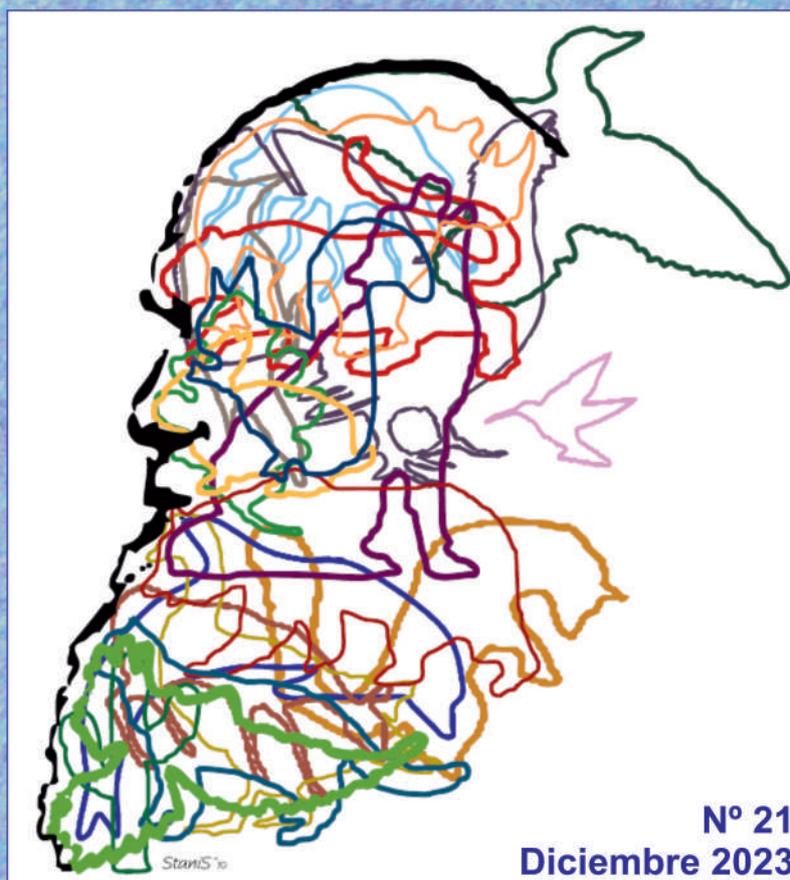


# Ambio ciencias



REVISTA DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA E INNOVACIÓN DOCENTE



★ 1968 ★



★ 2023 ★

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES. UNIVERSIDAD DE LEÓN



## Consejo de Redacción

### Director:

José Luis Acebes Arranz

Catedrático de Universidad del Área de Fisiología vegetal

### Secretaria:

Sara del Río González

Vice-Decana de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales

### Miembros:

María Paz Herráez Ortega

Catedrática de Universidad del Área de Biología Celular

Estanislao de Luis Calabuig

Catedrático de Universidad del Área de Ecología

Luis Mariano Mateos Delgado

Catedrático de Universidad del Área de Microbiología

Luis E. Sáenz de Miera Carnicer

Catedrático de Universidad del Área de Genética

Raquel Alonso Redondo

Profesora Titular del Área de Botánica

Daniela Canestrari

Profesora Titular del Área de Zoología

Giovanni Breogán Ferreiro Lera

Alumno de Doctorado

**Edita:** Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León

**Colabora:** Servicio de Publicaciones de la Universidad de León

**Maquetación:** Juan Luis Hernansanz Rubio

© Universidad de León

© Los autores

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

**Dep. Legal:** LE-903-07



**EN PORTADA:**

Logotipo diseñado por el Dr. Estanislao de Luis Calabuig inspirado en la figura de Sir Charles Darwin.

## ÍNDICE

### EDITORIAL

Antonio Laborda.....5

### A FONDO

**Análisis del entorno externo para explorar el futuro del hidrógeno**

Miguel Ángel Delgado. ....7

### PONIENDO EN CLARO

**La base genética de los trastornos depresivos**

Judit Gutiérrez y Pedro García García. ....27

**Estudio bibliométrico de la presencia de plomo en el medio ambiente**

Adrián Castrillo Blanco, Fernando José Pereira García y María Iluminada Muñoz Lucas. .... 39

**Aplicaciones de las celdas de combustible microbiano**

Marcos Vega González.....55

### SIGUIENDO LA PISTA

**Potencial de las infusiones de ortiga (*Urtica dioica* L.) para proteger a la alubia común (*Phaseolus vulgaris* L.) de la enfermedad de la grasa**

Carlota Cerezo Antón, Penélope García Angulo y María Luz Centeno Martín. . 69

**Desarrollo de un ensayo funcional *in vitro* para detectar anticuerpos con actividad agonista**

Marta Martínez López. .... 83

**BAÚL DE LA CIENCIA**

**La transformación de los residuos una clave para la producción de Energía**

Elia Judith Martínez Torres. .... 93

**Coexistencia en ecosistemas sub-Mediterráneos y cambio climático**

Iván Prieto, Elena Marcos Porras, Jesús Rodríguez-Calcerrada, Guillermo G. Gordaliza, Leonor Calvo, Enrique de la Riva. .... 111

**UNO DE LOS NUESTROS**

**La Geobotánica y Salvador Rivas Martínez**

Ángel Penas y Sara del Río. .... 121

**Severo Ochoa, enzímólogo y fundador de la biología molecular**

Francisco Javier Rúa Aller y M<sup>a</sup> Rosario García Armesto. .... 137

**AMBIÓLOGOS DE AQUÍ**

**De biotecnóloga a astronauta**

Sara García Alonso. .... 153

**MI PROYECTO DE TESIS**

**Efectos del cambio climático en hábitats naturales y táxones vegetales de importancia comunitaria (Directiva 92/43/CEE) en la cuenca mediterránea europea**

Giovanni-Breogán Ferreiro-Lera. .... 157

**EDUCANDO EN LO NUESTRO**

**Experiencias fascinantes en la docencia de la Biología de las Plantas**

José Luis Acebes, M<sup>a</sup> Luz Centeno, Antonio Encina, Carlos Frey, Penélope García-Angulo, Asier Largo-Gosens, Alba Manga-Robles y Hugo Mélida (Grupo de Innovación Docente *Savia Sabia*)..... 161

**DE TODO UN POCO**

**Obituario de Francisco J. Ayala**..... 175

**Noticias de actualidad** ..... 177

## EDITORIAL

El editorial de una revista es, con frecuencia, fruto del encargo del editor o del comité editorial, a quienes agradezco el privilegio de cargarme con la responsabilidad de hacer el que ahora nos ocupa.

Formalmente se establecen tres tipos de editoriales. Uno de ellos es aquel en el que una persona de prestigio (dudoso, en mi caso) realiza reflexiones sobre un tema actual de interés, que no tiene por qué tener relación alguna con los artículos publicados. Permítaseme que, en esta ocasión, opte por esta vía y reflexione un momento sobre el concepto de Biología y sus implicaciones en el mundo académico actual.

Son muchas y variadas las definiciones que podemos encontrar de esta Ciencia; entre ellas y, simplemente, a título de ejemplo:

- *Ciencia que trata de los seres vivos considerando su estructura, funcionamiento, evolución, distribución y relaciones (RAE).*
- *Ciencia natural que estudia todo lo relacionado con la vida y lo orgánico, incluyendo los procesos, sistemas, funciones, mecanismos u otros caracteres biológicos subyacentes a los seres vivos en diversos campos especializados que abarcan su morfología, fisiología, filogénesis, desarrollo, evolución, distribución e interacciones en los niveles macroscópico y microscópico (Wikipedia).*
- *Una de las ciencias naturales cuyo objeto de estudio comprende a las distintas formas y dinámicas de la vida: el origen, la evolución, la adaptación y los procesos propios de los seres vivos: la nutrición, el metabolismo, el crecimiento, la respuesta a estímulos, la reproducción, y sus diversos mecanismos posibles de existencia (<https://concepto.de/biologia>).*

Independientemente de la extensión o precisión de estas definiciones, todas ellas quedan incluidas en el origen, en la etimología, de la palabra biología, la cual, como es sabido, proviene del griego βίος [bíos] «vida», y -λογία [-logía] «tratado», «estudio» o «ciencia». Por tanto, se puede inferir, a partir de esta definición tan generalista (Ciencia o estudio de la vida), que la Biología es el resultado del estudio empírico, utilizando el método científico, de todas las formas y fundamentos de la vida, que pretende conocer las normas que la regulan y los procesos que determinan sus dinámicas. Para ello, toma prestado conocimientos de otras Ciencias como la Química, la Matemática, la Física, e incluso de las Ingenierías, para llevar a cabo sus métodos de análisis y de medición, o para construir sus propias herramientas y dispositivos especializados.

A raíz de lo anterior, quiero reflexionar y hacer, de este modo, reflexionar al lector/a, sobre la percepción política que existe actualmente de la Biología, la

cual quedó reflejada en el Real Decreto 88/2021, en el que se establece la organización de las enseñanzas universitarias. En el mencionado Real Decreto, en su Anexo I, se incluye la lista de los llamados ámbitos del conocimiento, en los que, en el plazo máximo de cuatro años desde su publicación, tenemos que inscribir los títulos universitarios oficiales.

En ese listado, el único ámbito en el que aparece la palabra Biología es en el denominado “Biología y Genética” y, a pesar de la voz en contra de la Conferencia Española de Decanos y Decanas de Biología, no parece existir la posibilidad ni la voluntad de modificarlo.

¿Por qué “Biología y Genética” y no “Biología y Microbiología”, “Biología y Zoología”, “Biología y Fisiología” o “Biología y Botánica”, por ejemplo? ¿Por qué no solo Biología? Estas preguntas aún no han sido respondidas. Abundando más en la cuestión, entre los 32 propuestos, hay dos ámbitos que se denominan “Bioquímica y Biotecnología” y “Ciencias medioambientales y Ecología”, respectivamente. La Genética, la Bioquímica y la Ecología, ¿no son Biología? Sin duda, conceptualmente, sí.

Siento hoy pensar que hemos sido los propios biólogos los que hemos contribuido a esta confusión creando titulaciones (primero Licenciaturas y después Grados, que surgieron a partir de la de Biología como especializaciones), tales como: Ciencias Ambientales, Biotecnología (estas dos, la Universidad de León fue la primera en implantarlas), Bioquímica, Biociencias, Biomedicina, Biología Humana y un largo etcétera.

En mi opinión, la situación actual es irreversible y, sin duda, muy grave para la Biología como titulación, pues puede desembocar en su depreciación dentro del mercado de títulos o, incluso, en su desaparición, haciendo válido el famoso refrán “Cría cuervos y te sacarán los ojos”. La Bioquímica (suma de Biología y Química), Biofísica (suma de Biología y Física), Biomedicina (suma de Biología y Medicina), etc., sin ánimo peyorativo, son ciencias auxiliares de la Biología, si nos atenemos a su acepción más extensa: estudio de todos los seres vivos y a todos los niveles.

Dejo aquí esta reflexión junto con mi preocupación, para que quien la lea reflexione a su vez, individual o colectivamente. Espero y deseo que la revista AmbioCiencias sea consciente de cómo y desde dónde surgió, para que mantenga en su esencia la certeza de que en su labor de divulgación científica e innovación docente está construyendo BIOLOGÍA, independientemente de la procedencia de sus autores, a los cuales agradezco su contribución en este número.

**Antonio Laborda**

Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales

## A FONDO

### Análisis del entorno externo para explorar el futuro del hidrógeno

Miguel Ángel Delgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fundación Ciudad de la Energía – CIUDEN F.S.P. Avda. Presidente Rodríguez Zapatero, s/n. CP 24492. Cubillos del Sil, León. [miguelangeldelgadocalvo@gmail.com](mailto:miguelangeldelgadocalvo@gmail.com); [ma.delgado@ciuden.es](mailto:ma.delgado@ciuden.es)

#### Resumen

Actualmente España se encuentra en una fase de desarrollo activo del hidrógeno, y ha apostado por la producción, distribución y aplicación de hidrógeno verde como parte de su estrategia de transición energética. En nuestro día a día, vemos cómo el país avanza en inversión en I+D+i, en infraestructuras y en colaboraciones internacionales queriendo consolidar a España como un actor destacado.

En el presente artículo se lleva a cabo un análisis del entorno del hidrógeno (análisis PEST) abarcando desde las políticas existentes hasta los diferentes retos económicos, técnicos y de aceptación social a los que se enfrenta el hidrógeno para su amplio despliegue. Este análisis PEST se aplica a lo largo del artículo a cuatro bloques temáticos: (1) producción; (2) transporte y distribución; (3) almacenamiento y (4) aplicaciones, con un enfoque bidimensional o matricial que permite una comprensión integral de los desafíos que el hidrógeno afronta en el panorama actual.

Como conclusión, cabe decir que existe un entorno claramente favorable. Sin embargo, el hidrógeno verde aún no ha logrado un avance significativo, tanto por sus costes comparativamente altos con respecto al hidrógeno gris como por las pérdidas de eficiencia. Además el hidrógeno es difícil de almacenar y transportar, requiriéndose métodos como la compresión, la licuefacción o la conversión química en sustancias, todos ellos en desarrollo en un mayor o menor grado.

No obstante, se destaca el inmenso potencial del hidrógeno como materia prima, siendo esto ya conocido. A esto se añade el nuevo camino que, junto con el CO<sub>2</sub> capturado, se le abre para la producción de combustibles sintéticos o de *e-fuels*.

#### Palabras clave

Hidrógeno, PEST, retos económicos, retos tecnológicos

## Introducción

A la hora de redactar el presente artículo se identificaron tres tareas en principio seriadas en el tiempo pero que, en varias ocasiones, la realidad hizo que se llevaran a cabo en paralelo: (1) identificar los principales puntos de consenso y disenso que, hoy por hoy, se alcanzan a ver en el ámbito del hidrógeno; (2) explicar los principales argumentos a considerar para llegar a los puntos identificados previamente; (3) presentar dichos puntos de una forma ordenada al cierre del artículo, en una matriz bidimensional, cuyas columnas responden a cuatro bloques temáticos que cubren la cadena de valor del hidrógeno, mientras que sus filas responden a los factores de un análisis PEST, es decir:

- *Columnas: (1) producción; (2) transporte y distribución; (3) almacenamiento; (4) aplicaciones (ver Figura 1).*
- *Filas: factores (1) Políticos, (2) Económicos, (3) Sociales y (4) Tecnológicos. Cabe destacar que, dentro de los factores Sociales, se incluyen los Ambientales (ver Figura 1).*

	Producción	Transporte y distribución	Almacenamiento	Aplicaciones
Políticos				
Económicos				
Aceptación social				
Tecnológicos				

**Figura 1.** Matriz bidimensional utilizada.

De este modo el lector tendrá una visión actual y completa sobre el hidrógeno, además de disponer de los argumentos utilizados por los diferentes actores, todo ello aplicado a nuestras fronteras como país.

## Los básicos (del hidrógeno)

Robert Boyle produjo gas de hidrógeno en 1671 por primera vez; en 1766, Henry Cavendish lo reconoció como un elemento distinto, siendo finalmente nombrado “hidrógeno” por el químico francés Antoine Lavoisier (Ros, 2019).

Cuando mencionamos el hidrógeno, nos referimos al H<sub>2</sub> o dihidrógeno, molécula formada por dos átomos de hidrógeno generalmente en forma gaseosa. El átomo de hidrógeno es el primer elemento en la tabla periódica, con el símbolo

químico H. Tiene un número atómico de 1 y su peso atómico estándar es 1,008. El *Día Mundial del Hidrógeno* se deriva de este hecho y se celebra el 8 de octubre de cada año (1008, en formato *mddd*).

El hidrógeno no es una fuente de energía primaria sino un vector energético (Linares Hurtado y Moratilla Soria, 2007; Llorca, 2010), es decir, un producto que requiere de un aporte de energía para ser obtenido y que es capaz de almacenar energía para posteriormente ser liberada de forma gradual cuando sea requerida, permitiendo por tanto la transferencia, en espacio y tiempo, de una determinada cantidad de energía (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITERD), 2020).

**Tabla 1.** Principales propiedades físicas del hidrógeno (Rupérez Cerqueda, 2022)

Propiedad	Hidrógeno	Comparativa
Densidad (gas)	0,089 kg/m <sup>3</sup> (0 °C, 1 bara)	1/10 del GN
Densidad (líquido)	70,79 kg/m <sup>3</sup> (-253 °C, 1 bara)	1/6 del GN
Temp. ebullición	-252,76 °C (1 bara)	90 °C inferior al GN
Poder calorífico superior	120,1 MJ/kg	(3x) gasolina
	0,01 MJ/l (cond. ambiente)	1/3 del GN
	8,5 MJ/l (licuado)	1/3 del GN
Velocidad de llama	346 cm/s	(8x) del GN
Rango de explosividad	4-77 % en aire	(6x) del GN
Temp autoignición	585 °C	220 °C gasolina
Energía para ignición	0,02 MJ	1/10 del GN
Incoloro, inodoro e insípido Es más ligero que el aire y se diluye rápidamente hacia arriba Tiene una llama prácticamente invisible Irradia poco calor en el infrarrojo, por su baja emisividad, pero dispone de una radiación ultravioleta sustancial		
Notas: GN= gas natural		

Un factor crucial es que el hidrógeno tiene el contenido de energía más alto de cualquier combustible común por peso, pero el contenido de energía más bajo por volumen, tal y como se adelantaba en la **Tabla 1** y se muestra con mayor grado de detalle en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Densidad energética por unidad de masa y volumen de diferentes combustibles (Sura)

Combustible	Densidad específica @15 °C (kg/m <sup>3</sup> )	Densidad energética @15 °C (kWh/kg)	Densidad energética @15 °C (kWh/m <sup>3</sup> )	Presión almac. (MPa)	Temp. almac. (°C)
Diesel	846	11,83	10000	0,1	20
Queroseno	821	11,94	9800	0,1	20
Etanol	790	7,42	5860	0,1	20
Gasolina	737	12,06	8890	0,1	20
Propano	510	12,9	6580	0,836	20
n Butano	564	12,71	7170	0,208	20
Isobutano	557	12,67	7060	0,302	20
Metanol	790	5,54	4380	0,1	20
DME	665	8	5320	0,51	20
LNG	428	13,9	5950	0,1	-162
CNG 20 MPa	180	13,9	2500	20	20
CNG 50 MPa	295	13,9	4100	50	20
Amoniaco liq	717	5,2	3730	0,857	20
H <sub>2</sub> liquido	70,8	33,3	2360	0,1	-253
H <sub>2</sub> 0,1 MPa	0,089	33,3	3	0,1	20
H <sub>2</sub> 20 MPa	14,5	33,3	483	20	20
H <sub>2</sub> 35 MPa	24	33,3	788	35	20
H <sub>2</sub> 70 MPa	42	33,3	1400	70	20

Notas:

DME= dimetil-éter; CNG=gas natural comprimido; LNG= gas natural licuado; H<sub>2</sub>= hidrógeno.

Actualmente, la fuente de energía más importante para la producción de hidrógeno es el gas natural, con más del 76 % (International Energy Agency (IEA), 2019). El reformado del gas natural con vapor es el método más utilizado para la producción de hidrógeno. La electrólisis representa actualmente alrededor del 2 % de la producción global de hidrógeno (IEA, 2019).

En cuanto a sus usos, la química basada en el hidrógeno podría servir como sumidero de carbono (Barlow *et al.*, 2023). Si la aplicación de la tecnología de captura y utilización de carbono (CCU) despega como parte de una economía circular, la tecnología necesitará hidrógeno para convertir el carbono capturado en productos químicos utilizables como metanol, metano, ácido fórmico o urea. Este uso del hidrógeno haría que la CCU sea una alternativa viable para otros sectores difíciles de descarbonizar, como la producción de cemento y acero, y contribuiría a la descarbonización de parte de la cadena de valor petroquímico.

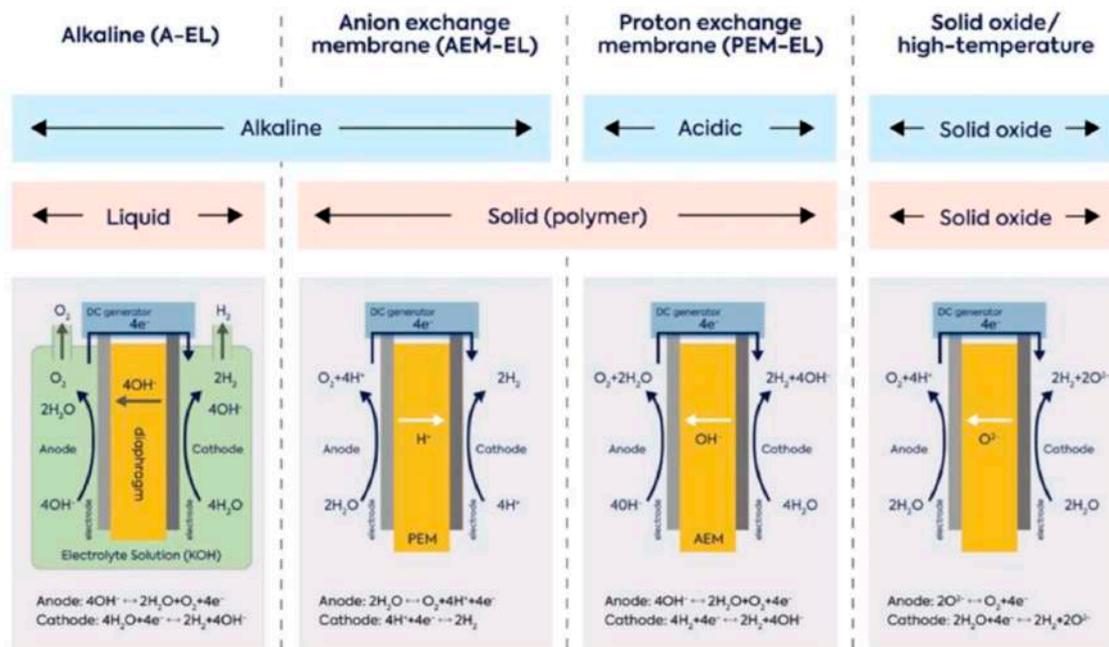
## Producción

Atendiendo a la materia prima necesaria y a las emisiones de CO<sub>2</sub> generadas para su obtención, el hidrógeno es principalmente clasificado en los siguientes tipos (CIC Energigune):

- *Hidrógeno verde: se produce a partir de energía que proviene de fuentes renovables. Normalmente se relaciona con el proceso de electrólisis, en el que la electricidad renovable se utiliza para romper la molécula de agua; sin embargo, también se debe tener en cuenta que el hidrógeno obtenido a partir de la conversión bioquímica de biomasa –siempre que se cumplan los requisitos de sostenibilidad establecidos– tendrá carácter renovable.*
- *Hidrógeno rosa: producido a partir de un proceso de electrólisis alimentada con electricidad producida en una central nuclear.*
- *Hidrógeno gris: se produce mediante reformado de gas natural con vapor (steam-methane reforming o SMR) de la misma manera que el hidrógeno azul. Sin embargo, en este caso, el CO<sub>2</sub> producido no se captura.*
- *Hidrógeno azul: producido a partir de gas natural u otros hidrocarburos ligeros como metano o gases licuados de petróleo mediante procesos de reformado con vapor, donde se producen emisiones de CO<sub>2</sub>, que en este caso sí son capturadas.*
- *Hidrógeno negro/marrón: producido a partir de gasificación de carbón, distinguiéndose los colores en función de si se produce a partir de brown coal o black coal.*

## Grupos de electrolizadores

El presente artículo se focaliza en el hidrógeno verde y, en particular, en su producción a partir de electrólisis; por ello, a continuación, se indican los principales grupos de electrolizadores existentes, identificados con las siglas EL en la **Figura 2**: alcalinos (A-EL), de intercambio aniónico (AEM-EL), de intercambio protónico (PEM-EL) y de óxido sólido o alta temperatura (SO-EL o SOEL).



**Figura 2.** Principales grupos de electrolizadores (Prieto Elorduy, s.f.).

Para entender adecuadamente esta clasificación, debemos explicar primero la influencia del pH y la influencia de la temperatura en la producción de hidrógeno.

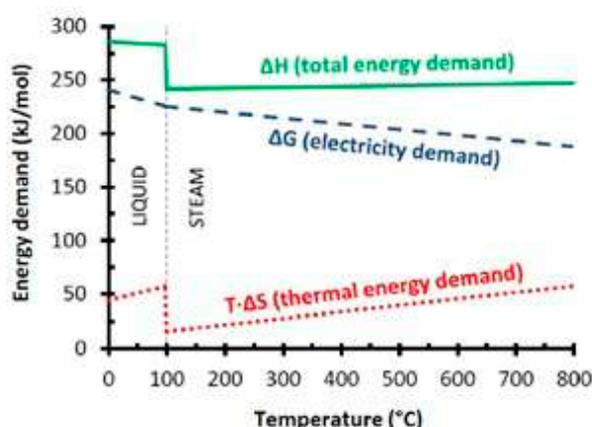
- *Influencia del pH (Prieto Elorduy, s.f.):* La producción de hidrógeno renovable mediante la electrólisis está condicionada a operar en pH ácidos o básicos ya que, en condiciones de pH neutro, la concentración de hidroxilos y protones es igual ( $[OH^-] = [H^+]$ ), no existiendo por tanto iones móviles que permitan portar la carga de un lado al otro. Sin embargo, cuando se emplean electrolitos acuosos fuertemente alcalinos, la concentración de hidroxilos excede a la de los protones ( $[OH^-] \gg [H^+]$ ), por lo tanto existe un portador de carga que puede completar la reacción. Exactamente igual para el caso contrario, si se utilizan electrolitos acuosos fuertemente ácidos, la concentración de protones será muy alta ( $[OH^-] \ll [H^+]$ ), permitiendo llevarse a cabo la electrólisis.
- *Influencia de la temperatura:* La reacción de electrólisis es un proceso endotérmico, por lo que se requiere de un aporte energético externo para que pueda producirse ( $\Delta G > 0$ ). Esta energía puede aportarse en forma de electricidad o calor. Asumiendo que la reacción es reversible, la energía necesaria para este proceso puede cuantificarse a partir del Primer Principio de la Termodinámica:

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S$$

donde  $\Delta H$  muestra la energía total (entalpía) que debe aportarse para poder romper la molécula de agua. Esta energía puede tener un origen térmico (entropía,  $T \cdot \Delta S \equiv Q$ ) que representa las irreversibilidades del

sistema, o bien eléctrico (energía libre de Gibbs,  $\Delta G$ ), ya que en un proceso electroquímico a presión y temperatura constante, todo el trabajo reversible es energía eléctrica. En condiciones estándar (25 °C, 1 bar) estos parámetros toman los siguientes valores:  $\Delta H_0=286,43$  kJ/mol;  $T \cdot \Delta S_0=48,72$  kJ/mol y  $\Delta G_0=237,75$  kJ/mol [2]; sin embargo, a 1000 °C y 1 bar, estos parámetros toman los siguientes valores:  $\Delta H=249,87$  kJ/mol;  $T \cdot \Delta S=72,17$  kJ/mol y  $\Delta G=177,66$  kJ/mol (Linares Hurtado y Moratilla Soria, 2007).

La **Figura 3** refleja la variación de los diferentes términos de la ecuación anterior con respecto a la temperatura. Se observa que la demanda eléctrica ( $\Delta G$ ) se va reduciendo a medida que la temperatura a la que se verifica la electrólisis aumenta, siendo la reducción mucho más significativa cuando el proceso ocurre con vapor de agua que con agua líquida. El cambio abrupto que se aprecia en  $\Delta H$  y  $T \cdot \Delta S$  a 100 °C se debe a la vaporización del agua.



**Figura 3.** Demandas energéticas del proceso electrolítico a presión ambiente en función de la temperatura (Linares Hurtado y Moratilla Soria, 2007).

Una vez vistas las influencias del pH y de la temperatura, podemos abordar los principales grupos de electrolizadores:

#### Grupo #1: Electrolizadores en medio alcalino:

Electrolizadores alcalinos (A-EL): el electrolito donde se produce la conducción de los iones es una disolución alcalina, generalmente de hidróxido de potasio (KOH). Son los más comunes en la actualidad, al ser los de mayor rentabilidad económica y madurez tecnológica. Es una tecnología con una baja densidad de corriente, lo que implica menor cantidad de hidrógeno por volumen de equipo. A continuación, se presentan algunos indicadores de esta tecnología para un tamaño típico de 6 MWe (Patonia y Poudineh, 2022):

- » Producción de hidrógeno: 1200 Nm<sup>3</sup>/h (~107 kg/h)
- » Eficiencia global = 56 kWh/kg H<sub>2</sub>
- » Eficiencia *stack* = 51,9 kWh/kg H<sub>2</sub>

- » Presión H<sub>2</sub> salida = 35 barg
- » CAPEX = 540 ÷ 900 USD2019/kW (Patonia y Poudineh, 2022).

Electrolizadores de intercambio aniónico (AEM-EL): esta tecnología se encuentra en fase de investigación e intenta aunar los beneficios del uso de metales de transición baratos por operar en pH alcalinos y operar a grandes densidades de corriente al tratarse de un electrolito sólido (como la tecnología PEM-EL).

*Grupo #2: Electrolizadores en medio ácido:*

Electrolizadores de intercambio protónico (PEM-EL): el electrolito es un polímero sólido conductor de protones, reduciendo los problemas de corrosión del A-EL a nivel de sistema, aunque deben hacerse frente a otros problemas de corrosión, que afectan a los componentes individuales del electrolizador. Además, se requiere el uso de metales preciosos, lo que implica costes superiores (ver **Tabla 3**).

**Tabla 3.** Demanda estimada de algunos minerales críticos en electrolizadores y pilas de combustible (Patonia y Poudineh, 2022).

Tecnología	Elemento	Kg por MW
PEM-EL	Platino	~ 5
	Paladio	
	Iridio	

De forma análoga a los electrolizadores A-EL, los electrolizadores PEM-EL se encuentran en fase comercial; sin embargo, el desarrollo y la vida útil de los PEM-EL es menor. Ese menor desarrollo también afecta a su CAPEX (gastos de capital), siendo el ratio de CAPEX para los PEM-EL casi el doble respecto a los A-EL (Patonia y Poudineh, 2022).

Como ventajas destacables, los PEM-EL pueden trabajar a mayores densidades de corriente y mayores presiones, lo que les deja en menor necesidad de suelo (huella). También permiten acoplarse fácilmente a sistemas fluctuantes, como las energías renovables, dada su rápida dinámica asociada a que la movilidad del protón es 16 veces mayor a la del hidroxilo. Esto se debe al menor tamaño del protón, que favorece su transporte, y al mecanismo de Grotthuss, que se da en las membranas poliméricas utilizadas y que normalmente contienen grupos funcionales del tipo ácido sulfónico (R-SO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>) (Prieto Elorduy, s.f.). Además, el hecho de que en la tecnología PEM se emplee un electrolito sólido muy delgado, favorece mucho que el transporte de protones sea aún más rápido, por ser más compacta la zona de transferencia entre compartimientos (Prieto Elorduy, s.f.).

*Grupo #3: Electrolizadores de alta temperatura:*

Tras los AEM-EL, los electrolizadores de alta temperatura son la tecnología menos desarrollada (IEA, s.f.). Los electrolitos están elaborados con materiales cerámicos, lo que permite la reducción en sus costes de fabricación, y

cuentan con un alto grado de eficiencia energética, aunque deben aportarse para ello temperaturas superiores a los 550 °C en todos los casos y, normalmente, por encima de los 700 °C (ELCOGEN, 2023). A diferencia de los anteriores, permiten convertir nuevamente el hidrógeno generado en electricidad si se emplean pilas reversibles, pudiendo aportar servicios de equilibrio a la red. Además se pueden realizar procesos de co-electrólisis a partir de vapor de agua y CO<sub>2</sub> para generar CO e H<sub>2</sub> en un solo paso, lo que es de gran utilidad para la producción de combustibles sintéticos o de *e-fuels*.

En base a lo anterior, sus principales indicadores serían:

- » Eficiencia celda = 39,4 kWh/kg H<sub>2</sub>, alimentando vapor.
- » Presión H<sub>2</sub> salida = atmosférica
- » CAPEX = 6667 USD2019/kW
- » Reversibilidad: la celda puede funcionar como pila de combustible (SOFC), si bien es cierto que la eficiencia global (denominada *round-trip-efficiency power-to-power* o  $RTE_{ptp}$ ) se ve reducida a valores próximos al 30-35 %, tal y como se muestra a continuación (Escamilla *et al.*, 2022):

$$RTE_{ptp} = \eta_{electrolyzer} \cdot \eta_{fuel\ cell} \sim 0,70 \cdot 0,50 = 35 \%$$

- » Co-electrólisis con CO<sub>2</sub> para la producción de *e-fuels*.

#### Coste de producción del hidrógeno

Debido a que uno de los factores determinantes a la hora de obtener el precio de producción del hidrógeno es la inversión en electrolizadores, se incluye un breve análisis de los costes en este bloque dedicado a la producción. Para ello, se enumeran en primer lugar los factores más importantes para determinar dicho coste de producción (**Tabla 4**) (Patonia y Poudineh, 2022):

- » Coste de capital (CAPEX) de los electrolizadores: influye en gran medida en el coste final del hidrógeno con una elasticidad que depende mucho de la escala.

**Tabla 4.** Desglose de costes de inversión de las diferentes tecnologías de producción de hidrógeno (USD2019/kW para electrolizadores de 1 MW).

Componente clave	Alcalino (A-EL)	PEM-EL	SO-EL
Stack	270-450	400-870	690-2000
Electrónica/control	81-135	100-217	690-2000
Acondicionamiento gas	81-135	64-145	140-400
Balance of Plant	108-180	100-217	780-2267
Total	540-900	667-1450	2300-6667

- » Factor de capacidad del suministro energético: debido a que los electrolizadores son intensivos en capital, para su viabilidad económica interesa funcionar el mayor número de horas posibles. Por ello, el factor de capacidad tiene peso.
- » Coste del suministro de energía. Es un parámetro clave, si no se genera de manera integrada en la instalación, y puede tener un peso superior al 60 % en el coste final del hidrógeno.
- » Eficiencia de la electrólisis.

En la actualidad, el coste del hidrógeno verde supera al coste del hidrógeno gris. Por otro lado, y mirando al futuro, existe disenso sobre el coste del hidrógeno, habiendo escenarios más pesimistas que indican que los proyectos actualmente en fase de desarrollo sugieren que los costes de producción del hidrógeno verde en Europa para el año 2030 no alcanzarán el nivel esperado de alrededor de 3 €/kg (aproximadamente 75 €/MWh), sino que se situarán en el rango de 5 € a 8 €/kg (aproximadamente 125 a 200 €/MWh) (**Tabla 5**) (Boston Consulting Group, 2023).

**Tabla 5.** Nuevo escenario de precios para el hidrógeno verde en 2030 (Boston Consulting Group, 2023)

	Precio hidrógeno verde @ Europa, 2030
Visión previamente consensuada, ref. 2021	< 3 €/kg H <sub>2</sub>
Nueva visión, ref. 2023	5÷8 €/kg H <sub>2</sub>

Por otro lado, las buenas noticias son que la Comisión Europea ha anunciado el lanzamiento de la primera subasta por valor de 800 millones de euros para ayudar a los fabricantes de hidrógeno verde, planificada en principio para otoño del presente ejercicio 2023, quienes tendrán que compensar una diferencia entre los costes de producción y el precio de mercado con vistas a incentivar el desarrollo de esta industria. Un precedente similar ya existe en EEUU con la reciente Ley de Reducción de la Inflación, con subvenciones a los productores de hasta 3 \$/kg H<sub>2</sub> verde producido.

#### Necesidad de recursos hídricos

Se estima en casi 100.000 hm<sup>3</sup>/año la aportación media que reciben los ríos, embalses y acuíferos (WWF España, s.f.; Rodríguez, 2023), siendo la capacidad de nuestros embalses de 56.000 hm<sup>3</sup> (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITERD), s.f.). Por otro lado, en lo que a consumo se refiere, en España se consumen unos 29.000 hm<sup>3</sup>/año para atender todas las demandas básicas, distribuidas en 80 % para el riego de cultivos (WWF España, s.f.), el 14 % por las ciudades y pueblos y un 6 % por la industria (Rodríguez, 2023).

Calidad del agua necesaria

En la producción de hidrógeno verde, es necesario distinguir entre tres tipos de agua: (1) agua ultrapura (utilizada como materia prima para el electrolizador); (2) agua bruta y (3) agua de refrigeración.

La cantidad de agua ultrapura utilizada en la electrólisis será diferente de la del agua bruta extraída del entorno; por otro lado, la calidad del agua ultrapura y del agua de refrigeración también es diferente, por lo que en principio deberíamos abordar cada una por separado. En el presente artículo, sin embargo, nos centraremos en el agua ultrapura y en el agua bruta necesaria para producir esa agua ultrapura.

La estequiometría de la reacción de producción de hidrógeno a partir de agua nos enseña que, para producir un kg de hidrógeno (H<sub>2</sub>), necesitaremos 9 kg de agua ultrapura. Sin embargo, dependiendo del tipo de agua bruta que se utilice para producir esa agua ultrapura, existirán unas necesidades mayores o menores de agua bruta, tal y como se muestra en la **Tabla 6** (Taekker Madsen, 2022):

**Tabla 6.** Estimación de necesidades de agua bruta.

Necesidades de agua bruta...	...para obtener agua ultrapura
1,4 m <sup>3</sup> de agua subterránea	1 m <sup>3</sup> de agua ultrapura
1,5 m <sup>3</sup> de agua superficial	
3,3 m <sup>3</sup> de agua de mar	

A modo de *regla del pulgar*, podríamos concluir que, para producir 1 kg de H<sub>2</sub>, necesitaremos aproximadamente ~15 kg de aguas superficiales (~ 0,015 m<sup>3</sup>).

Visto lo anterior, podemos proceder a ver un ejemplo concreto de los compromisos que vamos adquiriendo como país y su repercusión en el recurso hídrico. El consumo actual de hidrógeno en España para la industria se sitúa en torno a las 500.000 t/año (Rodríguez, 2023). El Gobierno español pretende que en 2030 se consuma como mínimo un 25 % de forma renovable, es decir, 125.000 t/año, según se indica en la propia Hoja de Ruta del Hidrógeno (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITERD), 2020).

Considerando lo dicho hasta el momento, esas 125.000 t/año de H<sub>2</sub> requerirán de 2 hm<sup>3</sup>/año de reservas, lo que no supondría una merma representativa en el recurso hídrico español para este ejemplo de objetivo asumido.

Pureza de hidrógeno (Lean Hydrogen, s.f.)

En lo que se refiere a la pureza, se debe tener presente que ésta dependerá del uso que le demos al hidrógeno

Actualmente, en las especificaciones de proyectos de hidrógeno, se suele mencionar una pureza del 99,999 %, representada como 5.0. Sin embargo, normativas como UNE-ISO 17124:2022, por la que se definen las especificaciones

del hidrógeno dispensado en estaciones de suministro de hidrógeno para uso en sistemas de vehículos de pilas de combustible PEM, exigen una pureza mínima del 99,97 %, (representada como 3.7). A este respecto, cabe destacar que esta normativa, al igual que otras existentes, detalla la pureza del hidrógeno y las impurezas permitidas. Lo que ocurre es que no todas estas impurezas son relevantes en la producción electrolítica de hidrógeno ya que, para la electrólisis, solo el agua y el oxígeno deben considerarse, con un límite de 5 ppmV (cinco partes por millón volumétricas) según la norma indicada.

Por tanto, la aparente discrepancia en las cifras se debe a la variedad de formas de producción de hidrógeno, de tal forma que se establece un valor del 99,97 % para garantizar la calidad y pureza del hidrógeno para ese uso concreto, sin importar su origen (**Tabla 7**).

**Tabla 7.** Especificación de la calidad del H<sub>2</sub> para aplicaciones de vehículos con pila de combustible PEM (UNE Normalización Española, 2022).

Constituyente	Características
Índice de hidrógeno combustible (fracción molar mínima)	99,97
Gases totales distintos del hidrógeno	300 µmol/mol
<b>Concentración máxima de contaminantes individuales</b>	
Agua (H <sub>2</sub> O)	5 µmol/mol
Oxígeno (O <sub>2</sub> )	5 µmol/mol

### Transporte y distribución

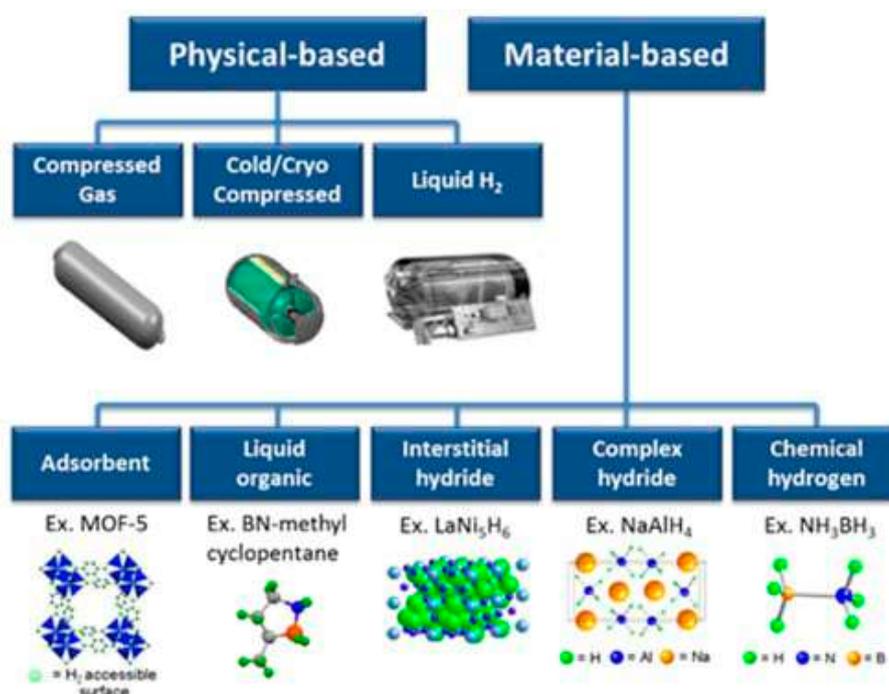
En la actualidad, los medios de transporte más comunes que cubren las necesidades de los diferentes mercados del hidrógeno son:

- *Cilindros de gas comprimido. Actualmente, los tube-trailers transportan aproximadamente 500 kg de hidrógeno, dependiendo de la presión y del material del contenedor. Los volúmenes de tanque más grandes para el transporte de hidrógeno gaseoso actualmente son de 26 metros cúbicos por lo que, teniendo en cuenta la densidad del hidrógeno a 500 bares, resultaría en una carga de aproximadamente 1100 kg de hidrógeno.*
- *Camiones cisterna de líquido criogénico. En este caso, considerando una densidad de 70,8 kg/m<sup>3</sup>, se pueden transportar alrededor de 3500 kg de hidrógeno líquido en un volumen de carga de 50 m<sup>3</sup>.*
- *Hidroductos, entendiéndose como tales nuevas tuberías diseñadas en primera instancia para hidrógeno. Este tipo de inversiones se están estudiando en la actualidad, como es el caso del proyecto H<sub>2</sub>MED.*
- *Mezcla con gas natural (blending). El blending en tecnologías de H<sub>2</sub> verde consiste en mezclar hidrógeno con gas natural en la red actual. Sin embargo, la capacidad de los gaseoductos y flujos de gas disminuye a*

medida que se aumenta el porcentaje de hidrógeno debido a su menor densidad energética en comparación con el gas natural, lo que limita el volumen de gas que puede circular.

