores basándonos en las secuencias publicadas de especies filogenéticamente cercanas. Con el tiempo, me he convertido en la responsable de esta tarea. Tengo que decir que no trabajo sola en ello. He tenido a mucha gente enseñándome y colaborando conmigo en esta tarea, y actualmente me ayudan Adolfo Velázquez y Cristina Fuertes, estudiantes de Biología. María Mata y Leticia Ordás, doctorandas del grupo, se encargan de realizar los análisis utilizando los cebadores diseñados gracias a las secuencias que obtenemos.

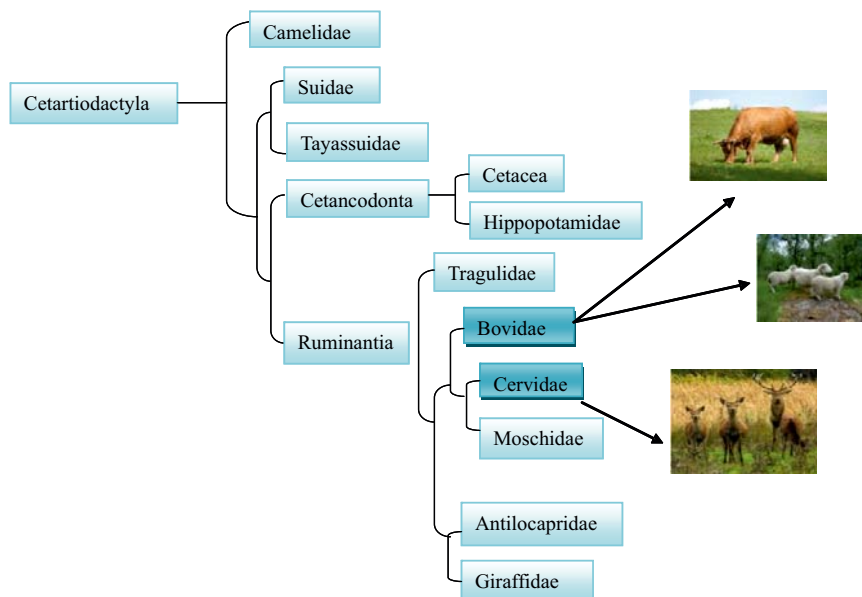
Comenzando por lo más básico, debemos recordar que el ADN (ácido desoxi-ribonucleótido) es una molécula definida por una secuencia de nucleótidos mediante los cuales se cifra una información genética. El orden de las bases nitrogenadas es crítico para cifrar esta información. La secuenciación del ADN tiene como objetivo estudiar el orden de estas bases mediante una serie de métodos y técnicas bioquímicas, de modo que con estas secuencias se puedan realizar diversos estudios.

Determinar la secuencia de ADN es muy útil en muchos campos de investigación y ha ayudado a lograr diversos descubrimientos en la biología. A nivel práctico, sabemos que la información proporcionada por la secuenciación del genoma humano podría ser de gran interés para conocer la predisposición de una persona concreta a padecer ciertas enfermedades. En investigación, hay muchas técnicas que se basan en la utilización de secuencias específicas para lograr distintos fines: utilización de esas secuencias como sondas, realización de PCR para detectar expresión génica, etc.

Hasta el momento, se ha conseguido secuenciar el genoma de más de 300 organismos, generalmente los más relevantes para distintos campos de conocimiento. Desafortunadamente para nosotros, apenas se dispone de secuencias nucleares del ciervo rojo (*Cervus elaphus*). En el INDEGSAL estamos trabajando en la reproducción de esta especie por el valor que representa como ganadería alternativa. Si bien es posible utilizar la secuencia de una especie

similar o secuencias muy conservadas evolutivamente, hay muchas técnicas que requieren de secuencias muy específicas. Este es nuestro caso, ya que utilizamos PCR cuantitativa en tiempo real (Real Time-PCR) para detectar modificaciones (daños) que pueden tener una frecuencia muy baja. Hemos comprobado que las técnicas que utilizamos se ven muy afectadas por la calidad de los cebadores, debido a que amplificamos secuencias de alrededor de 1 kb ("semi-largas"), y la eficiencia de la reacción disminuye considerablemente si los cebadores no hibridan correctamente.

El hecho de que apenas se disponga de secuencia de ciervo, hace que tengamos que recurrir a especies cercanas a él, como son la oveja doméstica (*Ovis aries*) y la vaca doméstica (*Bos taurus*) para poder obtener posibles oligonucleótidos que nos permitan conseguir el material necesario para llevar a cabo la secuenciación. Todas estas especies pertenecen al orden de los artiodáctilos (Artiodactyla). Recordemos que este orden agrupa a mamíferos ungulados cuyas extremidades terminan en un número par de dedos, de los cuales los más desarrollados son los que ocupan la tercera y la cuarta posición (realmente, Artiodactyla se considera parafilético, siendo filogenéticamente correcto Cetartiodactyla, que incluye a los cetáceos). Habitan en todos los continentes, excepto en la Antártida, aunque los que se encuentran en Australia han sido introducidos por el hombre. En este orden se incluyen unas 235 especies no extintas, repartidas en 10 familias. La **Fig. 1** muestra la relación filogenética entre estas familias, y donde se puede apreciar la proximidad de las especies que estamos usando en nuestro trabajo.



**Figura 1.** Árbol filogenético del orden Cetartiodactyla.

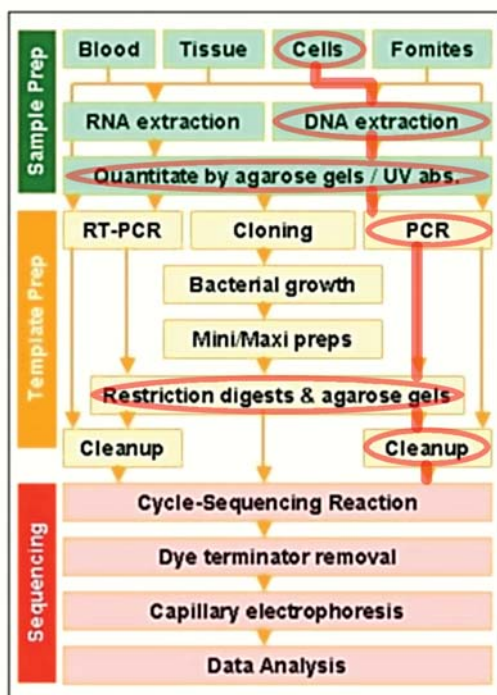
En este artículo voy a describir las técnicas que estamos realizando para secuenciar algunos genes de ciervo ibérico, y los primeros resultados que hemos obtenido.

### Metodología

El protocolo de secuenciación se puede resumir en varias etapas que detallaré a continuación y que no tienen por qué ir en este orden, ya que dependiendo del experimento podrían cambiar (la **Fig. 2** muestra un esquema general de distintas estrategias para la preparación de la muestra antes de la secuenciación). Estas etapas son:

1. Extracción de ADN (en mi caso, de espermatozoides o de otros tejidos de ciervo rojo).
2. Búsqueda de cebadores utilizando secuencias de oveja o vaca.
3. Realización de las diferentes PCR (primero para comprobar si los cebadores amplifican secuencias del ADN de ciervo y posteriormente para obtener una cantidad de producto aceptable para secuenciar).
4. Obtención de bandas en un gel, mediante electroforesis de los productos de las PCR.
5. Purificación de las bandas obtenidas.
6. Secuenciación.

Según lo comentado anteriormente, lo que hacemos es obtener el ADN a partir, en nuestro caso, de espermatozoides de ciervo rojo, puesto que es nuestro



principal material de trabajo. Estos espermatozoides los tenemos congelados y reservados en tanques de nitrógeno líquido, a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , en dosis de  $250\ \mu\text{l}$ , con una concentración de 100 millones de espermatozoides por ml. La descongelación de estas dosis la realizamos en un baño a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 segundos.

**Figura 2.** Esquema de distintas estrategias de secuenciación, dependiendo del tipo de ácido nucleico y del origen de la muestra. La estrategia seguida en nuestro trabajo está resaltada en rojo.

El protocolo de extracción del ADN es sencillo. El primer paso que realizamos es una reducción de puentes disulfuro de las protaminas y digestión de las proteínas con la proteinasa K. Posteriormente, separamos el ADN del resto de los componentes celulares, mediante el método del fenol:cloroformo y la precipitación con etanol. Para ello, partimos de la muestra acuosa procedente de la digestión con proteinasa K, y realizamos una serie de centrifugaciones en presencia de fenol: cloroformo, que disuelve las proteínas y los componentes lipídicos, quedando el ADN en la fase acuosa. Por último, añadimos acetato sódico y etanol absoluto sobre la fase acuosa, para hacer que el ADN precipite y forme un ovillo visible, el cual recogemos e introducimos en un eppendorf vacío estéril hasta que se evapora el etanol. Finalmente, lo diluimos en agua de Biología Molecular (agua BioMol), identificamos el tubo y lo conservamos a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Posteriormente, se lleva a cabo la obtención de cebadores o primers. Para ello, lo que hacemos es acudir a diferentes bases de datos, como el NCBI o el Ensembl Genome Browser (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Localizamos los genes que nos interesan, generalmente en vaca, y determinamos la estructura de intrones y exones. Debemos tener en cuenta que nuestro objetivo final es amplificar una secuencia de  $\sim 1$  kb. Debido a esto, generalmente debemos diseñar los cebadores en dos exones (la secuencia estará más conservada —más similar entre especies— en los exones) separados por un intrón de menos de 1 kb.

Estas secuencias las tratamos con programas bioinformáticos (Primer-Blast, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>, nos ha dado muy buenos resultados), en los que se introduce la secuencia de ADN y devuelven una lista de posibles cebadores, de acuerdo con unas condiciones predefinidas (longitud del amplicón,  $T_m$ , etc.). Para descartar problemas (tales como que los cebadores hibriden entre ellos, que formen horquillas, etc.), utilizamos la herramienta Oligoanalyzer, que nos ofrece una serie de análisis que nos permiten determinar la calidad de los cebadores. Una vez seleccionados, los cebadores se piden a una casa comercial que los sintetiza y nos los envía liofilizados.

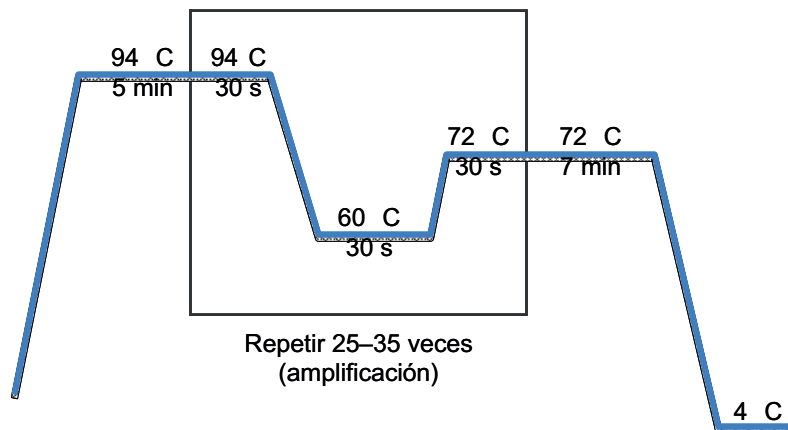
Con todo este material, realizamos la PCR para determinar si los cebadores hibridan y se obtienen productos del tamaño deseado. Esta PCR de prueba nos permite hacer una selección de los cebadores que mejor funcionan, es decir, si tras la electroforesis en gel obtenemos una banda intensa, definida y del tamaño deseado. Nuestra rutina de PCR es la habitual (Barlett y Stirling, 2003), con una mezcla de reacción incluyendo cebadores (forward y reverse), el ADN extraído de los tejidos de ciervo y la polimerasa (nosotros utilizamos una Taq

polimerasa —de *Thermophilus aquaticus*— optimizada). A la reacción le añadimos otra serie de compuestos necesarios para la reacción:  $MgCl_2$ , que funciona como cofactor, los dNTPs (desoxirribonucleótidos-trifosfato), los cuales son utilizados para sintetizar la secuencia complementaria a la cadena de ADN y el tampón óptimo para el funcionamiento de la enzima.

Todo ello lo introducimos en el termociclador, un aparato que permite realizar los ciclos de temperaturas necesarios para que la polimerasa pueda realizar la amplificación. Normalmente utilizamos entre 25 y 35 ciclos, y en cada uno de ellos deben programarse tres fases (**Fig. 3**):

- 1- Desnaturalización
- 2- Hibridación
- 3- Extensión

Antes de comenzar con dichas etapas, solemos incluir una fase preliminar, denominada fase de inicio. En ella el termociclador alcanza la temperatura de  $94^{\circ}C$  y la mantiene durante 5 minutos para asegurar la activación de la Taq polimerasa. Acabada esta última fase, en el último ciclo se llevan a cabo otras dos fases, una en la que se asegura la total amplificación de la región deseada del ADN, denominada elongación final y que se lleva a cabo durante 7 minutos a  $72^{\circ}C$ , y otra que es la de conservación, en la que la temperatura desciende a  $4^{\circ}C$ , de modo que el ADN no se degrade hasta que retiremos los tubos del termociclador.



**Figura 3.** Esquema de un programa de PCR típico. La temperatura se representa en vertical y el tiempo en horizontal (escalas no proporcionales).

Tras realizar este paso, realizamos una electroforesis del producto obtenido en un gel de agarosa. El porcentaje de ésta depende del tamaño de producto esperado. Como para la secuenciación se usan productos de un tamaño

semi-largo (~1kb), la concentración utilizada suele ser del 1%. Este gel se examina primero para comprobar si las bandas son definidas y del tamaño esperado, descartando el experimento si se presentan bandas inespecíficas o smear (un borrón debido a la presencia de muchos fragmentos con tamaños muy variados. No obstante, a menudo encontramos bandas bien definidas pero que se sitúan en una posición que no corresponde al tamaño esperado. Esta diferencia de tamaño se debe muchas veces no a una amplificación inespecífica, sino a que en el genoma del ciervo ese gen tiene un intrón mayor o menor que el ADN de la especie en la que hemos obtenido los cebadores.

Una vez que comprobamos que los cebadores funcionan correctamente, repetimos la PCR con las condiciones óptimas que hemos seleccionado en las pruebas anteriores, pero con un mayor número de ciclos y triplicando las reacciones, para conseguir una mayor concentración y un volumen final de 60  $\mu\text{L}$  y no de 20  $\mu\text{L}$ , que son los que se utilizan en cada reacción. El producto se somete de nuevo a electroforesis en un gel de agarosa al 1% y, en el transiluminador, se corta el fragmento de gel que contiene la banda deseada. La extracción del ADN (para secuenciar) se realiza mediante un kit comercial (NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up, de Macherey-Nagel). Colocamos el fragmento del gel en un tampón y lo sometemos a una incubación en caliente para licuar el gel. El producto se pasa por una columna que atrapa el ADN, el cual se recupera tras una serie de lavados. Finalmente, se eluye el ADN en agua BioMol.

Con ese ADN repetimos la PCR, exactamente igual que antes, pero en este caso, el ADN utilizado es el obtenido de la amplificación anterior. Lo que buscamos es obtener un gran número de copias de esa zona, para poder mandarlo a secuenciar. El procedimiento es idéntico al descrito anteriormente.

Tras esto, se pone en marcha la primera de las tres fases de cada ciclo, la de desnaturalización. Esta etapa se lleva a cabo a 94 °C durante 30 s, de modo que las dos hebras de ADN se separen y permitan la acción posterior de la enzima. Posteriormente, se lleva a cabo la segunda fase, la de hibridación. La temperatura en ésta suele variar y depende principalmente de los primers diseñados, puesto que el objetivo es que estos se unan a la hebra molde de ADN. Nosotros solemos diseñar los cebadores con una temperatura de fusión (melting temperature,  $T_m$ ) de 60 °C, por lo que las PCR de prueba las realizamos a tres temperaturas: 58, 60 y 62 °C. El tiempo que dura esta fase es de 30 s. En la tercera fase, extensión, la polimerasa se une y sintetiza la hebra complementaria a la hebra de ADN original mediante la unión de dNTPs al extremo 3' del primer. Para ello se requiere de una temperatura de 72 °C y un tiempo que depende del

tamaño de producto para el que esté diseñado el primer (en nuestro caso, normalmente basta con 30 s).

El método de secuenciación que utilizamos se denomina “secuenciación por electroforesis capilar” (Wilkinson et al., 2000, Katherine, 2002). Para ello utilizamos el Servicio de Secuenciación del Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la ULE. Este servicio está a cargo del técnico Benjamín Rabanal, a quien se le entrega el ADN a secuenciar y los cebadores específicos de esa secuencia. El secuenciador de ADN que utilizan es un MEGABACE 500 (Amersham Bioscience) (**Fig. 4**), basado en electroforesis capilar, que usa el kit de secuenciación DYEnamic ET Dye Terminator Kit (GE Healthcare, 2012). La Universidad de León usa este tipo de secuenciador por varias razones, como que la secuenciación se lleva a cabo de forma rápida y eficaz, en una sola reacción y con bajo coste, en comparación con otros métodos de secuenciación.



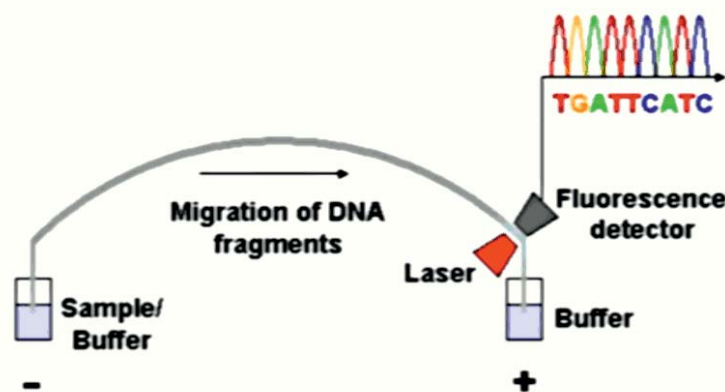
**Figura 4.** Secuenciador MEGABACE 500 del Servicio de Secuenciación de la Universidad de León.

El método de secuenciación está basado en el llamado "método de terminación de cadena", seguido por una electroforesis capilar. El método de terminación de cadena (desarrollado por Sanger y Coulson, 1975) consiste en realizar una PCR en la cual se ha añadido, además de los cuatro desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs), una pequeña concentración de los cuatro nucleótidos modificados (ddNTPs). Esta modificación consiste en la eliminación del hidroxilo 3', con lo cual, si la polimerasa añade un ddNTP, la extensión termina. Cada uno de estos ddNTPs está marcado con un colorante fluorescente



distinto. Por lo tanto, tras realizar una PCR en estas condiciones tendremos fragmentos de la secuencia molde de distintas longitudes y marcados con un fluorocromo (molécula fluorescente) distinto.

En un segundo paso, el producto de la PCR es sometido a electroforesis a través de un capilar que está relleno con un polímero que funciona del mismo modo que el gel de agarosa, de modo que es capaz de separar los diferentes fragmentos de ADN por tamaños. En el extremo del capilar que coincide con el polo negativo se localiza un láser, que ilumina cada uno de los fragmentos de ADN que recorren el capilar, detectándose una longitud de onda diferente dependiendo del ddNTP añadido en la terminación de ese fragmento. Posteriormente, esas señales luminosas son tratadas con un software que las convierte en datos digitales, permitiéndonos conocer de qué nucleótido se trata y, por tanto, la secuencia del fragmento de ADN en estudio (**Fig. 5**).

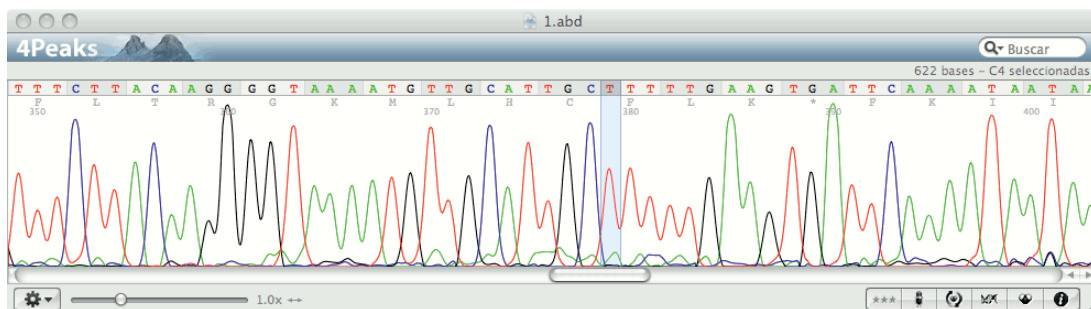


**Figura 5.** Esquema de la secuenciación capilar. La muestra, tras la PCR con los nucleótidos terminadores marcados, migra a través de un capilar y la fluorescencia de los fragmentos sucesivos es leída mediante la excitación con un láser.

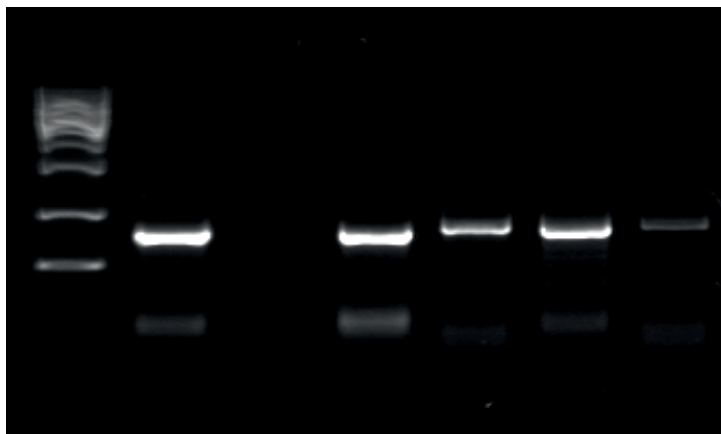
El DYEnamic ET Dye Terminator Kit es utilizado por el Servicio de Secuenciación porque permite una secuenciación más sensible, a pesar de que la muestra no esté completamente purificada, de modo que los resultados no se ven alterados por la presencia de ciertas sustancias, como las sales. Además muestra una eficiente incorporación del fluorocromo a los diferentes terminadores, lo cual permite largos tiempos de lectura, con los que se obtienen picos de fluorescencia uniformes, con lo cual se obtienen menos errores al procesar los resultados con el software.

### Primeros resultados

Mediante el protocolo descrito anteriormente hemos conseguido, de momento, secuenciar un fragmento del gen que codifica para la  $\beta$ -globina (956 pb entre los exones 2 y 3; **Fig. 6**) y dos fragmentos del gen h19 (312 pb entre el exón 1 y el intrón 2, y 575 pb entre el intrón 3 y el exón 5). Además, hemos conseguido diseñar cebadores, utilizando principalmente secuencias de toro, con las que podemos amplificar fragmentos de distintos genes en ADN de ciervo (**Fig. 7**), y que estamos utilizando para conseguir secuenciar esos fragmentos.



**Figura 6.** Análisis del resultado de la secuenciación capilar utilizando el software 4Peaks (<http://nucleobytes.com/index.php/4peaks>). Este fragmento corresponde al gen de la  $\beta$ -globina, uno de los primeros en ser secuenciados en ciervo por nuestro grupo.

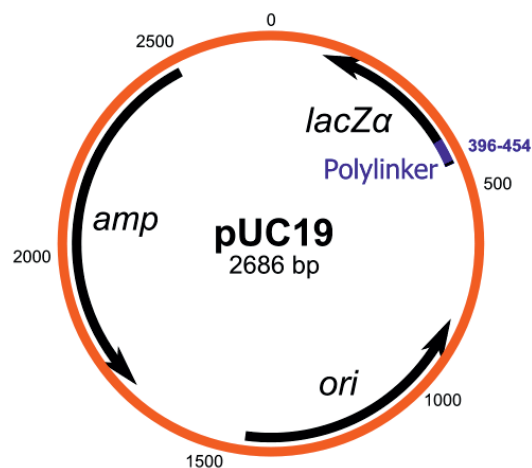


**Figura 7.** Imagen de un gel tras realizar una electroforesis a los productos de seis reacciones de PCR. En estas reacciones se utilizaron cebadores para una secuencia de 843 pb del gen *dlk1*, utilizando secuencias publicadas para vaca (NCBI Gene ID 281117). El primer carril a la izquierda es una escalera cuyas

bandas inferiores corresponden a tamaños de banda de 500 pb y 1 kb, mientras que el resto de los carriles corresponden alternativamente a reacciones en las que se utilizó ADN de toro y de ciervo, a tres temperaturas de hibridación diferentes (58 °C, 60 °C y 62 °C). En este caso, obtuvimos una banda definida y del tamaño esperado en todas las reacciones con ADN de toro, y en el caso del ADN de ciervo, obtuvimos una banda aceptable y de tamaño ligeramente superior cuando realizamos la reacción con una temperatura de hibridación de 60 °C.

Hemos empleado otra técnica para incrementar la calidad y cantidad del ADN, pero fue abandonada al no obtener unas ventajas claras. En este caso, buscamos amplificar el fragmento aislado del gel tras PCR, clonándolo en un vector y transformando bacterias. De esta manera, se obtienen finalmente muchas copias del vector con el fragmento a secuenciar, pudiendo además aprovechar la secuencia del vector para diseñar otros cebadores, utilizar endonucleasas específicas, etc. Debemos agradecer la ayuda de Marta Fernández, que está realizando la tesis doctoral en el INDEGSAL con la Dra. Vanesa Robles, por enseñarme a realizar esta técnica.

El vector que utilizamos fue el pUC19 (Vieira y Messing, 1982; amablemente cedido por Antonio Rodríguez, del INBIOTEC), el cual posee una región que codifica una proteína que proporcionará a las bacterias que asimilen el vector resistencia frente a ampicilina (**Fig. 8**). Una vez extraído del gel, introducimos el fragmento a secuenciar en el vector, y transformamos con él la cepa  $\alpha$  de *Escherichia coli*. Para ello, mediante el uso de cloruro de calcio y con un golpe de calor, abrimos poros en las membranas de las bacterias, por los cuales puede penetrar ADN exógeno (en este caso, nuestro vector). Cultivando las bacterias en un medio con ampicilina, solo aquellas bacterias que hayan incorporado el vector formarán colonias. Estas colonias se analizaron mediante PCR para comprobar si el vector contenía el fragmento de interés (mediante la aparición en el gel de electroforesis de la banda correspondiente), y con las colonias positivas se realizó una miniprep. Finalmente se extraía el ADN correspondiente al vector, se linealizaba y se mandaba a secuenciar.



**Figura 8.** Esquema del vector pUC19, con sus características más relevantes.

Si bien conseguimos transformar las bacterias y obtener colonias positivas al vector con nuestros fragmentos de ADN de ciervo, los resultados de la secuenciación han sido muy irregulares. Paralelamente, estuvimos mejorando nuestro otro protocolo, consiguiendo mejores resultados con la amplificación mediante PCR, por lo que decidimos abandonar, al menos de momento, la técnica basada en la transformación bacteriana (mucho más larga y más costosa).