## Almacenamiento

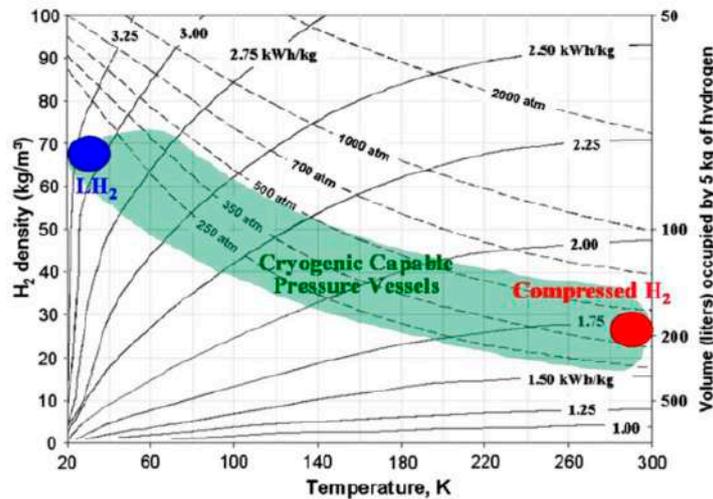
Los métodos de almacenamiento de hidrógeno más importantes, que han sido probados y evaluados durante años, incluyen métodos físicos basados en la compresión, el enfriamiento o una combinación de ambos (almacenamiento híbrido) (**Figura 4**). Sin embargo, se están explorando e investigando numerosas tecnologías de almacenamiento de hidrógeno novedosas, que se pueden agrupar bajo el nombre de tecnologías de almacenamiento *material-based*.



**Figura 4.** Esquema general de las opciones de almacenamiento de hidrógeno.

Centrando el alcance del artículo en los métodos de almacenamiento físicos, comenzaríamos con la opción del hidrógeno en estado líquido (LH<sub>2</sub>) (ver Figura 4). De la Figura 5 se puede deducir que el almacenamiento de hidrógeno a una presión de ~250 bares puede implementarse a cualquier temperatura entre 20 K y 300 K; el punto azul representa la densidad de hidrógeno líquido, y el punto rojo es la densidad de hidrógeno a temperatura ambiente. El LH<sub>2</sub> tiene demanda en aplicaciones que requieren niveles elevados de pureza, como en la industria de chips, por ejemplo. Como portador de energía, el LH<sub>2</sub> tiene una mayor densidad de energía que el hidrógeno gaseoso, pero requiere licuefacción a -253 °C (**Figura 5**), lo que implica una instalación técnica compleja y un costo económico adicional además de la energía a utilizar para alcanzar dichas condiciones. Al almacenar hidrógeno líquido, los tanques y las instalaciones de almacenamiento deben estar aislados para controlar la evaporación que ocurre si el calor

se transmite al contenido almacenado, instalándose sistemas para la disminución del *boil-off* de los depósitos, el cual se estima entre 0,1-3 %/día.



**Figura 5.** Densidad en función de la temperatura para las diferentes opciones de almacenamiento físico (Rapp, 2005).

Fijándonos ahora en el hidrógeno comprimido, se debe destacar que la técnica sigue en evolución, siendo por tanto un error asumir que las tecnologías actuales y sus características permanecerán inalteradas en los próximos años. Empezando por el final, se están comenzando a desarrollar los tanques tipo V para almacenamiento de hidrógeno, los cuales carecen de revestimiento interno y se basan únicamente en fibra de carbono (Gardiner, 2023).

Pero tenemos que volver al principio para enmarcar de forma adecuada la noticia anterior. Existen actualmente en el mercado 4 tipos de almacenamiento de hidrógeno, conocidos como Tipo I, Tipo II, Tipo III y Tipo IV (**Figura 6**).



**Figura 6.** Tipos de recipientes de almacenamiento de hidrógeno.

Las diferencias entre los diversos tipos de recipientes de almacenamiento de hidrógeno están principalmente relacionadas con su diseño y materiales, lo que afecta a su peso, capacidad de almacenamiento y seguridad. Estas clasificaciones están definidas por el Departamento de Transporte de los Estados Unidos (DOT) y la Organización Internacional de Normalización (ISO), para garantizar el almacenamiento y transporte seguro del hidrógeno.

A continuación, se presenta un resumen de cada tipo (**Figura 6**):

- *Tipo I: son metálicos en su totalidad, fabricados en acero de alta resistencia, capaz de soportar altas presiones, a menudo alrededor de 350-700 bares. Estos tanques tienen el mayor peso en comparación con los otros tipos, debido a la construcción pesada de metal. Debido a su peso, se utilizan principalmente en aplicaciones industriales y estacionarias de almacenamiento de hidrógeno.*
- *Tipo II: para describirlos podríamos decir que son contenedores compuestos, ya que incluyen metal y plástico, pero solo en la zona de las virolas (es decir, excluyendo los casquetes o tapas del recipiente).*

*La estructura consta de un revestimiento metálico delgado (generalmente de aluminio) en el interior y una envoltura o capa compuesta que se aplica en forma de aros alrededor del revestimiento metálico. La envoltura compuesta, que a menudo está hecha de plástico reforzado con fibra de carbono u otros materiales compuestos similares, se coloca en una serie de aros o anillos alrededor del revestimiento metálico para proporcionar refuerzo estructural y resistencia a la presión, sin añadir un peso excesivo al contenedor. Esto permite que los contenedores de tipo II sean más ligeros que los contenedores de tipo I, que están hechos completamente de metal, mientras aún mantienen la capacidad de almacenar hidrógeno a alta presión de manera segura.*

- *Tipo III: en este caso son recipientes totalmente compuestos (plástico reforzado con fibra de carbono), es decir, los diferentes materiales incluyen tanto la zona de las virolas como las tapas, ofreciendo un buen equilibrio entre peso y capacidad de almacenamiento, lo que los hace adecuados para aplicaciones automotrices. Los tanques tipo III están diseñados para almacenar hidrógeno a presiones de 350-700 bares. Se utilizan comúnmente en vehículos de celdas de combustible y otras aplicaciones móviles.*
- *Tipo IV: Los recipientes de almacenamiento de hidrógeno tipo IV también son contenedores totalmente compuestos, pero están diseñados para ser aún más ligeros. Suelen contar con una carcasa compuesta más gruesa para soportar altas presiones mientras se reduce el peso. Los tanques tipo IV se utilizan para almacenar hidrógeno a presiones que van desde 350-700 bares. Son la opción preferida para vehículos de celdas de combustible y otras aplicaciones donde la reducción de peso es crucial debido a su diseño ligero.*

Cabe destacar que, actualmente, la decisión se está reduciendo a elegir entre el primero y el último de los tipos explicados (es decir, entre tipo I y tipo IV), en base a si se trata de aplicaciones estacionarias o móviles.

### Aplicaciones del hidrógeno

En diferentes publicaciones se identifica un abanico de posibilidades enormes para el hidrógeno, poniendo de manifiesto su versatilidad. Estos usos múltiples se pueden agrupar en dos categorías principales (**Figura 7**):

- » Hidrógeno como materia prima (insumo o *feedstock*): un papel cuya importancia se reconoce desde hace décadas y continuará creciendo y evolucionando.
- » Hidrógeno como vector energético que permite la transición energética.

<b>Materia prima</b>	Procesos maduros (producción de amoníaco, hidrogenación, etc...)
	Nuevos procesos industriales
	Producción de combustibles con CO <sub>2</sub> capturado
<b>Vector energético</b>	Transporte ligero y pesado
	Calor en la industria (descarbonización industrial)
	Calor sector doméstico (descarbonización doméstica)

**Figura 7.** Esquema general de las aplicaciones del hidrógeno (adaptado de *Hydrogen Europe, 2022*).

No es la intención del presente artículo menoscabar ninguna de las opciones que se identifican para el hidrógeno, si bien es cierto que sí se considera que hay aplicaciones con un mejor punto de partida que otras en base a un simple análisis de la existencia de productos sustitutivos. A modo de ejemplo, el uso del hidrógeno en la descarbonización de calefacciones de nuestros hogares se considera de una menor probabilidad de desarrollo ya que compite a todos los efectos con las bombas de calor, las cuales presentan un rendimiento sustancialmente más alto. De forma análoga, se podría concluir para el caso del uso del hidrógeno para almacenamiento de energía durante 2 a 4 horas, (es decir, no estacionales) o para movilidad ligera (vehículos utilitarios), en las que las baterías parecen haber tomado la delantera.

Donde sí se vislumbra la aplicación del hidrógeno verde es como materia prima que, junto con el CO<sub>2</sub>, podrían utilizarse para la producción de *e-fuels*. Tal es el caso del gas natural sintético o metanol. Para el caso de metanación, se lleva a cabo en un reactor tubular a temperaturas moderadas (300-400 °C) y presiones (4-20 bar), y existe investigación para hacer estas condiciones más suaves. Después de la metanación, se seca y se comprime el gas hasta 60 bar para cumplir con la presión de la red de transmisión; cabe mencionar que, para inyecciones en redes locales o regionales, no son necesarias estas presiones elevadas.

### Matriz bidimensional

A continuación, se presenta la matriz bidimensional que fue explicada en la introducción del artículo y donde se procede a consignar los puntos de consenso/disenso más significativos encontrados (**Tabla 8**).

**Tabla 8.** Matriz identificando los puntos de consenso/disenso del hidrógeno

	Producción	Transporte y distribución	Almacenamiento	Aplicaciones
Políticos	Entorno favorable: a nivel europeo, anuncio para la subasta de ayudas a la producción de hidrógeno (€/kg); a nivel nacional, la revisión del Plan Nacional Intergobierno de Energía y Clima, incrementa los objetivos para el hidrógeno			
Económicos	Coste €/kg <sub>H<sub>2</sub></sub> no competitivo con respecto al H <sub>2</sub> gris; en escenarios pesimistas, incluso no competitivo en el 2030	LH <sub>2</sub> requiere un aporte energético para su licuefacción de casi un tercio de su poder calorífico superior, mermando su competitividad		
Sociales	Necesidad de recursos hídricos a estudiar para los objetivos que se proponga			
Tecnológicos	PEM: disminución de uso de metales preciosos	A partir de <i>blending</i> de H <sub>2</sub> y GN, se transportaría 1/3 de la energía del GN	LH <sub>2</sub> con <i>boil-off</i> altos	Como almacenamiento de electricidad, baja RTE <sub>PIP</sub> ~30%. Se podría considerar para el almacenamiento estacional, donde también tendría menor eficiencia que los bombeos
	SOEC: Necesidad de desarrollo comercial de la tecnología: reversibilidad y co-electrolisis			Combustión diferente que la del GN: sin radiación en el IR, mayor velocidad de llama
	AEM: desarrollo de la tecnología			En el sector doméstico compite con las bombas de calor, las cuales presentan mayor eficiencia
				En el sector del transporte ligero, compite con el coche eléctrico, de mayor eficiencia
				Gran aplicabilidad como materia prima para producción de <i>efuels</i>

## Referencias

- Barlow, H., Shahi, S. y Loughrey, M. 2023. *State of the art: CCS technologies 2023*.
- Boston Consulting Group. 2023. Turning the European Green Hydrogen Dream into Reality: A Call to Action.
- CIC Energigune. (s.f.). CIC Energigune. Recuperado el 03 de 02 de 2023, de <https://cicenergigune.com/es>
- ELCOGEN. 2023. Solid Oxide Stack Modules. Recuperado el 23 de 09 de 2023, de <https://elcogen.com/products/solid-oxide-stack-modules/>
- Escamilla, A., Sanchez, D. y García-Rodríguez, L. 2022. Assessment of power-to-power renewable energy storage based on the smart integration of hydrogen and micro gas turbine technologies. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(40): 17505-17525.
- Gardiner, G. 2023. *Infinite Composites: Type V tanks for space, hydrogen, automotive and more*. Obtenido de Modern Machine Shop: <https://www.mmsonline.com/articles/infinite-composites-type-v-tanks-for-space-hydrogen-automotive-and-more>
- International Energy Agency (IEA). 2019. The Future of Hydrogen - Seizing today's opportunities. IEA Publications.
- International Energy Agency (IEA). (s.f.). *Electrolysers*. Recuperado el 07 de 06 de 2023, de <https://www.iea.org/energy-system/low-emission-fuels/electrolysers>
- Lean Hydrogen. (s.f.). Pureza de hidrógeno. ¿Por qué cumplimos con el 99,999 % si la norma dice 99,97%? Recuperado el 16 de 09 de 2023, de <https://leanhydrogen.com/pureza-de-hidrogeno/#:~:text=Cuando%20empezamos%20a%20leer%20las%20especificaciones%20de%20un,ISO%2017124%2C%20vemos%20un%20n%C3%BAmero%20ligeramente%20diferente%3A%2099%2C97%25.>
- Linares Hurtado, J. y Moratilla Soria, B.Y. 2007. El hidrógeno y la energía. Madrid: Universidad Pontificia Comillas.
- Llorca, J. 2010. El hidrógeno y nuestro futuro energético. Barcelona: Edicions UPC.
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITERD). 2020. Hoja de ruta del hidrógeno. Madrid: MITERD.
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITERD). (s.f.). Boletín hidrológico peninsular. Recuperado el 2023 de 11 de 01, de <https://mitemco.maps.arcgis.com/apps/dashboards/912dfee767264e3884f7aea8eb1e0673>
- Patonia, A. y Poudineh, R. 2022. Cost-competitive green hydrogen: how to lower the cost of electrolysers? Oxford Institute for Energy Studies.
- Prieto Elorduy, A. (s.f.). La importancia del pH en la electrolisis. Recuperado el 06 de 10 de 2023, de <https://energyanalysis.substack.com/p/importancia-del-ph-en-la-electrolisis-grotthuss>

- Rodríguez, J.L. 2023. El hidrógeno verde y la crisis del agua. *El Periódico de la Energía* (4.5.2023), págs. <https://elperiodicodelaenergia.com/el-hidrogeno-verde-y-la-crisis-del-agua/#:~:text=Seg%C3%BAn%20fuentes%20oficiales%20los%20recursos%20h%C3%ADricos%20de%20Espa%C3%B1a,fluvial%201-09.000%20hm3%2Fa%C3%B1o%20y%20la%20subterr%C3%A1nea%202.000%20hm3%2Fa%C3%B1.>
- Ros, M. 2019. *¿Quién descubrió el hidrógeno?* (17.09.2019) Recuperado el 20 de 08 de 2023, de <https://quieninvento.org/quien-descubrio-el-hidrogeno/#:~:text=Robert%20Boyle%20produjo%20gas%20de%20hidr%C3%B3geno%20en%201671,como%20hidr%C3%B3geno%20por%20el%20qu%C3%ADmico%20franc%C3%A9s%20Antoine%20Lavoisier.>
- Rupérez Cerqueda, M. 2022. *¿Por qué hidrógeno y por qué ahora? Análisis de la coyuntura de la industria del hidrógeno y su futuro*. OBS Business School. Universitat de Barcelona.
- Sura, M. (s.f.). *Linkedin*. Recuperado el 03 de 10 de 2022, de <https://www.linkedin.com/in/michael-sura-9a47511bb/>
- Taekker Madsen, H. 2022. Water treatment for green hydrogen. Recuperado de <https://hydrogentechworld.com/water-treatment-for-green-hydrogen-what-you-need-to-know>
- UNE Normalización Española. 2022. UNE-EN 17124 . *Hidrógeno combustible*.
- WWF España. (s.f.). *La agricultura de regadío e industrial es responsable del 80% del consumo de agua en España*. Recuperado el 01 de 11 de 2023, de [https://www.wwf.es/nuestro\\_trabajo/agua/ahorrar\\_agua\\_en\\_agricultura/#:~:text=En%20Espa%C3%B1a%20se%20consumen%20unos%2029.000%20Hm3%2Fa%C3%B1o%20para,%28media%29%20que%20reciben%20los%20r%C3%A-Do%2C%20embalses%20y%20acu%C3%ADferos.](https://www.wwf.es/nuestro_trabajo/agua/ahorrar_agua_en_agricultura/#:~:text=En%20Espa%C3%B1a%20se%20consumen%20unos%2029.000%20Hm3%2Fa%C3%B1o%20para,%28media%29%20que%20reciben%20los%20r%C3%A-Do%2C%20embalses%20y%20acu%C3%ADferos.)



## PONIENDO EN CLARO

### La base genética de los trastornos depresivos

Judit Gutiérrez<sup>1</sup> y Pedro García García<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduada en Biología, [jgutigo06@estudiantes.unileon.es](mailto:jgutigo06@estudiantes.unileon.es)

<sup>2</sup> Área de Genética. Departamento de Biología Molecular, [pgarg@unileon.es](mailto:pgarg@unileon.es)

#### Resumen

La depresión es un trastorno mental grave que afecta a unos 300 millones de personas en todo el mundo. Se considera una de las principales causas de discapacidad y tiene una alta tasa de morbilidad y mortalidad. En el presente trabajo fin de grado se ha realizado una revisión bibliográfica de la literatura enfocada en los aspectos genéticos relativos a esta enfermedad. La fisiopatología de la depresión aún no se conoce con exactitud, aunque se han relacionado diferentes genes como *SLC6A4*, *BDNF*, *MAOA* o *FKBP5*. En las últimas décadas se ha avanzado considerablemente en el estudio de la genética de la depresión gracias a los análisis de asociación del genoma completo (Genome-Wide Association Study, GWAS). Estos trabajos han permitido identificar más de 150 polimorfismos de un único nucleótido (SNP) asociados a la depresión. Debido a la gran heterogeneidad de resultados se puede concluir que esta enfermedad tiene un carácter multigénico y que está influenciada tanto genética como ambientalmente.

#### Palabras clave

GWAS, serotonina, SNP, trastorno depresivo mayor

#### 1. Introducción

La depresión es un trastorno mental complejo y de gran heterogeneidad que afecta a unos 300 millones de personas en todo el mundo (Yuan *et al.*, 2020). Según la OMS, esta enfermedad es una de las principales causas de discapacidad, morbilidad, mortalidad y riesgo de suicidio en el mundo.

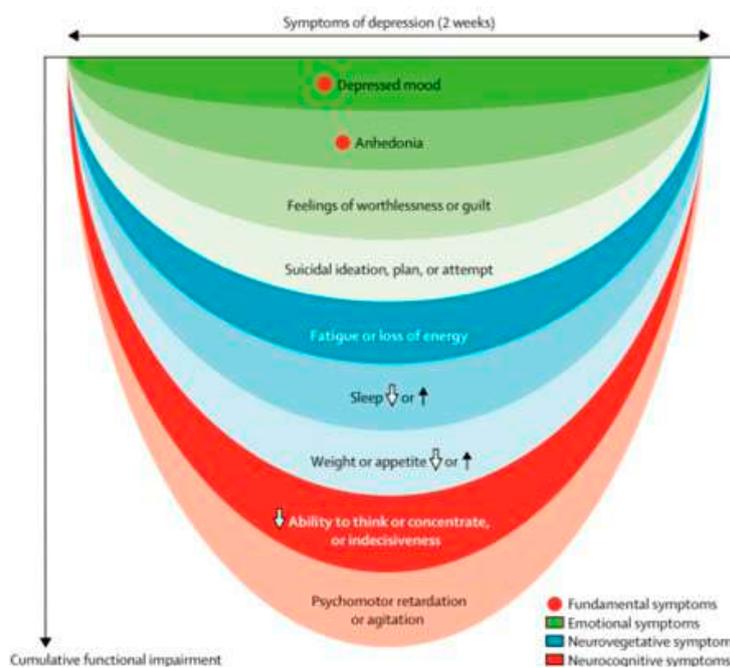
A pesar de que afecta a una gran proporción de la población mundial no se ha conseguido esclarecer las causas y mecanismos que la provocan. Se ha llegado a la conclusión de que la depresión es multifactorial, es decir, contribuyen a ella distintos elementos como factores genéticos y epigenéticos, condiciones ambientales, estrés y un largo etcétera. Gracias a los estudios familiares y de gemelos y, principalmente, a la contribución de los análisis de asociación del genoma completo (Genome-Wide Association Study, GWAS) se ha demostrado que la contribución de los factores genéticos al desarrollo de depresión es realmente

significativa y presenta una heredabilidad cercana al 40 % (Sullivan *et al.*, 2000; Alshaya, 2022; Beurel *et al.*, 2020).

Aunque los avances en neurociencia han sido más que notables en las últimas décadas, la fisiopatología de la depresión no ha sido determinada. Numerosos estudios han demostrado la implicación en ella de distintos mecanismos tales como la alteración de los sistemas de la serotonina o dopamina, la disminución de neurogénesis, alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal o la inflamación.

## 2. Caracterización clínica

La depresión abarca un amplio espectro de trastornos con síntomas y etiologías variadas. El uso del término depresión generalmente se refiere, en realidad, al trastorno depresivo mayor (TDM). Para diagnosticar TDM, el paciente debe presentar 5 o más de los síntomas especificados en la **Figura 1** durante un periodo igual o superior a 2 semanas. Además, es necesario que uno de los síntomas sea el estado de ánimo entristecido o la anhedonia.

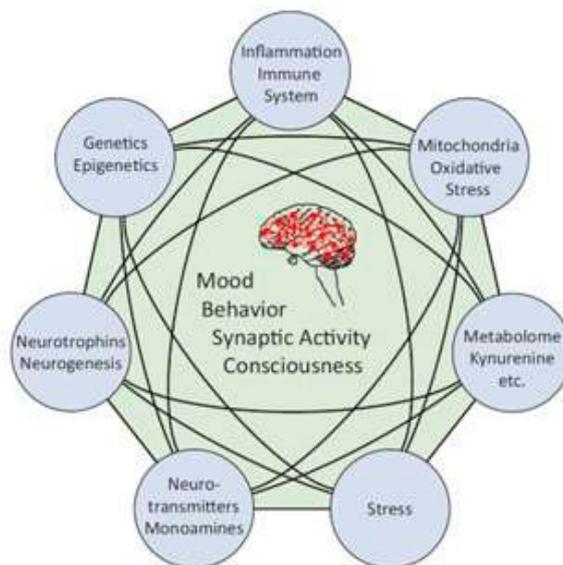


**Figura 1:** Definición de trastorno depresivo mayor. Síntomas clave del manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales DSM-5 para el trastorno depresivo mayor (Malhi y Mann, 2018).

## 3. Principales hipótesis de la patogénesis de la depresión

La depresión es un trastorno cuya patogénesis no está claramente determinada. Se han estudiado diferentes vías que pueden estar implicadas (**Figura 2**), pero no se ha llegado a un punto de acuerdo sobre las causas de esta enfermedad. Estas rutas no son excluyentes, lo que conduce a que la corriente actual de investigación apunte a una hipótesis única que explique la interacción entre

todas las vías y su implicación en el desarrollo de la depresión. En este apartado se explicarán los diferentes mecanismos estudiados en el TDM.



**Figura 2.** Vías moleculares y fisiológicas determinantes para el desarrollo de la depresión. El trastorno depresivo mayor (TDM) está determinado por la acción de diferentes rutas de señalización que pueden estar interrelacionadas. La contribución relativa de cada vía varía entre los pacientes individuales, lo que refleja la alta complejidad de la enfermedad (procedente de Fries *et al.*, 2023).

- *Hipótesis de las monoaminas*

La hipótesis de las monoaminas, una de las primeras, fue postulada en los años 60 por Joseph Schildkraut (Shadrina *et al.*, 2018). En ella se propone que la insuficiencia de neurotransmisores de monoaminas (serotonina, norepinefrina, dopamina) en ciertas estructuras del sistema nervioso central puede desencadenar el desarrollo de depresión (Shadrina *et al.*, 2018).

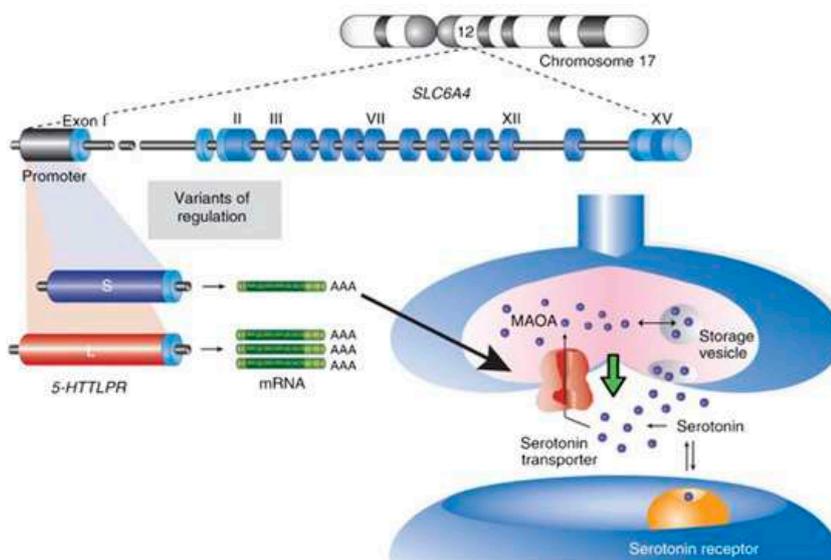
Se basó en la observación de que los antidepresivos tricíclicos y aquellos que contenían inhibidores de la monoamina oxidasa mejoraban los síntomas depresivos (Fries *et al.*, 2023).

A raíz de esta teoría se realizaron diversos estudios genéticos que buscaban, identificaban y analizaban polimorfismos en genes asociados a la síntesis, degradación y neurotransmisión de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), noradrenalina y dopamina. De acuerdo con los metaanálisis hay varios polimorfismos asociados a la depresión.

El gen más analizado ha sido *SLC6A4*, localizado en la zona cromosómica 17q11.1-17q12, que codifica el transportador responsable de la recaptación de serotonina desde la hendidura sináptica hasta la neurona presináptica (Shadrina *et al.*, 2018).

En la región promotora del gen *SLC6A4* se encontró un polimorfismo (5-HTTLPR) de repeticiones en tándem de número variable (VNTR) (**Figura 3**) cuyo alelo largo tiene 16 elementos repetidos en tándem ricos en GC de 20-23 pb

de longitud, mientras que el alelo corto tiene 14 unidades repetidas. En las pruebas *in vitro* se ha concluido que el alelo corto está asociado con un menor nivel de expresión del ARNm de *SLC6A4* lo que genera una recaptación reducida (Rafikova *et al.*, 2020). Los individuos homocigotos para el alelo corto presentan una mayor predisposición a eventos depresivos que aquellos que son homocigotos para el alelo largo (Yohn *et al.*, 2017). Además del gen del transportador de la serotonina, también se han estudiado los genes implicados en la codificación de sus receptores. Existen al menos 14 subtipos de receptores de la serotonina, 5 de los cuales se han relacionado con TDM. El más destacable es el 5-HT<sub>1A</sub> cuyo gen presenta un polimorfismo de un único nucleótido en su región promotora que altera la unión de represores (Yohn *et al.*, 2017).



**Figura 3. Representación del gen *SLC6A4* que codifica el transportador de la serotonina (SERT).** SERT es una proteína integral de membrana que interviene en la recaptación de serotonina de las sinapsis. El 5-HT puede sufrir cambios enzimáticos por degradación mediada por la monoamino oxidasa A (MAO-A) o reciclaje en vesículas sinápticas. El polimorfismo (5-HTTLPR) en el promotor tiene dos alelos principales, el corto (S) y el largo (L) que muestran una influencia funcional diferente en *SLC6A4*. Tradicionalmente, la variante S se asocia a baja expresión del gen, que afecta negativamente el reciclaje de 5-HT (procedente de Iurescia *et al.*, 2016).

Otro gen estudiado como marcador de la depresión es el que codifica la monoamino oxidasa A (MAOA) que está ubicado en el cromosoma X (Rafikova *et al.*, 2020). La función de esta enzima es la degradación de las aminas biogénicas, como la serotonina, reduciendo así su acción en la hendidura sináptica (Rafikova *et al.*, 2020).

El polimorfismo VNTR del gen *MAOA* presenta variantes alélicas que pueden tener 3, 3.5, 4 y 5 repeticiones (R) de una unidad de 30 pb localizada antes del gen. El alelo 3R se relaciona con una eficiencia transcripcional baja, mientras que el 4R es de alta actividad.

- *El estrés como factor de riesgo*

La exposición al estrés, particularmente en las primeras etapas de la vida, es uno de los factores causantes de depresión más estudiados. El eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal es responsable de la adaptación a las condiciones ambientales durante el estrés. Simplificando, el producto final del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal es el cortisol, que se une a los receptores glucocorticoides tipo II y mineralocorticoides tipo I para formar complejos hormona-receptor, que serán transportados a los núcleos celulares. Allí interactúan con regiones específicas de ADN para activar la expresión de genes dependientes de corticosteroides (Shadrina *et al.*, 2018). Un gen candidato es el *FKBP5*, que codifica una proteína cuya acción disminuye la sensibilidad del receptor al cortisol, reduciendo el efecto de este. Diversos estudios (Lahti *et al.*, 2016; Tozzi *et al.*, 2016; Criado-Marrero *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2022) han demostrado que los polimorfismos de este gen y situaciones abusivas o de estrés en etapas tempranas de la vida desencadenan episodios depresivos.

- *El papel de las citoquinas*

Las citoquinas son glicoproteínas que intervienen en la inmunidad innata y adaptativa. Sus niveles, particularmente de los factores proinflamatorios (TNF, IL-1, IL-6), son elevados en pacientes con TDM. Sin embargo, hay hallazgos contradictorios en cuanto a su posible implicación en el desarrollo de la TDM. Algunos autores han demostrado que los polimorfismos de *IL-1B* y *IL-6* tienen una asociación clara con la depresión mientras que, por otro lado, muchos estudios han llegado a la conclusión de que su implicación no es significativa (Shadrina *et al.*, 2018; Petralia *et al.*, 2020; Ting *et al.*, 2020).

- *Estrés oxidativo*

El cerebro es muy vulnerable al estrés oxidativo debido a que tiene un alto consumo de oxígeno, un mayor contenido de lípidos y una defensa antioxidante más débil (Bhatt *et al.*, 2020). Aunque las especies reactivas del oxígeno tienen un papel vital en las funciones normales del cerebro, la generación excesiva de radicales libres combinada con una deficiencia de antioxidantes puede desencadenar una respuesta proinflamatoria que puede derivar incluso en apoptosis celular (Bhatt *et al.*, 2020). Se han estudiado los niveles de biomarcadores de estrés oxidativo en metaanálisis y se ha concluido que en la depresión hay niveles altos de estrés oxidativo y déficit de defensas antioxidantes (Black *et al.*, 2015).

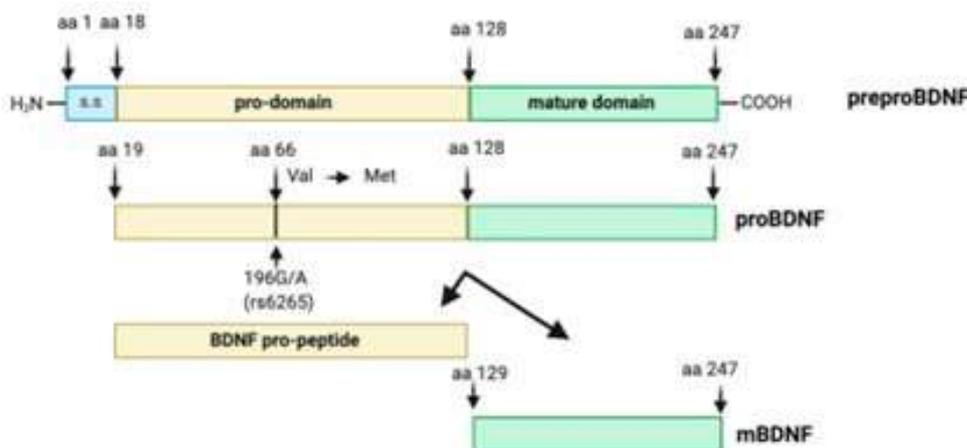
- *Neurogénesis y neuroplasticidad: BDNF y GSK3B*

Recientemente se han publicado numerosos estudios que avalan el vínculo entre el desarrollo de depresión y la alteración del funcionamiento de los factores neurotróficos. Estos factores juegan un papel importante en el desarrollo del cerebro y en la plasticidad neuronal y actúan uniéndose a receptores de tirosina quinasa (Lee *et al.*, 2022). Cuando se produce esta unión, se dimeriza el ligando-receptor y se induce la autofosforilación en sus residuos de tirosina in-

tracelular, desencadenando la activación de rutas de señalización que promueven la supervivencia de las neuronas, la formación de sinapsis y la neuroplasticidad (Yang *et al.*, 2020).

En este grupo de compuestos se encuentra el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento nervioso, la neurotrofina-3 y la neurotrofina-4.

El BDNF es una proteína muy conservada evolutivamente cuya síntesis y maduración requiere una serie de etapas. El BDNF es el factor más estudiado en relación a los trastornos depresivos y se ha demostrado su implicación en pacientes con TDM, tanto adultos como adolescentes (Lee *et al.*, 2022). Se ha identificado un SNP, *BDNF* Val66Met (Zięba *et al.*, 2023), que inhibe la vía de señalización dependiente de *BDNF* y se ha relacionado con un volumen hipocampal reducido y predisposición a episodios depresivos (**Figura 4**) (Lee *et al.*, 2022). En el modelo animal de Egan *et al.* (2003) se observó que los ratones con alelos Met/Met o Val/Met tenían un volumen de hipocampo reducido. Sin embargo, en otros estudios no se han encontrado diferencias significativas en la frecuencia del polimorfismo entre afectados y no afectados (Yang *et al.*, 2020).



**Figura 4.** Estructura de la proteína del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). El preproBDNF consiste en tres secuencias: la secuencia señal (s.s), el prodominio, y el dominio maduro intra o extracelular. La escisión de preproBDNF genera isoformas funcionalmente activas: propéptido BDNF y BDNF maduro (mBDNF), cada uno de los cuales tiene una afinidad característica por un tipo específico de receptor. (Las flechas indican sitios de escisión de proteasa conocidos implicados en el procesamiento de BDNF maduro). La posición del polimorfismo de un solo nucleótido (rs6265, Val66Met) y la sustitución de valina (Val) por metionina (Met) en el codón (aa) 66 en el gen *BDNF* humano se indica mediante una flecha (procedente de Colucci-D'Amato *et al.*, 2020).

Otro compuesto relacionado con la neuroplasticidad y la depresión es GSK3B. Se trata de una isoenzima que forma parte de numerosas rutas de señalización celular, una de ellas regulada por BDNF. Se ha demostrado que los diferentes polimorfismos de *GSK3* están relacionados con la gravedad del TDM, la edad de inicio y la respuesta a fármacos.

- *Epigenética*

La epigenética engloba los procesos que afectan la expresión génica sin alterar la información genética. Algunos procesos implicados son la metilación/desmetilación del ADN, ARN no codificantes como los microARN (miARN) y la modificación de histonas (Penner-Goeke y Binder, 2019).

Los factores ambientales están estrechamente relacionados con la epigenética. Varios estudios han demostrado que los entornos poco favorables dejan marcas epigenéticas en el ADN (Maddox *et al.*, 2013; Mitchell *et al.*, 2014).

Los tejidos cerebrales tienen una alta expresión de miARNs debido a su gran implicación en el desarrollo del sistema neural y la proliferación de células madre neurales (Liu *et al.*, 2020). Los miARNs son moléculas altamente conservadas en la evolución (Liu *et al.*, 2020) que regulan la expresión génica post-transcripcional, por lo que su acción puede jugar un papel clave en el desarrollo de enfermedades al actuar como interruptores de la expresión de muchos genes (Penner-Goeke y Binder, 2019). Se ha demostrado que los niveles de expresión de algunos miARNs (miR-124-3p, miR-128-3p, miR-139-5p, miR144-5p, etc.) están asociados con la aparición de depresión (Ding *et al.*, 2023).

En general, todas las rutas mencionadas influyen las unas en las otras. La comprensión de esta interrelación ha llevado a la postulación de una hipótesis única sobre la patogenia de la depresión (**Figura 5**). Esta nueva hipótesis no solo trata de explicar un mecanismo que provoque la enfermedad, sino que busca comprender cómo las interrelaciones entre vías, que a priori pueden parecer muy alejadas en funcionalidad, convergen en puntos en común, como los que concurren en el desarrollo de TDM (Correira *et al.*, 2022).



**Figura 5.** La depresión como enfermedad compleja. La disfunción del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal, niveles bajos de neurotransmisores (como 5-HT, noradrenalina y dopamina) y factores neurotróficos (como BDNF), el aumento de los niveles de inflamación y el estrés oxidativo, y la disminución de los niveles de neurogénesis, son algunas de las características subyacentes de la depresión (Correira *et al.*, 2022).

## 5. Resumen de los análisis genéticos utilizados para el estudio de la depresión

Para el análisis de la depresión hay que tener en cuenta que es un síndrome multigénico, es decir, su patogenia es fruto de un número elevado de pequeños cambios que se combinan a lo largo de todo el genoma afectando a la expresión de muchos genes y, a su vez, estos procesos están influenciados por el ambiente (Howard *et al.*, 2019).

En el contexto de la predisposición, se estudia la variación genómica individual que puede aumentar la probabilidad del individuo a desarrollar este trastorno. Se ha estimado que la heredabilidad de la depresión se sitúa en torno a un 35 % (Sullivan *et al.*, 2013; Flint y Kendler, 2014; Penner-Goeke y Binder, 2019); aun no siendo un porcentaje alto, se han encontrado más de 150 SNP asociados al TDM gracias a los análisis de asociación del genoma completo (GWAS).

Los GWAS han sido el principal método de estudio de los posibles genes implicados en la depresión, ya que permiten diferenciar la frecuencia alélica de variantes genéticas entre grupos de individuos que comparten ancestros comunes pero son fenotípicamente diferentes, en este caso grupos control y grupos de pacientes (Kamran *et al.*, 2022). Los GWAS han demostrado la naturaleza poligénica y pleiotrópica de los trastornos psiquiátricos (Penner-Goeke y Binder, 2019; Kendall *et al.*, 2021). Estos análisis han tenido éxito en el análisis del TDM, a pesar de los numerosos obstáculos que existen para su estudio: heredabilidad moderada, alta prevalencia, gran heterogeneidad entre muestras y la concurrencia de factores genéticos y no genéticos (Kendall *et al.*, 2021; Kamran *et al.*, 2022).

Además de las dificultades para analizar los genes implicados en la depresión utilizando GWAS, también hay controversia en los análisis post-GWAS. Pérez-Granados *et al.* (2022) partieron de la premisa de que la falta de un consenso global para el uso de la herramienta y de los métodos en los análisis posteriores a GWAS generaba una gran divergencia de resultados partiendo de los mismos datos iniciales. Concluyeron que existían diferencias significativas entre el uso de unas herramientas y otras, lo que provoca que, aunque haya un gran potencial de partida, se necesite una evaluación objetiva y comparativa de los sistemas de análisis post-GWAS para poder avanzar en la investigación del TDM.

## 6. Tratamientos

Una vez se diagnostica depresión, el objetivo es proporcionar un tratamiento que genere una remisión total. Tradicionalmente se han utilizado la terapia psicológica, la farmacoterapia o una combinación de ambas. La farmacoterapia ha estado basada principalmente en el desarrollo de medicamentos que enfocan su acción en el sistema de neurotransmisión de las monoaminas (Malhi y Mann, 2018; Gonda *et al.*, 2019).

La clasificación de los antidepresivos es bastante simple y se basa principalmente de su modo de acción. Los más relevantes se encuentran en la **Figura**

6. A continuación, se desarrolla el modo de acción de uno de los grupos más utilizados como antidepresivos: los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI). Su efecto principal es aumentar las concentraciones de 5-HT en la hendidura sináptica, aunque también se ha visto que pueden regular la expresión de BDNF, lo que explicaría que se necesite un periodo de varias semanas para ver el efecto terapéutico. Lee *et al.* (2020) demostraron que la disminución en los niveles séricos de BDNF en una fase temprana de la administración de los SSRI está asociado a su posterior efecto.



Figura 6. Principales tipos de antidepresivos. Creado con BioRender.com.

En los últimos años, se ha puesto el enfoque en la farmacogenética y la farmacogenómica. Estas nuevas perspectivas buscan una medicina de precisión y personalizada a través de la identificación de los genes involucrados. Se han hecho múltiples estudios de farmacogenética, pero lo cierto es que ninguno ha conseguido aún resultados concluyentes o ha mejorado en eficacia a los tratamientos tradicionales (Gonda *et al.*, 2019).

### 7. Conclusión

En resumidas cuentas, aunque se ha estudiado mucho este campo en la última década, aún queda por avanzar. La depresión sigue siendo una gran desconocida que cada día afecta a más y más personas en todo el mundo.

Poniendo el foco en la genética, se puede concluir que el TDM es una patología heredable y multigénica. Aunque se han encontrado alrededor de 150 SNP gracias a los GWAS e incluso algunos estudios han relacionado directamente genes con el desarrollo de depresión, ningún estudio es concluyente para determinar con exactitud la arquitectura genética de este trastorno.

Las direcciones futuras para la investigación pasan por descubrir las conexiones que existen entre los diferentes genes identificados y cómo afecta el am-

biente a la expresión génica. Además, también se abre la puerta al desarrollo de nuevas terapias y a poder comprobar la eficacia de los tratamientos ya existentes.

## Referencias

- Alshaya, D.S. 2022. Genetic and epigenetic factors associated with depression: An updated overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(8): 103311.
- American Psychiatric Association. 2013. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5.<sup>a</sup> ed. Washington, D.C.: American Psychiatric Association.
- Beurel, E., Toups, M. y Nemeroff, C.B. 2020 The bidirectional relationship of depression and inflammation: Double trouble. *Neuron*, 107(2): 234–256.
- Bhatt, S., Nagappa, A.N. y Patil, C.R. 2020. Role of oxidative stress in depression. *Drug Discovery Today*, 25(7): 1270–1276.
- Black, C.N., Bot, M., Scheffer, P.G., Cuijpers, P. y Penninx, B.W.J.H. 2015. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 51: 164–175.
- Correia, A.S. y Vale, N. 2022. Tryptophan metabolism in depression: A narrative review with a focus on serotonin and kynurenine pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15): 8493.
- Colucci-D'Amato, L., Speranza, L. y Volpicelli, F. 2020. Neurotrophic Factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20): 7777.
- Criado-Marrero, M., Smith, T.M., Gould, L.A., Kim, S *et al.* 2020 FKBP5 and early life stress affect the hippocampus by an age-dependent mechanism. *Brain, Behavior, and Immunity - Health*, 9: 100143.
- Ding, R., Su, D., Zhao, Q., Wang, Y. *et al.* 2023. The role of microRNAs in depression. *Frontiers in Pharmacology*, 14: 1129186.
- Egan, M.F., Kojima, M., Callicott, J.H., Goldberg, T.E. *et al.* 2003. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 112(2): 257–269.
- Flint, J. y Kendler, K.S. 2014. The genetics of major depression. *Neuron*, 81(3): 1214.
- Fries, G.R., Saldana, V.A., Finnstein, J. y Rein, T. 2023. Molecular pathways of major depressive disorder converge on the synapse. *Molecular Psychiatry*, 28(1): 284–297.
- Gonda, X., Petschner, P., Eszlari, N., Baksa, D. *et al.* 2019. Genetic variants in major depressive disorder: From pathophysiology to therapy. *Pharmacology and Therapeutics*, 194: 22–43.
- Howard, D.M., Adams, M.J., Clarke, T.-K., Hafferty, J.D. *et al.* 2019. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the

- importance of the prefrontal brain regions. *Nature Neuroscience*, 22(3): 343–352.
- Iurescia, S., Seripa, D. y Rinaldi, M. 2016. Role of the 5-HTTLPR and SNP promoter polymorphisms on serotonin transporter gene expression: a closer look at genetic architecture and in vitro functional studies of common and uncommon allelic variants. *Molecular Neurobiology*, 53: 5510–5526.
- Kamran, M., Bibi, F., Rehman, A.U. y Morris, D.W. 2022. Major depressive disorder: Existing hypotheses about pathophysiological mechanisms and new genetic findings. *Genes*, 13(4): 646.
- Kang, C., Shi, J., Gong, Y., Wei, J. *et al.* 2020. Interaction between FKBP5 polymorphisms and childhood trauma on depressive symptoms in Chinese adolescents: The moderating role of resilience. *Journal of Affective Disorders*, 266: 143–150.
- Kendall, K.M., Van Assche, E., Andlauer, T.F., Choi, K.W *et al.* 2021. The genetic basis of major depression. *Psychological Medicine*, 51(13): 2217–2230.
- Lahti, J., Ala-Mikkula, H., Kajantie, E., Haljas, K. *et al.* 2016. Associations between self-reported and objectively recorded early life stress, FKBP5 polymorphisms, and depressive symptoms in midlife. *Biological Psychiatry*, 80(11): 869–877.
- Lee, B., Shin, E., Song, I. y Chang, B. 2022. Depression in adolescence and brain-derived neurotrophic factor. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15: 947192.
- Lee, J., Lee, K.H., Kim, S.H., Han, J.Y. *et al.* 2020. Early changes of serum BDNF and SSRI response in adolescents with major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*, 265: 325–332.
- Liu, N., Wang, Z.Z., Zhao, M., Zhang, Y. y Chen, N.H. 2020. Role of non-coding RNA in the pathogenesis of depression. *Gene*, 735: 144276.
- Maddox, S.A., Schafe, G.E. y Ressler, K.J. 2013. Exploring epigenetic regulation of fear memory and biomarkers associated with post-traumatic stress disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 4: 62.
- Malhi, G.S. y Mann, J.J. 2018. Seminar depression. *The Lancet*, 392: 2299–2312.
- Mitchell, A.C., Bharadwaj, R., Whittle, C., Krueger, W. *et al.* 2014. The genome in three dimensions: A new frontier. *Biological Psychiatry*, 75(12): 961–969.
- Penner-Goeke, S. y Binder, E.B. 2019. Epigenetics and depression. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 21(4): 397–405.
- Pérez-Granado, J., Piñero, J. y Furlong, L.I. 2022. Benchmarking post-GWAS analysis tools in major depression: Challenges and implications. *Frontiers in Genetics*, 13: 1006903.
- Petralia, M.C., Mazzon, E., Fagone, P., Basile, M.S. *et al.* 2020. Pathogenic contribution of the macrophage migration inhibitory factor family to major depressive disorder and emerging tailored therapeutic approaches. *Journal of Affective Disorders*, 263: 15–24.

- Petralia, M.C., Mazzon, E., Fagone, P., Basile, M.S. *et al.* 2020. The cytokine network in the pathogenesis of major depressive disorder. Close to translation? *Autoimmunity Reviews*, 19(5): 102504.
- Qiu, X., Lu, P., Zeng, X., Jin, S. y Chen, X. 2023. Study on the mechanism for SIRT1 during the process of exercise improving depression. *Brain Sciences*, 13(5): 719.
- Rafikova, E.I., Ryskov, A.P. y Vasilyev, V. A. 2020. Genetics of depressive disorders: candidate genes and genome-wide association studies. *Russian Journal of Genetics*, 56(8), 903–915.
- Shadrina, M., Bondarenko, E.A. y Slominsky, P.A. 2018. Genetics factors in major depression disease. *Frontiers in Psychiatry*, 9: 334.
- Sullivan, P.F., Daly, M.J., Ripke, S., Lewis, C.M. *et al.* 2013. A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, 18(4): 497–511.
- Sullivan, P.F., Neale, M.C. y Kendler, K.S. 2000. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American Journal of Psychiatry*, 157: 1552–1562. doi:10.1176/appi.ajp.157.10.1552
- Ting, E. Y.C., Yang, A.C. y Tsai, S.J. 2020. Role of interleukin-6 in depressive disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6): 2194.
- Tozzi, L., Carballo, A., Wetterling, F., McCarthy, H. *et al.* 2016. Single-nucleotide polymorphism of the FKBP5 gene and childhood maltreatment as predictors of structural changes in brain areas involved in emotional processing in depression. *Neuropsychopharmacology*, 41(2): 487–497.
- Yang, T., Nie, Z., Shu, H., Kuang, Y. *et al.* 2020. The role of BDNF on neural plasticity in depression. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14: 82.
- Yohn, C.N., Gergues, M.M. y Samuels, B.A. 2017. The role of 5-HT receptors in depression. *Molecular Brain*, 10(1): 1–12.
- Yuan, Z., Chen, Z., Xue, M., Zhang, J. y Leng, L. 2020. Application of antidepressants in depression: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Neuroscience*, 80, 169–181.
- Zięba, A., Matosiuk, D. y Kaczor, A.A. 2023. The role of genetics in the development and pharmacotherapy of depression and its impact on drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3): 2946.

## Estudio bibliométrico de la presencia de plomo en el medio ambiente

Adrián Castrillo Blanco<sup>1</sup>, Fernando José Pereira García<sup>2</sup> y María Iluminada Muñoz Lucas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduado en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales. Universidad de León. Email: [acastbo2@estudiantes.unileon.es](mailto:acastbo2@estudiantes.unileon.es)

<sup>2</sup> Área de Química Analítica. Departamento de Física y Química Aplicadas. Universidad de León. Email: [fjperg@unileon.es](mailto:fjperg@unileon.es), [mimunl@unileon.es](mailto:mimunl@unileon.es)

### Resumen

El plomo es un metal pesado altamente tóxico que puede producir gran cantidad de efectos adversos sobre la salud humana y el medio ambiente, dependiendo de la concentración en la que se encuentre. Los objetivos de este trabajo son: realizar estudios bibliométricos referidos a compartimentos ambientales en los que se encuentra el plomo, fuentes antropogénicas de emisión, métodos de análisis y determinación y métodos de eliminación, y determinar cuál es la base de datos que aporta un mayor número de publicaciones a los estudios realizados. Los compartimentos ambientales en los que se ha estudiado mayormente el plomo son el agua y el suelo; la fuente de emisión antropogénica más común es la minería; el método de análisis y determinación más estudiado la Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) y el método de eliminación más empleado es el de adsorción. Se observó que la plataforma WOS aporta un mayor número de publicaciones que Scopus en los estudios realizados.

### Palabras clave

Adsorción, agua, ICP-MS, minería, plomo, suelo

### 1. Introducción

El aumento generalizado de actividades como el tráfico, la extracción de recursos, las emisiones industriales o la agricultura intensiva (Rózański *et al.*, 2017) ha provocado un ascenso en la generación de sustancias tóxicas y contaminantes como, por ejemplo, metales pesados que causan graves problemas tanto a la salud humana como al medio ambiente (Zhang *et al.*, 2020).

La problemática y peligrosidad de los metales pesados se debe a que no pueden ser eliminados tanto de forma biológica como de forma química. Además, se bioacumulan y biomagnifican en los seres vivos aumentando sus concentraciones según se asciende en la cadena trófica (Zheng *et al.*, 2023). El plomo (Pb), forma parte de la lista de metales pesados tóxicos que pueden causar graves daños tanto a la salud humana como al medio ambiente, incluso a pequeñas concentra-

ciones. Esto indica la importancia de monitorizar y controlar estos contaminantes en alimentos o en diferentes matrices ambientales.

Para la Organización Mundial de la Salud, el plomo es una de las diez sustancias químicas más peligrosas para el ser humano, lo que requiere un control y seguimiento con el objetivo de proteger la salud, principalmente de trabajadores, niños y mujeres en edad reproductiva (Organización Mundial de la Salud, 2021).

El plomo es un metal que puede ser liberado al medio ambiente tanto por fuentes naturales como antropogénicas (Men *et al.*, 2018). Algunas de las fuentes de emisión antropogénicas de plomo más comunes son la minería, los gases de combustión de los automóviles, la fontanería de plomo y las industrias de pintura (Needleman, 2004).

## 2. Objetivos

El objetivo general del trabajo ha consistido en evaluar bibliométricamente el estado de la cuestión del plomo desde el punto de vista ambiental. Para ello, se ha determinado cuál es la plataforma de búsqueda de artículos científicos que aporta un mayor número de publicaciones para los estudios llevados a cabo, se ha estudiado en qué compartimentos ambientales se encuentra principalmente el plomo y cuáles son sus fuentes antropogénicas y se han analizado cuáles son las técnicas analíticas de determinación de plomo y los métodos más utilizados para eliminar este metal del medio ambiente.

## 3. Metodología

Se llevaron a cabo estudios bibliométricos a partir de los cuales se recopiló información referida al número de artículos científicos que versan acerca del plomo, de las matrices ambientales en las que se encuentra, de las fuentes de emisión más relevantes, de las técnicas de eliminación más empleadas y de los métodos de análisis y determinación más utilizados.

El método de búsqueda consistió en efectuar rastreos en buscadores bibliográficos de *Internet*, en inglés, utilizando varios operadores *booleanos* para maximizar la pertinencia de los resultados. El primero de ellos, AND, se utiliza para realizar búsquedas que incluyen los dos términos adyacentes al operador. El segundo, OR, se emplea para búsquedas que incluyen uno u otro término adyacente o ambos a la vez. El tercer y último operador, NOT, permite descartar términos concretos. Además de dichos operadores, también se utilizaron paréntesis para agrupar términos considerados sinónimos, comillas para búsquedas literales y asteriscos para búsquedas de términos que contuvieran la misma raíz.

Para aumentar la pertinencia en los resultados, se acotó la búsqueda a artículos científicos, de revisión y capítulos de libro publicados entre 2012 y 2022, exceptuando la búsqueda de publicaciones referidas a las fuentes de emisión de plomo más comunes, en los que el intervalo de tiempo se amplió hasta el año 2000.

Los estudios bibliométricos se llevaron a cabo utilizando los buscadores Scopus y Web Of Science (en adelante, WOS).

Para que las búsquedas fuesen lo más pertinentes posibles, los campos seleccionados fueron “título + resumen + palabras clave” en el caso de Scopus y “tema” en el caso de WOS. El buscador WOS no permite buscar artículos según el campo “título + resumen + palabras clave”, por lo que las búsquedas se realizaron utilizando el campo “tema”, que es el que se asemeja en mayor medida, puesto que, además de buscar en título, resumen y palabras clave, también lo hace en “*Keywords Plus*”, una patente de WOS.

### Estudios preliminares

Inicialmente, se comparó el número de artículos que contienen la palabra “*lead*” en el campo “título” entre las plataformas de búsqueda Scopus y WOS para el intervalo de tiempo seleccionado (desde 2012 hasta 2022). Adicionalmente, en este mismo campo, se estudió la presencia de los términos “*lead AND Pb*” y, también, se efectuó esta misma búsqueda en los campos “título + resumen + palabras clave” en Scopus y “tema” en WOS.

### Estudio de compartimentos ambientales que contamina el plomo

Se determinó el número de publicaciones que estudian la presencia de plomo en aire, aguas y suelos buscando los compartimentos ambientales por separado y combinados.

### Estudio de fuentes antropogénicas de emisión de plomo

Se seleccionaron como fuentes de emisión de plomo las referidas a combustibles, minería, pinturas y tuberías de conducción sanitaria.

### Estudio de técnicas de análisis y determinación de plomo

Como referencia, se consultó el documento de tesis doctoral de Muñoz Lucas (2012) para seleccionar las técnicas de análisis y determinación de plomo. Las técnicas seleccionadas fueron: Espectroscopía de Absorción Atómica de Llama (FAAS), Espectroscopía de Absorción Atómica Electrotérmica (ETAAS), Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS), Espectroscopía de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), técnicas electroanalíticas (Voltametrías), Fluorescencia de Rayos X (XRF), Microscopía Electrónica de Barrido con Energías Dispersivas de Rayos X (SEM/EDX), Espectrometría Raman y Espectrometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).

### Estudio de métodos de eliminación de plomo

Se tuvo como referencia el artículo de revisión publicado por Kumar *et al.* (2022). A partir de él, se seleccionaron los métodos de eliminación: coagula-

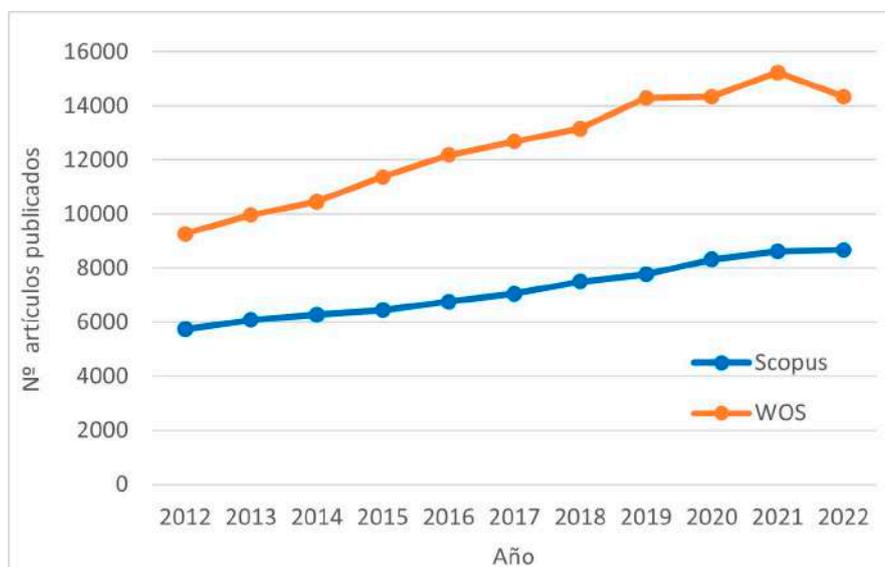
ción/floculación, técnicas electroquímicas. procesos fotocatalíticos, filtración por membrana, adsorción, biorremediación y precipitación.

#### 4. Resultados y discusión

##### Estudios preliminares

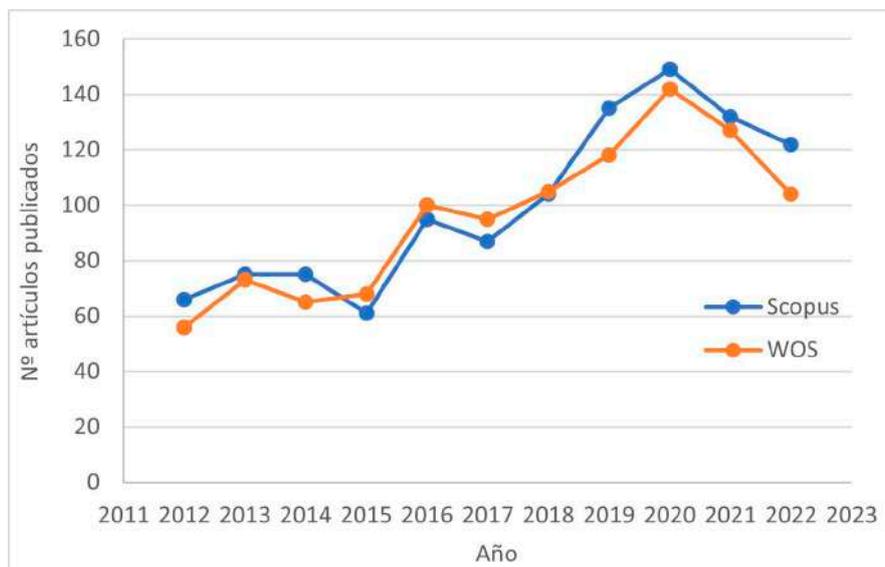
En primer lugar, se efectuó una búsqueda de publicaciones con el término “lead” en el campo “título”.

Como se aprecia en la **Figura 1**, la plataforma WOS aporta un mayor número de artículos que Scopus en todos los años de estudio. Además, para ambas plataformas, la tendencia en el número de publicaciones es ascendente, aunque a partir del año 2020 el ascenso parece moderarse.



**Figura 1.** Número de artículos publicados anualmente que incluyen el término “lead” en el campo “título” en Scopus y WOS.

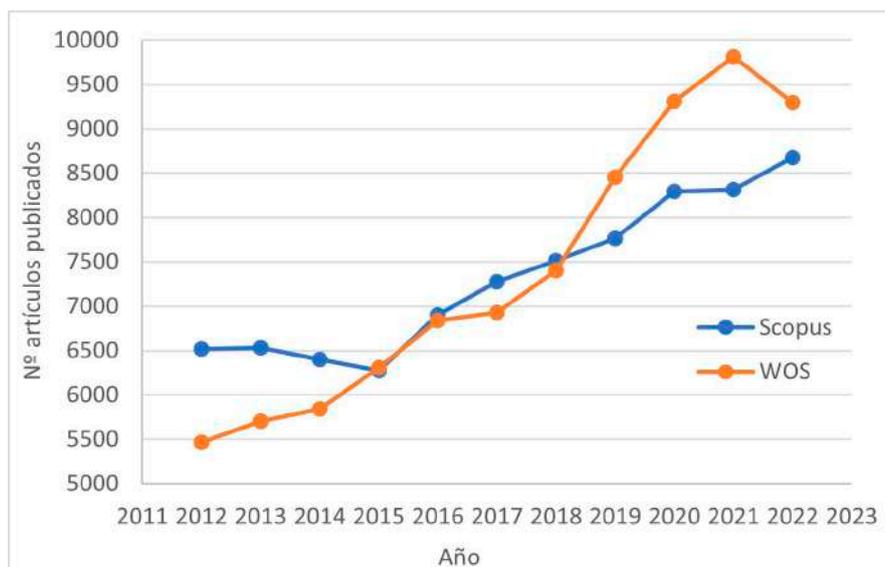
Analizando los resultados, se puso de manifiesto una sobreestimación exagerada de los mismos. Se determinó que esto era debido a otra acepción de “lead”, cuyo significado en inglés es “conducir, dirigir”, lo que provoca que una gran parte de los artículos seleccionados a través de la expresión de búsqueda elegida no hablen de plomo. Para corregir dicho error, se planteó modificar la expresión a “lead AND Pb” realizando la búsqueda en el campo “título”. A continuación, la **Figura 2** ilustra los resultados obtenidos mediante la nueva expresión.



**Figura 2.** Número de artículos publicados anualmente que incluyen los términos “lead AND Pb” en el campo “título” en Scopus y WOS.

Observando los resultados de la **Figura 2** se ve que el número de artículos publicados ha descendido drásticamente respecto a la búsqueda anterior. Esto podría deberse a la dificultad de encontrar artículos que presenten en su título tanto el término “lead” como su símbolo “Pb”. Por este motivo, se descartó la opción de rastrear los artículos buscando “lead AND Pb” en el campo “título”.

Como alternativa, se planteó emplear la expresión “lead AND Pb” introducida en el campo “título + resumen + palabras clave” para la plataforma Scopus y en el campo “tema” para la plataforma WOS. Los resultados de esta nueva búsqueda se recogen en la **Figura 3**.



**Figura 3.** Número de artículos publicados anualmente que incluyen los términos “lead AND Pb” en el campo “título + resumen + palabras clave” en Scopus y “tema” en WOS.

La **Figura 3** indica que la tendencia en el número de publicaciones anuales es ascendente en WOS hasta 2021, año en el que decrece. Para el caso de Scopus, durante los primeros años de estudio (2012-2015), la tendencia fue ligeramente descendente destacando el año 2014. En años posteriores, el número de publicaciones aumentó progresivamente.

Cabe destacar que, hasta 2015, la plataforma que arrojaba mayor número de resultados fue Scopus y, a partir de 2018, esta situación se invierte.

#### Estudios de compartimentos ambientales que contamina el plomo

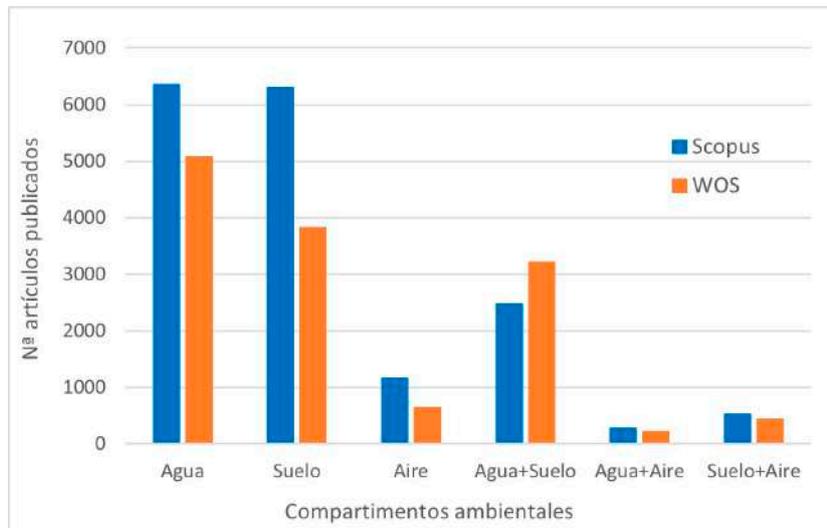


**Figura 4.** Diagrama de sectores de las publicaciones rastreadas por (A) Scopus y (B) WOS, referidas a los diferentes compartimentos ambientales en los que está presente el plomo.

Observando la **Figura 4A**, un gran porcentaje de las publicaciones están dirigidas a la presencia de plomo, tanto en agua (36,7 %) como en suelo (36,4 %) de manera individual. Además, las publicaciones que tratan de la combinación de ambas es del 1 %.

Para WOS, los resultados difieren en cuanto a que el mayor número de publicaciones se centran en la presencia de plomo en las tres matrices ambientales (agua + suelo + aire), representando un 61,7 %. Este porcentaje tan elevado podría deberse al funcionamiento interno de WOS: en el campo “tema”, WOS incluye título, resumen, palabras clave y una patente conocida como “*KeyWords Plus*”. Consecuentemente, el número de publicaciones encontradas no será representativo para esta expresión en concreto.

Una vez analizados los resultados obtenidos para los dos buscadores, se procedió a realizar una comparación entre ambos, descartando la búsqueda en agua + suelo + aire (**Fig. 5**).



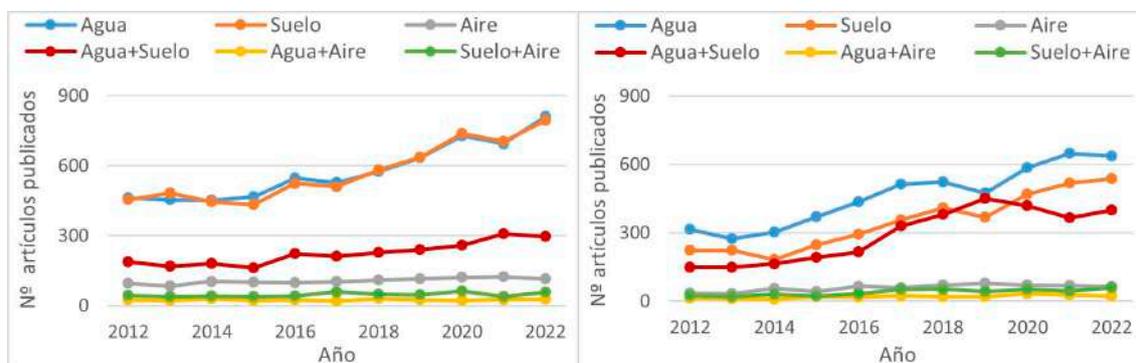
**Figura 5.** Comparación entre el número total de artículos, publicados en el intervalo de tiempo estudiado, proporcionados por Scopus y WOS, referidos a los distintos compartimentos ambientales en los que está presente el plomo.

Se observa que Scopus aporta un mayor número de publicaciones que WOS para todas las matrices ambientales estudiadas, tanto de forma individual como combinadas, exceptuando la opción agua + suelo.

Los resultados ponen de manifiesto que tanto el agua como el suelo constituyen los dos compartimentos ambientales que más relevancia tienen. Esto es debido a que las especies predominantes de plomo se presentan solubilizadas o precipitadas en forma de minerales (Li *et al.*, 2014; Islam *et al.*, 2015).

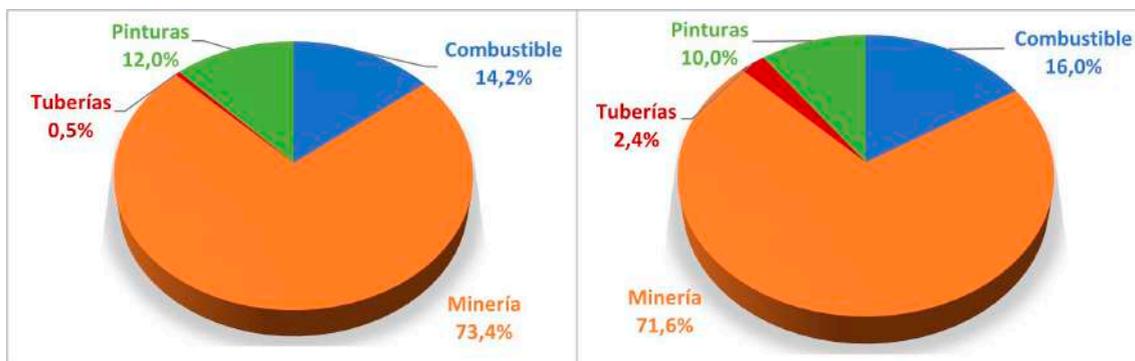
Para finalizar este estudio, se analizó el número de artículos publicados anualmente en cada matriz ambiental y sus respectivas combinaciones, retirando agua + suelo + aire. Los resultados se recogen en la **Figura 6**.

Como se observa en ambas gráficas, el número de publicaciones aumenta en el intervalo de tiempo estudiado, excepto para el caso de WOS en el año 2019, en el que el número de estudios relativos al plomo en la combinación (agua + suelo) disminuye.



**Figura 6.** Número de artículos publicados anualmente para las diferentes matrices ambientales en las que se encuentra el plomo en (A) Scopus y (B) WOS.

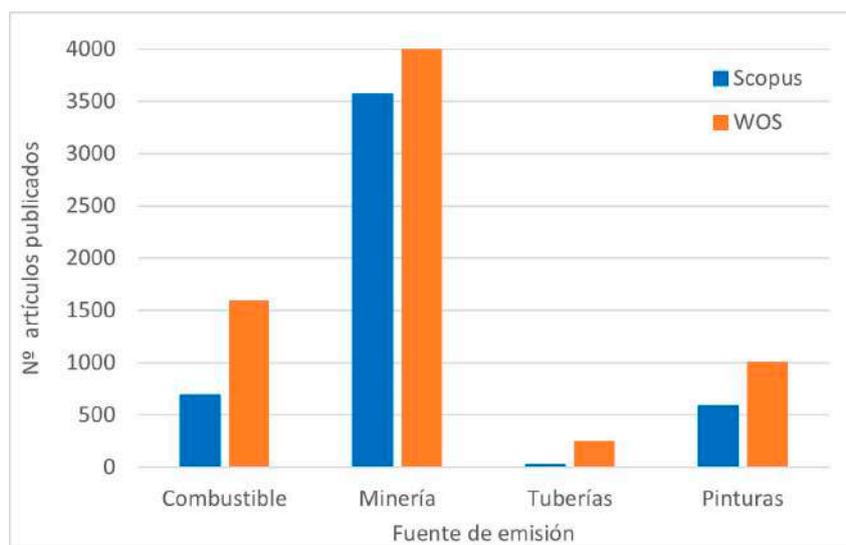
Estudio de fuentes antropogénicas de emisión de plomo



**Figura 7.** Diagrama de sectores de las publicaciones rastreadas por (A) Scopus y (B) WOS, referidas a las principales fuentes antropogénicas de emisión de plomo.

Como se observa en la **Figura 7**, la mayor parte de los artículos referidos a las fuentes antropogénicas de plomo se centra en la minería, citada en el 73,4 % de los artículos totales en el caso de Scopus y en el 71,6 % en WOS. Esto puede deberse a que la extracción de minerales de plomo es una actividad tradicional que en la actualidad se sigue practicando. Además de por esta razón, el gran número de publicaciones que ocupa la minería puede deberse a la gran superficie que abarcan estas explotaciones en relación a las otras fuentes tratadas, las cuales se encuentran alrededor de zonas urbanas principalmente (Zhuang *et al.*, 2009; Acosta *et al.*, 2011).

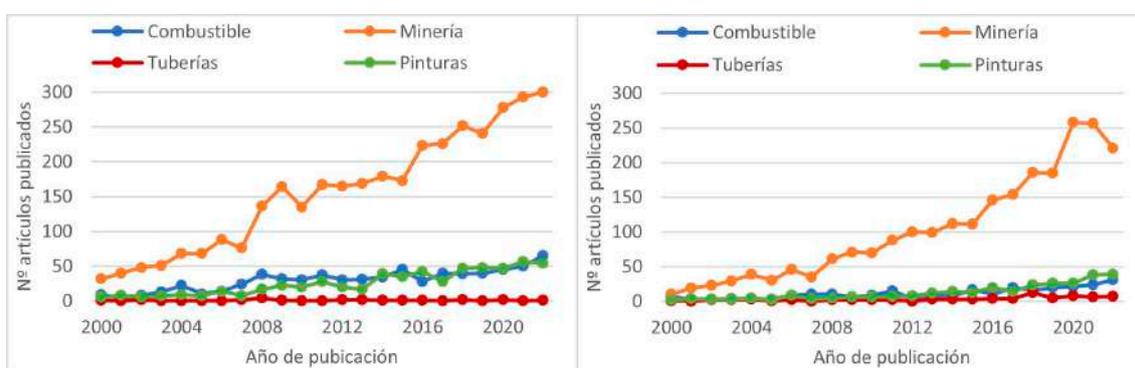
A continuación, se realizó una comparación entre motores de búsqueda en cuanto al número de artículos publicados para cada fuente antropogénica de emisión (**Fig. 8**).



**Figura 8.** Comparación entre el número total de artículos, publicados en el intervalo de tiempo estudiado, proporcionados por Scopus y WOS, referidos a las distintas fuentes antropogénicas de emisión de plomo.

Como se observa en la **Figura 8**, la plataforma WOS aporta un mayor número de artículos para todas las fuentes contaminantes estudiadas.

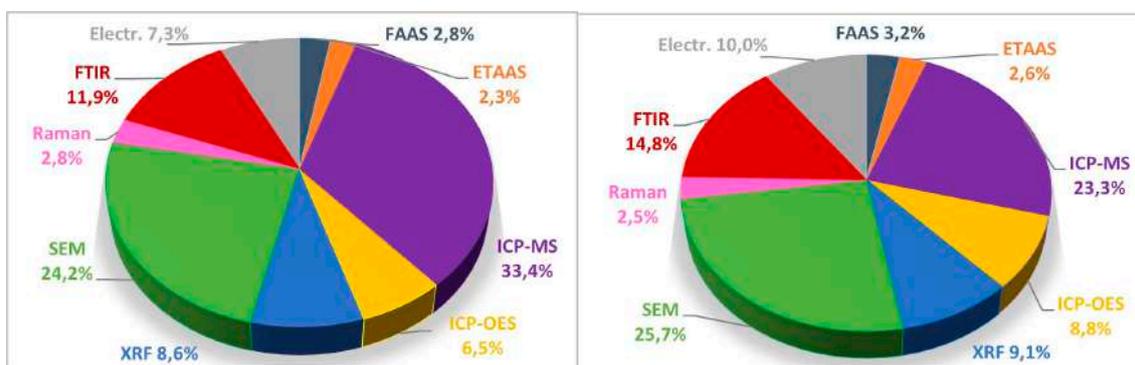
Finalmente, se evaluó el número de artículos publicados anualmente para cada fuente antropogénica de emisión y base de datos (**Fig. 9**). Como se pone de manifiesto en esta figura, tanto en Scopus como en WOS existe una tendencia ascendente en el número de artículos publicados relativos a la minería, a los combustibles y a las pinturas como fuentes de plomo. En cuanto a las tuberías de conducción sanitarias, el número de estudios se ha mantenido estable en el periodo de tiempo evaluado. El aumento del número de publicaciones para el caso de la minería es mayor al del resto de fuentes de emisión, especialmente en el intervalo entre 2007 y 2009 para Scopus y en el año 2020 para WOS.



**Figura 9.** Número de artículos publicados anualmente para las diferentes fuentes de emisión en (A) Scopus y (B) WOS.

### Estudio de técnicas de análisis y determinación de plomo

Los resultados obtenidos para ambos buscadores se recogen en la **Figura 10**.



**Figura 10.** Diagrama de sectores de las publicaciones rastreadas por (A) Scopus y (B) WOS, referidas a las principales técnicas de análisis y determinación de plomo.

Como se observa en la **Figura 10**, tanto los artículos rastreados por Scopus como por WOS presentan una distribución similar en cuanto a técnicas analíticas de determinación de plomo. Así, el ICP-MS constituye la técnica más empleada a la hora de analizar este metal (33,4 % y 23,3 % en Scopus y WOS, res-

pectivamente). Los resultados muestran que el SEM/EDX es la siguiente técnica más utilizada (24,2 % y 25,7 %), seguida de FTIR (11,9 y 14,8 %).

Las siguientes técnicas analíticas más citadas son XRF (8,6 % en Scopus y 9,1 % en WOS), las técnicas electroanalíticas (7,3 % y 10,0 %) e ICP-OES (6,5 % y 8,8 %).

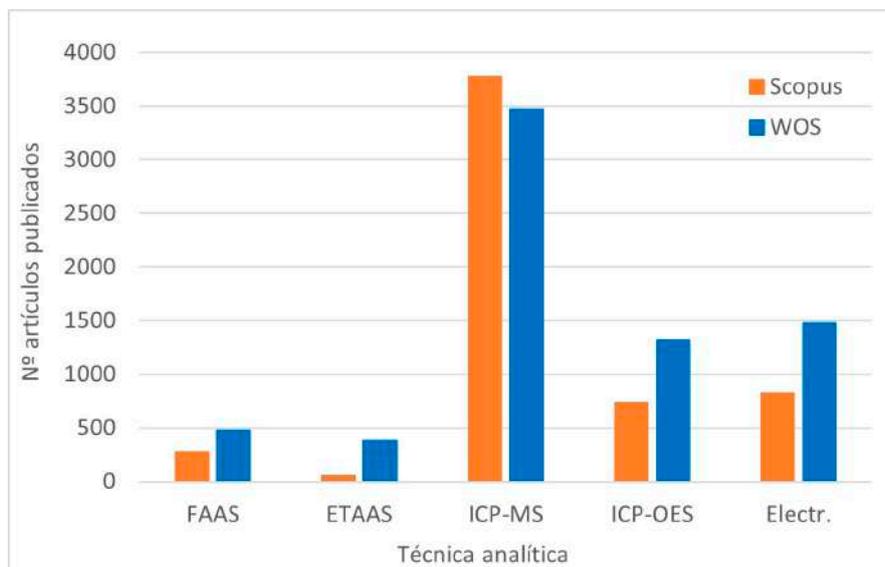
Las técnicas espectrométricas de masas (ICP-MS) son, actualmente, las más empleadas (Tokalioğlu, 2012). Esto es así puesto que se trata de la técnica más sensible y que permite identificar un elevado número de analitos de manera simultánea y con una menor interferencia espectral (Tokalioğlu, 2012; Khan *et al.*, 2014; Trzcinka-Ochocka *et al.*, 2016).

Las técnicas electroanalíticas, especialmente las voltametrías, son de gran interés para la determinación a niveles traza tanto de cationes metálicos, especialmente metales pesados, como de compuestos orgánicos (Pereira *et al.*, 2016). Esta elevada sensibilidad, unida a que se trata de técnicas que se efectúan con el mismo equipamiento (potenciostato/galvanostato), que es muy versátil y económico, hacen que se desarrollen muchos métodos analíticos de metales pesados en concentraciones traza en muchos laboratorios de investigación.

Por su parte, el empleo del ICP-OES para cuantificar plomo es similar que las técnicas electroanalíticas. Esto se debe, además de a su sensibilidad, a que es una técnica de emisión atómica multielemento, es decir, permite analizar, de manera simultánea, varios analitos presentes en la misma muestra (Sereshti *et al.*, 2012).

Por otra parte, es importante señalar que ciertas técnicas analíticas estudiadas en este TFG, como son SEM/EDX, Espectrometrías Raman y FTIR y XRF, se emplean principalmente para caracterizar materiales, puesto que el análisis cuantitativo con ellas es problemático (bajas sensibilidades, métodos semicuantitativos, etc.) (Abadllah *et al.*, 2020).

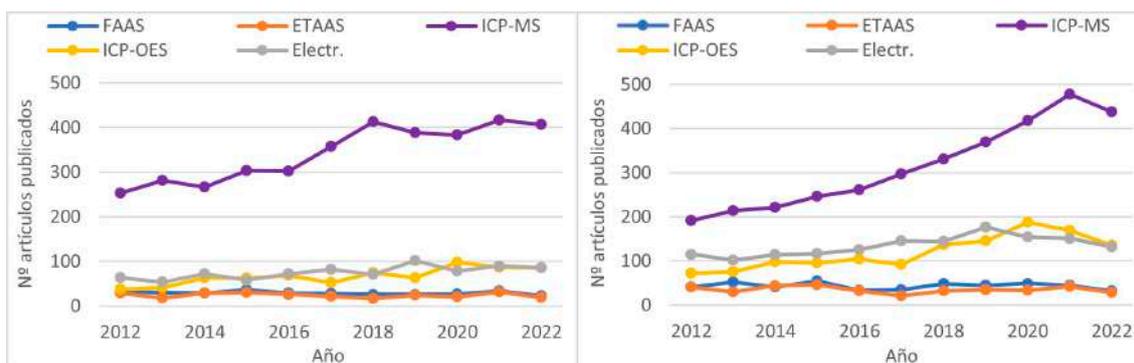
A continuación, se comparó el número de publicaciones referidas a las distintas técnicas de análisis y determinación de plomo en Scopus y WOS, retirando los resultados relativos a las técnicas de caracterización (**Fig. 11**). La **Figura 11** permite comprobar que, para todas las técnicas analíticas, excepto ICP-MS, el número de publicaciones rastreadas es mayor en el buscador WOS.