### Conclusión

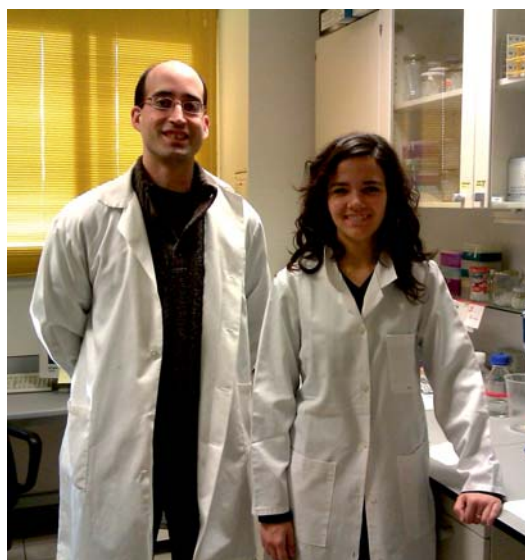
Hemos conseguido fragmentos de dos genes que cumplen las condiciones que buscábamos (diseño de cebadores para amplificar un fragmento ~1 kb), la  $\beta$ -

globina y el *h19*. Actualmente estamos amplificando varios fragmentos de otros genes, de manera que finalmente tengamos una colección de cebadores para analizar el daño en varias regiones del ADN espermático del ciervo rojo.

### Bibliografía

- Bartlett, J.M.S. y Stirling, D. 2003. A short history of the polymerase chain reaction. *PCR Protocols* 226:3–6.
- GE Healthcare. DYEnamic ET Dye Terminator Kit (MegaBACE). 2012. <http://www.gelifesciences.com/webapp/wcs/stores/servlet/productById/en/GELifeSciences-US/25020371> (7 dic. 2012).
- Katherine, L. 2002. Analytical chemistry comes to the rescue: solving the human genome and other biological mysteries with capillary electrophoresis. *The Journal of Young Investigators*, 5 (9), <http://www.jyi.org/features/ft.php?id=460> (8 dic. 2012).
- Huffman, B. 2011. [www.ultimateungulate.com](http://www.ultimateungulate.com). <http://www.ultimateungulate.com/whatisanungulate.html> (7 dic. 2012).
- Rothfuss, O., Gasser, T. y Patenge, N. 2010. Analysis of differential DNA damage in the mitochondrial genome employing a semi-long run real-time PCR approach. *Nucleic Acids Research* 38:24.
- Sanger, F. y Coulson, A. R. 1975. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology* 94:441–8.
- Vieira, J. y Messing, J. 1982. The pUC plasmids, an M13mp7-derived system for insertion mutagenesis and sequencing with synthetic universal primers. *Gene* 19:259–268.
- Wilkinson, D. 2000. Capillary Action. *The Scientist* 14, 10:21.

La autora del trabajo, Dña. Jéssica Alonso, junto con el supervisor del mismo, el Dr. Felipe Martínez Pastor.



## BAUL DE LA CIENCIA

### Una introducción al estudio de presiones ambientales e impactos en lagunas de montaña de Castilla y León

Francisco García Criado

Área de Ecología, Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental, Universidad de León.

A pesar de la dilatada historia de la limnología, el conocimiento que tenemos de las lagunas de montaña españolas es limitado. Algo tan elemental como la capacidad para evaluar objetivamente su estado de conservación a partir de datos físicos, químicos y biológicos está todavía fuera de nuestro alcance. Desde el Área de Ecología de la Universidad de León, se ha desarrollado en los últimos años una línea de investigación que pretende subsanar estas deficiencias. En este artículo se explican sucintamente las dificultades inherentes a la evaluación del estado ecológico. Seguidamente, aplicando un sencillo análisis de presiones e impactos, se ofrece una visión global, orientativa, sobre la calidad de las lagunas de montaña de Castilla y León. El trabajo de campo ha puesto de relieve que casi todas ellas están sometidas a un tipo u otro de presión, frecuentemente a varios. Estas presiones se manifiestan en muchos casos, pero no en todos, en forma de impactos. A partir de datos de fósforo total, de clorofila a y de profundidad del disco de Secchi, se ha hecho una estimación del estado trófico de cada masa de agua. El balance global delata procesos de eutrofización en alrededor del 40% de las lagunas estudiadas.

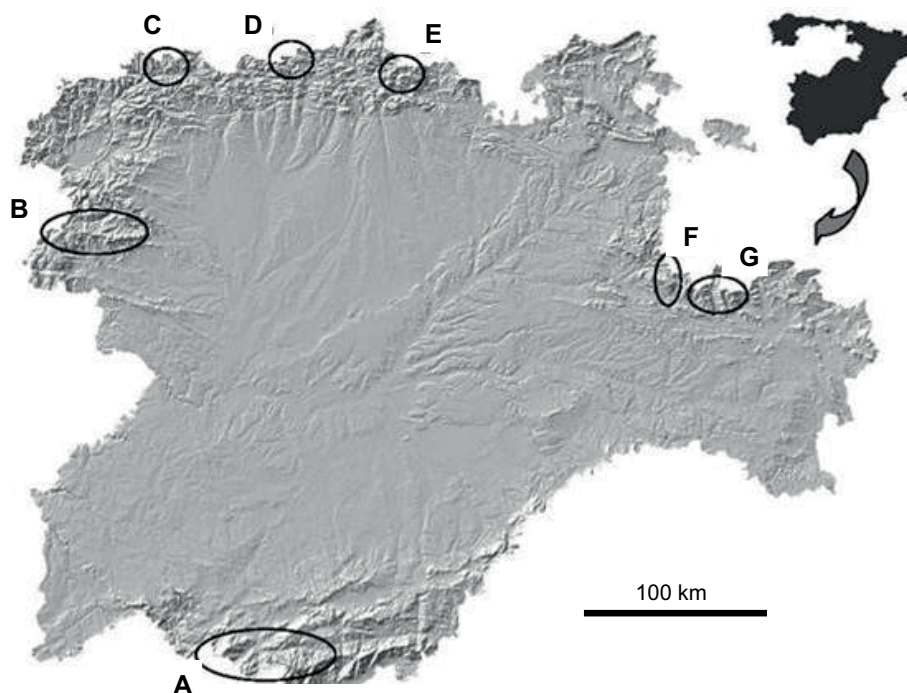
**Palabras clave:** estado trófico, nutrientes, ecosistemas lacustres, Directiva Marco del Agua.

#### **Lagunas de montaña en Castilla y León: pocas y mal conocidas**

Los ecosistemas lacustres son cualquier cosa menos abundantes en las regiones montañosas de Castilla y León. El catálogo de zonas húmedas que, aunque incompleto, es la referencia oficial, registra 95 humedales que puedan recibir la denominación de lagunas de montaña. Y ello englobando bajo este término sistemas muy someros, frecuentemente temporales, así como una quincena de masas de agua cuya superficie no alcanza la media hectárea. Al margen del lago de Sanabria, que queda fuera de este artículo, y la laguna del Duque, que es un embalse, todas tienen menos de 12 ha; la mayoría no alcanza las cinco. Podríamos hacer un esfuerzo adicional (yo lo he hecho) y completar el inventario oficial con datos de otras procedencias (textos divulgativos, fotografía satélite, experiencia propia, comunicaciones personales); descartando las más

diminutas (las de, digamos, menos de media hectárea), podemos elevar esa cifra de 95 hasta las cien masas de agua, poco más o menos. Aunque este conjunto encierra sistemas de variada naturaleza, aceptemos laguna como término para designar a todas ellas.

La distribución de esta centena de lagunas es amplia pero no uniforme, más bien se concentran en ciertas regiones (**Fig. 1**). El mayor complejo aparece en la sierra de Segundera, dentro de los confines del parque natural del lago de Sanabri (Zamora), donde, aparte del lago que da nombre al espacio, existe algo más de una veintena de masas de agua que encajan en la descripción anterior. También son numerosas en la sierra de Gredos (Ávila) y en la sierra de la Demanda (Burgos), con el complejo lagunar de Neila como estandarte. En menor cantidad aparecen en la sierra de Urbión (Soria) y en Fuentes Carrionas y sus proximidades (Palencia, León). Además, existen lagunas dispersas en la montaña leonesa, tanto en la cordillera Cantábrica como en la sierra de La Cabrera, muy próxima a Sanabria. También las hay en otras zonas, pero son sistemas más pequeños que los aquí considerados con la excepción del peculiar lago de Carucedo, junto a Las Médulas.



**Figura 1.** Ubicación de las lagunas de montaña en Castilla y León. A: sierra de Gredos; B: Sanabria y Cabrera; C: Babia; D: San Isidro; E: Fuentes Carrionas; F: sierra de la Demanda; G: sierras de Urbión y Cebollera.

La escasez y las reducidas dimensiones de estos sistemas son argumentos ineluctables pero susceptibles, claro está, de lecturas contrarias. Alguien habrá, los menos (o así lo espero), que vean en él una oportuna justificación para despreocuparse de ellos. Para otros, en el extremo opuesto, es motivación suficiente para profundizar en su conocimiento y, en su caso, promover su conservación. Los limnólogos, naturalmente, nos contamos entre los segundos. Sin embargo, no por escasas las lagunas de Castilla y León son bien conocidas. Sabemos algo de aspectos y zonas concretas. Trabajos de interés son los realizados sobre fitoplancton en lagunas de la cordillera Cantábrica por Negro et al. (2003), el repaso general a las características limnológicas de las lagunas de Gredos (**Fig. 2**) proporcionado por Toro et al. (2006) o el texto divulgativo sobre las lagunas de Sanabria de Vega et al. (1991). Por lo demás, nuestro conocimiento dista de ser satisfactorio. Muy lejos, en todo caso, del que se tiene de ecosistemas similares en Pirineos y Sierra Nevada, sin mencionar, claro está, otras zonas europeas o americanas. Esta circunstancia, unida a la afición por la montaña del que suscribe, propició que un modesto equipo de investigadores del Área de Ecología de la Universidad de León iniciara una línea de investigación cuyo objetivo principal es desarrollar herramientas de bioindicación aplicables a estos ecosistemas.



**Foto2.** Vista de las tres lagunas de El Trampal, situadas en el sector más occidental de la sierra de Gredos.

### **Calidad y estado ecológico: el contexto normativo**

La pregunta es inmediata, ¿cuál es la calidad de las lagunas de montaña en nuestra región? Casi con certeza, cualquier persona ajena al campo de trabajo dará por hecho que un experto ha de ser capaz de dar una respuesta tajante. Nada más lejos de la realidad. Al menos, yo no me encuentro capacitado para emitir juicios categóricos. No es una cuestión tan simple como pudiera parecer; o, tal vez, no entro aún en la categoría de experto, que todo puede ser. Siendo menos autocrítico, asumamos sencillamente que es pronto para contestar con autoridad. A pesar de ello, no puedo sustraerme a la tentación de presentar aquí un boceto de mi impresión actual, la adquirida tras varios años de recogida de datos.

Por no levantar falsas expectativas, me adelanto a decir que no voy a resolver tan espinoso asunto. Al menos, no como la sociedad científica lo requiere hoy día. Expliquemos esto. Para asignar un valor al, llamémosle así de momento, estado de conservación de un ecosistema hemos de tener claro cómo vamos a cuantificarlo, qué queremos medir. Hablar de calidad, en general, no ayuda a entendernos; es este un concepto impreciso, multifacético más bien, que no ofrece orientación sobre objetivos ambientales. Puede aludir a calidad para el consumo humano (en cuyo caso, los estándares de calidad serán unos), para el baño (con otros estándares) o para cualquier otro uso. En el contexto de la biología, la idea que la mayoría tiene en la cabeza se aproxima, casi seguro, a algo que podríamos denominar calidad biológica. Es una noción próxima al concepto de salud del ecosistema. Según él, y explicado en sencillas palabras, una masa de agua tendrá buena calidad (salud) cuando sus características (físicas, químicas y biológicas) no difieran significativamente de las de un ecosistemas inalterado. Este concepto está formalmente recogido en el ámbito de la Unión Europea desde que en el año 2000 se aprobara la Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000; en adelante, DMA); su nombre, estado ecológico. Dicho de otro modo, lo que en Europa hacemos ahora (o debemos hacer) es evaluar el estado ecológico de las masas de agua. Bien es cierto que la DMA, que es de aplicación preceptiva a ríos, lagos, aguas subterráneas, de transición (estuarios, marismas) y costeras, no lo es para lagos de menos de 50 hectáreas. Pero esto es harina de otro costal; requeriría un artículo de dimensiones parejas a este describir, no ya exhaustivamente sino en sus líneas generales, el contenido de tan extenso documento y el porqué de esta exclusión. No obstante, hasta la fecha nadie ha sido capaz de quitarme de la cabeza la idea de que, aun cuando nuestras



diminutas lagunas no merecen la atención de las administraciones, deberíamos perseguir para ellas los mismos objetivos ambientales demandados por la legislación para sistemas mayores y deberíamos hacerlo recurriendo a los mismos procedimientos.

Y aquí comienzan a surgir los obstáculos que me impiden en estos momentos dar cuenta del estado ecológico de nuestras lagunas de montaña con objetividad normativa. La DMA establece un procedimiento de obligado cumplimiento que estamos lejos de completar. Primero, exige seleccionar un conjunto de medidas o índices (de características físicas, químicas y biológicas, entre otras) sensibles a la degradación. Segundo, hemos de conocer cuál es el valor de esos índices en una masa de agua no alterada por la actividad humana; las condiciones de referencia, se llaman. Por supuesto, esto hace deseable contar con masas de agua inalteradas (localidades de referencia) de las que podamos obtener esta información. Tercero, el grado en que los valores reales medidos en una laguna concreta se aparten de los de referencia debe permitirnos asignarla a una de las cinco clases de estado ecológico previstas. Todo ello, además, es *type-specific*, como lo expresaría un anglohablante con la concisión propia de su idioma: hay que construir una tipología de lagos y desarrollar todo el proceso anterior para cada uno de los tipos. Todavía no hemos resuelto estos requerimientos.