**Figura 11.** Comparación entre el número total de artículos, publicados en el intervalo de tiempo estudiado, proporcionados por Scopus y WOS, referidos a las distintas técnicas de análisis y determinación de plomo.

Finalmente, se llevó a cabo un estudio (**Fig. 12**) con el objetivo de analizar el número de artículos publicados anualmente para cada técnica analítica. Se han retirado las técnicas de caracterización mencionadas anteriormente.

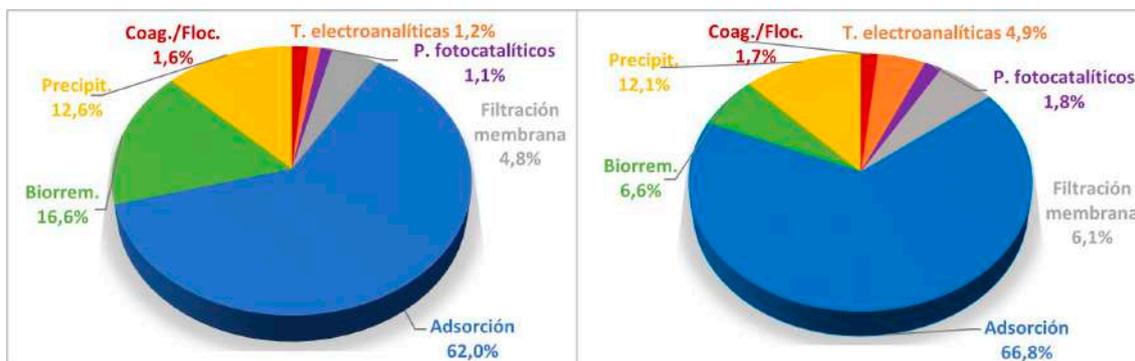
De esta figura se deduce que, para la mayoría de las técnicas analíticas, el número de publicaciones en ambas plataformas se ha mantenido estable o ha crecido ligeramente. Sin embargo, para la técnica de ICP-MS, la tendencia es diferente, puesto que se aprecia un claro crecimiento en el intervalo de tiempo estudiado.



**Figura 12.** Número de artículos publicados anualmente para las diferentes técnicas de análisis y determinación de plomo en (A) Scopus, y (B) WOS.

### Estudio de métodos de eliminación de plomo

Se escogieron como métodos de eliminación de plomo la coagulación/floculación, las técnicas electroanalíticas, los procesos fotocatalíticos, la filtración por membrana, la adsorción, la biorremediación y la precipitación (**Fig. 13**).

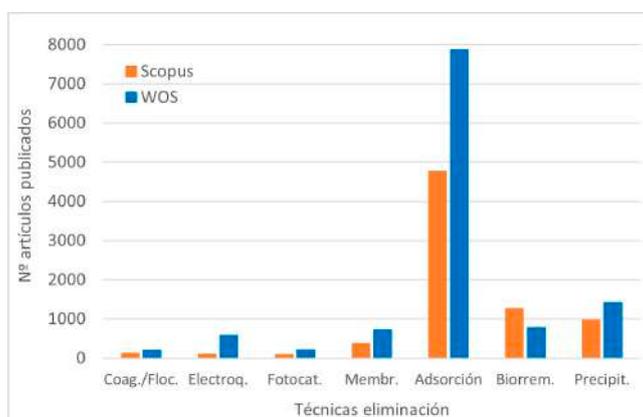


**Figura 13.** Diagrama de sectores de las publicaciones rastreadas por (A) Scopus, y (B) WOS, referidas a los principales métodos de eliminación de plomo.

Como se ilustra en estos diagramas de sectores, el método de eliminación de plomo más estudiado en los últimos diez años es la adsorción (62,0 % en Scopus y el 66,8 % en WOS). Esto se debe a que los materiales adsorbentes se caracterizan por poseer una alta porosidad, lo que se traduce en una elevada área superficial: consecuentemente, expone más superficie a la disolución y dispone de más sitios de unión al contaminante, favoreciendo la efectividad de su eliminación (Tahoon *et al.*, 2020). Además de esto, es una técnica limpia, de diseño simple y de fácil operación (Velarde *et al.*, 2023).

A continuación, el método de precipitación es el más empleado para la plataforma WOS (12,1 %) mientras que en el caso de Scopus el segundo más citado es el de biorremediación (16,6 %). Desde el punto de vista medioambiental, la biorremediación es un proceso limpio, económico, sencillo y que demanda poca energía, que aprovecha la capacidad que tienen algunos seres vivos, principalmente hongos, bacterias y plantas, para movilizar o inmovilizar el plomo (Lovley y Coates, 1997) mientras que la precipitación química genera una mayor cantidad de residuos en forma de sales insolubles (Zeng *et al.*, 2017).

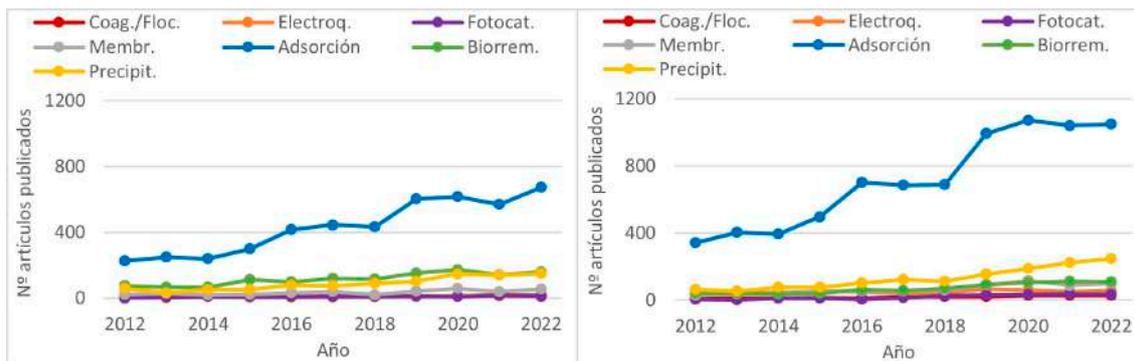
Seguidamente, se procedió a comparar el número de artículos publicados en cada buscador para los diferentes métodos de eliminación (**Fig. 14**).



**Figura 14.** Comparación entre el número total de artículos, publicados en el intervalo de tiempo estudiado, proporcionados por Scopus y WOS, referidos a los métodos de eliminación de plomo.

Observando la **Figura 14**, se constata que WOS aporta un número mayor de artículos que Scopus para todos los métodos estudiados, exceptuando para la biorremediación. En el caso del método de adsorción se percibe una gran diferencia de publicaciones entre WOS y Scopus.

Finalmente, en la **Figura 15** se analizó el número de publicaciones anuales para cada método de eliminación de plomo y para cada plataforma de búsqueda.



**Figura 15.** Número de artículos publicados anualmente para las diferentes técnicas de eliminación de plomo en (A) Scopus, y (B) WOS.

En la **Figura 15** se percibe, como en el resto de estudios, un ascenso en el número de artículos en el intervalo de tiempo. Dicho ascenso sigue el mismo patrón para todos los métodos, excepto para la adsorción, donde la curva de ascenso tiene mayor pendiente, aunque comienza a estabilizarse a partir del año 2019.

## 5. Conclusiones

- *Existe una tendencia ascendente en cuanto al número de artículos publicados a lo largo del intervalo de estudio, aunque a partir del año 2020 se detecta una mayor estabilidad.*
- *Se ha identificado que la plataforma WOS aporta un mayor número de publicaciones que la plataforma Scopus para todos los estudios llevados a cabo, exceptuando para la presencia de plomo en los diferentes compartimentos ambientales, donde ocurre lo contrario.*
- *La mayor parte de las publicaciones hablan de la contaminación de plomo en el agua, en el suelo y en ambos compartimentos combinados, principalmente. Por otra parte, la minería fue la fuente antropogénica de emisión de plomo más estudiada.*
- *El ICP-MS es la técnica de determinación de plomo más empleada. Asimismo, la técnica de adsorción es la más utilizada para su eliminación.*

## 6. Referencias

- Abadllah, B., Assfour, B., Kakhia, M. y Bumajdad, A. 2020. HRTEM, XPS and XRD characterization of ZnS/PbS nanorods prepared by thermal evaporation technique. *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*, 11(5): 537–545.
- Acosta, J.A., Faz, A., Martínez-Martínez, S., Zornoza, R., Carmona, D.M. y Kabas, S. 2011. Multivariate statistical and GIS-based approach to evaluate heavy metals behavior in mine sites for future reclamation. *Journal of Geochemical Exploration*, 109(1–3): 8–17.
- Islam, M.S., Ahmed, M.K., Raknuzzaman, M., Habibullah-Al-Mamun, M. y Islam, M.K. 2015. Heavy metal pollution in surface water and sediment: A preliminary assessment of an urban river in a developing country. *Ecological Indicators*, 48: 282–291.
- Khan, N., Jeong, I.S., Hwang, I.M., Kim, J.S., Choi, S.H., Nho, E.Y., Choi, J.Y., Park, K.S. y Kim, K.S. 2014. Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry*, 147: 220–224.
- Kumar, V., Dwivedi, S.K. y Oh, S. 2022. A critical review on lead removal from industrial wastewater: Recent advances and future outlook. *Journal of Water Process Engineering*, 45: 102518.
- Li, Z., Ma, Z., van der Kuijp, T.J., Yuan, Z. y Huang, L. 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment, *Science of the Total Environment*, 468–469: 843–853.
- Lovley, D.R. y Coates, J.D. 1997. Bioremediation of metal contamination. *Current Opinion in Biotechnology*, 8(3): 285–289.
- Men, C., Liu, R., Xu, F., Wang, Q., Guo, L. y Shen, Z. 2018. Pollution characteristics, risk assessment, and source apportionment of heavy metals in road dust in Beijing, China. *Science of the Total Environment*, 612: 138–147.
- Muñoz Lucas, M. 2012. *Caracterización y acondicionamiento de cenizas volantes para la eliminación de metales pesados en aguas contaminadas*. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Needleman, H. 2004. Lead poisoning. *Annual Review of Medicine*, 55: 209–222.
- Organización Mundial de la Salud. 2021. *Seguridad química: intoxicación por plomo*. Available at: <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/chemical-safety-lead-poisoning> (Accessed: May 19, 2023).
- Pereira, F.J., Vázquez, M.D., Debán, L. y Aller, A.J. 2016. Inorganic arsenic speciation by differential pulse anodic stripping voltammetry using thoria nanoparticles-carbon paste electrodes. *Talanta*, 152: 211–218.
- Rózański, S., Jaworska, H., Matuszczak, K., Nowak, J. y Hardy, A. 2017. Impact of highway traffic and the acoustic screen on the content and spatial distribution of

- heavy metals in soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(14): 12778–12786.
- Sereshti, H., Entezari Heravi, Y. y Samadi, S. 2012. Optimized ultrasound-assisted emulsification microextraction for simultaneous trace multielement determination of heavy metals in real water samples by ICP-OES. *Talanta*, 97: 235–241.
- Tahoon, M., Siddeeg, S.M., Alsaiani, N.S., Mnif, W. y Rebah, F.B. 2020. Effective heavy metals removal from water using nanomaterials: A review. *Processes*, 8(6): 1–24.
- Tokalioglu, Ş. 2012. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. *Food Chemistry*, 134(4): 2504–2508.
- Trzcinka-Ochocka, M., Brodzka, R. y Janasik, B. 2016. Useful and fast method for blood lead and cadmium determination using ICP-MS and GF-AAS; validation parameters. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 30(2): 130–139.
- Velarde, L., Nabavi, M.S., Escalera, E., Antti, M.L. y Akhtar, F. 2023. Adsorption of heavy metals on natural zeolites: A review. *Chemosphere*, 328: 138508.
- Zeng, G., Wan, J., Huang, D., Hu, L. *et al.* 2017. Precipitation, adsorption and rhizosphere effect: The mechanisms for Phosphate-induced Pb immobilization in soils—A review. *Journal of Hazardous Materials*, 339: 354–367.
- Zhang, J., Yang, R., Li, Y.C., Peng, Y., Wen, X. y Ni, X. 2020. Distribution, accumulation, and potential risks of heavy metals in soil and tea leaves from geologically different plantations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195: 110475.
- Zheng, K., Zeng, Z., Tian, Q., Huang, J., Zhong, Q. y Huo, X. 2023. Epidemiological evidence for the effect of environmental heavy metal exposure on the immune system in children. *Science of the Total Environment*, 868: 161691.
- Zhuang, P., McBride, M.B., Xia, H., Li, N. y Li, Z. 2009. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the Total Environment*, 407(5): 1551–1561.



## Aplicaciones de las celdas de combustible microbiano

Marcos Vega González

Graduado en Biología. [mvegago3@estudiantes.unileon.es](mailto:mvegago3@estudiantes.unileon.es)

### Introducción

Uno de los mayores problemas al que nos enfrentamos en la actualidad es la contaminación medioambiental provocada principalmente por la actividad humana, incluyendo sus actividades industriales, el transporte y las prácticas de eliminación de desechos. En respuesta a este problema, está creciendo el interés por encontrar fuentes de energía renovables y combustibles biológicos respetuosos con el medio ambiente que puedan suplir las necesidades globales. Una solución prometedora es el uso de Celdas de Combustible Microbiano o “Microbial Fuel Cells” (MFC) y de bacterias electrogénicas. Se trata de una tecnología emergente y en constante evolución cuyo uso ofrece una serie de ventajas sobre las fuentes de energía tradicionales.

Por un lado, son limpias, sostenibles y producen una cantidad mínima de emisiones contaminantes. También son escalables, con adecuación para su aplicabilidad en una variedad de entornos, desde hogares y empresas hasta macroestructuras como centrales eléctricas o plantas de tratamiento de aguas residuales. Por otro lado, todavía hay desafíos que abordar antes de que MFCs y bacterias electrogénicas puedan ser empleadas de manera amplia y sostenible para, de esta forma, competir con las fuentes de energía tradicionales.

### Celdas de combustible microbiano

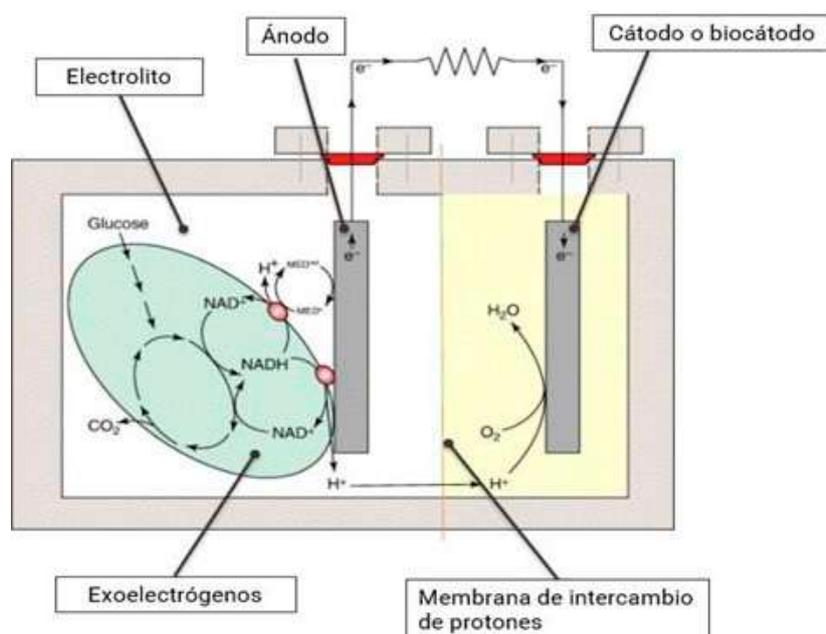
Una MFC es un dispositivo que genera energía eléctrica útil a partir de una conversión electroquímica que sufre un combustible biodegradable debido al metabolismo de las bacterias electrogénicas de la celda. Esto ocurre cuando, bajo unas condiciones concretas, principalmente dependientes del microorganismo, los electrones producidos durante la degradación de materia orgánica son transferidos a un electrodo denominado ánodo en lugar del aceptor natural.

Los componentes de una MFC incluyen (Lee *et al.*, 2017 y Kim *et al.*, 2018) (**Figura 1**):

- **Ánodo:** *El ánodo es el electrodo donde residen los microorganismos y donde tiene lugar la oxidación de la materia orgánica. El ánodo generalmente se constituye a base de carbono y sirve como sitio para la adhesión microbiana y la transferencia de electrones.*
- **Cátodo:** *El cátodo es el electrodo donde se produce la reducción de oxígeno. Llegan los electrones que fluyen del ánodo creando una corriente eléctrica. El cátodo suele estar fabricado a partir de un material con-*

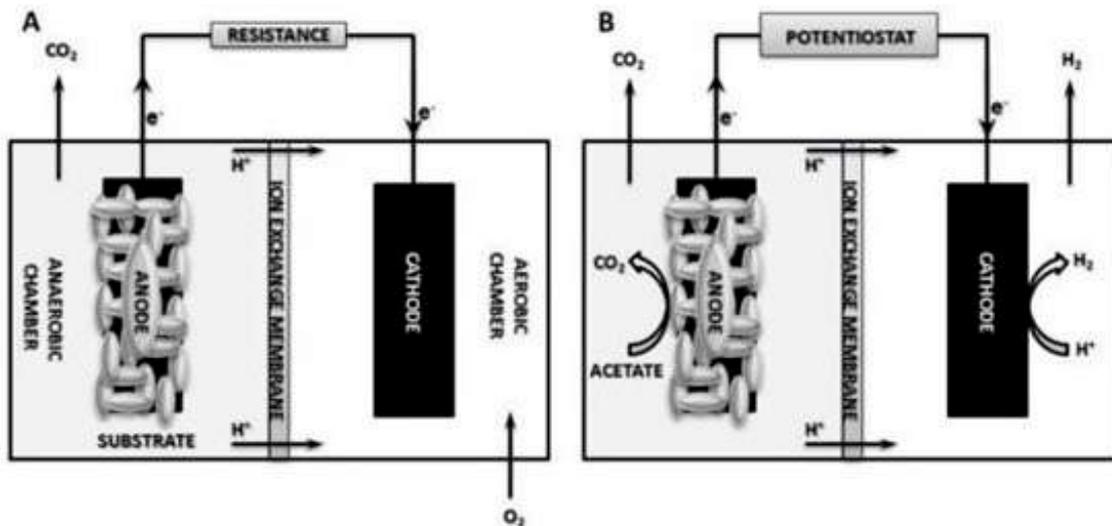
ductor como platino o carbono, aunque también es posible que en él actúen microorganismos aceptores de electrones, en este caso se denominan biocátodos.

- **Membrana:** La membrana separa los compartimentos del ánodo y el cátodo y evita la mezcla directa del anolito y el catolito. Por lo general, está hecho de una membrana de intercambio de protones que permite que solo pasen los protones. La membrana puede no estar presente si se construye un reactor de una única cámara.
- **Electrolito:** El electrolito es un líquido que actúa como medio de transferencia de iones entre el ánodo y el cátodo. También ayuda a mantener un pH neutro en la MFC.
- **Microorganismos:** Los microorganismos en una MFC pueden incluir bacterias, levaduras o algas. Son los encargados de oxidar la materia orgánica y generar electrones, que luego son transferidos al ánodo.



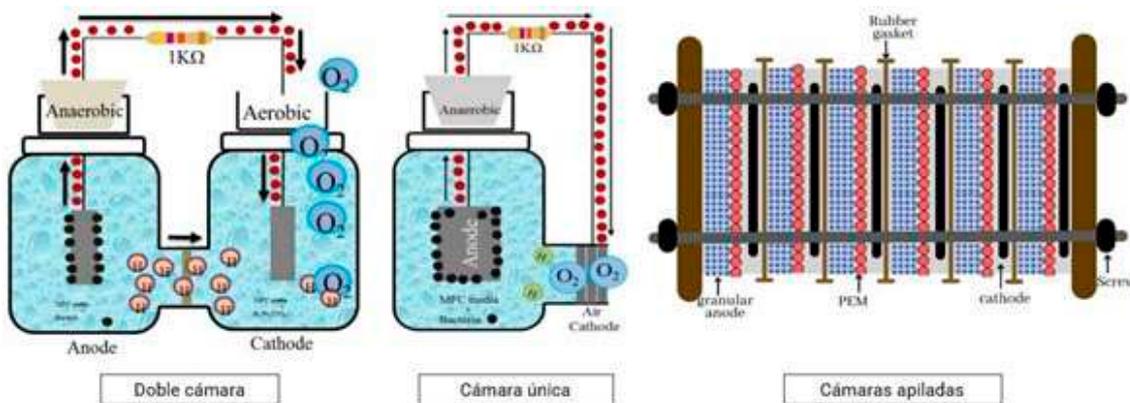
**Figura 1.** Representación general de la estructura y componentes de las MFC (imagen derivada de Kumar *et al.*, 2015).

Las MFCs junto con las MECs (Microbial Electrolisis Cells, celdas de electrolisis microbianas) constituyen los sistemas bioelectroquímicos (**Figura 2**). La diferencia entre ambas es que las MFCs generan un excedente de energía que se puede utilizar para otro fin y las MECs necesitan un aporte externo de energía, dado que la MFC por si sola es incapaz de cumplir el propósito de esta. Realmente, las MECs son MFCs modificadas. Estos sistemas pueden ser combinados, es decir, se pueden usar MFCs como energía renovable con el fin de alimentar una MEC y cumplir los propósitos que la MFC en solitario es incapaz (Puig *et al.*, 2017).



**Figura 2.** Diagrama esquemático de los sistemas bioelectroquímicos típicos; **A:** celda de combustible microbiano. **B:** celda de electrolisis microbiana (Sobieszuk *et al.*, 2012).

Existe una gran variedad de tipos de MFCs que se diferencian en la disposición geométrica de sus componentes (**Figura 3**). Cada configuración tiene sus ventajas e inconvenientes, los cuales hay que tener en cuenta según la finalidad de estas.



**Figura 3.** Esquemas de los principales diseños de las celdas de combustible microbianas.

De la misma manera, también hay muchos factores que van a condicionar el funcionamiento y el rendimiento de la celda, como el material utilizado para construir los electrodos, pH, temperatura, salinidad, sustrato y la presencia o ausencia de oxígeno. El mayor condicionante es la comunidad microbiana, ya que alrededor de esta van a variar casi todas las condiciones anteriores.

### Bacterias electrogénicas y *biofilms*

Las bacterias electrogénicas son un grupo especial de microorganismos que son capaces de liberar de forma extracelular los electrones generados durante

el metabolismo a través de la membrana enviándolos a unos aceptores terminales. Esta transferencia es un paso esencial para realizar sus funciones vitales e incluso para interactuar con el entorno (Kotloski y Gralnick, 2013). Lo más interesante de esto es utilizar estas bacterias, no sólo para la generación de energía, sino también para la biorremediación o la limpieza de entornos mediante el uso de bacterias que utilicen los propios agentes contaminantes para la producción de energía (Lovley, 2006).

Podemos encontrar una enorme diversidad de microorganismos que participan en el proceso de generación de una corriente eléctrica. Diferenciamos las bacterias que liberan electrones, exoelectrógenas y aquellas que los aceptan, electrótrofas (Kumar *et al.*, 2016). Diversos análisis sobre *biofilms* en los electrodos de la MFC demuestran que no existe un microorganismo principal en las comunidades bacterianas que se generan en el ánodo. Si bien es cierto que no todos tienen la misma capacidad de generación de electricidad, los cultivos mixtos son más eficientes que los puros debido a las interacciones sinérgicas que ocurren entre ellos. Los cultivos puros son más usados en la investigación que en la práctica.

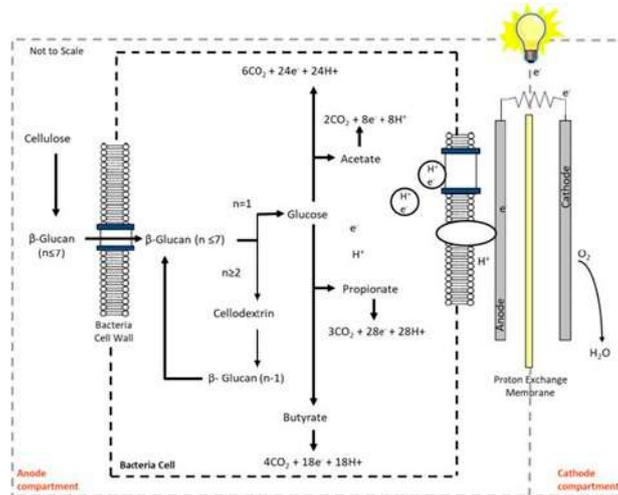
Los *biofilms* son comunidades de microorganismos que se adhieren entre sí mediante una matriz extracelular, moléculas de adhesión y pilis producidos por las bacterias como consecuencia del mecanismo de *quorum sensing*, un proceso de comunicación entre las bacterias mediante el aumento de concentraciones locales la molécula señal Acil-Homoserina-Lactona (AHL) en bacterias gram-negativas, y de oligopéptidos en gram-positivas (Dichschat *et al.*, 2010). Éstas activan la síntesis de segundos mensajeros intracelulares (como c-di-GMP en *P. aeruginosa*) que inician las vías de expresión para la formación de componentes de unión del *biofilm* conocidos como sustancias poliméricas extracelulares.

La formación de este *biofilm* electroactivo sobre el ánodo es fundamental para la funcionalidad de la MFC y la generación de electricidad de manera eficiente. Sin la colonización microbiana de los electrodos, no se generaría suficiente poder eléctrico para hacer funcionar la celda. Para ello, es importante la rápida formación de este *biofilm* permitiendo el funcionamiento temprano de la MFC, principalmente para optimizar la rentabilidad del proceso (Cui *et al.*, 2016). Para permitir la transferencia de electrones desde las capas externas del *biofilm*, las bacterias hacen uso de unas estructuras similares a los pili denominadas nanotubos (*nanowires*) que les permiten interactuar a distancia con otras bacterias o con el ánodo directamente.

Aun así, la formación de una película muy gruesa puede dificultar el rendimiento de trabajo debido a que la ruta de transferencia de electrones es más larga y, a su vez, se concentran más metabolitos secundarios en la biopelícula que pueden interferir en el proceso. Eso también conlleva la deposición de un exceso de sustancias poliméricas extracelulares adhesivas que tienen cierto efecto aislante, interfiriendo en la transferencia extracelular de electrones.

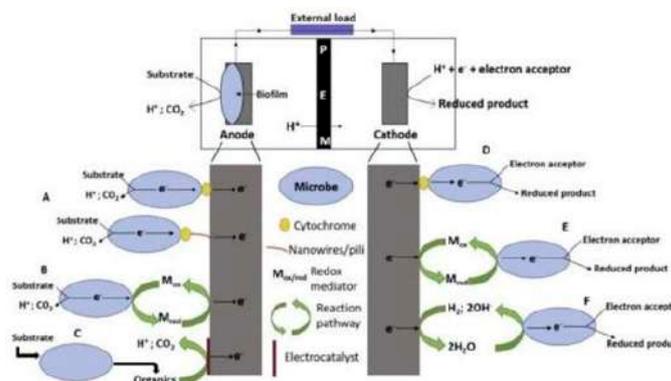
### Transferencia extracelular de electrones

La característica diferenciadora de los exoelectrógenos respecto al resto de microorganismos es la capacidad de liberar los electrones generados durante el metabolismo hacia el exterior de la célula (**Figura 4**).



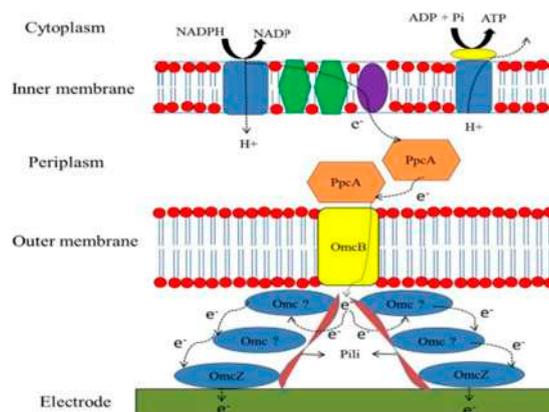
**Figura 4.** Mecanismo de liberación de electrones del sustrato por parte de los microorganismos y su transferencia al ánodo.

Los microorganismos extienden su circuito redox interno a través de la membrana celular. Los electrones pasan por las proteínas de la membrana para la descarga en el aceptor terminal de electrones, el ánodo, mientras que los protones salen de la cámara a través de una membrana. A este fenómeno se le conoce como transferencia extracelular de electrones (**Figura 5**). Las proteínas de membrana tienen que ser estructuras especiales que permitan la transferencia selectiva de electrones fuera de ella. Los mecanismos de transferencia de electrones son esencialmente los mismos para electrógenos y electrotrófos (Reguera, 2018).

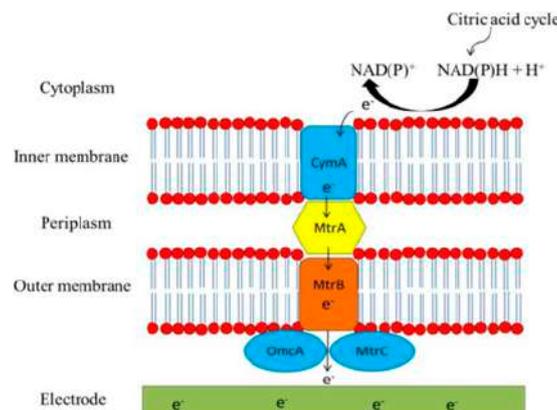


**Figura 5.** Diagrama esquemático que ilustra la transferencia electrónica extracelular en el ánodo y cátodo de una celda de combustible microbiana. **(A)** transferencia directa del microbio al ánodo; **(B)** transferencia electrónica desde el ánodo a través de mediador redox; **(C)** transferencia electrónica mediada vía metabolitos reducidos; **(D)** transferencia directa del microbio al cátodo; **(E)** transferencia indirecta desde el cátodo a través de un mediador redox; **(F)** transferencia electrónica del cátodo al microorganismo vía oxidación del hidrógeno (Aiyer, 2020).

Entre las bacterias electrogénicas se destacan aquellas pertenecientes a los géneros *Geobacter* y *Shewanella*, las cuales han sido históricamente más estudiadas debido a que al inicio del estudio de este tipo de microorganismos se pensaba que únicamente las bacterias reductoras del hierro eran activas en las MFCs. Podemos destacar dos especies modelo del proceso de transferencia extracelular de electrones, *Geobacter sulfurreducens* (Figura 6) y *Shewanella oneidensis* (Figura 7), en las cuales se han detallado los mecanismos de transferencia y las estructuras involucradas en ella. En ambos casos las bacterias poseen un tipo principal de paso de electrones, aunque pueden utilizar también otros mecanismos de forma secundaria y minoritaria.



**Figura 6.** Proteínas involucradas en la transferencia directa de electrones en *G. sulfurreducens*. El organismo posee diferentes citocromos-c para la transferencia, sin embargo, tan solo el papel de OmcB y OmcZ es aceptado actualmente. Las células con contacto directo con el electrodo utilizan los citocromos-c Om para la transferencia, mientras que las células distantes utilizan estos citocromos junto a los *pilis*. Los citocromos PpcA se encuentran en el espacio periplásmico y forman complejos para transportarlos a los citocromos de la membrana externa (Kumar *et al.*, 2016).



**Figura 7.** Transferencia de electrones mediada en *Shewanella oneidensis*. Los electrones se transfieren por la membrana interna (celular) a través de CymA y por la membrana externa mediante MtrA y MtrB. Finalmente, el complejo de citocromos-c Om (similar a la transferencia directa), a través de los mediadores de flavina, transfieren los electrones al electrodo (Kumar *et al.*, 2016).

## Aplicaciones

Durante los últimos años se han estudiado diversas aplicaciones de estos sistemas, entre las que predominan: la valoración y tratamiento de aguas residuales (donde no solo se eliminan los desechos orgánicos de estas aguas, sino que se puede aprovechar la energía eléctrica generada durante este proceso para producir energía); la biorremediación *in situ* de suelos, sedimentos o acuíferos contaminados; la desalinización de aguas o el uso como biosensores.

## Tratamiento y valoración de aguas residuales

Las MFCs son capaces de generar energía eléctrica directamente a partir de la degradación del material orgánico que se encuentra en las corrientes de agua residuales. Las *Submerged Microbial Fuel Cells* (SMFCs) consisten en un ánodo incrustado en un sedimento anaeróbico y un cátodo suspendido en una columna de agua aeróbica (Chen *et al.*, 2016). En este caso, el agua contaminada pasaría por el ánodo donde las bacterias degradan los carbohidratos, lípidos y proteínas oxidándolos y liberando los electrones. Estas celdas son especialmente eficaces en aguas residuales de la industria alimentaria que carga una alta cantidad de nutrientes aprovechables por las bacterias (**Figura 8**).

## Metales pesados

Las corrientes de aguas residuales que contienen metales pesados requieren un tratamiento adicional, ya que generalmente son contaminantes no biodegradables con un efecto tóxico para el medio ambiente y la salud humana. La aplicación de las MFCs puede combinar el tratamiento de aguas residuales con la recuperación de metales sin requerimientos energéticos adicionales (Huang *et al.*, 2013). Para eliminar estos metales en las MFCs, las aguas residuales se introducen en el lado del cátodo y estos compuestos se utilizan como aceptores finales de electrones, reduciéndolos a formas menos tóxicas. En el ánodo, se usa acetato comúnmente como fuente de carbono, el lodo como inóculo, y se adopta una formulación sintética para imitar las aguas residuales en el cátodo (Huang *et al.*, 2013; Ye *et al.*, 2019). Los metales pesados solo pueden convertirse en formas menos tóxicas mediante su reducción, o inmovilizarse para reducir su biodisponibilidad. Bajo la acción de un campo eléctrico, los iones metálicos con carga positiva migran del ánodo al cátodo donde son eliminados por precipitación o adsorción.

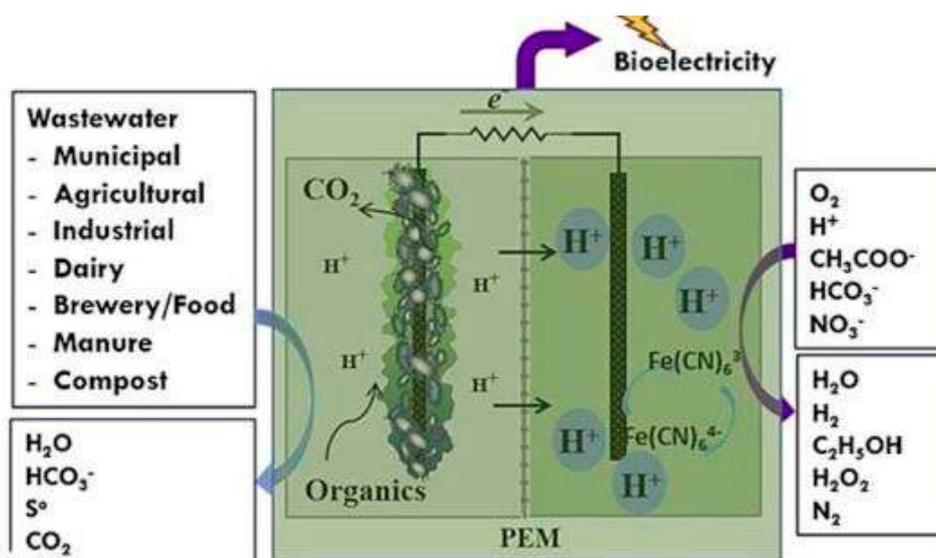
## Nitrógeno y fósforo

El nitrógeno y el fósforo en concentraciones altas pueden causar varios problemas ambientales (por ejemplo, eutrofización, alteración del crecimiento de las especies, deterioro de la calidad del agua), pero su uso en la agricultura es vital y las reservas de fósforo se están agotando. Por tanto, la gestión eficiente de los nutrientes en la depuración de aguas residuales consiste en su valorización.

La recuperación de nitrógeno y fósforo se puede realizar, simultáneamente, por precipitación química y extracción con aire/nitrógeno a un pH alcalino. La recuperación de nitrógeno (en forma de amoníaco) en las MFCs es posible debido a la migración de cationes (formados en la reacción de oxidación en el bioánodo), a través de una membrana de intercambio de protones, al cátodo, aumentando el pH catódico y favoreciendo el amoníaco recuperado. Posteriormente, se aplica la técnica de *stripping* para extraer y recuperar el amoníaco. Durante la operación de la MFC, en presencia de amonio y magnesio, se genera un precipitado con alto contenido de fósforo (en forma de estruvita) en la superficie del cátodo del electrodo y luego se elimina y se recupera sumergiendo los electrodos en soluciones de disolución (Ye *et al.*, 2019).

### Antibióticos

Debido a la hidrofilia y la estructura estable de los antibióticos, el proceso de tratamiento tradicional no puede eliminar eficazmente los antibióticos del agua. Sin embargo, se ha demostrado que los antibióticos biodegradables pueden ser eliminados en la MFC, por lo que se considera un método prometedor para degradar los contaminantes antibióticos. Funciona mejor principalmente debido a que los microorganismos están inmovilizados en un *biofilm*, pero hay un riesgo de que los antibióticos puedan dañarlo y detengan el funcionamiento del sistema. Existen tres mecanismos por los cuales se eliminan los antibióticos en las MFCs: antibióticos que actúan como aceptores de electrones o fuente de carbono en el ánodo, degradados en el cátodo por los microbios o reducidos por estos, y también eliminación por radicales libres producidos por las reacciones microorganismo- electrodo (Yanuka-Golub *et al.*, 2016).

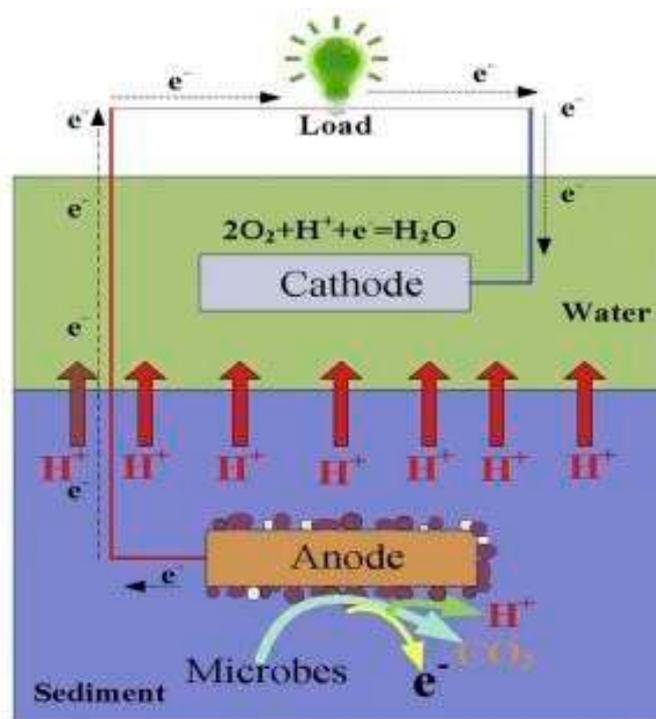


**Figura 8.** Celda de combustible microbiana para el tratamiento de aguas residuales con un cátodo químico: la cámara de ánodo se puede alimentar con varias fuentes de aguas residuales, mientras que la cámara de cátodo se puede utilizar para sintetizar productos químicos útiles o degradar contaminantes ambientales (Gude, 2016).

### Biorremediación

La tecnología MFC se ha estudiado para la biorremediación *in situ* de suelos contaminados, sedimentos, aguas subterráneas y recursos hídricos superficiales (**Figura 9**). Este es un proceso biológico realizado por una comunidad microbiana que existe naturalmente en el medio y que es capaz de degradar los contaminantes en otros menos dañinos (Borello *et al.*, 2020). Este proceso es conocido como bioelectrorremediación, y trae ventajas sobre las técnicas convencionales como la microrremediación, la fitorremediación y la biorremediación bacteriana tradicional, ya que permite la producción de energía (aunque menor que la que se puede producir por aguas residuales). Al igual que hemos comentado en el apartado anterior, en las MFCs se permiten reacciones de oxidación y reducción sobre los contaminantes que conducen a una eliminación completa de éstos (Borello *et al.*, 2020). Según Modin y Aulenta (2017), las MFCs pueden constituir un dispositivo eléctrico autosostenible para la biorremediación que funcione de manera continua y autónoma a partir de la energía que genera ella misma. Sin embargo, este proceso de biorremediación se encuentra limitado por la disponibilidad de electrones en el medio para mantener el metabolismo anaeróbico de los microorganismos (Rodrigo *et al.*, 2014).

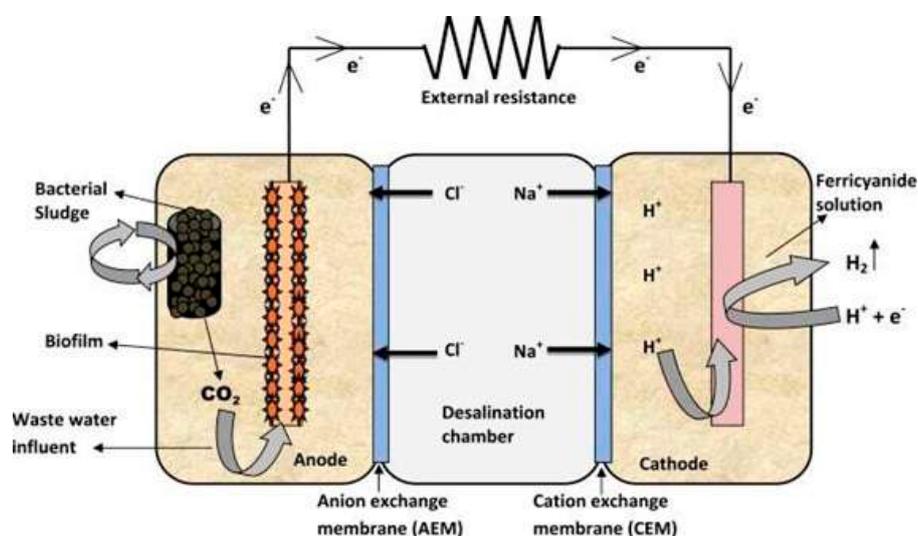
Las MFCs para la biorremediación pueden usarse combinadas con otras técnicas, como tratamientos biológicos o químicos tradicionales, o junto a las MECs.