### **Entonces, ¿qué podemos aportar?: algunas impresiones derivadas de nuestra investigación**

Con estas y otras ideas en mente, nuestro equipo de trabajo inició hace unos años muestreos en lagunas de montaña de nuestra comunidad autónoma. El trabajo de campo se ha extendido a lo largo de cinco años y se ha realizado siempre entre mediados de junio y mediados de julio (**Fig. 2**). Algunas lagunas han sido visitadas en una ocasión, otras en varias. Durante este período se han recogido datos de variables físicas y químicas del agua, de fitoplancton, de macrófitos, de zooplancton y de macroinvertebrados bentónicos litorales. El muestreo culminó con una campaña en la que se trató de tomar datos del grupo biológico más difícil de caracterizar, los peces. Del total de sistemas muestreados, he seleccionado 55 para este estudio.



**Figura 3.** Laguna de Las Lomas (Palencia) durante uno de los muestreos.

A partir de estos datos, ¿cómo podemos dar una visión de la calidad de nuestras lagunas? Se me ocurre hacer un análisis de presiones y de impactos conforme a los pasos que se describen a continuación.

1. Comencemos por identificar qué presiones ambientales pueden afectar al tipo de ecosistema estudiado. La relación de presiones potenciales es amplia, pero el conocimiento del área de estudio permite acotarla seleccionando solo las significativas. Entendemos por presión cualquier actividad humana que incida sobre el estado de las aguas.
2. Comprobemos a qué presiones concretas está sometida cada una de las 55 lagunas incluidas en este estudio.
3. Una vez identificadas, es posible recurrir a los conocimientos limnológicos preexistentes para anticipar qué impactos pueden originar esas presiones sobre la laguna o, al menos, algunos de ellos. Impacto, como fácilmente se deduce del contexto, es el resultado de una presión o, para más fácil comprensión, la variación experimentada por alguna característica del ecosistema como consecuencia de esa presión. ¿Cómo habría que abordar el problema? Fácil. Fácil explicarlo, entiéndase. Clasifiquemos el conjunto de lagunas en tipos según sus características ambientales, seleccionemos para cada tipo un buen número de lagunas que carezcan de presiones, midamos en ellas las variables físicas, químicas y biológicas que consideremos oportunas, tomemos estos datos como valores de referencia y... ivoilà! Ahora solo resta comparar los valores medidos en una nueva localidad con los de referencia: una desviación significativa sería indicadora de impacto. Pero, claro, este es el procedimiento normativo descrito arriba; ese que no podemos aplicar aún. ¿Cómo podemos salir del paso? Eludiendo las constricciones impuestas por la DMA, recurramos a la más pura tradición limnológica y seleccionemos algunas variables que se han tenido desde antiguo como buenos indicadores del estado de un lago. Clásicas entre las clásicas están la concentración de fósforo total y la cantidad de clorofila a (buen reflejo del desarrollo de las poblaciones fitoplanctónicas), sin olvidar la transparencia del agua estimada a través de la profundidad a la que deja de verse un disco de Secchi (en adelante, el disco de Secchi o la profundidad Secchi). Medir el fósforo tiene sentido porque es habitualmente factor limitante de la producción primaria en aguas dulces; valores altos pueden indicar riesgo de que se desencadene un proceso de eutrofización por adición de nutrientes. Este aumento de nutrientes puede estimular el crecimiento de las poblaciones fitoplanctónicas. Aquí es donde interviene la

segunda de las variables, la clorofila a, que permite cuantificar la cantidad de fitoplancton en el agua. Por otra parte, la transparencia del agua puede disminuir por el incremento del fitoplancton, pero también por la acumulación de partículas de cualquier tipo debido a procesos de contaminación, a aportes de materiales orgánicos e inorgánicos por erosión de las laderas circundantes, procedentes de la escorrentía tras tormentas... Sin duda, también las comunidades biológicas pueden resultar alteradas, pero sabemos mucho menos sobre este aspecto. Aun así, no es en absoluto aventurado anticipar que las presiones pueden conllevar, al menos en algunos casos y para ciertos grupos de organismos, una disminución en el número de taxones (riqueza). Todas estas variables, en conjunto, pueden verse alteradas por presiones como la ganadería, la introducción de peces, la deforestación de la cuenca, el turismo (y la consiguiente erosión de laderas) o, tal vez, los incendios. Juguemos con estas opciones, conscientes de que es una solución parcial que elude considerar otros muchos impactos posibles.

Confío en que este ejercicio nos lleve a buen puerto aunque, a fuer de sincero, debo reconocer que estoy simultaneando la redacción de estas líneas con la interpretación de los datos que necesito para escribirlas. Vamos, que no escribo acerca de lo que ya sabemos sino que estoy aprendiendo para poder escribir.

Vayamos con los resultados de este ejercicio de reflexión y presentémoslos conforme a las fases apuntadas.

### Fase 1: ¿cuáles son las presiones significativas en las lagunas de montaña de Castilla y León?

Conociendo el área de estudio, podemos aventurarnos a elaborar una relación como la de la **Tabla 1**. He suprimido deliberadamente algunas que, aun existiendo, tienen un efecto comparativamente pequeño (o así lo creemos firmemente) sobre los ecosistemas estudiados. Entre ellas se cuenta el transporte de contaminantes a larga distancia que, como es bien sabido, contribuye al aumento de nitrógeno (y de otros compuestos) en ecosistemas de cualquier lugar de Europa, por remotos que sean (Camarero et al., 2009a). Lo mismo he hecho con infraestructuras viarias (pistas) construidas en las inmediaciones de algunas de las lagunas y cuyos impactos, francamente no conocidos, asumimos pequeños y difíciles de detectar; por añadidura, parte de sus consecuencias están recogidas en la tabla bajo otras formas (recrecimiento de lagos y uso recreativo, particularmente). De las restantes, el incremento artificial del nivel de la lámina del agua y las actividades turísticas son, casi con

absoluta certeza, las menos relevantes. Me voy a permitir tomarlas como no significativas. Poco hay que explicar respecto a las restantes.

<b>Ganadería</b>
<b>Uso como embalse</b>
Recrecimiento de lagos (construcción de estructuras para aumentar el nivel de la lámina de agua)
<b>Incendios forestales</b>
<b>Cambios en los usos del terreno</b> (sustitución de la vegetación natural de la cuenca)
<b>Introducción de peces</b>
Usos recreativos (baño, visitas turísticas).

**Tabla 1.** Relación de presiones que podrían afectar a las lagunas de montaña de Castilla y León. Se señalan en negrita las que se han considerado más relevantes.

Fase 2: determinación de las presiones a las que está sometida cada masa de agua

El siguiente paso consiste en establecer a qué presiones está sometida cada una de las 55 lagunas. Esta fase ya entraña dificultades debido a la insuficiente información disponible. Es necesario hacer algunas aclaraciones sobre los criterios seguidos. Primero, la introducción de peces. Que consideremos a una laguna sometida a esta presión requiere, por una parte, recoger datos actuales sobre la presencia de peces, tarea laboriosa, y, segundo, decidir si las poblaciones de peces son naturales o han sido introducidas por el hombre; solo en el segundo de los casos se puede hablar de presión. Carecemos de datos históricos que ayuden a aclarar la cuestión. A falta de ellos, y como regla general, entendemos que la inaccesibilidad de las lagunas de montaña es tal que no permite la colonización natural desde la red fluvial. Por simplificar, voy a equiparar presencia de peces a presión, pero no olvidemos que algunas poblaciones de peces podrían ser naturales.

Segundo, los incendios. Además de recopilar información sobre los incendios acaecidos en la cuenca de cada laguna, se hace necesario definir criterios sobre intensidad y frecuencia antes de decidir cuándo la presión es significativa para una masa de agua dada. No disponemos de conocimientos para fijar esos criterios con un mínimo de objetividad. Solo he registrado aquí los casos más evidentes (Sanabria, por ejemplo), pero la relación deberá ser refinada

en el futuro.

Tercero, la modificación de los usos del terreno. No es fácil cuantificar esta presión; menos aún, decidir cuándo es significativa. Como solución transitoria, me he limitado a constatar la presencia o ausencia de bosque en el entorno de lagunas que, por su altitud y por las características geológicas de su cuenca, deberían estar rodeadas de formaciones boscosas.

Finalmente, he considerado sometidas a presión todas las lagunas en cuyo entorno hemos detectado la presencia de ganado (salvo cuando es excesivamente esporádica) y las que son visitadas por un gran número de personas al año.

El resultado es el reflejado en la **Tabla 2**. Según se ha planteado, puede crearse la errónea impresión de que las lagunas de montaña de Castilla y León están extremadamente degradadas. Pero no adelantemos acontecimientos. Continuemos con la secuencia de razonamientos.

Presión	Nº de lagunas afectadas	Ejemplos más destacados
Ganadería	36	<b>Gredos:</b> <u>Cervunal</u> , Caballeros, El Barco <b>León:</b> Grande de Babia, Robledo, <u>Isoba</u> <b>Sanabria:</b> La Yegua, <u>Castromil</u> , Camposagrado
Uso como embalse	4	<b>Gredos:</b> Duque, El Barco <b>Sanabria:</b> Los Peces, Sotillo
Recrecimiento	5	<b>Burgos:</b> Negra, Los Patos <b>Soria:</b> Cebollera
Incendios	18	Lagunas de Sanabria
Modificación de usos del terreno (deforestación)	28	Casi todas las lagunas por debajo del límite altitudinal del bosque (unos 1800 m), con excepción de las situadas en cuencas rocosas.
Introducción de peces	33	<b>Burgos:</b> lagunas de Neila, Pozo Negro <b>Gredos:</b> Cinco Lagunas <b>León:</b> Grande de Babia <b>Soria:</b> Negra Lagunas de Sanabria
Turismo	8	<b>Burgos:</b> lagunas de Neila <b>Gredos:</b> Grande <b>Soria:</b> Negra
Lagunas sin presiones ambientales identificadas	6	<b>Gredos:</b> Cuadrada <b>León:</b> Ausente, Hoyos de Vargas 1 y 2 <b>Palencia:</b> Las Lomas, Fuentes Carrionas

**Tabla 2.** Estimación de las presiones ambientales a las que están sujetas las lagunas estudiadas. Los números indican cuántas, de las 55 consideradas, están afectadas por cada presión a juicio del autor. Como se indica en el texto, es una información preliminar y susceptible de modificación.

### Fase 3: análisis de los impactos

Y esta es la culminación de la tarea, a la vez que la parte más delicada. Ciertamente que las lagunas de montaña están sometidas a presiones, con pocas excepciones. La consecuencia inmediata es que existe un riesgo de que estén degradadas o de que pasen a estarlo en el futuro. Sin embargo, no implica una alteración efectiva en el funcionamiento del ecosistema. En otras palabras, las presiones pueden manifestarse o no en impactos concretos.

Tomemos las variables anunciadas; en concreto, comencemos con las relativas a las características del agua (fósforo total, clorofila a y disco de Secchi). El uso de estas variables está profundamente arraigado en la ciencia limnológica y su comportamiento es bien conocido. Por ejemplo, y es lo que aquí nos interesa, disponemos para ellas de estándares que, aunque diseñados para otras regiones (y frecuentemente para otros tipos de sistemas), pueden servirnos como punto de partida.

Por no alargar la exposición, me limitaré a exponer que, en buena lógica, las lagunas de montaña deberían ser sistemas oligotróficos. De acuerdo con la clasificación de estados tróficos propuesta por la OECD (1982), tales sistemas deberían tener concentraciones medias de fósforo total inferiores a 10 mg/l. De hecho, por debajo de ese umbral están la mayoría de los lagos pirenaicos y gran parte de los lagos de montaña europeos, aunque en algunos el valor se aproxima a los 15 mg/l (Camarero et al., 2009b). Aceptemos esta última cifra como referencia en atención a que los sistemas meridionales tienden a tener mayor cantidad de nutrientes. Por otra parte, todas las clasificaciones propuestas coinciden en señalar que lagos con 35 mg/l o más de fósforo total son eutróficos. Tal circunstancia, en un lago de montaña, habría de tomarse como un claro indicio de impacto, a menos que investigaciones futuras demuestren la existencia de peculiaridades en el funcionamiento de nuestros ecosistemas aún ignotas. Marquemos estos dos umbrales; por debajo del 10, oligotrofia; por encima del 35, eutrofia; entre ambos, mesotrofia. Un razonamiento similar podemos hacer con la concentración de clorofila a. El límite entre oligotrofia y mesotrofia se sitúa en 2,5 mg/l (valores medios para la época de crecimiento según varias clasificaciones). Las medidas tomadas por nosotros, con muy pocas excepciones, superan esa barrera; de aceptarla, deberíamos asumir que todas ellas están sensiblemente eutrofizadas, lo cual dista de ser razonable. Pero nosotros disponemos de una única medición por laguna, en verano, y no podemos calcular valores medios. Por lo tanto, sería más razonable basar nuestro análisis en otra medida, la concentración máxima. Se estima que el

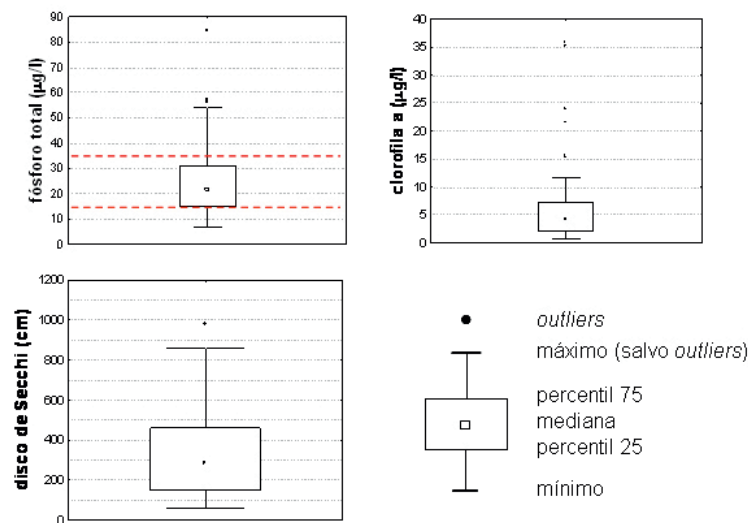
límite superior en un sistema oligotrófico está en torno a los 8 mg/l de concentración máxima anual (OECD, 1982). Ciertamente es que nuestra solitaria medida tampoco nos permite conocer el máximo real. Utilizaremos este valor como límite entre oligotrofia y mesotrofia, pero tengamos presente que valores por debajo de ocho (medidos así, solo una vez) no nos aseguran un sistema oligotrófico. Una concentración máxima para la época de crecimiento de 25 mg/l nos colocaría en condiciones eutróficas indiscutiblemente. Finalmente, podemos esperar que, en un lago oligotrófico, el disco de Secchi sea visible hasta una profundidad de al menos 6 metros (OECD, 1982), 4 m según otras propuestas. Fijemos el valor de 4, más ajustado a nuestra realidad: los lagos grandes y profundos tienden a tener valores de Secchi mayores, pero la mayoría de los nuestros son relativamente someros. Un disco de Secchi de 2 (o 3) metros o menos es propio de lagos eutróficos.