**Figura 9.** Principio del funcionamiento de una celda de combustible microbiana (MFC) empleada en la biorremediación del sedimento de un acuífero (Prasad y Kumar, 2021).

## Desalinización

Con simples modificaciones en su estructura y funcionamiento las MFCs pueden desalinizar el agua aprovechando los gradientes que se generan de forma natural en las cámaras que favorecen la difusión de iones fuera de la cámara de desalinización, quedando en ella el agua potable. Estas celdas se conocen como celdas de desalinización microbiana (MDC). Estas MDCs desalinizan agua salobre para el consumo seguro y tratamiento de aguas residuales, al mismo tiempo que producen energía. Para construir esta celda se integra una cámara adicional en un diseño típico de la MFC entre las cámaras anódica y catódica. Las cámaras están separadas por una membrana de intercambio de aniones (AEM) y una membrana de intercambio de cationes (CEM) (Saeed *et al.*, 2015) (**Figura 10**).



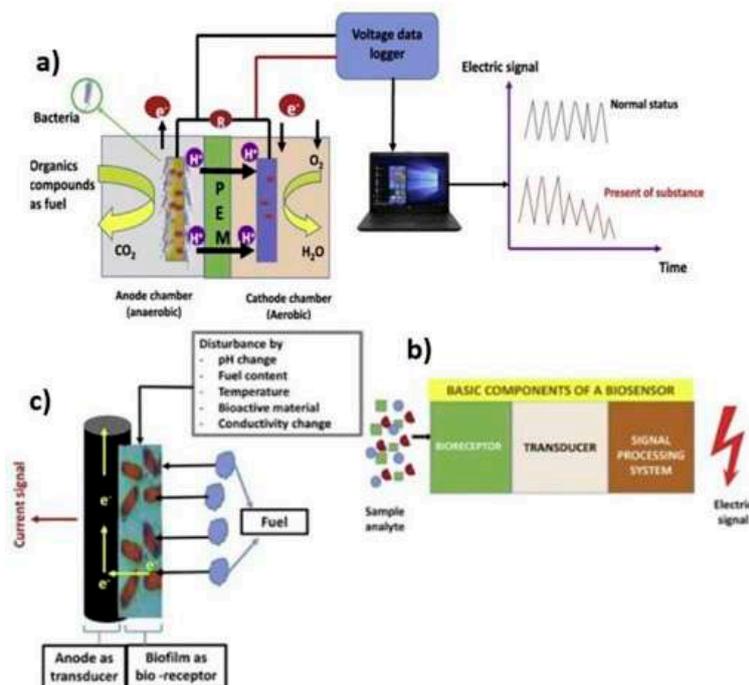
**Figura 10.** Celda de desalinización microbiana (MDC) con biocátodo (Saeed *et al.*, 2015).

## Biosensores

La capacidad de producir y mantener una corriente eléctrica como respuesta a un determinado comportamiento biológico es muy atractiva para la aplicación en sensores biológicos (**Figura 11**). Las bacterias actúan como los agentes de reconocimiento de un analito o cambios en las condiciones del ambiente; como consecuencia de estos cambios se produce un cambio en el potencial eléctrico de la celda, y esto es usado como señal que se transduce para ser procesada. Estos sistemas se conocen como biosensores potenciométricos. Estos biosensores han sido principalmente empleados como sensores de la calidad del aire y del agua, midiendo el pH, temperatura o también para identificar productos químicos específicos como 23 ácidos grasos volátiles o AGVs como acetato, propionato y butirato; además estos sensores biomonitorizan la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), y evalúan la concentración de tóxicos en el agua (Sun *et al.*, 2019).

Las principales ventajas de las MFCs como biosensores son el monitoreo en tiempo real, su actividad *in situ* continua, su largo tiempo de actividad

y su corto tiempo de producción, además de su portabilidad, pudiendo operar en áreas remotas y como sistemas autosustentables que funcionan durante largos periodos de tiempo. Sin embargo, ocasionalmente pueden presentar tiempos prolongados de aclimatación y recuperación, menor sensibilidad, poca reproducibilidad y muchas veces una poca selectividad, pero se espera superar estos problemas en un futuro cercano.



**Figura 11.** (a) Mecanismo básico de un biosensor basado en una celda de combustible microbiano; (b) componentes del biosensor; (c) principios básicos del biosensor (Hang *et al.*, 2020).

### Producción de H<sub>2</sub> y otros productos

Teniendo en cuenta las necesidades energéticas futuras y el agotamiento de los combustibles fósiles, el hidrógeno se señala como un combustible viable para una amplia variedad de aplicaciones, incluyendo su uso para la generación de electricidad. El hidrógeno se puede producir mediante varios enfoques. Sin embargo, la producción de hidrógeno mediante procesos biológicos, por ejemplo, a través de las MECs ha atraído mucha atención en los últimos años, ya que no consumen energía y son ecológicos (Sharma *et al.*, 2020).

Para la síntesis de hidrógeno y otros muchos productos, es necesario el uso de las MECs, dado que las MFCs no producen la suficiente energía para que las reacciones de obtención de los compuestos ocurran de manera espontánea. Esta MEC funciona como un electrolizador, que puede utilizar materia de desecho y necesita un pequeño aporte de energía inicial con el fin de sintetizar y liberar H<sub>2</sub> con un mayor potencial energético, si bien es cierto que una o varias MFCs po-

drían usarse para alimentar la MEC (Sharma *et al.*, 2020). Se puede utilizar también una MEC para potenciar y acelerar la síntesis de metano a partir de desechos gracias a la sinergia de bacterias acetogénicas y metanógenas hidrogenotróficas. También facilitan la obtención de ácido fórmico, peróxido de hidrógeno o incluso la separación y separación de productos como el amoníaco.

## Referencias

- Aiyer, K.S. 2020. How does electron transfer occur in microbial fuel cells? *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 36(2). doi:10.1007/s11274-020-2801-z.
- Borello, D., Gagliardi, G.G., Aimola, G., Ancona, V. *et al.* 2021. Use of microbial fuel cells for soil remediation: A preliminary study on DDE. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(16): 10131–10142.
- Chen, S., Tang, J., Fu, L., Yuan, Y. y Zhou, S. 2016. Biochar improves sediment microbial fuel cell performance in low conductivity freshwater sediment. *Journal of Soils and Sediments*, 16(9): 2326–2334.
- Cui, M., Cui, D., Gao, L., Cheng, H. y Wang, A. 2016. Analysis of electrode microbial communities in an up-flow bioelectrochemical system treating azo dye wastewater. *Electrochimica Acta*, 220: 252–257.
- Dickschat, J.S. 2010. Quorum sensing and bacterial biofilms. *Natural Product Reports*, 27(3): 343.
- Gude, V.G. 2016. Wastewater treatment in microbial fuel cells – an overview. *Journal of Cleaner Production*, 122: 287–307.
- Hang, M., Ngo, H.H., Guo, W., Chang, S.W. *et al.* 2020. Microbial fuel cell-based biosensor for online monitoring wastewater quality: a critical review. *Science of the Total Environment*, 712: 135612.
- Huang, L., Li, T., Liu, C., Quan, X. *et al.* 2013. Synergetic interactions improve cobalt leaching from lithium cobalt oxide in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 128: 539–546.
- Kim, Y., Lee, J., Lee, S., Kim, J. y Lee, H. 2018. Microbial fuel cells: A review of current progress and future prospects. *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(12): 5766–5786.
- Kotloski, N.J. y Gralnick, J.A. 2013. Flavin electron shuttles dominate extracellular electron transfer by *Shewanella oneidensis*. *mBio*, 15;4(1): e00553-12.
- Kumar, R., Singh, L. y Zularisam, A.W. 2016. Exoelectrogens: recent advances in molecular drivers involved in extracellular electron transfer and strategies used to improve it for microbial fuel cell applications. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 56: 1322–1336.
- Kumar, R., Singh, L., Wahid, Z.A. y Din, M.F.M. 2015. Exoelectrogens in microbial fuel cells toward bioelectricity generation: A review. *International Journal of Energy Research*, 39(8): 1048–1067.

- Lee, J., Kim, Y., Lee, S. y Kim, J. 2017. Microbial fuel cells: principles and applications, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 68: 683–696.
- Lovley, D.R. 2006. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, 17(3): 327–332.
- Prasad, J. y Tripathi, R.K. 2021. Effect of sediment microbial fuel cell stacks on 9 V/12 V DC power supply. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(27): 14628–14638.
- Puig, S., Ganigué, R., Batlle-Vilanova, P., Balaguer, M.D., Bañeras, L. y Colprim, J. 2017. Tracking bio-hydrogen-mediated production of commodity chemicals from carbon dioxide and renewable electricity. *Bioresource Technology*, 228: 201–209.
- Reguera, G. 2018. Biological electron transport goes the extra mile. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(22): 5632–5634.
- Rodrigo, J.A., Boltes, K. y Estéve-Núñez, A. 2014. Microbial-electrochemical bioremediation and detoxification of dibenzothiophene-polluted soil. *Chemosphere*, 101: 61–65.
- Saeed, H.M., Husseini, G.A., Yousef, S., Saif, J. et al. 2015. Microbial desalination cell technology: A review and a case study. *Desalination*, 359: 1–13.
- Sharma, S., Basu, S., Shetti, N.P. y Aminabhavi, T.M. 2020. Waste-to-energy nexus for circular economy and environmental protection: Recent trends in Hydrogen energy. *Science of the Total Environment*, 713, 136633.
- Sobieszuk, P., Zamojska-Jaroszewicz, A. y Koltuniewicz, A.B. 2012. Harvesting energy and hydrogen from microbes. *Inzynieria Chemiczna I Procesowa*, 33(4): 603–610.
- Sun, H., Zhang, Y., Wu, S., Dong, R. y Angelidaki, I. 2019. Innovative operation of microbial fuel cell-based biosensor for selective monitoring of acetate during anaerobic digestion. *Science of the Total Environment*, 655: 1439–1447.
- Yanuka-Golub, K., Reshef, L., Rishpon, J. y Gophna, U. 2016. Community structure dynamics during startup in microbial fuel cells – the effect of phosphate concentrations. *Bioresource Technology*, 212, 151–159.
- Ye, Y., Ngo, H.H., Guo, W., Liu, Y. et al. 2019. Feasibility study on a double chamber microbial fuel cell for nutrient recovery from municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 358: 236–242.



## SIGUIENDO LA PISTA

### Potencial de las infusiones de ortiga (*Urtica dioica* L.) para proteger a la alubia común (*Phaseolus vulgaris* L.) de la enfermedad de la grasa

Carlota Cerezo Antón<sup>1</sup>, Penélope García Angulo<sup>2</sup> y María Luz Centeno Martín<sup>2</sup>

- <sup>1</sup> Graduada en Biología por la Universidad de León. [ccerea00@estudiantes.unileon.es](mailto:ccerea00@estudiantes.unileon.es)
- <sup>2</sup> Área de Fisiología Vegetal, Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad de León, 24071 León, España. [pgara@unileon.es](mailto:pgara@unileon.es), [mlcenm@unileon.es](mailto:mlcenm@unileon.es)

#### Resumen

El empleo de preparados basados en plantas que sustituyan a los fitosanitarios químicos es un reto para la agricultura sostenible. Las suspensiones acuosas (Us) de ortiga (*Urtica dioica* L.) son un candidato pues el tratamiento con Us de plantas de alubia común (*Phaseolus vulgaris* L.) redujo los síntomas de la enfermedad de la grasa causada por *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Pph) (De la Rubia *et al.*, 2022). Sin embargo, el uso de Us como producto agrícola final entraña ciertos problemas. El objetivo del presente trabajo fue comprobar si las infusiones de ortiga (Uin) tienen el mismo efecto y, en caso afirmativo, conocer a qué tipo de actividad podría deberse: antimicrobiana, promotora de las defensas naturales de la planta y/o antioxidante. Para ello, se hicieron ensayos de crecimiento de Pph en presencia de Uin, de liberación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en respuesta a flagelina en discos foliares preincubados con Uin y de estimación de la capacidad antioxidante de Uin. Los resultados apuntan a que las propiedades protectoras de la infusión se deben al contenido en compuestos bioactivos antioxidantes. Además, se probó que el pretratamiento de las plantas con Uin disminuía el daño oxidativo foliar provocado tras 6 horas de infección con Pph, lo que refuerza esta idea.

#### Palabras clave

Agricultura sostenible, daño oxidativo, estrés biótico, *Pseudomonas syringae*

#### Introducción

Los cultivos se encuentran sometidos en el campo a múltiples factores de estrés abiótico y biótico que repercuten negativamente en la producción y el rendimiento agrícola (Verma *et al.*, 2013). En concreto, los agentes de estrés biótico están representados por las malas hierbas, los herbívoros, los insectos plaga

consumidores de plantas y los fitopatógenos (bacterias, hongos y virus causantes de enfermedades). El método principal para su control consiste en aplicar fitosanitarios químicos, pero su uso incorrecto puede tener efectos adversos en la producción vegetal y entrañar riesgos para la salud humana y el medio ambiente. Con el fin de minimizar tales efectos, y a la par garantizar una producción alimentaria sostenible, la Comisión Europea estableció en la Estrategia “de la granja a la mesa” y en la Estrategia sobre la biodiversidad (Ministerio de Derechos Sociales y Agenda 2030) la reducción en un 50 % del uso de plaguicidas y fertilizantes químicos en agricultura para el 2030.

Una alternativa a los fitosanitarios químicos son los agentes de biocontrol. Se trata de preparaciones a base de microorganismos, compuestos bioactivos o materiales derivados de plantas (van Lenteren, 2012) que, aplicados a los cultivos, evitan y/o previenen el ataque de los agentes de estrés biótico. Específicamente, los preparados a base de plantas (PBPs) deben su efecto protector a la presencia de compuestos con distintas actividades, entre los que destacan: a) las fitoalexinas y los alcaloides con propiedades antimicrobianas, que protegen directamente a las plantas frente a los fitopatógenos, b) los flavonoides y fenoles, compuestos antioxidantes capaces de proteger a las plantas frente al estrés oxidativo general y c) algunos oligosacáridos derivados de la pared celular que activan mecanismos de defensa naturales de las plantas, entre los que se encuentran a su vez la síntesis de sistemas antioxidantes y de metabolitos secundarios (Zaynab *et al.*, 2018). Así pues, la producción de PBPs que protejan a los cultivos puede ser clave en la agricultura sostenible.

Por otro lado, las plantas presentan *per se* mecanismos naturales de defensa frente al ataque por un patógeno. Durante los primeros momentos tras la infección, las plantas son capaces de percibir su presencia mediante receptores transmembrana que reconocen patrones moleculares muy conservados, como la flagelina 22 (flg22), propia del flagelo de bacterias como *Pseudomonas*, o la quitina, propia de la pared celular de hongos (Zipfel y Oldroyd, 2017). Tras este reconocimiento, las células de las plantas producen una fuerte liberación de  $H_2O_2$  y una entrada de calcio intracelular, lo cual activa una cascada de transducción de señales que desencadena en la expresión de numerosos genes de defensa de la planta (Couto y Zipfel, 2016). Se ha comprobado que la aplicación de algunos fragmentos de paredes celulares del patógeno o de la propia planta (Tarkowski *et al.*, 2019), así como algunos análogos estructurales de hormonas, como el ácido 2,6-dicloroisonicotínico, también desencadenan esta producción de  $H_2O_2$  y la posterior activación de las defensas sin producir enfermedad (De la Rubia *et al.*, 2021).

En el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de León se trabaja desde hace años en el diseño de PBPs capaces de proteger a las plantas frente a fitopatógenos y en el estudio de su composición y actividad, para lo cual se utilizan distintos patosistemas como modelos experimentales. Uno de ellos es el formado por la alubia común (*Phaseolus vulgaris* L.) y la bacteria hemibiótrofa

*Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* (Pph). El patógeno es el responsable de la enfermedad de la grasa en variedades susceptibles como la Riñón, que pertenece a la Indicación Geográfica Protegida (IGP) “Judías de la Bañeza-León”, y causa importantes pérdidas económicas en Castilla y León, donde se produce el 50 % de la alubia nacional.

El patosistema Pph-alubia Riñón se utilizó en un estudio sobre la capacidad de cuatro PBP para promover respuestas de defensa en las plantas. Los resultados indican que uno de ellos, basado en suspensiones de hojas de ortiga (*Urtica dioica* L.), inhibía el crecimiento *in vitro* de Pph. Además, activaba los sistemas de defensa en las plantas dado que éstas mostraban menos síntomas de la enfermedad si se trataban con el PBP antes de la infección con el patógeno (De la Rubia *et al.* 2022). Por lo tanto, las suspensiones de ortiga podrían ser un buen candidato a producto final con aplicaciones agrícolas, pero la presencia de partículas en suspensión hace que la distribución sea poco homogénea, lo cual podría dar lugar a resultados variables tras su aplicación. Además, dichas partículas hacen difícil su aplicación ya que pueden obturar boquillas, tuberías, etc. haciéndolas inviables como tal. Una solución sería utilizar infusiones de ortiga clarificadas, lo que evitaría estos problemas.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, **el objetivo de este trabajo** fue comprobar si la infusión de hoja de ortiga (Uin) tiene un efecto protector sobre la infección con Pph en la alubia Riñón. Además, se pretende estudiar si la infusión tiene actividad bacteriostática o bactericida, si es capaz de promover respuestas primarias de defensa en las plantas y/o si tiene propiedades antioxidantes. Para ello se realizaron: 1) bioensayos de crecimiento *in vitro* de Pph en presencia de Uin; 2) ensayos de producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en discos de hoja de alubia pretratados con Uin frente a discos no pretratados; 3) ensayos de la capacidad antioxidante de Uin, así como del daño oxidativo causado por la infección con Pph en plantas de alubia pretratadas con Uin y plantas control.

## **Materiales y Métodos**

### Preparación de la infusión de ortiga

Los materiales utilizados para realizar este trabajo fueron cedidos por De la Rubia *et al.* (2022). Procedían de plantas de ortiga en estado vegetativo ubicadas cerca de la localidad de Callejo de Ordás (León). Las hojas se cosecharon en mayo de 2018, se secaron en estufa a 60 °C y se trituraron dando lugar a un pulverizado, que se empleó en la elaboración del PBP. Primero se mezclaron diferentes cantidades (mg) del pulverizado en distintos volúmenes (mL) de agua destilada. Después, las mezclas se autoclavaron y centrifugaron. Finalmente, se recogieron los sobrenadantes y se filtraron para obtener las infusiones (Uin).

### Bioensayo de crecimiento de Pph en presencia de infusión de ortiga (Uin)

La bacteria *Pseudomonas syringae* van Hall 1902, CECT321 (Pph) se creció en medio líquido King's B (KB) durante 2 días a 30 °C y en agitación a 220 rpm.

Las placas para los bioensayos se prepararon con concentraciones 1, 4, 10 y 20 mg-equivalentes/L de Uin en medio TSA (Tryptic-Casein Soy Agar) con glucosa (0,5 % p/V) autoclavado a 121 °C durante 15 min. Se utilizaron además placas control con medio TSA sin PBP. Cuando el medio se gelificó, se hizo un agujero en el centro de las placas donde se incorporaron 20 µL del inóculo de Pph en NaCl 0,9 % (p/V) a una densidad de cultivo aproximada de  $10^8$  unidades formadoras de colonias CFU/mL, que se corresponde con la fase exponencial de crecimiento de la bacteria. Las placas se incubaron en una estufa a 30 °C durante 7 días. Finalmente, se hicieron fotografías de las placas y se estimó el área del halo de crecimiento de Pph utilizando el software ImageJ. Se calculó el crecimiento de la bacteria como el porcentaje del área del halo medida en presencia de Uin respecto al área del halo en ausencia de PBP.

### Estimación del $H_2O_2$ liberado por discos foliares de alubia tratados con Uin

Para realizar este experimento se utilizaron plantas de alubia crecidas *in vitro*. Las semillas de *P. vulgaris* variedad Riñón se esterilizaron con etanol al 70 % (V/V) 30 s seguido de NaClO 0,4 % (p/V) 20 min. Tras lavarlas cuatro veces con agua estéril, se sembraron en una mezcla turba:perlita (sustrato universal Blumenerde) hidratada y contenida en recipientes de vidrio de 980 mL (Phytolab) cerrados y esterilizados. Los cultivos se mantuvieron a  $25 \pm 2$  °C, fotoperiodo de 16 h de luz y  $45 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  de intensidad lumínica.

Los discos foliares se extrajeron de las hojas cotiledonares de 8 plantas de alubia de 14 días, se colocaron en los pocillos de una placa blanca con 200 µL/pocillo de agua estéril (columnas 1 y 2, pre $H_2O$ ) o de Uin (columnas 3 y 4, preUin) y se dejaron incubando toda la noche a temperatura ambiente.

Al día siguiente, se realizó la reacción que permite estimar la producción de ROS, entre ellas  $H_2O_2$ , en los discos foliares en respuesta a flg22, un mimético de la infección por Pph. Primero, se retiró el agua y la infusión de los pocillos y después se añadieron 100 µL/pocillo de la solución de reacción con luminol 20 µM y peroxidasa tipo VI.A 100 µg/mL. La placa se incubó 30 min a temperatura ambiente en oscuridad. Se añadieron entonces 100 µL/pocillo de agua en las columnas 1 (discos pre $H_2O$ + $H_2O$ , control) y 3 (discos preUin+ $H_2O$ ) o de flg22 2 µM en las columnas 2 (discos pre $H_2O$ +flg22, control positivo del experimento) y 4 (discos preUin+flg22). La luminiscencia emitida por el luminol, en caso de sufrir peroxidación en presencia del  $H_2O_2$  liberado por los discos, se midió en un lector de placas durante 2 h.

### Medida de la capacidad antioxidante de la infusión de ortiga

La capacidad antioxidante de Uin se estimó por el método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) descrito por Benzie y Strain (1996) y modificado para realizarse en placas de 96 pocillos. El ensayo se basa en la reducción del complejo TPTZ-Fe<sup>3+</sup> (2,4,6-tri-(2-piridil)-s-triazina) a su forma ferrosa, a pH ácido. El resultado de la reacción es un producto cuya concentración se puede cuantificar midiendo la densidad óptica (DO) a 593 nm y utilizando una recta de calibración (0,1 a 5 mM) del agente reductor Trolox.

En cada pocillo se añadieron 300 µL de la mezcla de reacción (tampón acetato sódico 300 mM, pH 3,6; TPTZ 10 mM en HCl 40 mM; FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O 20 mM, 10:1:1 V/V/V). Después, se añadieron 10 µL de H<sub>2</sub>O (blanco), de las soluciones de Trolox o de concentraciones 5, 10 y 20 mg-equivalentes/L de Uin. La placa se incubó 15 min a temperatura ambiente y se midió la DO<sub>593</sub>.

### Estimación del daño oxidativo causado por Pph en plantas de alubia

Plantas de alubia desarrolladas en 18 recipientes de cultivo, con 14 días de crecimiento *in vitro* y las dos hojas cotiledonares bien formadas, se rociaron con 2 mL/hoja de agua o de Uin 20 mg-equivalentes/L.

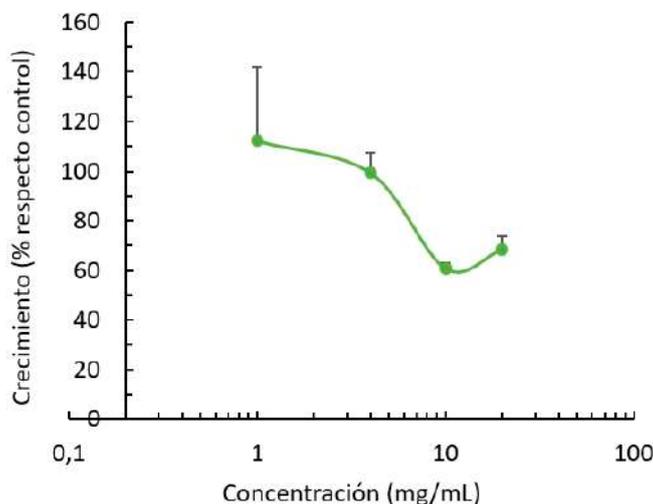
Pasados 7 días, la mitad de las plantas control y de aquellas pretratadas con Uin se infectaron con Pph mediante pulverización sobre las hojas de un inóculo de la bacteria, mientras que el resto se pulverizaron con agua. Al cabo de 6 horas, se fotografiaron las plantas infectadas (control+ y Uin+) y no infectadas (control y Uin), así como hojas aisladas de éstas, y se realizó el ensayo DAB (3,3'-diaminobencidina). Para ello, cada hoja se colocó en un tubo Falcon y se incubó en una solución de DAB 1 mg/L (De la Rubia *et al.*, 2023) 4 h, en agitación y oscuridad. Tras la incubación, se retiró el DAB y se añadió el mismo volumen de una solución decolorante (etanol:ácido acético:glicerol, 3:1:1 V/V/V) que se hirvió durante 15 min. Las hojas se dejaron secar y se fotografiaron. El daño oxidativo se estimó como la intensidad del color marrón que presentaba cada hoja debido a la oxidación del DAB, para lo cual se utilizaron las fotografías y el *software* Photoshop. Finalmente, se aplicó un tratamiento estadístico en el que se realizó un ANOVA y el test post-hoc Tukey.

## **Resultados**

Para conocer si la infusión de ortiga tenía actividad bactericida o bacteriostática que pudiera proteger a las plantas de alubia Riñón del patógeno *Pseudomonas syringae* (Pph), se realizaron bioensayos de crecimiento *in vitro* en medios con Uin. Los resultados se muestran en la **Figura 1**.

Se observó que el crecimiento de la bacteria en presencia de 1 mg-equivalente/mL de Uin fue mayor que en el control. Sin embargo, a medida que se incrementó la concentración de Uin de 4 a 20 mg-equivalentes/mL se redujo el crecimiento de la bacteria en un 30-40 %, no llegándose a alcanzar una concen-

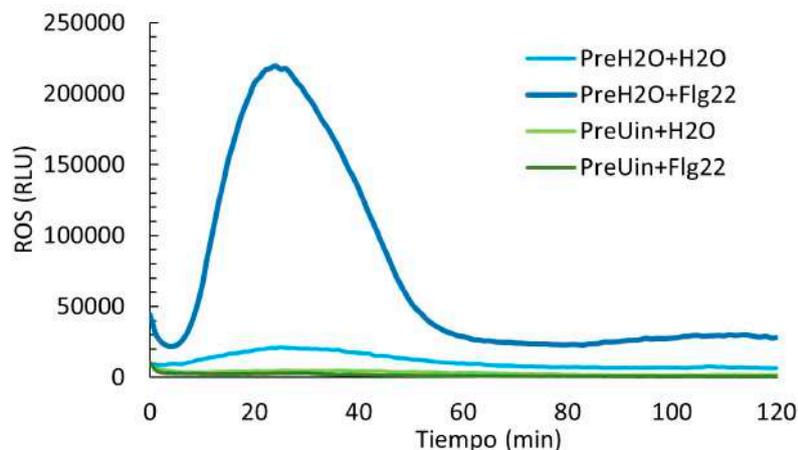
tración que lo inhibiera en un 50 % ( $I_{50}$ ) (**Figura 1**). En base a estos resultados, se decidió emplear la infusión de ortiga 20 mg-equivalentes/mL en los siguientes experimentos.



**Figura 1.** Crecimiento de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Pph) en presencia de diferentes concentraciones de infusión (Uin) respecto al control al cabo de 7 días. Los resultados muestran la media  $\pm$  DE (n=3).

Otra vía por la cual Uin podría proteger a las plantas es promoviendo o potenciando alguna de las respuestas de defensa que se activan en la alubia cuando es atacada por un patógeno, como por ejemplo la producción de ROS. Para comprobarlo, se estimó la liberación de  $H_2O_2$  en discos foliares preincubados en Uin o en agua en respuesta a la flg22. Los resultados del ensayo aparecen en la **Figura 2**.

En los pocillos donde se encontraban los discos foliares preincubados en agua no se detectó emisión de luminiscencia al añadir agua a la mezcla de reacción (pre $H_2O$ + $H_2O$ , control), mientras que cuando se añadió flg22 sí se produjo una señal lumínica muy intensa (pre $H_2O$ +flg22, control positivo) (**Figura 2**) tal como cabría esperar. En el caso de los discos preincubados en Uin, de nuevo no se registró luminiscencia en las dos horas siguientes tras añadir agua en los pocillos (preUin+ $H_2O$ , control negativo), pero tampoco después de añadir flg22 (preUin+flg22) (**Figura 2**).

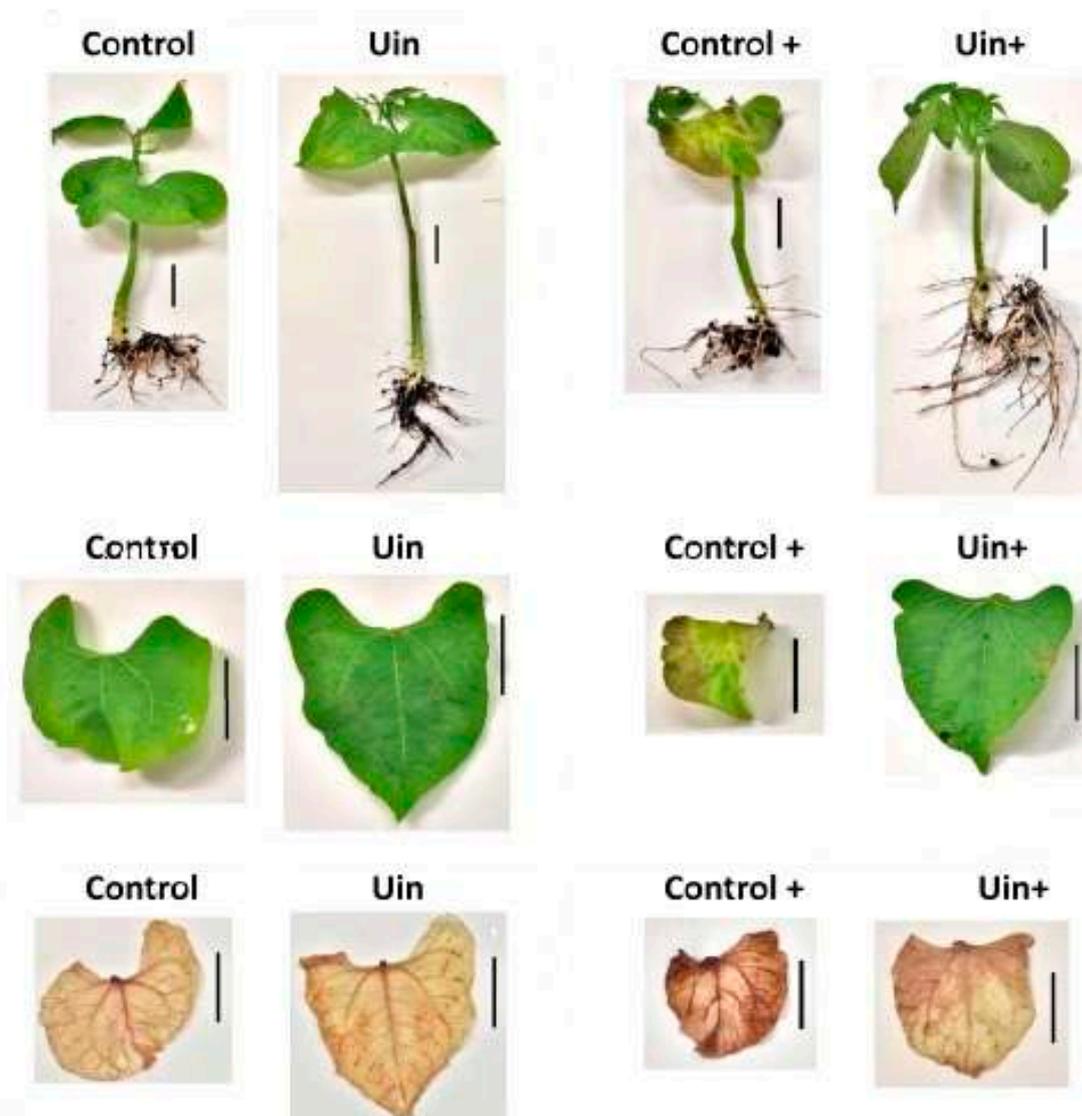


**Figura 2.** Cinéticas de producción de ROS en discos foliares de alubia preincubados en agua (preH<sub>2</sub>O) o en Uin (preUin) en respuesta a flagelina (+flg22) o agua (+H<sub>2</sub>O). Los ROS se estimaron como unidades de luminiscencia producidas por el luminol oxidado en presencia del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liberado por los discos y de la peroxidasa incorporada en la solución de reacción. Se representan las medias (n=7).

Una tercera vía de protección de la alubia Riñón sería que la infusión de ortiga tuviera compuestos que redujeran el daño oxidativo causado por la liberación de ROS que provoca Pph al infectar los tejidos. Para comprobarlo, se midió la capacidad antioxidante de Uin 20, 10 y 5 mg-equivalentes/mL por ensayo FRAP, obteniéndose valores de 1,88, 1,06 y 0,47 equivalentes-mM de Trolox, respectivamente.

Para determinar si la aplicación de Uin realmente protege del daño oxidativo que produce la infección, se realizó un experimento en plantas pretratadas o no con Uin 20 mg-equivalentes/mL 7 días antes de la infección. Una vez que ésta se llevó a cabo, el daño se estimó a las 6 horas mediante el análisis morfológico de las plantas (**Figura 3A**) y la tinción DAB de las hojas (**Figura 3C** y **Figura 4**). El DAB es un compuesto que, al ser oxidado por las peroxidasas de los tejidos en presencia del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultante del estrés oxidativo, torna a un producto marrón oscuro que tiñe las zonas dañadas de las hojas.

Las plantas de alubia de 21 días que se pretrataron con Uin o con agua presentaron diferencias morfológicas, de modo que las primeras (Uin) mostraron en general un aspecto más vigoroso que las segundas (control) (**Figuras 3A y B, izq.**). Tras 6 h después de realizar la infección con Pph, todas las plantas presentaron amarilleamiento y epinastia foliar. También se pudieron observar en las hojas manchas necróticas correspondientes a puntos de infección (**Figuras 3A y B, der.**). Sin embargo, estos síntomas fueron bastante más aparentes en plantas control (control+) que en aquellas pretratadas con Uin (Uin+).

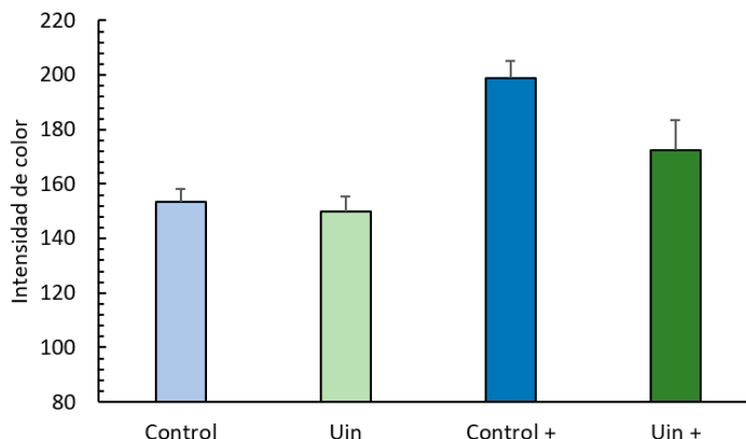


**Figura 3.** Aspecto de las plantas de alubia con 21 días de crecimiento (A) y de sus hojas aisladas (B). Las plantas se rociaron con agua o con Uin a los 14 días y, tras otros 7 días se infectaron con Pph (Control+ y Uin+) o no (Control, Uin). Las fotografías se tomaron 6 h después de la pulverización con Pph o con agua. (C) Aspecto de las mismas hojas teñidas con DAB. La intensidad/tonalidad oscura del marrón refleja el daño oxidativo. La barra negra indica una escala de 2 cm.

Cuando se estimó el daño oxidativo causado por Pph mediante tinción con DAB, se observó que la tonalidad oscura del color marrón fue más intensa y de distribución más amplia en las hojas de plantas control (control+) que en las aisladas de plantas pretratadas con Uin (Uin+). Las hojas de plantas no infectadas (control y Uin) apenas se tiñeron (**Figura 3C**) tal como cabría esperar, ya que no se vieron sometidas al agente de estrés.

Estas observaciones se corroboraron con los datos obtenidos al cuantificar la intensidad media del color marrón en las hojas por análisis de imágenes, que fue significativamente mayor en las control+ que en las Uin+ (**Figura 4**).

Los valores estimados en hojas de plantas no infectadas fueron los más bajos, con independencia de que antes hubieran sido rociadas o no con la infusión. Esto implica que las plantas tratadas con Uin sufrieron daño oxidativo por la infección con Pph pero en menor medida que las no tratadas, por lo que la infusión de ortiga sí parece que tuvo cierto efecto protector.



**Figura 4.** Intensidad del color marrón debido a la tinción con DAB de hojas de plantas de alubia pretratadas con agua o con Uin e infectadas con Pph (Control+, Uin+) o no (Control, Uin). La intensidad del color se estimó a partir de las fotografías de las hojas (**Figura 3C**) utilizando el programa Photoshop. Se representan media  $\pm$  DE (n=3). Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias de acuerdo con el test ANOVA y el post-hoc de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## Discusión

La ortiga es una planta herbácea considerada tradicionalmente como una mala hierba por los agricultores. Sin embargo, éstos también han utilizado y utilizan los extractos de ortiga macerados o fermentados para estimular el crecimiento de sus cultivos y repeler los insectos vectores de patógenos. De hecho, en el mercado actual existen diferentes PBP basados en ortiga y empleados como biosoluciones que promueven el crecimiento de las plantas. La actividad de un PBP depende de su composición química (Maricic *et al.*, 2021) y ésta, a su vez, de factores relativos al material utilizado para elaborarlo (órgano, genotipo y estado fisiológico de la planta de ortiga, etc.) y al procedimiento al que se somete (maceración, extracción con agua, con solventes, infusión, etc.) (Shonte *et al.*, 2020). Aun así, poco se conoce sobre el fundamento de los efectos positivos que tienen los preparados de ortiga sobre los cultivos.

De la Rubia *et al.* (2022) encontraron que las suspensiones de ortiga (Us) proporcionaban protección a plantas de alubia Riñón frente a la infección por Pph, el patógeno causante de la enfermedad de la grasa en variedades susceptibles, y que dicho efecto podría deberse a la actividad antimicrobiana del PBP. Los autores observaron que 1 mg/mL de Us reducía el crecimiento *in vitro* de la bacteria al 50 %. Desde un punto de vista práctico, las infusiones de ortiga (Uin) son mejor candidato a PBP que las Us pues al no presentar partículas en suspensión

facilitaría la aplicación en campo. Ahora bien, se espera que la composición de Uin varíe respecto a la de Us como consecuencia del proceso de infusión, que provoca, entre otros, desestabilización de las membranas celulares, degradación de compuestos termolábiles, desnaturalización de proteínas y liberación de oligosacáridos de las paredes celulares. Tales cambios podrían mejorar las propiedades antimicrobianas de Uin en relación a las de Us, pero los resultados del presente trabajo indican que no fue así (**Figura 1**).

Otra posible explicación del efecto protector que tuvo Us, y tal vez pueda tener Uin, en plantas de alubia Riñón frente a Pph sería que los preparados promovieran/potenciaran respuestas de defensa naturales en las plantas, incluso antes de que se produzca la infección, proceso conocido como “immune priming”. En apoyo a esta idea, De la Rubia *et al.* (2021) demostraron que la preincubación de discos foliares de alubia con INA activaba la producción de  $H_2O_2$  en los tejidos en respuesta a flg22, proteína que se utiliza para mimetizar la infección por Pph en el ensayo del luminol. Además, la liberación de ROS se correspondió con la respuesta temprana característica de la inmunidad desencadenada por patrones o PTI pues el pico de luminiscencia, resultante de la oxidación del luminol por el  $H_2O_2$  liberado, se observó en la primera hora de incubación con flg22 (Petrov *et al.*, 2015).

Cuando en el presente trabajo se repitió el ensayo con discos foliares pretratados con 20 mg-equivalentes de Uin, para comprobar si la infusión de ortiga tenía el mismo efecto que el INA, se obtuvo un resultado negativo, dado que no se detectó luminiscencia en respuesta a flagelina. Sin embargo, los discos preincubados en agua sí generaron un pico señal en el ensayo. Esto podría implicar que los discos pretratados con Uin también liberaron  $H_2O_2$  pero que su actividad fue neutralizada por compuestos antioxidantes presentes en la infusión, impidiendo así la oxidación del luminol y la emisión de señal. En apoyo a esta idea, se probó que Uin 20 mg-equivalentes/mL tenía una capacidad antioxidante equivalente a la de una solución de Trolox 1,88 mM.

Para conocer si las propiedades antioxidantes de Uin podían realmente proporcionar cierta protección a la alubia Riñón frente a Pph, se hizo un experimento con plantas de 14 días que se rociaron o no con la infusión y 7 días después se infectaron con la bacteria. Lo primero que se observó fue que el aspecto de las plantas de 21 días pretratadas con Uin fue más vigoroso que el de las plantas control. El efecto bioestimulante de los preparados de ortiga se ha descrito previamente en plantas de alubia (Maricic *et al.*, 2022) y puede deberse al contenido en aminoácidos esenciales, vitaminas, isolectinas y elementos minerales como el hierro (Maricic *et al.*, 2021), útiles para el crecimiento de las plantas.

Una vez infectadas las plantas con Pph, éstas presentaron a las 6 horas los siguientes síntomas de la enfermedad. En primer lugar, la presencia de puntos de necrosis y el amarilleamiento zonal en las hojas. En segundo, la epinastia foliar, que consiste en la curvatura hacia abajo de las hojas resultante de un cre-

cimiento más rápido en las células de la cara superior del peciolo que en las de la cara inferior (Taiz *et al.*, 2015). La epinastia es un proceso promovido por etileno, fitohormona gaseosa que regula en general las respuestas de las plantas al estrés (Iqbal *et al.*, 2017). Así pues, cabe pensar que las plantas de alubia sintetizaron etileno en respuesta al estrés causado por la infección y que su acumulación en los recipientes cerrados provocó la epinastia de las hojas. El tercer síntoma observado en las plantas infectadas con Pph fue el daño oxidativo, estimado en las hojas mediante tinción con DAB. En este sentido, De la Rubia *et al.* (2023) también detectaron daño oxidativo causado por Pph en plantas de alubia Riñón ya a las 2 h de la infección.

A pesar de que los síntomas descritos se observaron en todas las plantas, los dos primeros tuvieron menor presencia en plantas pretratadas con Uin que en plantas control, y el tercero fue significativamente menor en plantas pretratadas. Por lo tanto, los resultados apuntan a que, efectivamente, las propiedades protectoras de la infusión estarían relacionadas con la presencia de compuestos bioactivos con actividad antioxidante, como pueden ser algunos ácidos fenólicos (Cabrera-Soto *et al.*, 2009) y flavonoides (Hidalgo *et al.*, 2010) detectados con anterioridad en hojas de ortiga (revisión en Grauso *et al.*, 2020). Ahora bien, los flavonoides son moléculas termolábiles por encima de 75 °C (Zhang *et al.*, 2019), por lo que muy probablemente se degradan durante el proceso de infusión por autoclavado a 121 °C aplicado para obtener Uin. Sin embargo, los ácidos fenólicos son capaces de soportar altas temperaturas, de hasta 150 °C (Lou *et al.*, 2014), por lo que serían mejores candidatos para justificar las propiedades fitoprotectoras de Uin.

Así pues, de los resultados de este trabajo se puede concluir que el tratamiento de plantas de alubia Riñón con infusiones de ortiga aumenta el vigor y reduce el estrés oxidativo causado por la infección con Pph. Las propiedades antioxidantes del PBP se deben, probablemente, a la presencia de ácidos fenólicos. Sin embargo, para confirmar esta hipótesis habría que aislar la fracción fenólica de la infusión y repetir los ensayos de infección de alubia con Pph y otros fitopatógenos. Del mismo modo, para probar el efecto bioestimulante de Uin sería necesario hacer de nuevo los ensayos de aplicación y estimar en las plantas algunos parámetros de crecimiento, fotosintéticos y bioquímicos.

## Referencias

- Benzie, I.F.F. y Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70–76.
- Cabrera-Soto, M.L., Salinas-Moreno, Y., Velázquez-Cardelas, G.A. y Espinosa Trujillo, E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia*, 43(8): 827–839.

- Couto, D. y Zipfel, C. 2016. Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. *Natural Reviews Immunology*, 16, 537–552.
- De la Rubia, A.G., De Castro, M., Medina-Lozano, I. y García-Angulo, P. 2022. Using plant-based preparations to protect common bean against halo blight disease: The potential of nettle to trigger the immune system. *Agronomy*, 12(1): 63.
- De la Rubia, A.G., Largo-Gosens, A., Yusta, R., Sepúlveda-Orellana, P., *et al.* 2023. A novel pectin methylesterase inhibitor, PMEI3, in common bean suggests a key role of pectin methylesterification in *Pseudomonas* resistance. *Journal of Experimental Botany, erad* 362. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad362>
- De la Rubia, A.G., Mérida, H., Centeno, M.L., Encina, A. y García-Angulo, P. 2021. Immune priming triggers cell wall remodeling and increased resistance to halo blight disease in common bean. *Plants*, 10(8): 1514.
- Grauso, L., Falco, B. y Motti, R. 2020. Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 19: 1341–1377.
- Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C. y de Pascual-Teresa, S. 2010. Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 121(3): 691–696.
- Iqbal, N., Khan, N.A., Ferrante, A., Trivellini, A., *et al.* 2017. Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 8: 475.
- Lou, S.N., Lin, Y.S., Hsu, Y.S., Chiu, E.M. y Ho, C.T. 2014. Soluble and insoluble phenolic compounds and antioxidant activity of immature calamondin affected by solvents and heat treatment. *Food Chemistry*, 161: 246–253.
- Maričić, B., Brkljača, M., Ban, D., Palčić, I., Franin, K., Marčelić, S. y Goreta Ban, S. 2022. Non-aerated common nettle (*Urtica dioica* L.) extract enhances green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) growth and soil enzyme activity. *Life*, 12(12), 2145.
- Maričić, B., Radman, S., Romić, M., Perković, J., *et al.* 2021. Stinging nettle (*Urtica dioica* L.) as an aqueous plant-based extract fertilizer in green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sustainable agriculture. *Sustainability*, 13(7): 4042.
- Ministerio de Derechos Sociales y Agenda 2030. 2018. *Plan de Acción para la Implementación de la Agenda 2030*. Disponible en: <https://www.mdsocialesa2030.gob.es/agenda2030/documentos/plan-accion-implementacion-a2030.pdf> (Accedido: 20 de junio de 2023).
- Petrov, V., Hille, J., Mueller-Roeber, B. y Gechev, T.S. 2015. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6: 69.
- Shonte, T.T., Duodu K.G. y de Kock, H.L. 2020. Effect of drying methods on chemical composition and antioxidant activity of underutilized stinging nettle leaves. *Helvion*, 6(5): e03938.

- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M. y Murphy, A. 2015. *Plant Physiology*. 6<sup>a</sup> ed. Sunderland: Sinauer.
- Tarkowski Ł.P., Van de Poel B., Höfte M. y Van den Ende, W. 2019. Sweet immunity: inulin boosts resistance of lettuce (*Lactuca sativa*) against grey mold (*Botrytis cinerea*) in an ethylene-dependent manner. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5): 1052.
- Van Lenteren, J.C. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, 57: 1–20.
- Verma, S., Nizam, S. y Verma, P.K. 2013. Biotic and Abiotic Stress Signaling in Plants en Sarwat, M., Ahmad, A. y Abdin, M. (eds.). En *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective*, 1.<sup>a</sup> ed. New York: Springer, pp. 25–49.
- Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y. *et al.* 2018. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124: 198–202.
- Zhang, X., Wang, X., Wang, M., Cao, J. *et al.* 2019. Effects of different pretreatments on flavonoids and antioxidant activity of *Dryopteris erythrosora* leave. *PLoS One*, 14(1): e0200174.
- Zipfel, C. y Oldroyd, G. 2017. Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature*, 543: 328–336.



## Desarrollo de un ensayo funcional *in vitro* para detectar anticuerpos con actividad agonista

Marta Martínez López<sup>1</sup>

Graduada en Biotecnología. [mmartl22@estudiantes.unileon.es](mailto:mmartl22@estudiantes.unileon.es)

### Resumen

Los bioensayos funcionales *in vitro* son fundamentales para la correcta caracterización de medicamentos biológicos como los inhibidores de los puntos de control inmunitarios (ICI). Estos ICI pueden bloquearse mediante anticuerpos que impiden la transmisión de señales co-inhedoras, permitiendo, de esta manera, una respuesta inmunitaria más efectiva contra las células cancerígenas. En este trabajo, se ha puesto a punto un bioensayo *in vitro* para activar los linfocitos T, a través del correceptor del TcR (CD3), sin la necesidad de antígeno, y evaluar el impacto de la interacción entre HVEM (mediador de entrada del virus del herpes) y BTLA (atenuador de linfocitos B y T) en esta activación. El bioensayo consiste en la realización de un cocultivo entre unas células estimuladoras (línea celular CHO modificada genéticamente para la expresión del gen que codifica para scFv anti-CD3) y como células respondedoras, la línea celular Jurkat TPR, que expresa tres factores de transcripción unidos a tres fluorocromos diferentes (mCherry, CFP y eGFP: unidos a AP-1, NF- $\kappa$ B y NFAT respectivamente), con el objetivo de estudiar su activación mediante citometría de flujo. Durante el trabajo se ha realizado el clonaje de la proteína BTLA y la posterior transducción en las células Jurkat TPR. A continuación, se realizaron los bioensayos en los que se demostró que funcionaban activando los linfocitos T, sin necesidad de presentar antígeno y detectando los fluorocromos mediante citometría de flujo. Mediante este ensayo, comprobamos que la interacción BTLA-HVEM disminuye la activación de las células T y, el bloqueo de este ICI mediante anticuerpos anti-HVEM, aumentaba la respuesta de las células Jurkat TPR respondedoras. En conclusión, hemos desarrollado un sistema experimental *in vitro* que permite estudiar interacciones ligando/receptor en el contexto de la activación de las células T, para aumentar o reprimir la función de las mismas.

### Palabras clave

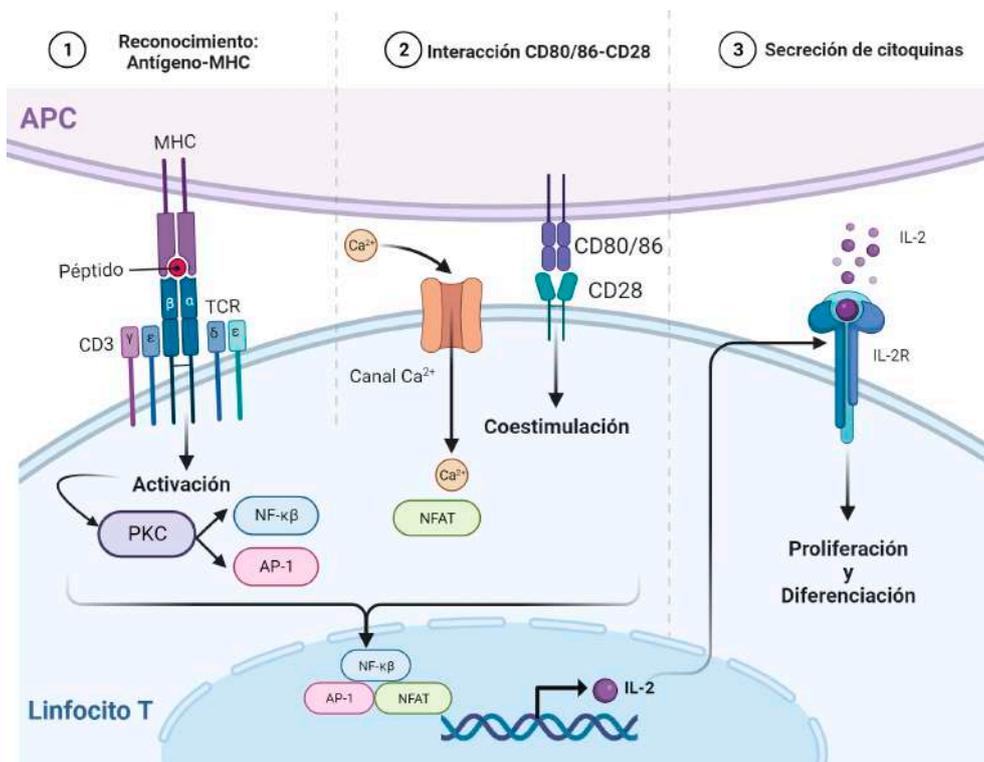
Bioensayo (*in vitro*), BTLA, HVEM, inmunoterapia, linfocito T y receptor co-inhibidor

## Introducción

### Los linfocitos T

Los linfocitos T forman parte de la respuesta inmunitaria adaptativa. Cuentan con los receptores de antígenos de los linfocitos T (TCRs) que se encuentran asociados al complejo CD3 (Alcover *et al.*, 2018).

La activación de los linfocitos T (**Figura 1**) requiere de múltiples señales y comienza cuando el TCR reconoce un péptido asociado al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de una APC (célula presentadora de antígenos). Esto va a resultar en que el complejo CD3 transduzca la señal al interior del linfocito desencadenando una cascada de señalización celular (Alcover *et al.*, 2018). A continuación, va a tener lugar una segunda señal de coestimulación, necesaria para que continúe la activación del linfocito. Se produce gracias a la interacción entre CD28-CD80/86 que, junto a la primera señal, va a resultar en la entrada de  $Ca^{2+}$  en el citoplasma, dando lugar a la activación del factor nuclear de las células T activadas (NFAT). Además, se va a activar la proteína quinasa C que resulta en la activación del factor nuclear  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ), y la generación de la proteína activadora 1 (AP-1). Estos factores de transcripción se translocan al núcleo y su acción coordinada resulta en la transcripción de la citoquina interleucina 2 (IL-2). IL-2 se une al receptor de alta afinidad dando lugar a la tercera señal que resulta en la proliferación y diferenciación de las células T (Esensten *et al.*, 2016).



**Figura 1.** Representación del proceso de activación de un linfocito T. Creado con BioRender.com

## **Inhibidores de los puntos de control inmunitarios**

La segunda señal comentada anteriormente puede que, en lugar de coestimulación, sea de cohibición, lo que también se conoce como punto de control inmunitario. Un ejemplo, y en el que se va a centrar este trabajo, es el formado por HVEM-BTLA. Los inhibidores de los puntos de control inmunitarios (ICI) son moléculas, como anticuerpos, que bloquean estos puntos de control. Su importancia radica en que pueden ser empleados en inmunoterapia contra el cáncer (De Sousa Linares *et al.*, 2018).

El atenuador de linfocitos B y T (BTLA) es un receptor transmembrana de tipo I perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Su dominio citoplasmático presenta dos motivos inhibidores clásicos: ITIM e ITSM. El ligando de BTLA es HVEM (mediador de entrada del virus del herpes); es miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (Pasero y Olive, 2013).

## **Hipótesis y objetivos del trabajo**

Las señales coinhibidoras y coestimuladoras regulan el curso de la expansión clonal y de diferenciación de las células T naïve hacia las células T efectoras (Bonilla y Oettgen, 2010). En este trabajo, se plantea el desarrollo de una plataforma experimental para evaluar el papel de la interacción HVEM-BTLA en el curso de la activación de los linfocitos T mediada por anticuerpos anti-CD3 utilizando un bioensayo reportero basado en células estimuladoras (CHO) y células respondedoras (Jurkat TPR).

## **Material y métodos**

En primer lugar, se llevó a cabo el clonaje de BTLA partiendo de ARNm de ratón BL6 que había sido extraído previamente, este se transformó en ADN complementario de BTLA, y a continuación, se ligó con el vector intermediario pJET, con el objetivo de obtener un mayor número de copias del plásmido. Tras esto, se realizó la digestión de pJET con BTLA y la del vector final retroviral pMSCV con las mismas enzimas *XhoI* y *HindIII*. Se secuenció el inserto para comprobar que no hubiese sufrido mutaciones a lo largo de los pasos.

La segunda parte del trabajo se basó en la transducción de las células Jurkat TPR con BTLA. Se realizó la transfección de la línea celular HEK293T con tres plásmidos para generar las partículas retrovirales: dos de empaquetamiento y pMSCV con el inserto de interés. Seguidamente, se realizó la transducción de linfocitos Jurkat TPR de tal forma que se expresase de forma estable la proteína BTLA. Para asegurarse de que todos los linfocitos Jurkat TPR estaban expresando BTLA se llevó a cabo su cultivo y selección utilizando la técnica de clonaje de célula única mediante dilución límite. Una vez se confirmó que toda la población expresaba BTLA, se procedió a realizar las pruebas para comprobar la funcionalidad del bioensayo.

El bioensayo se basa en el cocultivo de dos poblaciones celulares, una población estimuladora y otra la respondedora. Como células estimuladoras se empleó la línea celular CHO (ovario de hámster chino) que habían sido modificadas previamente en el laboratorio para expresar de forma estable OKT3, que es un fragmento de cadena única anti-CD3 humano. De esta forma pueden activar células T humanas en cocultivo sin necesidad de que una APC presente un antígeno al linfocito T, ya que se recrea la primera señal de activación de los linfocitos T.

Como células respondedoras se empleó la línea celular Jurkat TPR. Son unos linfocitos T de leucemia humana en los que se ha generado un “Triple Parameter Reporter” (TPR), sistema reportero de tres parámetros como el diseñado por los investigadores Sabrina Jutz *et al.* (2016). Los factores de transcripción NF- $\kappa$ B, NFAT y AP-1 han sido fusionados con las proteínas fluorescentes CFP, eGFP y mCherry, respectivamente (Jutz *et al.*, 2016). De esta forma, los espectros de emisión de estas proteínas permiten evaluar simultáneamente la actividad de NF- $\kappa$ B, NFAT y AP-1 en respuesta a la estimulación. Así, si se modifican genéticamente las células con las moléculas deseadas se puede ver su interacción y efecto en la activación de los linfocitos T. En este caso se modificará la población CHO con HVEM y la Jurkat TRP con BTLA.

## Resultados

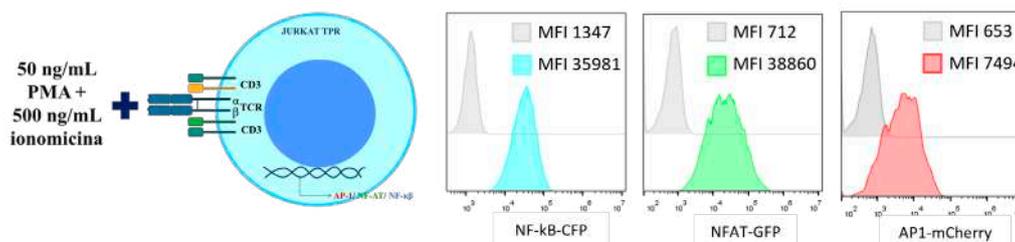
### Comprobación de inducción CHO-scFv anti-hu CD3 y Jurkat TPR

En la **Figura 2** se representan los resultados de citometría del primer ensayo. El objetivo de este ensayo era comprobar que el anticuerpo OKT3 es capaz de inducir la activación del linfocito T; para ello se realizaron tres cocultivos durante 24 horas de tres condiciones distintas (estímulo policlonal, ausencia de estímulo y activación anti-CD3) y se mantuvo también en cultivo a las células Jurkat TPR sin inducir para usarlas como control negativo.

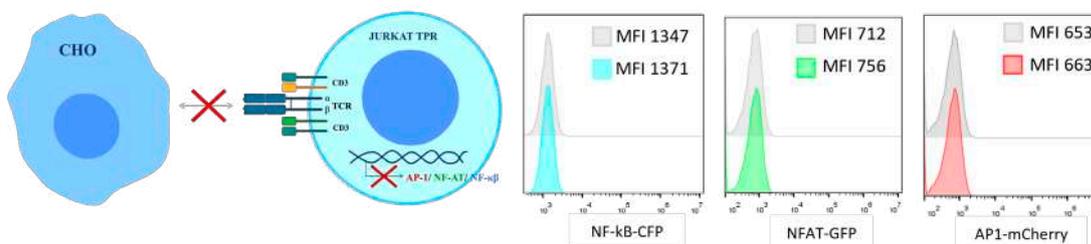
En primer lugar, se cultivaron las células Jurkat TPR con PMA e ionomicina (estímulo policlonal) como control positivo (**Figura 2A**). Gracias a este control se confirmó que era posible detectar mediante citometría de flujo los fluorocromos asociados a los factores de transcripción. En la segunda condición, las células Jurkat TPR en cocultivo con la línea celular CHO sin modificar (ausencia de estímulo), no se han expresado los factores de transcripción (**Figura 2B**). La intensidad media de fluorescencia (MFI) de los fluorocromos de interés es prácticamente la misma que la de las células TPR sin inducir, lo que confirma que las células CHO sin modificar no activan los linfocitos T. En último lugar, se realizó el cocultivo de la línea celular CHO-scFv anti-hu CD3 con Jurkat TPR (**Figura 2C**) y se comprobó que las células CHO con OKT3 (scFv anti-hu CD3) son capaces de inducir la activación de las células Jurkat sin antígeno, ya que se produce un aumento de la MFI respecto a las células TPR sin inducir.

Sin embargo, la transcripción del factor AP-1 resultó ser muy débil. Esto se puede deber a que el factor AP-1 es el de activación más rápida de los tres y su pico de expresión máxima ocurre según la bibliografía a las 8 horas, disminuyendo la expresión rápidamente (Jutz *et al.*, 2016).

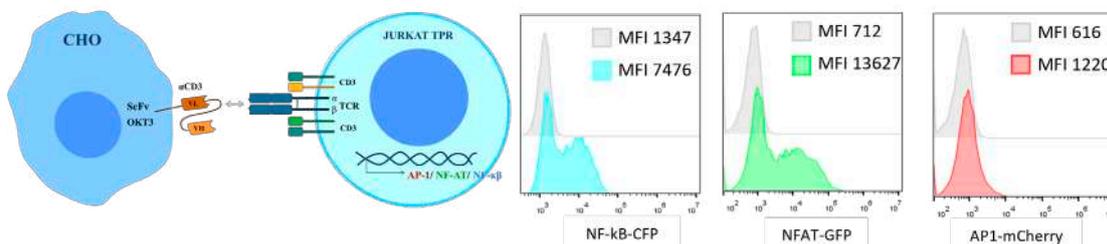
**A) JURKAT TPR + 50 ng/mL PMA + 500 ng/mL ionomicina (CONTROL POSITIVO): Estímulo Policlonal**



**B) JURKAT TPR cocultivadas con CHO (CONTROL NEGATIVO): Ausencia de estímulo**



**C) JURKAT TPR cocultivadas con CHO-scFv anti-hu CD3: Activación Anti-CD3**



**Figura 2.** Resultados del bioensayo del cocultivo entre CHO-scFv anti-hu CD3 y Jurkat TPR. En la primera columna, se observa un esquema representativo de cada condición. En las tres columnas siguientes, se observan los histogramas normalizados del resultado de la citometría: en gris, el control negativo (TPR sin inducir), el sombreado en color representa los factores de transcripción (NF-κB: azul, NFAT: verde y mCherry: rojo). MFI hace referencia a la intensidad de fluorescencia media. Histogramas creados con el software *FlowJo* (Becton, Dickinson & Co., 2002).

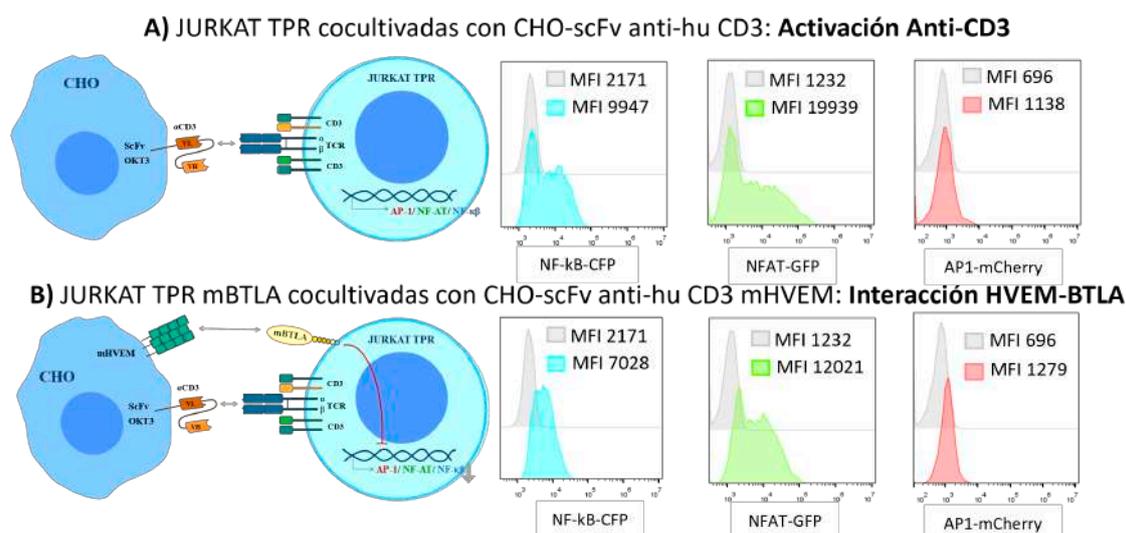
Bioensayo CHO-scFv anti-hu CD3 mHVEM y Jurkat TPR mBTLA

Tras haber confirmado que la activación de los linfocitos T mediante la inducción de CHO-OKT3 es posible, se procedió a estudiar el efecto de la interacción HVEM-BTLA. Se realizó el ensayo para evaluar la interacción entre HVEM de expresión estable en las células CHO, y BTLA de expresión estable en las células Jurkat (**Figura 3B**). Se comprueba al comparar las **Figuras 3A y 3B**, que la MFI en el caso de CFP fusionado al factor NF-κB pasa de 9947 en el caso A, a 7028 en el caso B, lo que supone una disminución del 29,34 %  $[(9947 - 7028) / 9947] \times 100$ ). En cuanto, al eGFP fusionado NFAT la MFI pasa de 19939 a 12021,

lo que supone una reducción de casi un 39,71 % en la tasa de transcripción del NFAT. Se observa que, de los dos factores de transcripción, el que ve su expresión más reducida es el factor NFAT.

Esta disminución de MFI indica que la interacción entre HVEM-BTLA inhibe parte de la respuesta de activación del linfocito T. Se confirma por tanto que HVEM y BTLA forman un punto de control inmunitario y que esta plataforma experimental permite evaluar dicha interacción molecular.

Bioensayo CHO-scFv anti-hu CD3 mHVEM y Jurkat TPR mBTLA con anticuerpos

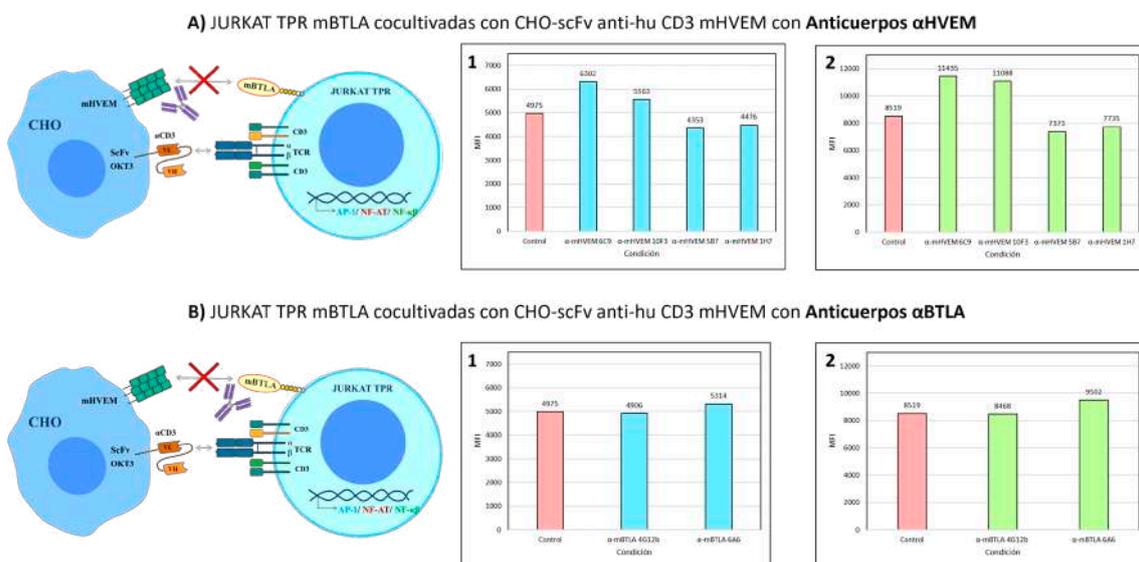


**Figura 3.** Resultados del bioensayo del cocultivo entre CHO-scFv anti-hu CD3 mHVEM y Jurkat TPR mBTLA. En la primera columna se observa un esquema representativo de cada condición. En las tres columnas siguientes se observan los histogramas normalizados del resultado de la citometría: en gris el control negativo (TPR sin inducir) el sombreado en color representa los factores de transcripción (NF-κB: azul, NFAT: verde y mCherry: rojo). MFI hace referencia a la intensidad de fluorescencia media. Histogramas creados con el software *FlowJo* (Becton, Dickinson & Co., 2002).

Tras confirmar la inhibición de la activación de los linfocitos T, en el tercer ensayo se trató de modular esta respuesta empleando anticuerpos anti-HVEM y anti-BTLA. Se realizó el ensayo con seis anticuerpos generados en el laboratorio de Inmunología (del Rio *et al.*, 2011; del Rio *et al.*, 2012): cuatro anti-HVEM (6C9, 10F3, 5B7 y 1H7) y dos anti-BTLA (4G12b y 6A6). De estos anticuerpos, 6C9 y 10F3 son anticuerpos bloqueantes, es decir, se unen al sitio de HVEM donde interacciona BTLA.

En la **Figura 4** se recogen los resultados de intensidad de fluorescencia de la citometría para CFP unido a NF-κB y eGFP unido a NFAT. No se recogen los resultados de mCherry unido a AP-1, ya que su señal era demasiado débil. Se resumen los resultados de la MFI en los **Gráficos 4.1** para CFP unido a NF-κB y en los **Gráficos 4.2** para eGFP unido a NFAT.

Considerando los resultados de los gráficos, se demuestra que dos de los anticuerpos anti-HVEM (los bloqueantes): 6C9 y 10F3, son funcionales y pueden revertir la inhibición de los linfocitos T, aumentando la producción de los factores de transcripción. En cuanto al anticuerpo, anti-HVEM 6C9 es el más efectivo, y se observa que la población de células Jurkat TPR transducidas experimenta un incremento del 34,23 % en la tasa de transcripción del factor NFAT con respecto al control y 26,67 % en la tasa de NF- $\kappa$ B. Respecto al anticuerpo anti-HVEM 10F3, se da un incremento del 30,16 % en la tasa de transcripción del factor NFAT con respecto al control y del 11,81 % en la tasa de NF- $\kappa$ B. El anticuerpo anti-BTLA 6A6 al unirse a BTLA podría revertir la inhibición de la interacción HVEM-BTLA, aunque en menor medida que los anticuerpos anti-HVEM bloqueantes.



**Figura 4.** Resultados del bioensayo del cocultivo entre CHO-scFv anti-hu CD3 mHVEM y Jurkat TPR mBTLA con anticuerpos. En la primera columna, se observa un esquema representativo. En las columnas 2 y 3 se observan gráficos de barras que representan los resultados de la media de intensidad de fluorescencia de (1) CFP fusionado al factor nuclear NF- $\kappa$ B y (2) eGFP fusionado al factor nuclear NFAT. Como control se recoge la MFI de las Jurkat TPR mBTLA cocultivadas con CHO-scFv anti-hu CD3 mHVEM (barras rojas). Las barras azules y verdes representan las células Jurkat TPR mBTLA cocultivadas con CHO-scFv anti-hu CD3 mHVEM en presencia de cada anticuerpo: (A) Anti-HVEM y (B) Anti-BTLA.

### Discusión y conclusiones

Como se puede observar en los resultados, se consiguió la activación de las células TPR con las células CHO-OKT3 y se demostró que se podían detectar mediante citometría de flujo los factores de transcripción, sobre todo NFAT y NF- $\kappa$ B y, en menor medida, AP-1.

En cuanto a la interacción entre BTLA-HVEM, se vio que tenía un efecto inhibitorio sobre la activación de las células T, especialmente a nivel de NFAT y NF- $\kappa$ B. Es necesario recalcar que, como se ha mencionado anteriormente, la

interacción entre HVEM-BTLA es muy compleja, con la presencia de señales inmunopotenciadoras e inmunosupresoras al mismo tiempo (Battin *et al.*, 2022). Sin embargo, al comprobar el efecto inhibitorio de la interacción HVEM-BTLA, se demuestra que es un punto de control inmunitario y su potencial para ser modulado como posible inmunoterapia. El resultado coincide con lo que se ha realizado en otros trabajos utilizando las moléculas HVEM-BTLA humanas (Battin *et al.*, 2022). Cabe destacar, que la reducción en la expresión de los factores de transcripción es parcial (~30 % (NF- $\kappa$ B) y ~40 % (NFAT); es posible que sean necesarias más interacciones para su inhibición completa, ya que lo que se pone a punto en este trabajo es un modelo experimental simplificado y diseñado especialmente para estudiar unos aspectos muy concretos.

Es por este potencial para modular la interacción entre HVEM y BTLA por lo que se trató de encontrar anticuerpos que la inhibiesen, con el fin de regular al alza la respuesta de los linfocitos T. De los anticuerpos probados se comprobó que dos de los anticuerpos anti-HVEM (los bloqueantes) eran funcionales y podían revertir la inhibición de los linfocitos T, aumentando la producción de dos factores de transcripción (NFAT y NF- $\kappa$ B), demostrando su capacidad de actuar como ICI. Es posible que la expresión de otros factores de transcripción también incrementa al emplear dichos anticuerpos, pero en este trabajo solo se analizaron los factores de transcripción: AP1, NF- $\kappa$ B y NFAT.

La importancia de este trabajo se basa en haber puesto a punto un sistema *in vitro* que permite estudiar la activación de las células T de forma sencilla y de cómo distintas moléculas influyen en este proceso. Asimismo, es un sistema muy versátil y económico que permite el estudio de tres factores de transcripción de manera simultánea, evitando además el uso de animales de experimentación.

En futuros experimentos en el laboratorio se podría continuar estudiando la interacción de HVEM y BTLA, repitiendo el ensayo más veces y probando otros anticuerpos para tratar de encontrar anticuerpos más efectivos. Además, en un futuro también se podrían probar otras moléculas y estudiar el potencial de otros anticuerpos sobre ellas, cuyo porcentaje de reactivación de los factores de transcripción sea superior a los nuestros.

En resumen, esta plataforma molecular/celular ha permitido el desarrollo de un bioensayo reportero que está ayudando a caracterizar nuevos anticuerpo anti-HVEM y anti-BTLA con nuevas propiedades inmunoterapéuticas.

## Referencias

- Alcover, A., Alarcón, B. y Di Bartolo, V. 2018. Cell biology of T cell receptor expression and regulation. *Annual Review of Immunology*, 36: 103–125.
- Battin, C., Leitner, J., Waidhofer-Söllner, P., Grabmeier-Pfistershammer, K. *et al.* 2022. BTLA inhibition has a dominant role in the cis-complex of BTLA and HVEM. *Frontiers in Immunology*, 13: 956694.

- Becton, Dickinson & Co. 2002. *FlowJo™ Software* (Versión 10.0.7) [Programa de ordenador] Disponible en: <https://www.flowjo.com/solutions/flowjo/downloads> (Accedido: 10 de abril de 2023).
- BioRender. 2023. *BioRender*. Disponible en: <https://www.biorender.com> (Accedido: 21 de junio de 2023).
- Bonilla, F.A. y Oettgen, H.C. 2010. Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2): S33–S40.
- De Sousa Linhares, A., Leitner, J., Grabmeier-Pfistershammer, K. y Steinberger, P. 2018. Not all immune checkpoints are created equal. *Frontiers in Immunology*, 9: 1909.
- del Rio, M.L., Kurtz, J., Perez-Martinez, C., Ghosh, A. *et al.* 2011. B- and T-lymphocyte attenuator targeting protects against the acute phase of graft versus host reaction by inhibiting donor anti-host cytotoxicity. *Transplantation*, 92(10): 1085–1093.
- del Rio, M.-L., Jones, N.D., Buhler, L., Norris, P. *et al.* 2012. Selective blockade of herpesvirus entry mediator–B and T lymphocyte attenuator pathway ameliorates acute graft-versus-host reaction. *The Journal of Immunology*, 188(10): 4885–4896.
- Esensten, J.H., Helou, Y.A., Chopra, G., Weiss, A. *et al.* 2016. CD28 costimulation: from mechanism to therapy. *Immunity*, 44(5): 973–988.
- Jutz, S., Leitner, J., Schmetterer, K., Doel-Perez, I. *et al.* 2016. Assessment of costimulation and coinhibition in a triple parameter T cell reporter line: simultaneous measurement of NF- $\kappa$ B, NFAT and AP-1. *Journal of Immunological Methods*, 430: 10–20.
- Pasero, C. y Olive, D. 2013. Interfering with coinhibitory molecules: BTLA/HVEM as new targets to enhance anti-tumor immunity. *Immunology Letters*, 151(1-2): 71–75.



## EL BAÚL DE LA CIENCIA

### La transformación de los residuos una clave para la producción de energía

Elia Judith Martínez Torres

Dpto. de Química y Física Aplicada, Área de Ingeniería Química, Escuela Superior y Técnica de Ingenieros de Minas, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071, León. [ejmartr@unileon.es](mailto:ejmartr@unileon.es)

#### Resumen

La transformación de los residuos orgánicos en biogás a partir de digestión anaerobia supone un impulso al desarrollo de la economía circular de los países, sobre todo en los sectores de tratamiento de aguas, residuos municipales, industria agropecuaria, del procesado de alimentos, entre muchas otras. El aprovechamiento de residuos orgánicos permite una valorización de algo que ya no tiene utilidad y presenta numerosas ventajas, principalmente la obtención de energía de origen renovable en forma de un gas combustible evitando emisiones de metano y dióxido de carbono asociadas a los combustibles fósiles, pero además el producto sólido resultante puede usarse como biofertilizante, lo que lleva a una gestión más sostenible de este tipo de residuos.

#### Palabras clave

Biogás, descarbonización, digestión anaerobia, energía, gas renovable, generación sostenible, gestión de residuos

#### Introducción

Para dar un contexto sobre la importancia de la transformación de los residuos en energía, empezaré brevemente con la situación del sistema eléctrico nacional, uno de los principales actores en este tema. Para el año 2022 se observó en España un crecimiento en la generación eléctrica del 6,3 % respecto a 2021 y muy por encima de los valores registrados en años anteriores, a pesar de los valores máximos de producción eólica y solar fotovoltaica, la generación renovable en el sistema eléctrico nacional en este año 2022 se vio reducida un 4,0 % y su intervención en el mix nacional fue tan solo del 42,2 % respecto al 46 % del año 2021, esto debido principalmente a un descenso importante de la producción hidráulica (Red Eléctrica Española, n.d.-a).

En los primeros nueve meses de 2023, la producción renovable creció un 12,2 % respecto al mismo periodo del año anterior y se prevé que el país puede generar más de la mitad de su electricidad a partir de fuentes renovables, alcan-

zando un importante hito de descarbonización este año, superando a otros países europeos como Francia, Alemania, Italia y Reino Unido (Roca, 2023).

España es un líder europeo en cuanto a las energías renovables se refiere, registrando una importante capacidad instalada de energía eólica y solar en los últimos 10 años. Sin embargo, hablando de residuos y generación de energía, aún hay un importante potencial por explotar ya que, como podemos observar en la **Tabla 1**, la generación eléctrica a partir de residuos sólo correspondió entre un 0,3 a un 0,7 % del mix energético en cuanto a energía renovable se refiere.

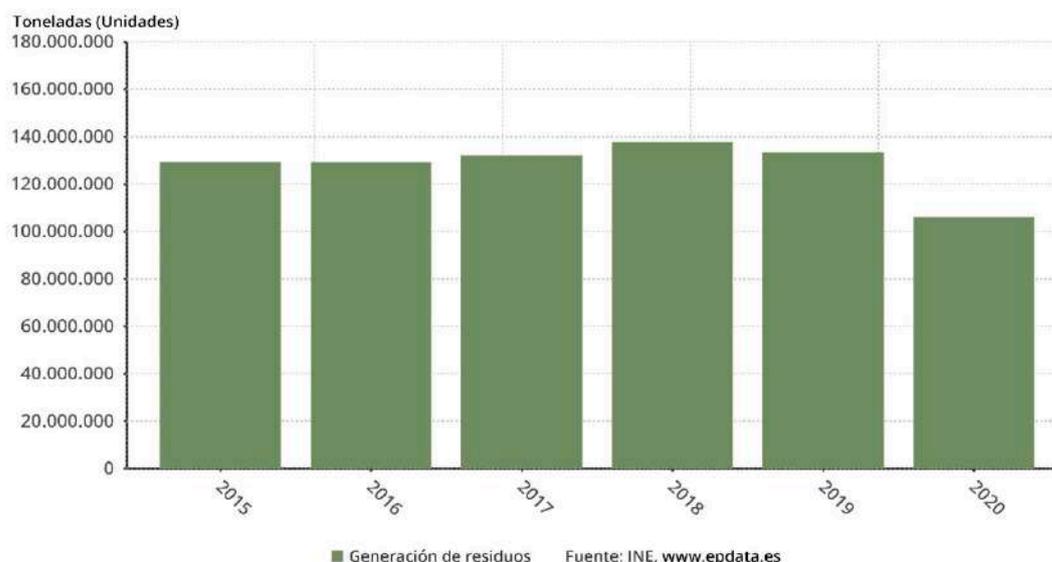
**Tabla 1.** Estructura de la generación de energía eléctrica renovable (enero a octubre de 2023) (Red Eléctrica Española, n.d.-b)

Tipo de Generación	ene/23	feb/23	mar/23	abr/23	may/23	jun/23	jul/23	ago/23	sep/23	oct/23
Hidráulica	20,72	16,99	11,52	9,743	9,06	13,87	8,04	6,07	7,06	8,82
Nuclear	27,31	31,69	28,79	29,07	24,41	29,06	32,13	31,66	34,52	34,66
Hidroeléctrica	0,009	0,006	0,009	0,01	0,013	0,006	0,017	0,017	0,01	0,003
Eólica	40,03	32,23	37,77	31,18	35,59	22,33	24,05	26,94	27,25	19,76
Solar fotovoltaica	9,35	14,88	17,44	23,90	25,14	27,86	28,41	28,11	25,39	29,51
Solar térmica	0,64	1,23	2,31	3,98	3,26	3,92	4,82	4,55	3,036	4,08
Otras renovables	1,56	2,461	1,736	1,738	2,206	2,331	2	2,148	2,166	2,47
Residuos renovables	0,36	0,49	0,40	0,36	0,29	0,58	0,52	0,48	0,55	0,67

Mientras la demanda de energía asciende cada año y prima la necesidad de descarbonizar nuestro sistema eléctrico produciendo cada vez más energía a partir de renovables, generamos alrededor de 105 millones de toneladas de residuos anuales (Instituto Nacional de Estadística, n.d.).