Sentadas estas bases, veamos qué sucede en las lagunas que hemos estudiado. Excluyamos de esta parte del análisis las más someras, temporales la mayoría, para las que podemos esperar concentraciones superiores de nutrientes por procesos naturales asociados al sedimento. Esto nos deja 45 masas de agua. La **Fig. 4** proporciona una buena imagen de la distribución de los valores de fósforo total, clorofila y Secchi en ellas. Se resaltan también en la figura, mediante líneas rojas, los umbrales explicados en el párrafo anterior. En diez de estas 45 lagunas, el disco de Secchi era visible hasta el mismo fondo, de manera que la medición resultante no es válida o, expresado de otro modo, en ellas no podemos conocer la profundidad Secchi. Por consiguiente, el gráfico correspondiente ha sido elaborado a partir de los datos de las 35 localidades restantes.

#### A modo de conclusión: el estado trófico de nuestras lagunas

Como fácilmente se lee en la figura 2, aproximadamente en el 75% de las lagunas hemos medido concentraciones de fósforo total superiores a los 15 mg/l. Un porcentaje similar tiene profundidades de Secchi menores de 4 metros, lo que implica un estado mesotrófico al menos. Más aún, cerca del 25% tienen niveles de fósforo superiores a 35 mg/l y, por otra parte, casi la mitad tienen discos de Secchi por debajo de 2 m, condiciones ambas que denotan un estado eutrófico. Finalmente, la concentración de clorofila supera los 8 mg/l en ocho localidades.

Considerando globalmente las tres variables, podemos asignar de forma aproximada las lagunas a un estado trófico. Partimos del supuesto, recuérdese, de que estos sistemas deberían ser oligotróficos en ausencia de impactos, aunque podrían existir excepciones. El resultado es el siguiente. De las 45 lagunas



**Figura 4.** Valores de fósforo total, clorofila a y profundidad del disco de Secchi medidos en 45 lagunas permanentes de Castilla y León. Se señalan mediante líneas rojas los umbrales que se han tomado en este artículo como frontera entre los estados oligotrófico/mesotrófico y mesotrófico/eutrófico.

estudiadas, al menos seis son netamente eutróficas: Los Patos (Neila, Burgos), Pozo Negro (Sierra de la Demanda, Burgos), Grande y laguna del Lago (ambas en Babia, León), Pies Juntos y Los Peces (Sanabria). Probablemente también encajan en esta denominación El Payón, Roya pequeña y Aguas Cernidas, en Sanabria. Podríamos considerar mesotróficas las siguientes: Duque (Gredos, Ávila), Brava (Neila, Burgos), La Baña, Isoba y Hoyos de Vargas (León), Larga, Negra y Cebollera (Soria) y Sotillo (Sanabria). También Lacillo (Sanabria) podría encuadrarse aquí. A falta de información más precisa y de métodos más sofisticados, hemos de suponer que estas masas de agua, aproximadamente el 40% de las 45 incluidas en este análisis, muestran indicios de eutrofización. Se trata, casi con toda certeza, de una estimación a la baja porque los criterios para fijar los valores umbral han sido excesivamente conservadores. Además, solo he considerado lagunas en las que al menos dos de las variables delataban eutrofización. Si atendemos exclusivamente a los datos de fósforo, el número de sistemas meso- o eutróficos aumenta sustancialmente.

Este estado es una manifestación de una o varias presiones ambientales, aunque intuyo que excepcionalmente podría tener un origen natural. Establecer relaciones causa-efecto es tarea sencilla en algunos casos; en otros, podemos hacer conjeturas más o menos sólidas. Como más evidente, allá va un dato de interés. En un pasado reciente, y durante varios años, las lagunas de Neila (tres de ellas, Negra, Brava y Los Patos, incluidas en este estudio), la Negra de Urbión



(Soria) y probablemente el Pozo Negro fueron objeto de introducciones intensivas y reiteradas de salmónidos con fines recreativos. Es llamativo que todas ellas, excepto la Negra de Neila (que roza la mesotrofia), figuren en la relación anterior. No parece casualidad. Como tampoco lo parece que la laguna Grande de Babia (**Fig. 5**) albergue una nutrida población de carpa (*Cyprinus carpio*), con ejemplares de enorme tamaño. Es la única laguna en la que hemos constatado tal circunstancia. Los peces introducidos, la actividad ganadera o una combinación de ambas pueden estar en el origen de la eutrofización de gran parte de las restantes.



**Figura 5.** Detalle del fondo de la laguna Grande de Babia (León). Se aprecia la acumulación de sedimento, el desarrollo del perifiton y la turbidez del agua.

Por supuesto, contamos con el otro extremo del gradiente: lagunas de aguas cristalinas, oligotróficas, casi ultraoligotróficas en ocasiones, que son el deleite del limnólogo y del montañero. Son dignas de mención Cinco Lagunas, en Gredos, sobre todo la primera de ellas, la Cimera; Fuentes Carrionas, Las Lomas y el Pozo Curavacas, en el norte de Palencia; la laguna Clara de Sanabria y el lago Ausente en León (**Fig.6**). Curiosamente, no todas ellas están libres de presiones. En Cinco Lagunas, actualmente coto de pesca, se ha asentado una población de salvelino, especie alóctona. También en el Pozo Curavacas y en la Clara se han introducido salmónidos, aunque en este caso ha sido trucha autóctona. Es muy posible que ciertas presiones, si no superan un umbral de intensidad, no generen impactos. Igualmente lo es, cómo no, que el impacto sea sutil y más difícil de

detectar, o que se produzca en componentes del ecosistema diferentes de los estudiados aquí.



**Figura 6.** Lago Ausente, en las proximidades del puerto de San Isidro.

### **¿Tienen algo que decir las comunidades biológicas?**

Hasta aquí hemos avanzado por caminos trillados, pisando firmemente sobre principios limnológicos sólidamente consolidados por el continuo uso. Menos conocido es el comportamiento de los grupos biológicos. Parte del trabajo de nuestro grupo de investigación tiene como finalidad aclarar algunas cuestiones al respecto. Aunque estamos lejos de dar respuesta a la mayoría de los interrogantes, sí puedo ofrecer datos relativos a un grupo de organismos, los invertebrados bentónicos. La ya dilatada extensión de este artículo no permite dar cabida a lo que bien merecería otro de extensión equiparable. Baste como anticipo que es bien conocido el efecto negativo de las introducciones piscícolas sobre la comunidad de macroinvertebrados (Diehl, 1992), por ejemplo, sobre la riqueza. En las lagunas de la Demanda y en la Negra de Soria, sometidas a introducciones intensivas de salmónidos, hemos registrado entre 6 y 10 taxones (géneros, esencialmente; Martínez-Sanz et al., 2010); en el resto de lagunas estudiadas en Castilla y León, entre 10 y 39 (y este rango ya incluye lagunas degradadas, como la Grande de Babia, a la que corresponde precisamente ese

límite inferior de 10). Existiendo una respuesta tan obvia, podemos aventurarnos a afirmar que se ha producido un impacto aun cuando no conozcamos condiciones de referencia ni estándares. En otras palabras, una variable biológica, la riqueza, ha corroborado lo que ya el fósforo, la clorofila y el disco de Secchi nos habían permitido averiguar. Cabe la posibilidad de que también puedan revelar efectos no detectados por variables físicas o químicas.

### Colofón

La labor de nuestro equipo de investigación continúa. El volumen de datos obtenido es cuantioso. A pesar de las deficiencias, que las hay, hemos generado una extensa base de datos sobre lagos de montaña de Castilla y León. Pretendemos culminar la tarea con la propuesta de un sistema de indicadores que permita aplicar las especificaciones de la Directiva Marco del Agua a estos sistemas. De no ser así, es poco probable que nadie lo haga en un futuro próximo. No olvidemos el umbral de 50 hectáreas fijado por la Directiva. Ciertamente que en España se ha propuesto aplicar sus principios a masas de agua con 8 o más hectáreas siempre que su profundidad máxima estival supere los 3 metros. Pero esta medida, adoptada por la Confederación Hidrográfica del Duero, arroja para esta cuenca (en su sector español) la escalofriante cifra de... catorce lagunas! Catorce lagunas en un territorio de casi 79.000 km<sup>2</sup>. De ellas, solo siete se encuentran en áreas: la Laguna Grande, la del Duque, la Nava y la del Barco, en Gredos, y Sotillo, Lacillo y el lago de Sanabria, en el parque natural del mismo nombre. Las restantes, mucho me temo, podrían caer en un oscuro olvido si los científicos no adoptamos otra postura.

### Bibliografía

- Camarero, L., Botev, I., Muri, G., Psenner, R., Rose, N. y Stuchlik, E. 2009. Trace elements in alpine and arctic lake sediments as a record of diffuse atmospheric contamination across Europe. *Freshwater Biology*, 54: 2518-2532.
- Camarero, L., Rogora, M., Mosello, R., Anderson, N., Barbieri, A., Botev, I., Kernan, M., Kopáček, J., Korhola, A., Lotter, A.F., Muri, G., Postolache, C., Stuchlík, E., Thies, H. y Wright, R.F. 2009. Regionalisation of chemical variability in European mountain lakes. *Freshwater Biology*, 54:2452-2469.
- Diehl, S. 1992. Fish predation and benthic community structure: the role of omnivory and habitat complexity. *Ecology*, 73:1646-1661.

- Martínez-Sanz, C., García-Criado, F. y Fernández-Aláez, C. 2010. Effects of introduced salmonids on macroinvertebrate communities of mountain ponds in the Iberian System of Spain. *Limnetica*, 29:221-232.
- Negro, A.I., de Hoyos, C. y Aldasoro, J.J. 1993. Diatom and desmid relationships with the environment in mountain lakes and mires of NW Spain. *Hydrobiologia*, 505:1-13.
- OECD, 1982. Eutrophication of Waters. Monitoring, Assessment and Control. París, 154 pp.
- Toro, M., Granados, I., Robles, S. y Montes, C. 2006. High mountain lakes of the Central Range (Iberian Peninsula): Regional limnology & environmental changes. *Limnetica*, 25:217-252.
- Vega, J.C., de Hoyos, C. y Aldasoro, J.J. 1991. Estudio del sistema de lagunas de las sierras Segundera y Cabrera. Monografías de la red de espacios naturales de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (Junta de Castilla y León), Valladolid. 46 pp.



**Francisco García Criado** es doctor en Biología por la Universidad de León (1999) y Profesor Titular de Universidad en el Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental. Es miembro del grupo de investigación en limnología básica y aplicada de la ULE y desde el año 2000 ha participado como investigador en varios proyectos nacionales e internacionales relacionados con aspectos variados de la ecología de los ecosistemas lacustres. Esta tarea investigadora ha quedado reflejada en una veintena de publicaciones científicas. En la actualidad, su labor se centra en el estudio de los lagos de montaña y está orientada tanto a aspectos generales de su ecología como a la evaluación del impacto de las presiones ambientales.

## MI PROYECTO DE TESIS

### **Papel de la proteína ABCG2 en la secreción de fármacos y compuestos naturales a leche**

Jon Andoni Otero Calzada

Instituto de Sanidad Animal y Desarrollo Ganadero. Departamento de Ciencias Biomédicas. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

jotec@unileon.es

Dentro del ámbito que abarca el Sector Ganadero y más concretamente la industria alimentaria derivada del mismo, nos encontramos como componente importante dentro de la economía nacional a la industria láctea. Uno de los problemas que tiene esta industria es la presencia potencial de residuos farmacológicos y de contaminantes medioambientales en la leche procedente de rumiantes. Esto supone un problema alimentario y sanitario con importantes riesgos para la Salud Pública como entre otros, el desarrollo de alergias, efectos tóxicos, aparición de cepas resistentes a antibióticos y alteraciones de la flora intestinal (McManaman and Neville, 2003). A esto hay que añadir el coste económico que le supone al ganadero la retirada de la leche procedente de animales tratados.