El acelerado aumento de población, nuestra mejor calidad de vida y el ascendente volumen de consumo en los últimos años nos han llevado a enfrentarnos a una cantidad preocupante de residuos (ver **Fig. 1**), estos representan un problema grave, de naturaleza ambiental y social, lo que nos conduce a la necesidad de aplicar sistemas adecuados de gestión.

Por ello, las políticas de gestión de residuos que aplica la Unión Europea (EU) y la legislación española en la actualidad, tienen como objetivo reducir los impactos ambientales y de salud que puede ocasionar la acumulación de residuos, pero también buscan mejorar la eficiencia de nuestros recursos extrayendo de los residuos tanto beneficio como sea posible.



**Figura 1.** Evolución del número de residuos generados en España.

La Directiva Europea 98/2008/CE de residuos introdujo una jerarquía de cinco pasos en la que la prevención es la mejor opción, seguida de la reutilización, el reciclaje y otras formas de valorización como la transformación en energía, prevaleciendo sobre la eliminación en el vertedero (Council Directive 2008/98/CE, 2008). Por otro lado, en España la Ley 22/2011, de 28 de julio de residuos y suelos contaminados para una economía circular, pretende avanzar en los principios de la economía circular, lo que permitirá abordar diferentes problemáticas actuales, tales como, la mejora ambiental, el autoabastecimiento energético y la descarbonización de la economía.

En este marco, el aprovechamiento de residuos para la producción de energía a partir de gas renovable es ahora una alternativa de gran relevancia,

debido a que responde de forma simultánea a los problemas antes planteados, desde el punto de vista energético y de economía circular para alcanzar un modelo de cero residuos.

Cualquier gas que proceda o sea producido a partir de fuentes renovables se considera gas renovable. Estos gases son el biogás-biometano, el hidrógeno y el gas sintético o Syngas. Todos ellos tendrán un papel clave para cumplir con los objetivos del Marco Europeo sobre Clima y Energía para 2030 y alcanzar la descarbonización energética ya que, entre otras ventajas, contribuyen a la reducción de emisiones de CO<sub>2</sub> y fomentan la economía circular. Además, dotarán al sistema energético del futuro, de flexibilidad y firmeza para garantizar la seguridad de suministro, favoreciendo el acoplamiento del sector gasista y el eléctrico, y posibilitando una completa descarbonización (*Gases Renovables | SEDIGAS - Asociación Española Del Gas*, n.d.).

De entre todos ellos, el biogás es el gas renovable que tiene la primacía en el corto y medio plazo, por aspectos de desarrollo tecnológico, potencial disponible y costes de producción. Tras su enriquecimiento hasta biometano, puede tener los mismos usos y usuarios y utilizar la misma infraestructura que el gas natural (*Plan Nacional Integrado de Energía y Clima (PNIEC) 2021-2030*, n.d.).

El biogás se genera a partir de la descomposición de los residuos de naturaleza orgánica en ausencia de oxígeno en un proceso conocido como digestión anaerobia. Durante mi experiencia a lo largo de 12 años en este campo, he podido observar la evolución de esta tecnología; la digestión anaerobia para la producción de biogás se ha convertido hoy en día en una herramienta imprescindible para alcanzar una sociedad sostenible. La reciente aprobación en Hoja de Ruta de Biogás en el año 2022 da fe de ello; este documento tiene como objetivo identificar las oportunidades y los problemas para el pleno desarrollo del biogás en España, y aporta diversas líneas de acción para fomentar inversión y aumentar la producción de biogás de 10,41 TWh anuales en 2030 (*Gases Renovables | Enagás*, n.d.).

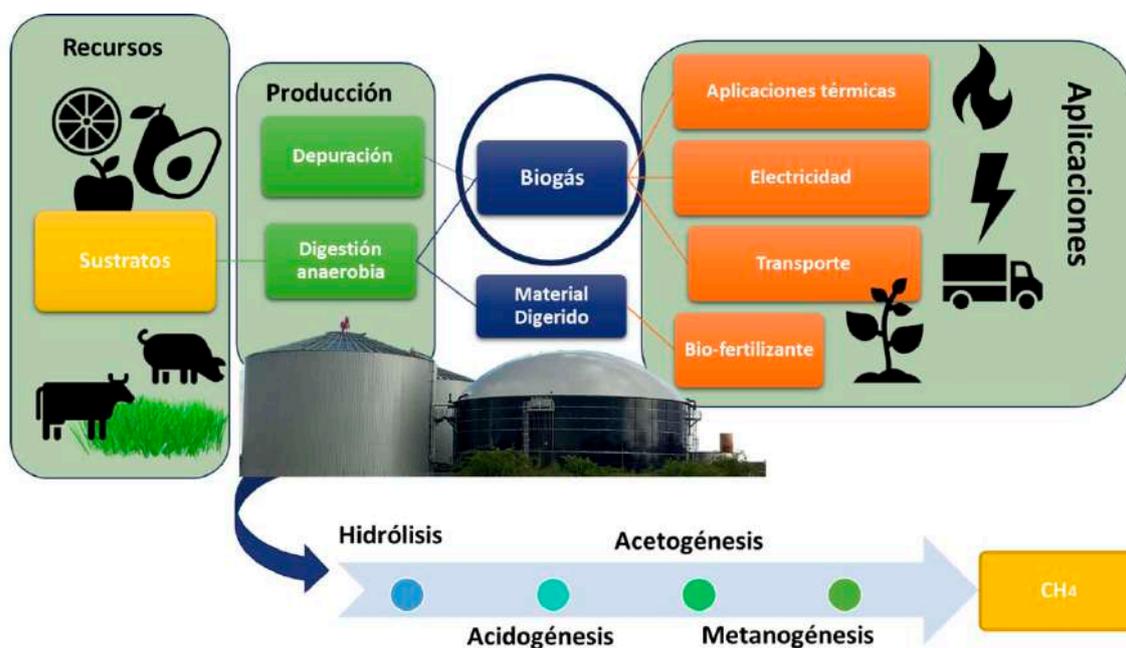
### **La digestión anaerobia para la producción de biogás**

La digestión anaerobia es un proceso bioquímico donde las sustancias orgánicas complejas se transforman biológicamente, mediante la interacción de un grupo de microorganismos específicos y en ausencia de oxígeno, produciendo un material digerido sólido (mezcla de minerales N, P, K, Ca) y un producto gaseoso conocido como biogás. Es un proceso complejo en el que intervienen diferentes grupos microbianos de manera coordinada y secuencial; la interacción cooperativa de varios grupos fisiológicos de procariotas permite la formación de metano a partir de sustancias de elevado peso molecular, tales como polisacáridos, proteínas y grasas. Los precursores inmediatos del metano son el hidrógeno y el dióxido de carbono, que se generan por las actividades de los fermentadores anaerobios.

A pesar de su complejidad, su aplicación para la gestión-estabilización de residuos orgánicos genera un gran interés, motivado principalmente por la creciente sensibilización hacia los problemas del medio ambiente, el elevado precio de los combustibles fósiles, el empobrecimiento de los suelos agrícolas en materia orgánica, el encarecimiento de los fertilizantes minerales, etc. (Martínez Torres, 2015).

Esta tecnología se ha aplicado a nivel mundial gracias a su capacidad de degradar altas cargas de materiales orgánicos y producir biogás. Los residuos deben considerarse ahora “recursos renovables” que pueden utilizarse para generar nuevos productos, en lugar de productos sin valor alguno.

El biogás es el principal componente energético derivado de la digestión, pero el proceso también proporciona un subproducto secundario conocido como digerido o digestato, el cual puede usarse como una valiosa enmienda orgánica (Ver Fig. 2).



**Figura 2.** Esquema de la producción de biogás mediante residuos orgánicos.

### El biogás

El biogás es un gas combustible que contiene principalmente tres componentes, que son metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y nitrógeno ( $\text{N}_2$ ). Sin embargo, también existen otras especies traza, que son sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ), hidrógeno ( $\text{H}_2$ ), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), oxígeno ( $\text{O}_2$ ) y monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ). Además, el biogás típico está saturado con agua, partículas de polvo, siloxanos, y compuestos aromáticos y halogenados, pero las cantidades de estos compuestos traza son muy bajas en comparación con el  $\text{CH}_4$  y el  $\text{CO}_2$  (Khan *et al.*, 2017).

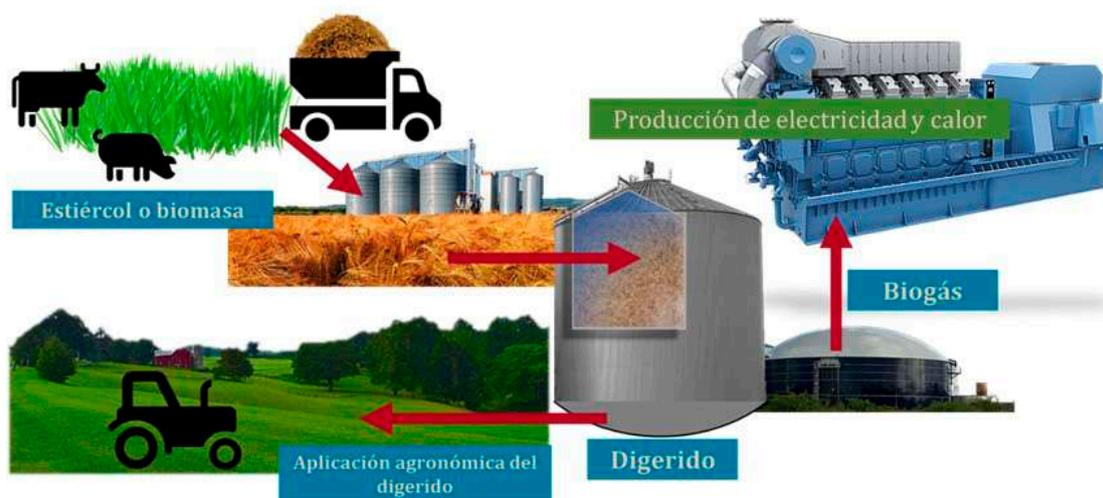
En términos de reducción de emisiones de gases de efecto invernadero, el biogás consigue, no solo el uso de un combustible 100 % renovable, sino también una reducción adicional de emisiones no energéticas (principalmente  $\text{CH}_4$ ), asociadas a una mejor gestión de los residuos municipales, los lodos de depuradora y los residuos tanto agrícolas y ganaderos como de la industria agroalimentaria.

### Aplicaciones del biogás

Actualmente, el biogás se utiliza en calderas, para producir calor, como combustible en motores o turbinas para generar electricidad, o para vehículos en el transporte, purificado para introducirlo en redes de gas natural, o como material base para la síntesis de metanol.

La generación de la energía eléctrica es hoy en día un punto crítico en la descarbonización del sistema energético ya que se produce principalmente por combustibles fósiles. La Generación Distribuida (GD) representa un cambio importante en la generación centralizada o convencional. El uso de este escenario, donde la generación se encuentre lo más cerca al punto de consumo, permitirá una introducción más eficiente de las tecnologías renovables para la generación de energía eléctrica.

El objetivo de la transición de energías fósiles a energías renovables es la descarbonización del sector energético, que tiene como objetivo abordar la cuestión del impacto ambiental. La producción de energía renovable suele estar mucho más descentralizada que la producción de energía fósil y suele aplicarse ampliamente en las zonas rurales (**Fig. 3**).



**Figura 3.** Esquema de producción de biogás para el suministro flexible de electricidad y calor.

## Biogás inyectado a la Red Gas Natural

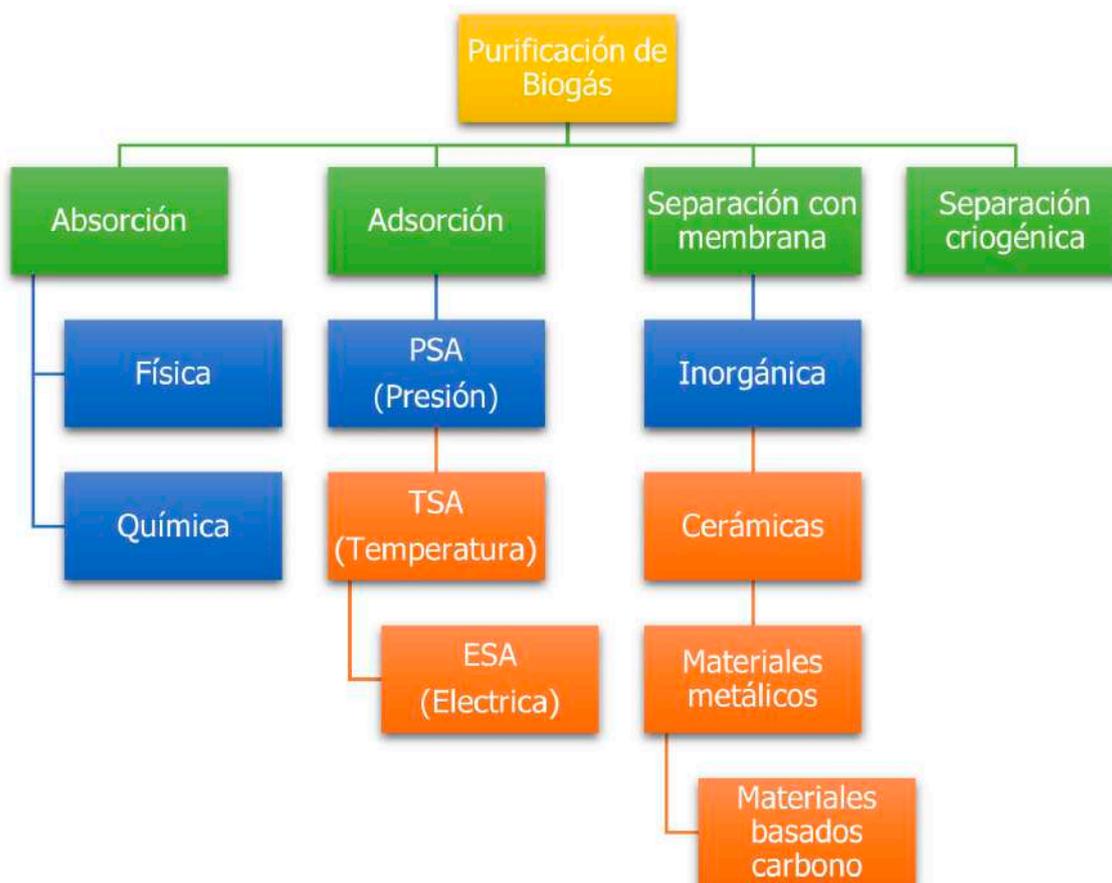
La red de gas actual juega un papel único para la entrega distribuida de calor para uso doméstico e industrial. Su sustitución puede no ser tan fácil como parece. Hasta la fecha, se han identificado algunas opciones clave para la descarbonización del sector de la calefacción y la reducción de la utilización de gas natural. Una primera opción consiste en la electrificación de la demanda final de calefacción mediante la utilización de bombas de calor impulsadas por electricidad renovable o sistemas CHP de celdas de combustible distribuidas. En este último caso, el calor se coproduce con electricidad en generadores electroquímicos de alta eficiencia y se aprovecha más eficientemente el gas de la red (tanto de origen fósil como de mezclado). Una segunda opción de descarbonización considera la implementación de redes de calefacción (Troup, 2016). La energía térmica se produce en plantas de energía centralizadas y luego se distribuye como mercancía a los usuarios alcanzados por la red de calefacción. Además, se espera que las redes de calefacción urbana de cuarta generación (Lund *et al.*, 2014) desempeñen un papel importante en la descarbonización de los sistemas energéticos urbanos, que podrán recoger y distribuir el calor procedente de diferentes fuentes distribuidas (generadores de cogeneración, calor residual de procesos industriales, grandes bombas de calor a gran escala y calor de fuentes renovables). En este escenario, la red de gas (nivel de distribución) puede quedar obsoleta y ser sustituida por otro tipo de red. Una última opción para la descarbonización del sector de la calefacción la ofrece la descarbonización “directa” de la red de gas, que es el escenario investigado en este trabajo. Consiste en el uso continuado de la red de gas natural que permite la explotación de combustibles más ecológicos (por ejemplo, biogás y  $H_2$ ). Aprovechando la distribución geográfica generalizada de los sistemas de red de gas natural y un gran *stock* de aparatos de calefacción alimentados con gas, la descarbonización se logra a través de un cambio en el vector de energía transportada. La red de gas ya no suministrará gas natural fósil, sino una mezcla de gas natural fósil y gases bajos en carbono (es decir, biometano, gas natural sintético o hidrógeno) (Cavana y Leone, 2019; Hengeveld *et al.*, 2016).

La inyección de biometano en la red de gas es una práctica ya asentada en países como Alemania, Suecia, Holanda, Suiza y Austria. En la actualidad, en España únicamente se inyecta biometano a la red de transporte de gas desde la planta de biometanización del Parque Tecnológico de Valdemingómez (Madrid), resultado de una iniciativa pública. Enagás ha puesto en marcha la iniciativa *Green Link* para facilitar este tipo de conexiones a la red de gasoductos de alta presión de producciones de biometano y otros gases renovables. Este proyecto es una solución tecnológica eficiente y modular que contribuye a la descarbonización, con el impulso de los gases renovables como el biometano, y potencia el desarrollo de la economía circular, gracias a la valorización de residuos orgánicos. Asimismo, es una iniciativa tractora de empleo y desarrollo local (*Primera Conexión de Biometano a La Red Gasista Impulsada Por Una Iniciativa Privada* | Enagás, n.d.).

### Procesos de limpieza y enriquecimiento de biogás

Como se ha mencionado anteriormente, el biogás se puede utilizar para la combustión directamente, o purificarse-mejorarse para separar la fracción de metano. El biometano puede usarse como biocombustible gaseoso para la producción de calor y / o electricidad mediante su valorización en sistemas de cogeneración, o simplemente su uso como combustible en calderas para la producción de calor.

Las tecnologías actualmente desarrolladas y disponibles a escala industrial para la mejora del biogás incluyen adsorción, absorción (física y química), separación por membrana y criogénica. Estas tecnologías se utilizan principalmente para la separación de CO<sub>2</sub>, mientras que una etapa previa al enriquecimiento se requiere para reducir las altas concentraciones de contaminantes como H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>S y siloxanos (Khan *et al.*, 2017). Una clasificación más detallada de estas tecnologías de mejora se muestra en **Figura 4**.



**Figura 4.** Tecnologías disponibles a escala industrial para la mejora del biogás (Adaptado de Abatzoglou y Boivin, 2009).

El biogás puede tratarse mediante diversas tecnologías, destinadas a incrementar su calidad energética y de este modo inyectarse en las redes de gas natural, usarse como portador de energía o como intermediario para producir bio-

hidrógeno. Los procesos de limpieza de biogás son intensivos energéticamente y requieren normalmente de alta presión, resultando en sistemas que incrementan significativamente los costes de operación y mantenimiento de las instalaciones. La **Tabla 2** indica las principales aplicaciones del biogás y el grado de purificación necesario.

**Tabla 2.** Grado de purificación necesario según aplicación final del biogás.

Aplicación	H <sub>2</sub> S	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	Siloxanos
Motor estacionario	<1000 ppm	No	No	Sí
Microturbina	<70 000 ppm	No	Sí	Sí
Co-generación	<1000 ppm	No	Evitar condensación	Sí
Motor vehículos	Sí	Sí	Sí	Sí
Pilas combustibles	<0,1 ppm	No es diluyente	No	Sí
Inyección a la red	Sí	Sí	Sí	Sí

Los costos para la aplicación de la purificación o limpieza no son el único criterio para seleccionar la tecnología de mejora de biogás. También es esencial que la tecnología específica pueda satisfacer el requisito específico para su aplicación. Por lo tanto, se intenta proporcionar consideraciones críticas sobre las tecnologías de purificación de biogás disponibles, las diversas utilidades de biogás, la conversión a bio-GNC (gas natural comprimido) y su almacenamiento para usos posteriores.

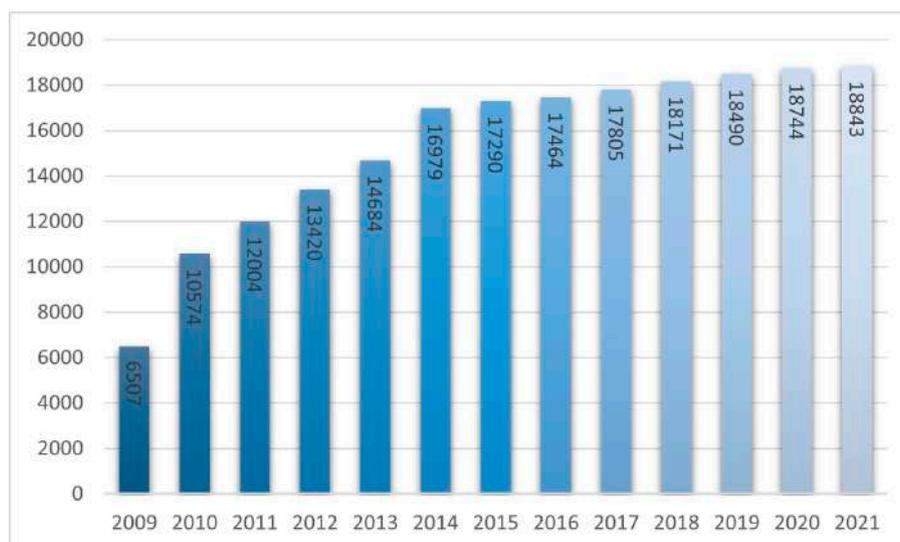
El biogás se puede utilizar como sustituto del gas natural en todas las aplicaciones, pero es difícil alcanzar los requisitos de calidad para algunas aplicaciones específicas (Khan *et al.*, 2017).

### **El papel de las plantas de biogás para la transformación de los residuos y la producción de la energía**

Las plantas de biogás recibirán una atención importante en los próximos años, porque presentan algunas ventajas en comparación con otras plantas de energía renovable, como el suministro flexible de electricidad y calor mediante el almacenamiento de gas, o la posible contribución de energía al sector del transporte y al sistema gasista.

Este tipo de plantas permitirán la producción de energía a partir de los residuos orgánicos generados de diversos sectores industriales tales como el agrícola-ganadero, alimentario, aceitero, el de bebidas alcohólicas, el sector del papel, etc., utilizándose en su propio autoconsumo energético, en la obtención de biocombustibles y, en el caso de los excedentes, en su comercialización para generar ingresos extras para la instalación (*Tipos de Plantas de Biogás Adaptadas a La Industria - Genia Bioenergy, n.d.*).

De acuerdo con la asociación europea del biogás (EBA), el número de plantas de este tipo en Europa creció a un ritmo constante a lo largo de 2018, hasta alcanzar las 18.202 unidades. Esto representó un aumento del 2 % con respecto a 2017, con 419 instalaciones de biogás adicionales. Los líderes en número de plantas son Alemania (11.084 plantas) e Italia (1.655 plantas). Les siguen Francia (837 plantas), Reino Unido (715 plantas) y Suiza (634 plantas). A finales de 2021 existían en la Unión Europea casi 19.000 plantas de biogás. La evolución de este dato es notable en la última década (**Figura 5**) (*European Biogas Association, n.d.*).



**Figura 5.** Evolución del número de plantas de biogás en Europa.

En España hay diversas instalaciones de biogás, con una producción energética de 2,74 TWh. De las plantas operativas, 46 están asociadas a vertederos, 34 a estaciones de depuración de aguas residuales, 13 al sector agropecuario, siete al sector del papel y el resto al sector químico, el alimentario y otros. En el año 2021 sólo una instalación, en Madrid, purificó el biogás en biometano y lo inyectó en la red de gasoductos, poco comparado con el resto de Europa, donde hay cerca de 725 plantas que inyectan biometano a la red gasista. El biogás ha tenido un desarrollo modesto en el país; sin embargo este ofrece un gran potencial, ya que en los sectores responsables de la generación de residuos orgánicos (como en el sector agropecuario y el agroalimentario) existen muchas industrias de gran tamaño que pueden activar el mercado rápidamente (Elorriaga, 2021).

## Contribución al ámbito de la transformación de los residuos para la producción de Energía con la investigación

Como he mencionado anteriormente, mi experiencia en la investigación comenzó hace 12 años con el grupo de ingeniería química ambiental y bioprocesos (IQUIMAB). Este grupo de la Universidad de León sigue diferentes líneas de investigación entre las que destaca la valorización energética de los residuos orgánicos, línea donde tuve la oportunidad de realizar mi trabajo y obtener el título de doctor en el año 2015. A continuación, haré un breve resumen de algunos de los principales resultados obtenidos a lo largo de los últimos años relacionados con esta temática y acorde con el contenido de este artículo.

La digestión anaerobia se viene aplicando en las estaciones depuradoras de aguas residuales desde hace décadas para el tratamiento de los lodos que se generan como subproducto del tratamiento de las aguas residuales. Esta tecnología juega un papel importante en la transformación de la materia orgánica en biogás y en la reducción de la cantidad de sólidos del lodo final y de patógenos presentes en el lodo.

En la mayoría de los casos, los lodos de depuradora se digieren solos, aunque la codigestión con otros sustratos podría ser beneficiosa con respecto al aumento de la producción de biogás (Luostarinen *et al.*, 2009). La codigestión o digestión conjunta de residuos es una estrategia muy utilizada para mejorar el rendimiento de biogás obtenido de los residuos; permite entre otras ventajas la dilución de compuestos tóxicos dentro del proceso, el incremento de la carga orgánica en el digestor, el aumento de la estabilización del digerido y el ahorro por el aprovechamiento de equipo y costes.

En el año 2011 se investigó la codigestión de lodos de depuradora con dos residuos diferentes de alto contenido de lípidos. La primera parte del trabajo experimental se centró en una evaluación de la codigestión de lodos de depuradora y residuos de aceites y grasas (FOG) separados de la trampa de grasas colocada en la etapa de pretratamiento en la depuración de aguas residuales (**Fig. 6a**). La segunda parte del trabajo experimental estudió la digestión individual de la grasa recuperada en la trampa de grasas de una planta procesadora de leche (**Fig. 6b**). El proceso de digestión se realizó en operación discontinua y semicontinua y a temperaturas mesófilas.

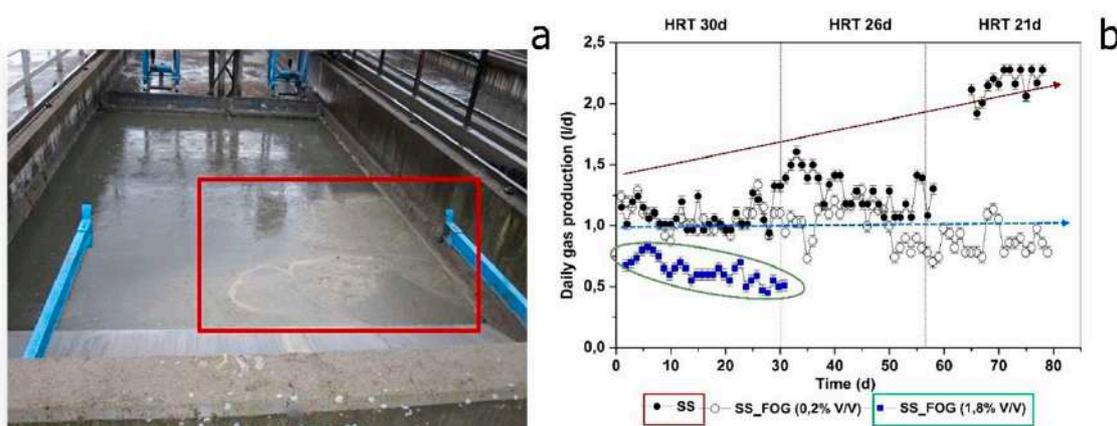
Se logró una digestión exitosa de los desechos, sin consecuencias inhibitorias, debido a la acumulación de ácidos grasos de cadena larga; además se observó un aumento en la producción de biogás durante la digestión por lotes de lodos de depuradora cuando se añadió el FOG como cosustrato. Respecto a la digestión de la grasa del procesado de leche, se observó también una operación exitosa en la codigestión; sin embargo, la adición de nutrientes puede ser necesaria para mantener este proceso a largo plazo (Martínez *et al.*, 2011).



**Figura 6.** Digestión de residuos con alto contenido en lípidos (a) FOG, (b) grasa del procesado de leche (Martínez Torres, 2015).

A partir de los resultados del proyecto anterior se investigó la digestión de residuos con alto contenido de lípidos y se evaluó la codigestión de lodos de depuradora y residuos de aceites y grasas (FOG) separados de la trampa de grasas de una planta de tratamiento de aguas residuales (**Fig. 7a**). Se utilizó una relación volumétrica del 0,2 % establecido en función de la producción volumétrica de estas corrientes en la planta. La digestión se llevó a cabo bajo operación semi-continua a temperaturas mesófilas.

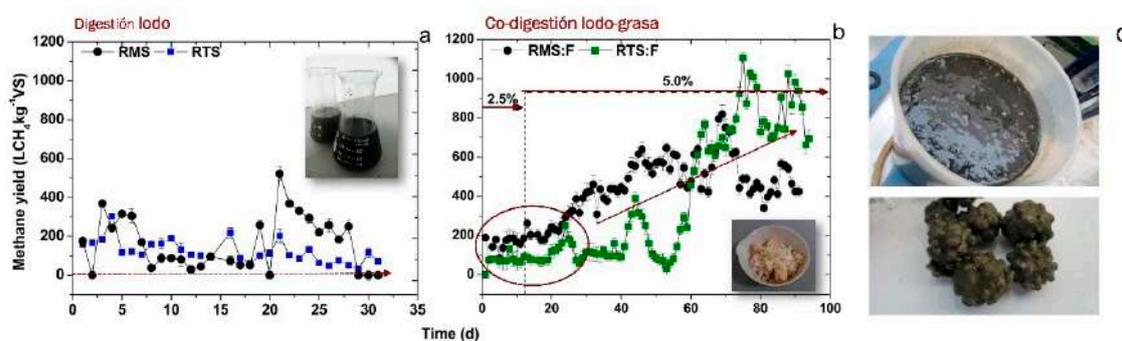
El tiempo de retención hidráulica de 30 días no produjo modificaciones observables en la producción específica de metano, cuando se añadió el cosustrato y en comparación con los resultados obtenidos de los sistemas de digestión de lodos. Sin embargo, una disminución en el tiempo de retención resultó en detrimento del reactor de codigestión, lo que se atribuyó a un proceso inhibitor asociado con la adsorción de FOG en lodos activos (ver evolución del proceso en la **Figura 7b**) (Martínez *et al.*, 2012).



**Figura 7.** Digestión de residuos con alto contenido en lípidos. (a) Trampa de grasas en la estación depuradora para obtención de FOG, (b) Evolución de la digestión de los residuos (Martínez Torres, 2015).

En la misma línea de codigestión de residuos, los residuos grasos desechados de las carnicerías se utilizaron como cosustrato en la codigestión anaerobia

de lodos de depuradora. El proceso fue evaluado bajo condiciones mesófilas y termófilas. La codigestión se logró con éxito, a pesar de algunas etapas de inhibición iniciales que tuvieron su origen en la acumulación de ácidos grasos volátiles y a la adsorción de ácidos grasos de cadena larga. La adición de una grasa residual del procesado de alimentos mejoró la digestión y se obtuvo un mayor rendimiento de biogás gracias a la mayor tasa de carga orgánica aplicada a los reactores (**Figura 8a-b**). Sin embargo, la digestión termófila se caracterizó por un efluente de pobre calidad y alto contenido en ácidos grasos volátiles. Los resultados del análisis espectroscópico sugirieron la adsorción de componentes lipídicos sobre el digerido, perturbando así la degradación completa del sustrato durante el tratamiento. La formación de agregados grasos en el sistema termófilo evitó el fallo del proceso al impedir la exposición de la biomasa al efecto tóxico de altas concentraciones de ácidos grasos de cadena larga (**Figura 8c**) (Martínez *et al.*, 2016).



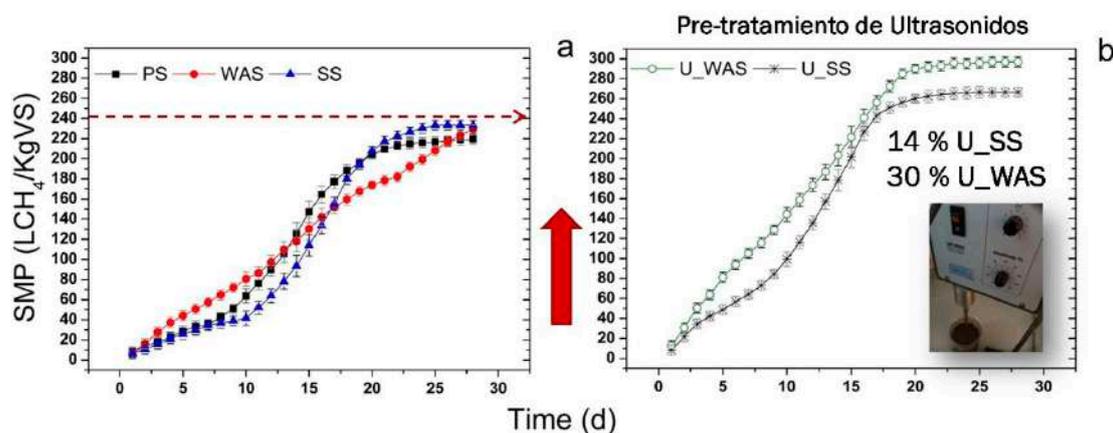
**Figura 8.** Evolución de la digestión de lodos de depuradora. (a) Digestión de lodo mezcla, en mesófilo y termófilo, (b) codigestión de lodo y grasa, (c) efluente de la digestión y agregados grasos (Martínez Torres, 2015).

Además de los residuos orgánicos provenientes del tratamiento de aguas o el procesado de alimentos, la digestión anaerobia es una tecnología eficiente también para valorizar otro tipo de residuos obtenidos de la agricultura y ganadería. En este tipo de biomasa, su dilución para ser tratada en un digestor anaeróbico convencional puede no ser una alternativa adecuada; para ello se propone el sistema de percolación en fase sólida. Este tipo de sistemas de digestión requiere un volumen bajo de agua, por lo que se necesita un reactor más pequeño. En esta línea, se estudió la digestión anaerobia del estiércol de aves y los lodos primarios en un reactor de percolación con alto contenido de sólidos.

Se observó una producción de biogás dos veces mayor con la adición de cosustrato junto con un aumento de 46 a 64 % en la eliminación de material orgánico. La acidificación inicial del percolado podría estar perfectamente equilibrado por la alta alcalinidad del sistema. El rendimiento de metano obtenido de la codigestión fue de 56,5 l CH<sub>4</sub>/kg sólido volátil mientras que la digestión de estiércol de ave resultó en un valor de 24,6 (Fierro *et al.*, 2013).

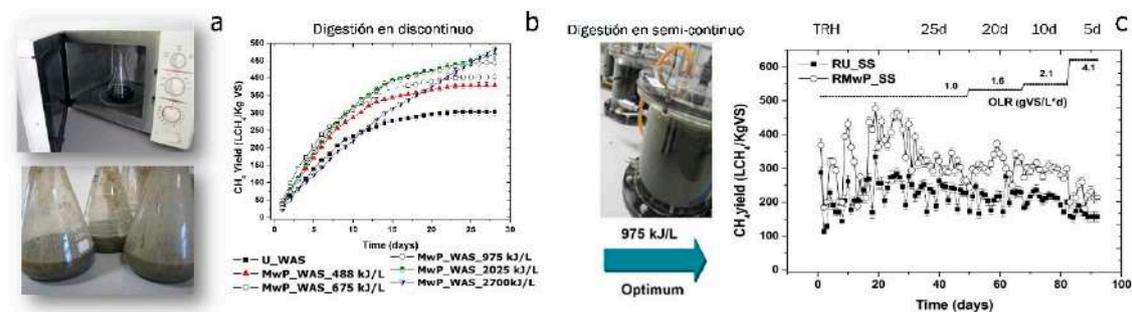
En ocasiones, la codigestión usada como estrategia para mejorar el rendimiento de biogás no es suficiente o aplicable para el tratamiento de algunos

residuos orgánicos, por lo que, la aplicación de ciertos tratamientos previos o pretratamientos a los residuos puede aportar otro tipo de beneficios al proceso de digestión anaerobia. Este fue el caso del pretratamiento de ultrasonidos aplicado a los lodos de depuradora, con el fin de mejorar la digestión, cambiar la distribución del tamaño de partículas y aumentar la velocidad de deshidratación de los digeridos (medida por el tiempo de succión capilar (CST) y resistencia específica a la filtración (SRF)). Como resultados de esta investigación se observó un aumento en la producción de gas cuando se usó el lodo pretratado con ultrasonidos (24 kHz) a una dosis de energía de 4300 kJ/kg sólido total (**Fig. 9**). Además, el digerido de lodos activados residuales pretratados presentó un mejor comportamiento para la deshidratación (Martínez *et al.*, 2015).



**Figura 9.** Evolución de la digestión de lodos de depuradora. (a) PS-Lodo primario, WAS-Lodo Secundario, SS-Lodo mezcla, sin tratamiento y (b) tratados con ultrasonidos (Martínez Torres, 2015).

Además de los ultrasonidos, se estudió el efecto del pretratamiento con microondas (MwP) sobre la digestión anaerobia de lodos de depuradora (**Fig. 10a**). El efecto del pretratamiento con bajo aporte de energía (<1000 kJ L<sup>-1</sup>) sobre la solubilización de lodos se estudió con la ayuda de la metodología de superficie de respuesta. Posteriormente se estudió el proceso de pretratamiento a energías de 488-2700 kJ L<sup>-1</sup> para evaluar la mejora en la producción de biogás en condiciones mesófilas. Los resultados mostraron un aumento en la solubilización de la materia orgánica con el aumento de la energía aplicada. Las modificaciones en la superficie específica de la materia orgánica debido al pretratamiento dieron como resultado incrementos en la producción de metano (**Fig. 10b**). Sin embargo, se observó una acumulación de compuestos complejos en los perfiles térmicos al máximo aporte de energía (2700 kJ L<sup>-1</sup>). Los experimentos de digestión semicontinua se evaluaron utilizando como sustrato lodos pretratados al valor energético óptimo (975 kJ L<sup>-1</sup>), los resultados mostraron un aumento significativo en el rendimiento de metano (43 %) al evaluar el proceso en tiempos de retención hidráulica de 25 a 10 días (**Fig. 10c**) (Martínez *et al.*, 2017).

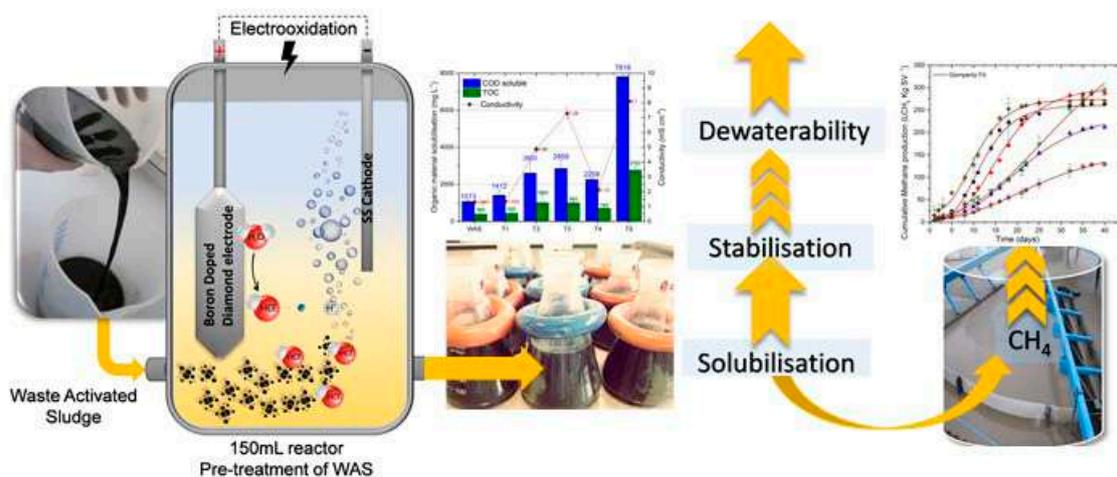


**Figura 10.** Evolución de la digestión de lodos de depuradora. (a) Pretratamiento con microondas, (b) digestión en discontinuo con diferente energía aplicada, (c) digestión en semicontinuo con el óptimo de energía de microondas (Martínez Torres, 2015).

Asimismo, durante estos últimos años se han evaluado otras estrategias para mejorar la producción de biogás y por ende la producción de energía obtenida de diferentes residuos. Se evaluó el efecto de la adición de pulsos de hidrógeno sobre el rendimiento de la digestión de lodos de depuradora como medio para incrementar la eficiencia de la producción de metano. La adición de hidrógeno a la digestión de lodos de depuradora dio como resultado un aumento del 12 % en la producción de biogás con respecto al control (1353 ml de  $\text{CH}_4$   $\text{d}^{-1}$  a un caudal de inyección de 1938 ml de  $\text{H}_2$   $\text{d}^{-1}$ ) (Martínez *et al.*, 2019).