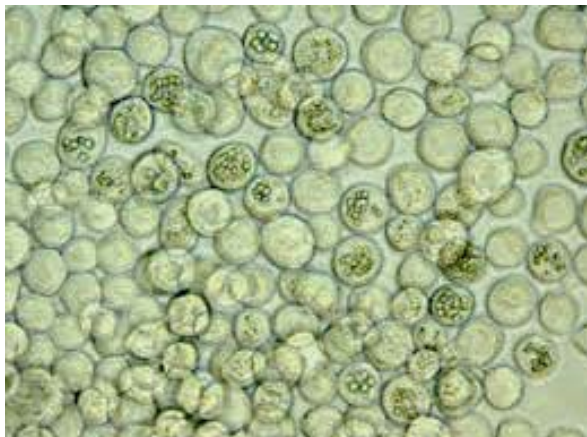
Recientemente se ha demostrado que uno de los principales determinantes de la secreción activa de fármacos a la leche es la proteína Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2), un miembro de la familia de los transportadores dependientes de ATP. Los transportadores ABC se expresan en diferentes barreras (tales como intestino, hígado y riñón) y limitan el paso de compuestos tóxicos a determinados órganos. De la misma manera, también se ha demostrado la presencia de ABCG2 en la glándula mamaria (Jonker et al., 2005) así como su papel esencial en la secreción activa a leche de los sustratos de dicho transportador englobando entre otros antibióticos, agentes carcinógenos, toxinas, vitaminas y antiparasitarios.

Una de las cuestiones que permanece sin explorar en animales de abasto es conocer si la existencia de variaciones genéticas o polimorfismos puede afectar a la actividad del transportador y así estar asociadas con la susceptibilidad a xenobióticos o con la diferente excreción de fármacos en leche entre individuos.

En humanos, se han descrito ampliamente diversos polimorfismos del

transportador ABCG2 que dan lugar a diferente funcionalidad en la proteína y que son causantes directos de determinados trastornos como la gota (Woodward et al., 2009). En cuanto a los animales domésticos, se ha identificado una mutación en el gen de ABCG2 con un efecto en la composición y cantidad de la leche de vacas Holstein y roja noruega (Cohen-Zinder et al., 2005). Este SNP (A→C) codifica la sustitución de una tirosina por una serina (Y581S). Así, se ha sugerido que este polimorfismo del transportador ABCG2 puede tener un papel importante, conjuntamente con su implicación en el transporte de fármacos y compuestos endógenos.

Para llevar a cabo un *screening* inicial eficiente y fiable de los compuestos que son capaces de interactuar con el transportador bovino y ovino y por lo tanto que pueden ser potencialmente secretados a leche, generamos un modelo *in vitro* que permitiese evaluar la interacción entre el transportador y un determinado compuesto ya sea como sustrato (el compuesto es exportado fuera de la célula a través del transportador) o como inhibidor (el compuesto bloquea el funcionamiento del transportador impidiendo la exportación de sustratos). Para ello se transdujeron células de insecto Sf-9 con el gen ovino y bovino de ABCG2 tanto con la variante salvaje como con la portadora del polimorfismo Y581S (**Fig. 1**). A partir de estas células se obtuvieron vesículas de membrana que permiten llevar a cabo ensayos de transporte. Gracias al sistema de transporte vesicular en células de insecto Sf-9, junto con el sistema en células MDCK-II puesto a punto previamente por nuestro grupo, se determinó la capacidad de dicha proteína para interactuar con diferentes fármacos y compuestos con relevancia en la medicina veterinaria. Asimismo, se demostró la capacidad diferencial de ambas variantes para transportar sustratos, mostrando la variante Y581S una mayor capacidad de transporte (Real et al., 2011).



**Figura 1.** Células de insecto Sf-9 transducidas con el gen del transportador ABCG2.

Una vez establecida una interacción *in vitro* gracias a los modelos puestos a punto en el laboratorio, es necesario confirmar en un modelo *in vivo* la relevancia de la interacción compuesto-transportador descrita a nivel celular como paso previo al estudio en rumiantes.

Para evaluar el efecto *in vivo* del transportador sobre un determinado compuesto utilizamos ratones *wild type* y ratones *knockout* para el transportador ABCG2 (**Fig. 2**). De todos los compuestos analizados *in vivo* e *in vitro*, sólo los más prometedores pasan a la fase de estudio en rumiantes; fármacos tales como los antibióticos danofloxacina y enrofloxacina, o compuestos provenientes de la dieta como ciertos flavonoides y lignanos.



**Figura 2.** Ratón *knockout* para el gen del transportador ABCG2.

Para analizar el efecto del polimorfismo bovino en animales de granja fue necesario localizar un número suficientemente elevado de vacas portadoras del polimorfismo Y581S. Para ello, se genotiparon pajuelas de sementales a través de los cuales se localizaron multitud de vacas lecheras de raza Holstein también portadoras de dicho polimorfismo. Tras el genotipado se encontró que una granja privada localizada en la provincia de León era la más adecuada para realizar los ensayos debido a la proximidad y al número de individuos portadores del polimorfismo. Tras la administración de la dosis terapéutica del antibiótico danofloxacina a vacas portadoras y no portadoras del polimorfismo se demostró que, tal y como se había demostrado *in vitro* e *in vivo*, las vacas portadoras del polimorfismo Y581S (que *in vitro* se había caracterizado como variante más activa) secretaban a la leche el doble de fármaco que aquellas vacas que carecían del polimorfismo (Otero et al., 2013) (**Fig. 3**).



**Figura 3.** Recogida de muestra de sangre de una vaca portadora del polimorfismo Y581S del transportador ABCG2.

El transportador ABCG2 también tiene la capacidad de transportar metabolitos endógenos y compuestos naturales procedentes de la dieta. Por ello y como consecuencia de los excelentes resultados obtenidos en los experimentos de excreción de fármacos a leche, actualmente se está llevando a cabo junto con el Netherlands Cancer Institute (NKI/AvL) un estudio metabólico comparativo entre la leche obtenida a partir de vacas portadoras y no portadoras del polimorfismo.

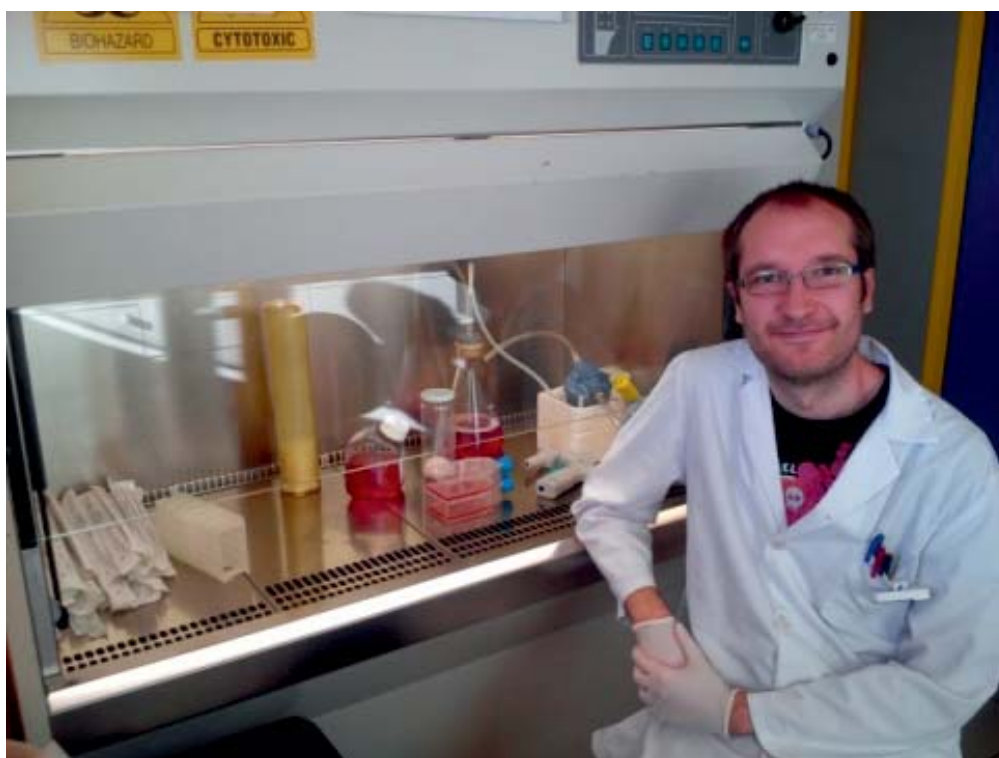
Por otra parte, también hemos determinado la capacidad de determinados flavonoides presentes en la dieta de inhibir el transportador tanto *in vitro* como *in vivo* con ratones. Así, estudios de inhibición en ovejas administrando el sustrato enrofloxacin junto con flavonoides demostraron que tanto la administración exógena de dichos flavonoides como la administración de dietas enriquecidas en dichos compuestos, producía una reducción de los niveles del antibiótico enrofloxacin en leche (Perez et al., 2013).

La relevancia de esta línea de investigación radica en la capacidad de modular o predecir los niveles de compuestos nocivos secretados a leche caracterizando los factores que influyen en la secreción activa de compuestos a través del transportador ABCG2. Para ello nos podemos valer de factores genéticos asociados al transportador (polimorfismos) o de la implementación de dietas ricas en determinados nutrientes (inhibidores) que permiten reducir la cantidad de compuestos exógenos (sustratos) secretados a la leche y que generan millones de euros de pérdidas cada año.

### **Directoras de tesis**

Dra. Ana Isabel Álvarez de Felipe y Dra. Gracia Merino Peláez.





El autor de la tesis doctoral.

### **Bibliografía**

- Cohen-Zinder, M., Seroussi, E., Larkin, D.M., Loor, J.J., Everts-van der Wind, A., Lee, J.H., Drackley, J.K., Band, M.R., Hernandez, A.G., Shani, M., Lewin, H.A., Weller, J.I. y Ron, M. 2005. Identification of a missense mutation in the bovine ABCG2 gene with a major effect on the QTL on chromosome 6 affecting milk yield and composition in Holstein cattle. *Genome Research* 15:936-944
- Jonker, J.W., Merino, G., Musters, S., van Herwaarden, A.E., Bolscher, E., Wagenaar, E., Mesman, E., Dale, T.C. y Schinkel, A.H. 2005. The breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2) concentrates drugs and carcinogenic xenotoxins into milk. *Nature Medicine* 11:127-129.
- McManaman, J.L. y Neville, M.C. 2003. Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews* 55:629-641.
- Otero, J.A., Real, R., de la Fuente, A., Prieto, J.G., Marques, M., Alvarez, A.I. y Merino, G. 2013. The bovine ATP-binding cassette transporter ABCG2 Tyr581Ser single-nucleotide polymorphism increases milk secretion of the fluoroquinolone danofloxacin. *Drug Metabolism and Disposition*

41:546-549.

- Perez, M., Otero, J.A., Barrera, B., Prieto, J.G., Merino, G. y Alvarez, A.I. 2013. Inhibition of ABCG2/BCRP transporter by soy isoflavones genistein and daidzein: effect on plasma and milk levels of danofloxacin in sheep. *The Veterinary Journal* 196:203-208.
- Real, R., Gonzalez-Lobato, L., Baro, M.F., Valbuena, S., de la Fuente, A., Prieto, J.G., Alvarez, A.I., Marques, M.M. y Merino, G. 2011. Analysis of the effect of the bovine adenosine triphosphate-binding cassette transporter G2 single nucleotide polymorphism Y581S on transcellular transport of veterinary drugs using new cell culture models. *Journal of Animal Science* 89:4325-4338.
- Woodward, O.M., Kottgen, A., Coresh, J., Boerwinkle, E., Guggino, W.B. y Kottgen, M. 2009. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106:10338-10342.

## AMBIÓLOGOS DE AQUÍ

### 20 años pasan en un suspiro...

Sara Rodríguez San Segundo

Sara Rodríguez San Segundo (**Fig. 1**), licenciada en Biología, especialidad ambiental por la Universidad de León en el año 1991, es decir, hace 23 años; siendo sincera, tengo que discrepar con esta cifra, ino puede ser cierto!, pues si tengo que contestar rápido diría que sólo hace cinco o seis años que acabamos la carrera. Eso si lo pienso rápido, si con posterioridad, hago una segunda reflexión más tranquila empiezan a salir los 20 transcurridos, y en especial los 9 últimos pues veo que los años pasan en mi hijo Alonso: él crece estupendamente así que yo... también.



**Figura 1.** La autora del artículo, Sara Rodríguez.

Y ante la pregunta ¿y qué has hecho estos 23 años? La respuesta es: trabajar y ¿en qué has trabajado?: esto ya es más complicado: soy bióloga y he estado toda mi vida profesional vinculada a temas ambientales. Y en este punto mi madre (o cualquiera) me dice ¿y eso qué significa? Creo que todos los que hemos desarrollado nuestro trabajo como consultores ambientales en algún momento nos lo han preguntado y la respuesta no es muy clara sino has visto el mundillo desde dentro, al final siempre te preguntan si de los pajaritos y plantitas se puede vivir. La respuesta: si trabajas, eres serio y responsable y te gusta lo que haces (no hacer lo que te gusta) es sí.

Me explico, tras acabar la carrera, allá por 1991, a través de un curso de los que el INEM ofertaba para incorporarse al mercado laboral “operador de planta química” conocí el trabajo que se realizaba en el Departamento de Ecología de la Universidad de León, y me quedé por espacio de ocho-nueve años, primero realizando la tesina en la línea de investigación de estudios de la calidad de las aguas de los ríos, en uno de los mejores lugares para trabajar, pero también complicado: el río Cares. Digo complicado porque teníamos que realizar salidas de campo una vez al mes y recoger muestras tanto de aguas como de macroinvertebrados (**Fig. 2**), con las cuales determinar la calidad de dicho río y este tipo de trabajos te preparan para cualquier imprevisto y situación que se os

pueda ocurrir: pinchazos en lugares inhóspitos (recordar que el móvil es algo moderno y hace 20 años casi no conocíamos ni los ordenadores), reparar material con lo que tienes a mano, aprendes a hacer de fontanero, carpintero, electricista y hasta de remero, porque a este proyecto de investigación le siguieron otros, que íbamos enlazando unos con otros. Dinero poco y sin ningún tipo de cobertura, pues en esa época los becarios de proyecto no teníamos seguridad social ni figurábamos como trabajadores, pero fue un época que complementó perfectamente todo lo estudiado, al permitirme aplicar todos los conceptos teóricos de la carrera en algo tan útil y práctico como determinar el incremento de biomasa de una comunidad en un periodo concreto de tiempo (y si eres capaz de hacerlo y de publicar una “separata” y enviarla al Water Research, quedarte atollado en una zona pantanosa a kilómetros de la primera casa forma parte de la aventura).



**Figura 2.** La autora del artículo durante la realización de un muestreo de macroinvertebrados.

Fueron años ilusionantes y vividos en una burbuja, ajenos al mundo real y podríamos seguir así sin mucho problema a no ser por un pequeño inconveniente: hay que comer y de vez en cuando te entraban ganas de independizarse o al menos intentarlo.

Y puesto que en realidad lo que estábamos haciendo era desarrollar proyectos de consultoría nos lanzamos a la aventura y decidimos montar nuestra propia empresa: si pensaba que en el Departamento trabajábamos mucho, la empresa me enseñó que no, lo que hacíamos era estar muchas horas. En Red, pues de la empresa de la que hablo es Red Ambiente S.L. (con el orgullo de poder decirnos que sigue funcionando y después de diecisiete años creo que consolidada) nos tocó trabajar y hacer efectivas las horas que estabas.

Empezar una empresa desde cero es, como decirlo, el mayor acto de fe que

uno realiza en su vida, porque tienes que confiar en ti mismo, en las personas que se convierten en tus socios y en que aparecerán clientes y además que podrás vivir de ello, y estamos hablando de medio ambiente, no de zapatos.

Además, no sólo tienes que saber de lo tuyo, en nuestro caso de depuración de aguas, estudios de impacto ambiental, gestión de residuos y su tramitación ambiental, educación ambiental, etc, sino también, hay que buscar un nombre con gancho pero que no esté ya registrado, hay que hacer un logotipo, una imagen empresarial, cómo presentar los proyectos, dónde buscarlos, a quién ofertarlos, el tema de contabilidad: mensual, trimestral, anual e impuestos y la pregunta de todos los días (y alguna noche) ¿Funcionará? ¿Seremos capaces de ponerla en marcha? ¿Conseguiremos proyectos?

Mi mayor susto en esa época, el día (en realidad meses) que hicimos “el plan de empresa” y nos dio como resultado que teníamos que “facturar”, para poder salir adelante, diez millones de pesetas, 60.000 € (año 1998) el primer año. En ese momento la sensación fue demoledora y con intenciones de abandonar el proyecto. ¿Por qué no lo hicimos? Solo tengo una respuesta, que en mi caso fue la que me obligó a continuar: si abandonaba en ese momento nunca sabría si yo habría sido capaz.

De 1998 a 2008 estuve como técnico y responsable de proyectos en Red Ambiente y del mismo modo que en mi época en el departamento de Ecología nos tocó hacer de todo y trabajar más de una noche y de un fin de semana, en especial los primeros años, siempre había algo que hacer o que terminar o que conseguir, incluso recuerdo un 15 de agosto, fiesta nacional, viajando a Segovia para dar una charla sobre humedales y su gestión y más de una navidad presentando ofertas que finalizaban el 31 de diciembre, lo de las vacaciones se resumían en coger un puente y conseguir cuatro días seguidos.

La ventaja que tiene una pequeña empresa es que no puedes especializarte sólo en un tipo de proyectos sino que tienes que dominar un poco de todos, lo cual te amplía horizontes y te permite después tener una visión más global y localizar nuevos campos de trabajo, eso y que el medio ambiente en estos 20 años ha evolucionado mucho y nosotros con él.

Al igual que me época en Ecología, tengo muy buenos recuerdos de mi época en Red Ambiente, trabajamos, sí, tuvimos nuestros sustos y problemas, y nadie nos ha regalado nada, pero igual por eso, porque todo lo conseguido ha sido fruto de nuestro trabajo y seriedad es por lo que cuando miro hacia atrás me siento orgullosa.

En 2008 me incorporé como técnico de Medio Ambiente en el

Ayuntamiento de León, más por motivos de compatibilidad personal que profesionales, como antes mencionaba en 2004 nació mi hijo y puesto que a Red, mi hija mayor le había dedicado casi diez años quería poder disponer de ese maravilloso concepto “tardes libres” para disfrutarlas con Alonso. Entiendo que tal y como lo he escrito, soy una privilegiada pues se han ido sucediendo los pasos en mi carrera profesional de forma que me han permitido compaginarlos con mi vida personal, claro que tampoco sería sincera del todo sino tuviera presente que mi piedra angular y en la que me he apoyado y salido fortalecida en los momentos malos y complicados ha sido mi compañero, amigo y padre de mi hijo.

Explicar mi trabajo en la administración es casi más complicado que en la empresa privada, pero puedo decir que sigo haciendo gala del dicho que el medio ambiente está en todas las áreas, con proyectos de desarrollo sostenible (determinación de indicadores de sostenibilidad), de residuos y recogida selectiva, de educación ambiental: realización de campañas de sensibilización, itinerarios guiados, creación y desarrollo de un Banco de Semillas como reservorio de la biodiversidad de la provincia (**Fig. 2**), estudio de viabilidad de una planta de biomasa que valore los restos de poda y su empleo como combustible, así como propuestas y programas de movilidad sostenible y de ahorro eficiencia energética.



**Figura 2.** Algunos de los materiales elaborados para la divulgación del proyecto del Banco de Semillas puesto en marcha por la autora del artículo.

¿Cuál es la diferencia del trabajo en la administración al trabajo en una empresa privada, aún dedicándose uno a medio ambiente? Respuesta: TODO y NADA. En primer lugar los plazos se alargan por los trámites administrativos que han de cumplimentar, lo cual muchas implica que has de cambiar tu visión de inmediatez: inicio – ejecución – finalización e integrar una fase más: tramitación, donde el proyecto no duerme el sueño de los justos sino que pasa por distintos servicios necesarios para que esa actividad cuente con la aprobación de todos (obras, intervención, limpieza, etc.).

Otra diferencia es que pasas a ser el malo de la película y los que se dedican a poner trabas al ciudadano, obligando a cumplir normas y leyes que se suelen ver como impedimentos, unido a la fama de “no trabajadores” que se tiene de todo el personal administrativo y que en mi caso y experiencia no está justificado.

Como semejanza está la imbricación del medio ambiente en todas las áreas y la necesidad de ser tratado como un área transversal y que intervenga en todas ellas desde urbanismo, obras, educación, cultura, patrimonio, etc., pues de este modo el cacareado desarrollo sostenible sería más factible de conseguir.

Desde mi punto de vista, una de las acciones más importantes que se pueden realizar desde la administración y en relación al medio ambiente es la educación, conocida como educación ambiental, no sólo legislar y sancionar, sino también concienciar, explicar y tratar de hacer entender que todos somos responsables con nuestras acciones y que pequeños gestos pero colectivos pueden lograr grandes cambios, acompañada siempre de acciones para su puesta en marcha, es decir, “educar para reciclar pero a la vez habilitar infraestructuras que permitan ese reciclado e informar de lo que se hace y por qué”.

No es fácil la tarea y no siempre parece importante, de forma que en muchas ocasiones se hacen obras e instalaciones muy importantes y con un coste elevado y después no se habilitan partidas para informar y potenciar su uso. Pero no por ello nos vamos a desanimar, pues son muchas las metas conseguidas desde mi puesta de largo en este mundillo, de ahí que quiera acabar con un mensaje optimista y animar a todo aquel que se ha embarcado en la difícil pero apasionante tarea de acabar la carrera de biología o ciencias ambientales: qué haremos cuando seamos mayores, uy todavía está muy lejos, mientras disfrutar de lo que uno hace y encontrar siempre ese puntito de chispa.

Un abrazo.

Sara Rodríguez

## DE TODO UN POCO

**M<sup>a</sup> Luz Centeno Martín**

### Exposiciones, jornadas y otras actividades

A lo largo del año 2013, la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales (FCCBA) de la Universidad de León (ULE) ha organizado o participado en la organización de numerosos eventos relacionados con la formación, la docencia, la investigación y la cultura.

El 21 de febrero se realizó por primera vez una jornada de **presentación de los 6 másteres oficiales de la ULE** que pudieran resultar de interés para los estudiantes de último curso de los títulos de Grado y Licenciatura de los que es responsable la FCCBA. La presentación, que tuvo lugar en el Aula Magna, corrió a cargo de los coordinadores de los distintos másteres y fue organizada por Dña. Penélope García Angulo, coordinadora del Grado en Biotecnología.

También dirigidas a los estudiantes de los últimos cursos, se celebraron en el Aula Magna las **III Jornadas de Orientación Profesional de la FCCBA**, los días 11 y 12 de abril. En su organización participó la Fundación General ULE-Empresa (FGULEM), fundación que además organizó un **taller de iniciación a la búsqueda de empleo** el 19 de abril y que fue conducido por personal de la propia FGULEM y de la Escuela de Formación e Innovación Docente (EFID) de la ULE. Desde este espacio queremos agradecer a ambas instituciones su colaboración en el empeño que tiene esta Facultad por ampliar la empleabilidad de los estudiantes y las habilidades relacionadas con su integración en el mundo laboral.

En la semana del 13 al 17 de mayo, los profesores de las áreas de Fisiología Vegetal y Botánica, con la colaboración de la Facultad, de la EFID y de la Oficina Verde de la ULE, organizaron una serie de actividades relacionadas con el **II día internacional de la fascinación por las plantas**, celebración auspiciada por la Organización Europea para la Ciencia de las Plantas (EPSO). El objetivo fue transmitir a la sociedad la importancia de esta Ciencia para la agricultura, la forestación, la producción sostenible de alimentos y otros derivados de las plantas como pasta de papel, energía, etc.

El programa de actividades incluyó la exposición “pinceladas florales”, tres talleres abiertos (“experimentos fascinantes con plantas”, “pócimas y



ungüentos naturales” y “visita botánica al campus”) y el ciclo de conferencias “el fascinante mundo de las plantas”, que fueron impartidas por los profesores Dña. Carmen Pérez, D. Marcelino Pérez, Dña. Leonor Calvo y D. Jesús M. Álvarez.

Los estudiantes de la Facultad asistieron a estas actividades y, además, colaboraron voluntariamente en la realización de algunas de ellas (**Fig. 1**).



**Figura 1.** Vista general del taller de experimentos fascinantes con plantas (izda.), y taller de pócimas y ungüentos naturales (dcha.)

La FCCBA acogió del 26 de septiembre al 26 de octubre la exposición itinerante “**Mujer y Ciencia. 13 Nombres para cambiar el mundo**”, organizada por la Cátedra Tomás Pascual-Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH) con financiación de la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT). La exposición mostraba el quehacer investigador y solidario de 13 grandes mujeres que, desde las más diversas disciplinas, entienden que el primer objetivo de la Ciencia es mejorar la vida de las personas. Sus nombres son: Flora de Pablo, Adela Cortina, Jane Goodall, Susan George, Vandana Shiva, Lourdes J. Cruz, Tebello Nyokong, Hayat Zirari, Dora barrancos, Jenny de la Torre, Concepción Campa, Ana M<sup>a</sup> Cetto y Elinor Ostrom.

Las 12 conferencias que representan el **Curso de Actualidad Científica y Cultural**, y que en 2013 celebró su **IX edición**, se impartieron entre el 15 de octubre y el 26 de noviembre. El curso, que es organizado anualmente por la ULE y la Fundación Carolina Rodríguez, fue coordinado por Dña. M<sup>a</sup> Luz Centeno Martín, Vicedecana de la Facultad. Como en ediciones anteriores, el ciclo de conferencias estuvo dirigido a la sociedad leonesa en general y a los estudiantes de la ULE en particular, si bien los que participaron en mayor medida procedían de nuestra Facultad.

En esta IX edición se abordaron temas de actualidad tan interesantes como: a) el dopaje en el deporte (D. Miguel Ángel del Castillo Oreja), b) las posibilidades de la Biotecnología Forestal en respuesta a la demanda creciente de productos derivados de los árboles (D. Francisco Cánovas Ramos), c) el estrés (D. José Enrique Campillo Álvarez y Dña. Clotilde Vázquez Martínez) y el cáncer (D. Mario Fernández Fraga) en relación con la salud y la Biomedicina, d) la garantía de la propiedad patrimonial (D. Tomás Quintana López), la responsabilidad social de las empresas (Dña. M<sup>a</sup> Lourdes López Cumbre) y la ganadería ecológica como oportunidad profesional (D. Carlos Palacios Riocerezo), los tres en el contexto de crisis actual. También hubo espacio, por supuesto, para escuchar a profesionales de las Humanidades y las Letras como D. Luis Mateo Díez y D. Salvador Gutiérrez Ordóñez, ambos Académicos de la RAE, y a D. Miguel Ángel Castillo Oreja, quien nos habló de París como imagen de la cultura europea. El ciclo finalizó con una interesante, curiosa y amena conferencia sobre Física y Ciencia-Ficción (D. Sergio L. Palacios Díaz)

La Facultad organizó, de mano de la Vicedecana Dña. Marta Eva García y con la colaboración de la EFID, el “**1er Encuentro Inter-Universitario del Grado en Ciencias Ambientales (CCAA): resultados sobre la implantación del Grado**”, evento que también acogió en su Aula Magna los días 21 y 22 de noviembre.

El objetivo del encuentro fue poner en común y discutir sobre los retos planteados y las decisiones adoptadas durante la implantación del Grado en CCAA en varias Universidades, desde la percepción de todos los miembros de la Comunidad Universitaria implicados en el proceso. También hubo una interesante sesión relativa a experiencias de innovación docente, 2 ponencias concretas sobre la situación de los egresados y los problemas de la puesta en marcha de las asignaturas Trabajo fin de Grado y Prácticas Externas, así como mesas redondas de las que surgieron nuevas iniciativas que permitirán mejorar las perspectivas del Grado en CCAA a nivel nacional.

En este enriquecedor encuentro participaron como ponentes, estudiantes, profesores y personal de administración y servicios (PAS) de las Universidades de Alcalá de Henares, Extremadura, Cádiz y León, así como personal de la Agencia de Calidad del Sistema Universitario de Castilla y León (ACSUCYL), de la EFID y de la FGULEM.

Al igual que en 2012, la FCCBA participó en la **campaña de recogida de alimentos** de Navidad 2013, organizada por el Banco de Alimentos de León.

Estudiantes, profesores y miembros del PAS pudieron colaborar aportando donaciones cuya recogida se realizó en los edificios central y Darwin de la Facultad. Desde estas páginas, muchas gracias a todos por vuestra ayuda solidaria y tan necesaria en estos tiempos.

Las 3 asociaciones de estudiantes de la Facultad fueron también muy activas durante el año 2013, pues organizaron diversas jornadas, talleres y conferencias.

**BIOMA**, la asociación de estudiantes de Biología, abrió el año con las **Jornadas de Neurobiología** tituladas “Descubriendo la Neurociencia” y celebradas desde el 26 de febrero al 27 de marzo. Los estudiantes matriculados pudieron participar en un taller práctico, además de asistir a diversas conferencias sobre innovaciones en el conocimiento Biomédico, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades neuro-degenerativas, que fueron impartidas por especialistas de las Universidades de Oviedo, Sevilla, Barcelona, León y Salamanca, y también por otros procedentes de varios centros hospitalarios.

La asociación de Biotecnólogos de León, **ABLE**, organizó las **Jornadas ConCiencia**. Se trata de un ciclo de 5 conferencias impartidas del 5 de abril al 3 de mayo en las instalaciones del Museo de León. Su objetivo era debatir con la sociedad leonesa algunas de las cuestiones éticas y morales que plantea la investigación Biomédica y Biotecnológica, pero desde la perspectiva objetiva que proporcionan el conocimiento y los resultados científicos. Los encargados de proporcionar esta perspectiva fueron D. Eugenio Santos, D. Juan J. Arranz, D. José A. Gil, Dña. M<sup>a</sup> Ángeles Bernardo y Dña. Sonia Sánchez Campos, investigadores invitados como ponentes a las jornadas.

También los estudiantes socios de ABLE participaron en marzo en “Biotechnofarm: sembrando los biotecnólogos del futuro”, un proyecto educativo nacional que pretende acercar la Biotecnología a jóvenes de entre 16 y 17 años, a través de visitas informativas a los centros de Enseñanza Secundaria, así como de talleres educativos y experimentales donde los jóvenes toman contacto con el trabajo científico en el campo de la Biotecnología. La iniciativa estuvo organizada por la Federación Española de Biotecnólogos (FEBiotec) y financiada por las Fundaciones Amgen y KBFUS.

Por su parte, la asociación de Ciencias Ambientales de León, **ACALE**, organizó **tres conferencias**. El tema de las dos primeras fue el “Fracking”, el proceso de ruptura hidráulica del terreno para la extracción de gas que tanta preocupación ha despertado en la sociedad por su posible impacto

medioambiental. Estas 2 ponencias fueron impartidas por D. Manuel J. Camino Llerandi y D. Humberto García Gómez los días 28 y 29 de octubre en el Aula Magna de la FCCBA. La tercera conferencia, en la que se trataron las actividades desarrolladas por el servicio de protección de la Naturaleza del Cuerpo Nacional de la Guardia Civil (**SEMPRONA**), se celebró el 16 de septiembre en el Aula Magna y fue impartida por miembros de este servicio.

Por último, el Servicio de Colecciones Zoológicas de la ULE (**CZULE**), con sede en la FCCBA, organizó la Exposición-Taller “**Miradas al mundo de los animales**” que se llevó a cabo en el Centro de Idiomas de la ULE hasta el mes de junio. La actividad, dirigida a la sociedad leonesa en general, y a los escolares y personas de la tercera edad en particular, presentaba diferentes aspectos del mundo de los animales de una manera amena y participativa.

También, con el título “**Hablamos de Biodiversidad y de Espacios Naturales Protegidos**”, la CZULE organizó unas jornadas en las que participaron D. Luis Miguel Domínguez Mencía y D. Ramón Elósegui Borinaga para hablarnos, respectivamente, de “La situación del lobo ibérico” (15 de mayo) y de “La defensa de los espacios naturales protegidos” (16 de mayo). Ambas conferencias se celebraron en el Salón de Grados de nuestra Facultad.

#### Celebración de San Alberto Magno 2013

Nuestra Facultad celebró la festividad de su patrono, San Alberto Magno. El programa de actividades en 2013 incluyó:

1- La conferencia “Epigenética, envejecimiento y cáncer” impartida el 14 de noviembre por D. Mario Fernández Fraga, Investigador Titular del Instituto Universitario Oncológico del Principado de Asturias.

2- Los dos **Actos Académicos** de conmemoración de San Alberto, que tuvieron lugar el 15 de noviembre en el Aula Magna San Isidoro del Albeitar.

Este año el invitado de honor en el acto celebrado por la mañana fue D. José Manuel Sánchez Ron (**Fig. 2**), Académico de la Real Academia Española (RAE), quien nos deleitó con la conferencia “La Ciencia, nada de lo humano le es ajeno”. A continuación se procedió a la imposición de insignias a los Licenciados y alumnos de Máster que finalizaron sus estudios en el curso 2012-2013, así como de la beca de la Facultad a la 17ª Promoción de Licenciados en Ciencias Biológicas con motivo de la celebración de sus Bodas de Plata.

En el acto celebrado por la tarde, el invitado de honor fue nuestro estimado profesor D. Juan Manuel Nieto Nafría, Catedrático de Zoología de la

ULE (**Fig. 2**), que impartió la conferencia “Constantes actualizaciones y recalcitrantes creencias”. Después se llevó a cabo la imposición de insignias a los estudiantes de la primera promoción de los Grados en Biología, Biotecnología y Ciencias Ambientales de la Facultad, que finalizaron sus estudios en el curso 2012-2013. Por último, se anunció la concesión de los premios “Vitatenes awards for academic excellence” y “Premio fin de carrera Gadea Biopharma”.

El acto celebrado por la mañana fue presidido por Dña. Matilde Sierra Vega, Vicerrectora de Ordenación Académica de la ULE, y el de la tarde por D. Alberto Villena Cortés, Vicerrector de Investigación. Ambos estuvieron acompañados en la mesa presidencial por los invitados de honor, por Dña. Blanca Razquin Peralta, Decana de la Facultad, y por las dos Vicedecanas.



**Figura 2.** El equipo decanal junto con los dos conferenciantes, D. José Manuel Sánchez Ron (en el centro) y el Dr. Juan Manuel Nieto Nafría (a la derecha).

#### Noticias de nuestros estudiantes y profesores

El premio “**Vitatenes awards for academic excellence 2013**” fue concedido a **Dña. Natalia Robledinos Antón**, Graduada en Biotecnología. El premio fue otorgado por la empresa VITATENE al mejor expediente de los Títulos de Grado y Licenciatura de Biotecnología en el curso 2012-2013 y está dotado con 3.000 €. Así mismo, recibió mención especial la Licenciada **Dña. Virginia Nieto Romero (Fig. 3)**.

**Virginia Nieto Romero (Fig. 3).**

También se otorgó el premio “**Fin de carrera Gadea Biopharma**” a **Dña. Sonia Trobajo Pérez**, seleccionada por haber obtenido el mejor expediente de los Titulados (Grado y Licenciatura) en Biología en el curso 2012-2013. El premio es concedido por la empresa GADEA BIOPHARMA S.L. y está dotado con 3.000 €. La Licenciada **Dña. Laura Cueto Burdiel** recibió mención especial (**Fig. 3**).

Desde este espacio queremos agradecer a ambas empresas su interés y su participación activa en la labor de incentivar y premiar el esfuerzo, el trabajo y el talento de nuestros estudiantes. Así mismo, queremos dar la enhorabuena a las Tituladas premiadas y desearles mucha suerte en su futuro profesional.



**Figura 3.** Estudiantes premiadas, de izda. a dcha: Dña. Virginia Nieto Romero y Dña. Natalia Robledinos Antón (mención especial y premio “Vitatene awards for academic excellence” 2013 respectivamente), y Dña. Sonia Trobajo Pérez y Dña. Laura Cueto Burdiel (premio “Fin de carrera Gadea Biopharma” y mención especial, respectivamente).

También queremos dar la enhorabuena a dos de nuestras profesoras. En primer lugar a **Dña. Laura López Campano** y al Grupo de Física de la Atmósfera de la ULE del que forma parte, por haber recibido el premio Innova 2013 que concede anualmente el Diario de León, por su trabajo en busca de la más exacta predicción meteorológica. En segundo lugar, a **Dña. Blanca Razquin Peralta**, por haber sido reelegida como Decana de la Facultad en las elecciones celebradas el pasado mes de diciembre de 2013. A esta última le deseamos además mucha suerte en esta nueva etapa, en la que deberá afrontar retos tan complejos como la acreditación de los 3 títulos de Grado ya implantados, proceso en el que de nuevo la FCCBA será el centro pionero de entre todos los que forman parte de la ULE.

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

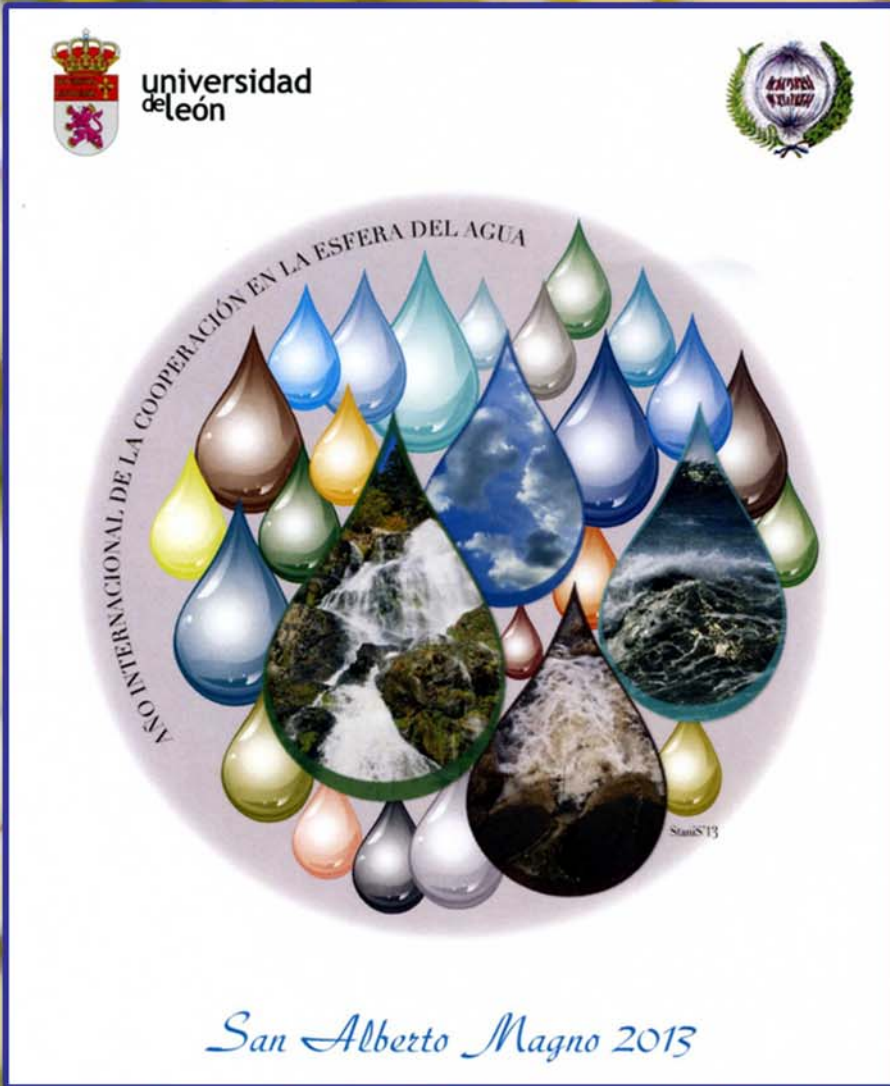
[ambiociencias@unileon.es](mailto:ambiociencias@unileon.es)

La edición electrónica de la revista se puede consultar en:

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



En contraportada: logotipo diseñado por el Dr. Estanislao Luis Calabuig con motivo de la festividad de S. Alberto Magno (2013), en conmemoración del Año Internacional de Cooperación en la Esfera del Agua.



★ 1968 ★



★ 2013 ★