Como estrategia de pretratamiento avanzado se utilizó la electrooxidación u oxidación electroquímica aplicada a residuos orgánicos difíciles de tratar, ya que, entre otros beneficios, la electrooxidación puede eliminar sustancias tóxicas en los sistemas biológicos y disminuye la cantidad de material orgánico a digerir, el cual probablemente puede dar lugar a inestabilidades que conduzcan al fracaso del proceso biológico. Se aplicó la electrooxidación como pretratamiento utilizando electrodos a base de diamante dopados con boro. El voltaje fue de 25 V y se probaron diferentes tiempos de tratamiento (que oscilaron entre 0,08 y 1,5 h) a 25 °C. Se evaluó la digestión anaeróbica de lías de vino (residuo con muy alta carga orgánica y sustancias complejas) en pruebas en discontinuo para investigar el efecto de la electrooxidación sobre el rendimiento de biogás. La electrooxidación mostró un efecto positivo significativo en la producción de biogás, aumentando su valor hasta 330 L  $\text{kg}^{-1}$  de sólidos volátiles después de 1,5 h de tratamiento, en comparación con 180 L  $\text{kg}^{-1}$  de sólidos volátiles medidos a partir de lías de vino crudas (Sevillano *et al.*, 2020).

Se revisó también la electrooxidación como medio para mejorar la estabilización de lodos. Se utilizaron electrodos de diamante dopados con boro para tratar lodos activados residuales y digestato bajo diferentes parámetros operativos (densidad de corriente, conductividad, pH y tiempo). Los procesos de electrooxidación afectaron la solubilización de la materia orgánica, lo que pareció mejorar las características de digestión anaeróbica y deshidratación (Figura 11) (Arenas *et al.*, 2021).



**Figura 11.** Aplicación de electrooxidación como pretratamiento avanzado para la digestión y estabilización de los lodos de depuradora (Arenas *et al.*, 2021).

Igualmente, se ha propuesto la oxidación electroquímica como una nueva vía para tratar el agua de proceso obtenida de la carbonización hidrotermal de la poda de olivo, esto con el objetivo de mejorar el rendimiento global de los tratamientos térmicos para la biomasa y en un futuro acoplarlo a un sistema biológico (González-Arias *et al.*, 2023).

En conclusión, la digestión anaerobia es una tecnología ahora conocida con amplia aplicación en el tratamiento de residuos orgánicos y producción de gases renovables traduciéndose en generación de energía limpia. La viabilidad económica de este tipo de instalaciones suele conseguirse gracias a la disponibilidad de incentivos fiscales, y hoy en día la digestión puede jugar un papel importante en cualquier proceso de transformación donde los subproductos necesiten una mayor estabilización, o puede ser el núcleo central de cualquier proceso de tratamiento de residuos, modificando el esquema actual mediante una sucesión de varias actividades con el objetivo de aumentar la eficiencia de la conversión. Así, las plantas actuales dedicadas al tratamiento de aguas residuales, estiércol animal o desechos de alimentos, pueden convertirse en centros especializados en la producción de bioenergía y productos químicos ecológicos.

## Referencias

- Abatzoglou, N. y Boivin, S. 2009. A review of biogas purification processes. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 3:42–71.
- Arenas, C.B., González, R., González, J., Cara, J., Papaharalabos, G., Gómez, X. y Martínez, E.J. 2021. Assessment of electrooxidation as pre- and post-treatments for improving anaerobic digestion and stabilisation of waste activated sludge. *Journal of Environmental Management*, 288: 112365.
- Cavana, M. y Leone, P. 2019. Biogas blending into the gas grid of a small municipality for the decarbonization of the heating sector. *Biomass and Bioenergy*, 127: 105295.

- Council Directive 2008/98/CE. 2008. Directive 2008/98/EC. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0098&from=EN>
- Elorriaga, J.C.G. 2021. Hoja de ruta del biogás para cuadruplicar la producción en 2030. *Gas Actual*, 160: 28–33.
- European Biogas Association. (n.d.). Retrieved October 14, 2023, from <https://www.europeanbiogas.eu/>
- Fierro, J., Martínez, J.E., Rosas, J.G., Blanco, D. y Gómez, X. 2013. Anaerobic codigestion of poultry manure and sewage sludge under solid-phase configuration. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 33(3): 866–872.
- Gases renovables | Enagás. (n.d.). Retrieved March 3, 2022, from [https://www.enagas.es/enagas/es/Sostenibilidad/Compromiso con la transicion energetica/Gases\\_renovables](https://www.enagas.es/enagas/es/Sostenibilidad/Compromiso con la transicion energetica/Gases_renovables)
- Gases renovables | SEDIGAS - Asociación Española del Gas. (n.d.). Retrieved March 3, 2022, from <https://www.sedigas.es/new/gases-renovables/>
- González-Arias, J., de la Rubia, M.A., Sánchez, M.E., Gómez, X., Cara-Jiménez, J. y Martínez, E.J. 2023. Treatment of hydrothermal carbonization process water by electrochemical oxidation: Assessment of process performance. *Environmental Research*, 216, 4: 114773.
- Hengeveld, E.J., Bekkering, J., van Gemert, W.J.T. y Broekhuis, A.A. 2016. Biogas infrastructures from farm to regional scale, prospects of biogas transport grids. *Biomass and Bioenergy*, 86: 43–52.
- Instituto Nacional de Estadística. (n.d.). INEbase / Agricultura y medio ambiente / Residuos y Protección ambiental / Estadísticas sobre generación de residuos / Últimos datos. Retrieved October 10, 2023, from [https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=estadistica\\_C&cid=1254736176841&menu=ulti-Datos&idp=1254735976612](https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=estadistica_C&cid=1254736176841&menu=ulti-Datos&idp=1254735976612)
- Khan, I.U., Othman, M.H.D., Hashim, H., Matsuura, T. *et al.* 2017. Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage. *Energy Conversion and Management*, 150:277–294.
- Lund, H., Werner, S., Wiltshire, R., Svendsen, S. *et al.* 2014. 4th Generation District Heating (4GDH). Integrating smart thermal grids into future sustainable energy systems. *Energy*, 68: 1–11.
- Luostarinen, S., Luste, S. y Sillanpää, M. 2009. Increased biogas production at wastewater treatment plants through co-digestion of sewage sludge with grease trap sludge from a meat processing plant. *Bioresource Technology*, 100: 79–85.
- Martínez, E.J., Fierro, J., Sánchez, M.E. y Gómez, X. 2012. Anaerobic co-digestion of FOG and sewage sludge: Study of the process by Fourier transform infrared spectroscopy. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 75: 1-6.
- Martínez, E.J., Gil, M. V., Rosas, J. G., Moreno, R., Mateos, R., Morán, A. y Gómez, X. 2017. Application of thermal analysis for evaluating the digestion of microwave

- pre-treated sewage sludge. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 127(2): 1209–1219.
- Martínez, E.J., Gil, M.V, Fernández, C., Rosas, J.G. y Gómez, X. 2016. Anaerobic codigestion of sludge: addition of butcher's fat waste as a cosubstrate for increasing biogas production. *PloS One*, 11(3): 1–13.
- Martínez, E.J., Redondas, V., Fierro, J., Gómez, X., y Morán, A. 2011. Anaerobic digestion of high lipid content wastes: FOG co-digestion and milk processing fat digestion. *Journal of Residuals Science & Technology*, 8: 53–60.
- Martínez, E., Rosas, J., Morán, A. y Gómez, X. 2015. Effect of ultrasound pretreatment on sludge digestion and dewatering characteristics: application of particle size analysis. *Water*, 7(11): 6483–6495.
- Martínez, E., Sotres, A., Arenas, C., Blanco, D., Martínez, O. y Gómez, X. 2019. Improving anaerobic digestion of sewage sludge by hydrogen addition: Analysis of microbial populations and process performance. *Energies*, 12(7): 1228.
- Martínez Torres, E.J. 2015. Digestión anaerobia de lodos y residuos agroindustriales. Tesis Doctoral Universidad de León. <https://doi.org/10.18002/10612/7766>
- Plan Nacional Integrado de Energía y Clima (PNIEC) 2021-2030. (n.d.).
- Primera conexión de biometano a la red gasista impulsada por una iniciativa privada | Enagás. (n.d.). Retrieved March 9, 2022, from [https://www.enagas.es/enagas/es/Comunicacion/NotasPrensa/04\\_03\\_2021\\_NP\\_Conexi%C3%B3n\\_a\\_red\\_planta\\_La\\_Galera](https://www.enagas.es/enagas/es/Comunicacion/NotasPrensa/04_03_2021_NP_Conexi%C3%B3n_a_red_planta_La_Galera)
- Red Eléctrica Española. (n.d.-a). Informe del sistema eléctrico | Informes del sistema. Retrieved October 10, 2023, from <https://www.sistemaelectrico-ree.es/informe-del-sistema-electrico>
- Red Eléctrica Española. (n.d.-b). REData - Generación | Red Eléctrica. Retrieved October 10, 2023, from <https://www.ree.es/es/datos/generacion>
- Roca, J.A. 2023. España conseguirá generar más del 50 % de la electricidad con energía renovable en 2023 - El Periódico de la Energía 23.06.23. <https://elperiodicodelaenergia.com/espana-conseguira-generar-mas-del-50-de-la-electricidad-con-energia-renovable-en-2023/>
- Sevillano, C.B.A., Chiappero, M., Gomez, X., Fiore, S. y Martínez, E.J. 2020. Improving the anaerobic digestion of wine-industry liquid wastes: treatment by electro-oxidation and use of ibochar as an additive. *Energies*, 13: 5971.
- Tipos de plantas de biogás adaptadas a la industria - Genia Bioenergy. (n.d.). Retrieved October 14, 2023, from <https://geniabioenergy.com/tipos-de-plantas-de-biogas/>
- Troup, H. 2016. Electricity is on track for decarbonisation, but what about decarbonising heat? *Renewable Energy Focus*, 17: 178–179.

## Coexistencia en ecosistemas sub-Mediterráneos y cambio climático

Iván Prieto<sup>1</sup>, Elena Marcos Porras<sup>1</sup>, Jesús Rodríguez-Calcerrada<sup>2</sup>, Guillermo G. Gordaliza<sup>2</sup>, Leonor Calvo<sup>1</sup>, Enrique de la Riva<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Grupo de Investigación GEAT. Área de Ecología, Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de León. Campus de Vegazana s/n, 24071, León, España.
- <sup>2</sup> Área de Producción Vegetal, Departamento de Sistemas y Recursos Naturales, Escuela Técnica Superior Ingeniería de Montes, Forestal y Medio Natural. Universidad Politécnica de Madrid.

### Resumen

En la Península Ibérica se dan cambios graduales entre la vegetación Mediterránea y Eurosiberiana, encontrando áreas de ecotono donde conviven comunidades vegetales de ambas regiones, conocidas como zonas Sub-Mediterráneas. En general, estas zonas de ecotono se caracterizan por albergar una gran diversidad y representan áreas prioritarias desde el punto de vista de la conservación. Las predicciones del IPCC indican que el clima en la cuenca Mediterránea se volverá más cálido y seco, lo que implicará cambios sustanciales en la composición de especies de los ecosistemas forestales de estas zonas límite. Por lo tanto, se considera que son ecosistemas altamente vulnerables al cambio climático y un área de investigación prioritaria. En este artículo, abordamos cómo la ecología funcional, que focaliza sus estudios en los rasgos o características de la hoja, tallo y raíz, puede ayudar a explicar la coexistencia entre especies eurosiberianas, como el haya, y especies mediterráneas, como el roble melojo, en estos ecotonos o ecosistemas de transición. El Grupo de Ecología Aplicada y Teledetección (GEAT) de la Universidad de León desarrolla parte de su investigación en identificar y predecir cómo el cambio climático puede afectar a las comunidades vegetales de estos ecotonos.

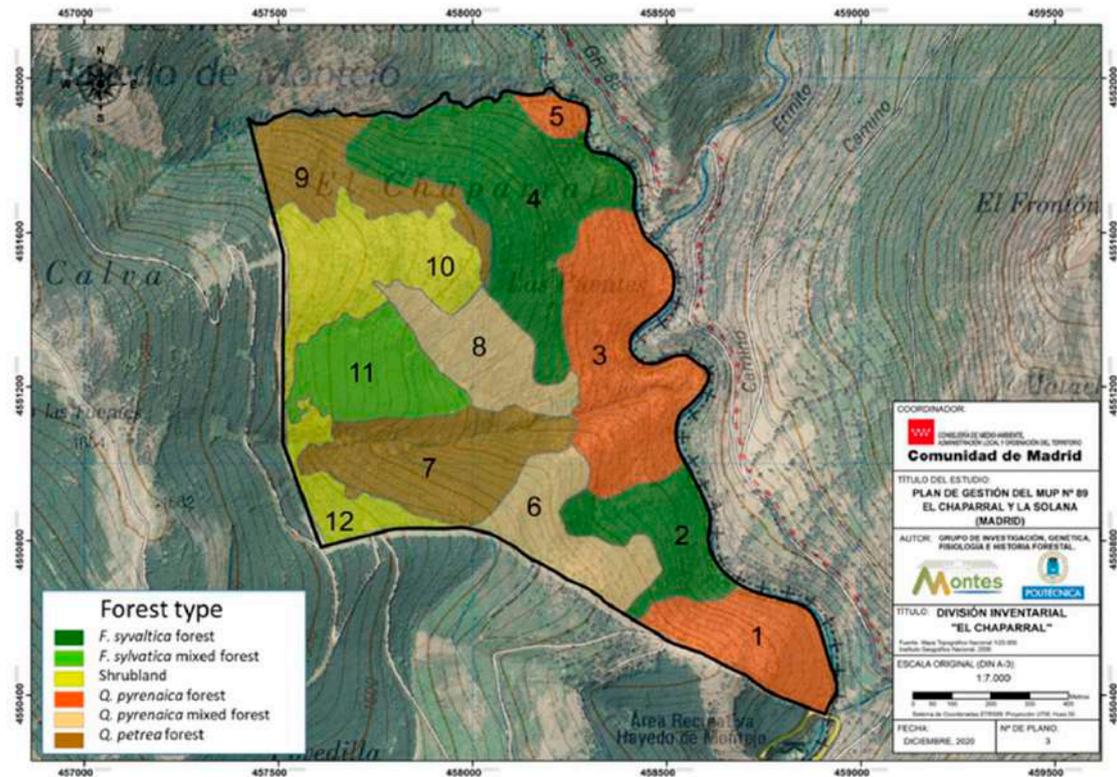
### Palabras clave

Bosque mixto, cambio climático, comunidades vegetales, *Fagus sylvatica*, hayedo de Montejo, *Quercus pyrenaica*

### Las regiones Sub-Mediterráneas

Los ecosistemas de tipo Mediterráneo en Europa se ubican en el gradiente biogeográfico que va desde los bosques templados de la zona Eurosiberiana en el norte de Europa hasta los ecosistemas semiáridos en el sur. La Península Ibérica ocupa alrededor del 20 % de la superficie total de la región mediterránea (Quézel, 1985) con un gradiente claro entre las zonas típicamente Mediterráneas

y las pertenecientes a la región Eurosiberiana, distribuida principalmente en una pequeña franja al norte que engloba Galicia, el norte de la Cordillera Cantábrica y Pirineos. La zona de contacto entre ambas regiones es una de las fronteras más extensas entre la vegetación Mediterránea y Eurosiberiana, conocida como zona Sub-Mediterránea (de Dios *et al.*, 2009). Esta frontera no tiene un límite geográfico bien definido y depende de muchos factores como la latitud, la altitud y la orografía, por lo que estas zonas de transición se caracterizan por un cambio gradual de vegetación con una banda intermedia donde coexisten comunidades vegetales con especies características de ambas regiones, e incluso endemismos de estas áreas (de Dios *et al.*, 2009). Estas zonas Sub-Mediterráneas constituyen actualmente los márgenes más meridionales de los rangos de distribución de numerosas especies de Europa central, que coexisten con la vegetación Mediterránea. La dominancia de ciertas especies de arbolado como la encina (*Quercus ilex*) o el roble melojo (*Quercus pyrenaica*), ambas típicamente mediterráneas, o el haya (*Fagus sylvatica*), el abedul (*Betula alba*), el roble albar (*Quercus petraea*) o el roble carballo (*Quercus robur*), características de la vegetación Eurosiberiana y ausentes en los ecosistemas mediterráneos, permiten la diferenciación entre comunidades Mediterráneas y Eurosiberianas. Las especies Eurosiberianas están adaptadas a climas oceánicos o continentales de veranos húmedos y templados, si bien más de la mitad del año la temperatura es muy baja, por lo que se desprenden de su follaje y ralentizan su metabolismo con el fin de superar este período adverso sin sufrir daños. Durante el corto periodo con temperaturas favorables y humedad en el suelo, las especies Eurosiberianas ponen en marcha su eficiente maquinaria fotosintética (el proceso por el que las plantas captan CO<sub>2</sub> de la atmósfera y lo convierten en azúcares que nutren a la planta), lo que les permite crecer rápido y competir con ventaja frente a otras especies de árboles. Por otro lado, las especies Mediterráneas como el roble melojo o la encina están adaptadas a climas más cálidos, siendo capaces de resistir temperaturas muy altas y una fuerte y prolongada sequía estival, con el coste funcional que ello conlleva para sus tasas fotosintéticas y su crecimiento, más lento que el de las especies Eurosiberianas. En las zonas Sub-Mediterráneas donde conviven ambos tipos de especies, es posible que pequeñas variaciones en las condiciones ambientales locales debidas, por ejemplo, a la altitud o la orientación, puedan dar como resultado comunidades vegetales con diferente composición de especies, creando mosaicos heterogéneos que varían en una escala espacial muy pequeña (**Fig. 1**); Nagy *et al.* (2003) consideran estas áreas como unas de las más diversas del planeta.



**Figura 1.** Ejemplo de distribución forestal en un bosque Sub-Mediterráneo (Hayedo de Montejo en la Sierra del Rincón, Comunidad de Madrid). Comunidades mediterráneas: bosques y matorrales de roble melojo (*Quercus pyrenaica*); comunidades eurosiberianas: bosques de haya (*Fagus sylvatica*) y roble albar (*Quercus petraea*); y bosques mixtos mediterráneos y eurosiberianos (bosques dominados por *Quercus pyrenaica* o *Fagus sylvatica*). Figura adaptada de Gil *et al.* (2010).

### ¿Cómo pueden coexistir especies tan diferentes en estos ecosistemas?

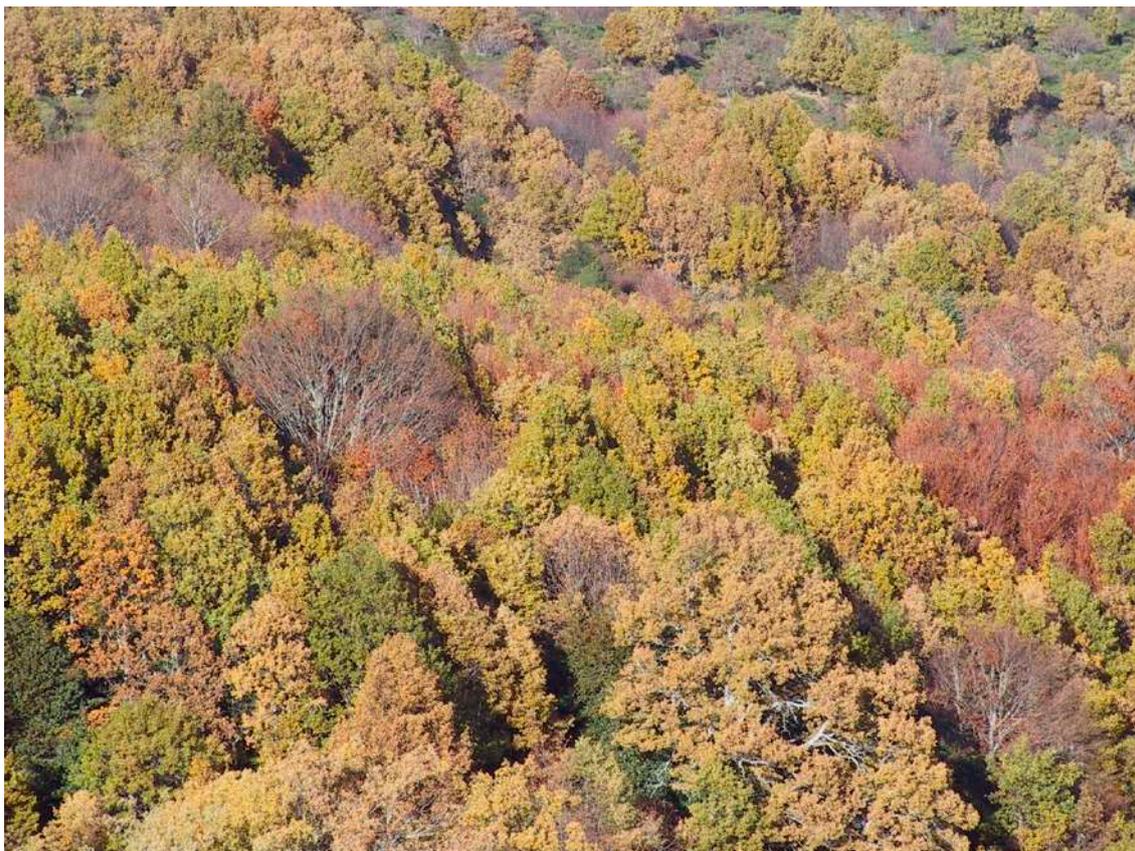
Un buen ejemplo de un bosque Sub-Mediterráneo se encuentra en el Hayedo de Montejo, que representa un enclave único que permite encontrar un paisaje propio de los bosques centroeuropeos en un entorno mediterráneo del centro peninsular (Gil *et al.*, 2011), donde conviven hayas y robles (Fig. 2), y que representa uno de los hayedos más meridionales de la Península Ibérica. Esta particularidad, entre otros factores, hizo que el Hayedo de Montejo se incorporase a la Reserva de la Biosfera Sierra del Rincón en el año 2005, con más de 15.000 ha, y en el año 2017 se declarase patrimonio de la humanidad por la UNESCO. Esto lo ha convertido en un lugar de referencia tanto a nivel de investigación como de gestión ambiental.



**Figura 2.** Camino de acceso a lo largo de una acequia de riego en la parte alta del Hayedo de Montejo bajo el dosel dominado por el haya (*Fagus sylvatica*).

Dos de las especies arbóreas dominantes que conviven en este bosque son el haya (*Fagus sylvatica*) y el melojo (*Quercus pyrenaica*) (**Fig. 3**). Para entender bien cómo estas dos especies son capaces de coexistir es preciso conocer algunos conceptos de su funcionamiento ecológico. Es esperable que dos especies coexistan en “armonía” si son capaces de reducir su competencia por los recursos (luz, agua y nutrientes), de tal manera que una especie no excluya a la otra. Esto puede ocurrir siempre que las especies no compartan el mismo espacio dentro del bosque, sino más bien que se diferencien espacialmente al utilizar los recursos de diferentes lugares, lo que se conoce como segregación **espacial**. Por lo tanto, la segregación espacial ocurre cuando las especies forman parte de comunidades diferentes dentro del bosque. La razón para que esto ocurra se basa en que pequeñas variaciones en las condiciones ambientales a escalas espaciales muy estrechas pueden beneficiar a una especie u otra –supongamos, por ejemplo, que las zonas más pedregosas, con mayor pendiente o diferente orientación favorecen más al roble melojo que al haya, que necesita suelos más profundos y permeables. También puede ocurrir que ambas especies compartan el mismo espacio, pero utilicen diferentes recursos para sobrevivir; por ejemplo, una especie utiliza el agua más superficial y otra el agua más profunda, lo que se conoce como segregación **funcional**. La segregación **funcional** se basa en que las especies

poseen características (rasgos funcionales) diferentes que les permiten convivir en un mismo sitio utilizando los recursos disponibles de manera complementaria. Por ejemplo, las hayas, por lo general de mayor tolerancia a la sombra que los melojos, tienen hojas con una mayor superficie foliar específica (es decir, mayor superficie foliar con relación a su masa foliar) lo que les hace invertir menos biomasa en formar hojas grandes y captar la luz solar de manera eficiente, en comparación a las hojas de melojo. Además de la segregación espacial y funcional, ambas especies son capaces de convivir manteniendo un equilibrio en sus esfuerzos reproductivos (*fitness*), es decir, el número de semillas que llegan a convertirse en árboles juveniles es similar en ambas especies. Diferenciar entre estos procesos y determinar cuál es el que realmente controla la coexistencia de estas especies es clave en regiones Sub-Mediterráneas ya que nos permitirá inferir los cambios del bosque en el futuro y dentro de un contexto de cambio climático. Por lo tanto, este conocimiento científico será la base para adoptar las medidas de gestión más adecuadas que permitan mantener la biodiversidad de este hayedo protegido y, por ende, de todos los que estén bajo el mismo escenario de cambio global.



**Figura 3.** Vista del Hayedo de Montejo en otoño. Se pueden observar las hayas (hojas de color amarillo) conviviendo con los robles melojos (hojas de color cobrizo).

Entonces, ¿pueden *el haya y el roble melojo convivir (por ahora) pese a ser tan distintos?* La respuesta es sí. Gracias a un trabajo reciente publicado en la revista especializada "*Forest Ecosystems*" (de Tomás Marín *et al.*, 2023), obser-

vamos que el haya y el roble melojo muestran una fuerte segregación del nicho funcional, o dicho en otras palabras, poseen diferentes rasgos que les permiten utilizar los recursos de manera muy diferente (**segregación funcional**). Para entender esto un poco mejor hay que explicar que, en las plantas, dicha variación funcional se basa en un compromiso entre el gasto de recursos en construir sus diferentes tejidos y la longevidad y grado de resistencia de los mismos (Reich, 2014; Prieto *et al.*, 2018). Podemos decir que una planta es muy adquisitiva cuando hace un acopio veloz de recursos que invierte rápidamente en tejidos poco duraderos (lo equivalente a “vive rápido y muere joven”); en el lado opuesto están las especies conservativas que invierten mucho en construir tejidos duraderos y resistentes (por ejemplo, frente a la sequía). En este sentido, el haya posee estrategias de uso de los recursos más adquisitivas, en contraste con el roble melojo de tendencia conservativa. Además, algo a destacar es la elevada variabilidad que presenta el haya en sus características funcionales, lo que supone que la selección natural ha favorecido que las hayas posean características (por ejemplo, la superficie foliar específica) que les permiten adaptarse mejor que el roble melojo a las múltiples variaciones ambientales de Montejo. Por otro lado, también hemos observado que existe cierta **segregación espacial** entre las dos especies, ya que los robles melojos se distribuyen preferencialmente en zonas de mayor pendiente que las hayas. Esta segregación no está relacionada tanto con diferencias en sus nichos ambientales (requerimientos ambientales) sino con un fuerte componente histórico. El haya es una especie más sensible a la actividad humana que el roble melojo, por lo que históricamente se ha visto más perjudicada por el manejo histórico de este bosque (Gil *et al.*, 2011). El roble melojo, por su parte, consiguió establecerse en zonas de mayor pendiente donde es más difícil realizar actividades por el ser humano, utilizando estas zonas como refugio. Por último, en nuestro estudio vimos cómo ambas especies presentaban ligeras diferencias en su reproducción. Mientras que las hayas producen un gran número de plántulas que se distribuían por todo el bosque, pero con baja probabilidad de llegar a convertirse en árboles juveniles, el número de plántulas de roble melojo era más reducido y concentrado principalmente en las zonas donde domina el melojo, aunque su probabilidad de llegar a convertirse en árboles juveniles era mucho mayor.

### **Viviendo al límite: ¿comunidades vegetales en armonía o en competencia?**

Como hemos visto, el haya y el roble melojo conviven en el Hayedo de Montejo, pero si alguna vez hemos paseado por algún bosque de la Península Ibérica es fácil imaginar que estas especies no viven solas, sino que comparten espacio con otras muchas especies de árboles y arbustos (nosotros hemos contabilizado 23 especies leñosas, a las que se suman más de 400 herbáceas). En el Hayedo de Montejo, además del haya y el roble melojo, podemos encontrar árboles tan emblemáticos como el acebo (*Ilex aquifolium*) o el tejo (*Taxus baccata*) y otros más comunes como el roble albar (*Quercus petraea*), el mostajo (*Sorbus aria*),

el serbal de cazadores (*Sorbus aucuparia*), el cerezo silvestre (*Prunus avium*) o el majuelo (*Crataegus monogyna*), además de arbustos como el rosal silvestre (*Rosa canina*) o la zarzamora (*Rubus ulmifolius*) y enredaderas como la hiedra (*Hedera helix*). La pregunta que nos hacemos entonces es, *¿cómo pueden todas estas especies compartir espacio en este bosque tan diverso?* La respuesta viene de la mano de nuevo de la ecología funcional. Al igual que para el haya y el roble melojo, cuantificamos las estrategias funcionales de cada especie en cuanto a los rasgos de hoja, tallo y raíz (de la Riva *et al.*, 2023) y observamos que, a medida que aumenta el número de especies en el bosque, la diversidad de estrategias funcionales (cantidad de estrategias diferentes) también aumenta. Esto puede ser más o menos esperable ya que, por probabilidad, al aumentar la cantidad de especies debería ser mayor la diversidad, pero en realidad, esto sólo ocurre cuando las estrategias de las especies son significativamente diferentes entre sí, como ocurre en Montejo. Imaginemos que todas las especies tuviesen similares estrategias funcionales, por ejemplo, un bosque con varias especies de pino; en este supuesto, la diversidad funcional no aumentaría, o aumentaría muy poco al aumentar el número de especies en la comunidad ya que seguirían siendo todas similares funcionalmente. Este aumento en la diversidad funcional del bosque en Montejo se debe probablemente a que, en estos ecotonos o zonas de transición entre dos ecosistemas tan diferentes, la heterogeneidad de condiciones crea una gran cantidad de recursos diferentes lo que facilita la coexistencia de muchas especies con estrategias funcionales diferentes. Asimismo, observamos que, al aumentar el número de especies en el bosque, también aumentaba el grado de solapamiento entre las estrategias funcionales, es decir, la cantidad de similitud en los rasgos funcionales entre especies, lo que podría aumentar la competencia entre ellas (al compartir el uso de los recursos). Sin embargo, se constató que a medida que el solapamiento aumenta, las especies que se incorporan a la comunidad están más especializadas en ocupar los nichos de recursos vacíos, reduciendo por tanto la competencia y facilitando la coexistencia con otras especies. Esto apoya la idea de que, en estas zonas de ecotono o transición, las comunidades vegetales son estables gracias a la modulación de la competencia por los recursos disponibles, dando lugar al gran mosaico de comunidades vegetales con diferente riqueza, composición y diversidad funcional.

### **Cambio climático: una amenaza para las áreas Sub-Mediterráneas**

El clima en la cuenca del Mediterráneo occidental, en el que se encuentra la Península Ibérica, se está volviendo cada vez más cálido y seco (Ali *et al.*, 2022; IPCC, 2022), y todo apunta a que, incluso ligeras modificaciones en el clima, provoquen cambios sustanciales en la composición de las especies de plantas (de Dios *et al.*, 2009; Ruiz-Labourdette *et al.*, 2013), lo que hace que estas zonas Sub-Mediterráneas sean muy vulnerables al cambio climático y se conviertan en áreas prioritarias de interés para la investigación aplicada y básica. Gestionar las masas forestales para fomentar una mayor diversidad en este contexto no es una

tarea fácil puesto que estas comunidades vegetales son sistemas dinámicos y en constante evolución. Como hemos visto, las hayas y los robles melojos presentan estrategias funcionales diferentes, lo cual suele modular la competencia por los recursos, por lo que, en el contexto de clima actual, son capaces de cohabitar en estos bosques. Sin embargo, especies muy adquisitivas y con elevada capacidad de regeneración, como es el caso del haya, tienden a ser muy competitivas y a desplazar al resto de especies con las que cohabitan. Así pues, y en una evolución normal con condiciones favorables como las actuales, el haya terminaría desplazando al roble melojo. Observando los datos de distribución de las especies durante las últimas décadas en esta zona de estudio se corrobora el aumento del haya en detrimento del roble melojo (Gil *et al.*, 2010). Así, una posibilidad es que a medio plazo el haya se convierta en la especie dominante en Montejo, al igual que en la mayoría de los bosques templados europeos, relegando al roble melojo a zonas menos propicias, como puedan ser aquellas con suelos poco profundos y de elevada pendiente. En esta predicción es necesario incorporar otra variable climática clave que es la disponibilidad de agua. En ese sentido, el haya es una especie muy sensible a la escasez de agua y en diferentes estudios se ha constatado que su distribución se está constriñendo por la disminución de la precipitación y el aumento de temperatura debidas al cambio climático (Martinez del Castillo *et al.*, 2022). Por lo tanto, en situaciones futuras con un aumento de aridez, tal y como pronostica el IPCC, se alterará la distribución del haya en Montejo, dando una oportunidad al roble melojo para su mantenimiento en esta zona. De hecho, el número de años con condiciones climáticas óptimas para el desarrollo del roble melojo respecto del haya ha aumentado en los últimos años. Este mismo razonamiento se puede aplicar a todas las especies que conforman las comunidades vegetales en la zona ya que, si disminuye de manera significativa la cantidad de un recurso como el agua, disminuirá la cantidad de nichos disponibles para las distintas especies de árboles y arbustos, aumentando la competencia entre ellos y, por lo tanto, aumentando la probabilidad de que algunas especies más sensibles puedan desaparecer. La identificación de cómo puede afectar el cambio climático al uso del agua y a la distribución y ensamblaje de todas las especies que conforman este tipo de sistemas de alto valor ecológico es una de las líneas actuales de trabajo del equipo de investigación, a la que esperamos poder dar respuesta en el futuro. Por todo ello, si queremos mantener la diversidad de estos bosques mixtos, es importante desarrollar mecanismos dinámicos de gestión que favorezcan la coexistencia de las diferentes especies dominantes, adaptándose a las tasas de renovación de estas especies, para prevenir o mitigar los impactos negativos del cambio climático; por ejemplo, realizando labores de silvicultura atendiendo a la evolución espacial de las distintas especies, o favoreciendo el mantenimiento de parches de vegetación con menor cobertura arbórea en espacios más abiertos que mejore la regeneración de las especies, promoviendo su futura coexistencia.

## Agradecimientos

Queremos agradecer la colaboración del equipo técnico del Hayedo de Montejo por su predisposición a facilitar nuestro trabajo en este bosque protegido y a la Consejería de Medio Ambiente de Madrid y a la Universidad Politécnica de Madrid por autorizar estos trabajos. Agradecer también la colaboración y predisposición del Servicio Territorial de Medio Ambiente de León por concedernos los permisos para poder desarrollar los trabajos actuales en ecosistemas Sub-Mediterráneos de la provincia de León.

## Referencias

- Ali, E., Cramer, W., Carnicer, J., Hilmi, G.E.N., Le Cozannet, G. y Lionello, P. 2022. Mediterranean Region. En *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, ed. H. Pörtner, D. Roberts, M. Tignor, E. Poloczanska *et al.*, pp. 2233–2272. Cambridge, UK: Cambridge University Press. doi:10.1017/9781009325844.021.2233.
- de Dios, R.S., Benito-Garzón, M. y Sainz-Ollero, H. 2009. Present and future extension of the Iberian submediterranean territories as determined from the distribution of marcescent oaks. *Plant Ecology*, 204: 189–205.
- Gil, L., Alonso, J., Millerón, M., Aranda, I., González, I. y Gonzalo, J. 2011. El Hayedo de Montejo. Una gestión sostenible. Comunidad de Madrid.
- IPCC. 2022. *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Edited by HO Pörtner, DC Roberts, M Tignor, ES Poloczanska, K Mintenbeck, A Alegría, M Craig, S Langsdorf, *et al.* Cambridge, UK: Cambridge University Press. doi:10.1017/9781009325844.
- de la Riva, E.G., Prieto, I., de Tomás Marín, S., Rodríguez-Calcerrada, J., Golabvand, P. y Galán Díaz, J. 2023. Living at the edge: the functional niche occupation of woody plant communities in the submediterranean ecotone. *Annals of Botany*, 132(3): 471–484.
- Martinez del Castillo, E., Zang, C.S., Buras, A., Hacket-Pain, A., *et al.* 2022. Climate-change-driven growth decline of European beech forests. *Communications Biology*, 5: 1–9.
- Nagy, L., Grabherr, G., Körner, C. y Thompson, D.B.A. 2003. *Alpine Biodiversity in Europe*. Edited by Laszlo Nagy, Georg Grabherr, Christian Körner, and Desmond B. A. Thompson. Ecological Studies Vol. 167. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-18967-8.
- Prieto, I., Querejeta, J.I., Segrestin, J., Volaire, F. y Roumet, C. 2018. Leaf carbon and oxygen isotopes are coordinated with the leaf economics spectrum in Mediterranean rangeland species. *Functional Ecology*, 32: 612–625.

- Quézel, P. 1985. Definition of the Mediterranean region and the origin of its flora. In Plant conservation in the Mediterranean area, ed. C. Gómez-Campo. Dordrecht: Junk.
- Reich, P.B. 2014. The world-wide 'fast-slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology*, 102: 275–301.
- Ruiz-Labourdette, D., Schmitz, M.F. y Pineda, F.D. 2013. Changes in tree species composition in Mediterranean mountains under climate change: Indicators for conservation planning. *Ecological Indicators*, 24: 310–323.
- de Tomás Marín, S., Rodríguez-Calcerrada, J., Arenas-Castro, S., Prieto, I., González, G., Gil, L. y de la Riva, E.G. 2023. *Fagus sylvatica* and *Quercus pyrenaica*: Two neighbors with few things in common. *Forest Ecosystems*, 10: 100097.

## UNO DE LOS NUESTROS

### La Geobotánica y Salvador Rivas-Martínez

Ángel Penas y Sara del Río

Dpto. Biodiversidad y Gestión Ambiental (Área de Botánica). Universidad de León, E-24071. León. Email: [angel.penas@unileon.es](mailto:angel.penas@unileon.es), [sriog@unileon.es](mailto:sriog@unileon.es)

#### Breve reseña de su *curriculum vitae*

Salvador Rivas Martínez, oficialmente Salvador Carmelo Marcelo Trinidad Rivas Martínez, nació en Madrid el 16 de julio de 1935. Hijo y nieto de los catedráticos de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, los Dres. Salvador Rivas Goday y Marcelo Rivas-Mateos. En recuerdo a ellos recibió dos de sus nombres. El tercero, Trinidad, en honor a su madre, y el cuarto, Carmelo, por haber nacido el día de la Virgen del Carmen. Falleció el 27 de agosto de 2020 en Pozuelo de Alarcón (Madrid), tenía 85 años. En los últimos años nos decía con frecuencia: *Que sepáis que yo seguiré trabajando hasta los 90, luego ya veremos*. No pudo ser, aunque hasta pocos días antes de su fallecimiento continuó trabajando y creando ciencia, de la misma manera que llevaba haciendo durante toda su vida.

Su legado es ingente, no siendo posible entender la botánica española y de muchos otros territorios del mundo sin el Prof. Rivas Martínez. Trabajó y realizó aportaciones científicas (más de 500 trabajos publicados, el último en 2021), en prácticamente todas las ramas de la Botánica, estando las más innovadoras centradas en los campos de la Bioclimatología, Biogeografía y Fitosociología dinámico-catenal. Tres ciencias que constituyen en su conjunto la Geobotánica global, como a él le gustaba denominarla. Sus aportaciones conceptuales y metodológicas, especialmente en Bioclimatología, Sinfitosociología y Geosinfitosociología, han supuesto un notable avance en la Fitosociología clásica iniciada por sus maestros, siendo fundamentales para la adecuada y pormenorizada interpretación del paisaje vegetal y sus correspondientes aplicaciones, especialmente en la conservación.

Fue maestro de numerosos docentes e investigadores, tanto nacionales como extranjeros, muchos hoy, geobotánicos de prestigio, y que han alcanzado puestos relevantes en su vida profesional. Dirigió un total de 32 tesis doctorales.

Ocupó desde muy joven puestos de relevancia: director del Departamento de Botánica del Instituto A. J. Cavanilles (CSIC) en Barcelona (1965-70); director del Real Jardín Botánico de Madrid (1974-79), director del Instituto Botánico A. J. Cavanilles (1975-79); director del Departamento de Biología Vegetal II (Universidad Complutense de Madrid) desde sus orígenes hasta 1979 y desde

1983 hasta 2005; vicerrector de Investigación de la Universidad Complutense de Madrid (1979-1983); fundador y director del Centro de Investigaciones Fitosociológicas (CIF) (1994-2020).

Su espíritu integrador le llevó a ser el fundador o impulsor de la creación de numerosas asociaciones de Fitosociología a nivel mundial; incluida la Asociación Española de Fitosociología (AEFA, hoy Sociedad Española de Geobotánica, SEG). Su impronta docente, unida a su actividad investigadora continua y constante y su ánimo de difundir los avances alcanzados a lo largo de los años en las ciencias que practicaba, le llevaron a plantear la publicación de diferentes revistas científicas nacionales e internacionales.

Científico de reconocido prestigio tanto a nivel nacional como internacional, son dignos de mención entre sus nombramientos, distinciones y premios los siguientes: doctor *honoris causa* por cinco universidades (tres nacionales y dos extranjeras), académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia (el más antiguo hasta su fallecimiento) y de la de Ciencias Físicas, Exactas y Naturales; miembro de la Real Academia Iberoamericana; académico de honor de la Academia Malagueña de Ciencias; miembro numerario del Instituto de Estudios Madrileños; encomienda con Placa de la Orden Civil de Alfonso X el Sabio; I Premio Iberoamericano de Botánica ‘Celestino Mutis’; premio nacional de la Sociedad Geográfica Española; medallas de Oro de la Universidad Complutense de Madrid y de su Facultad de Farmacia; entre otros.

Nos centraremos en este artículo en sus inicios en la Botánica, sus principales aportaciones a la ciencia geobotánica, su estrecha relación con la Universidad de León, así como otra faceta menos conocida de su vida, pero no menos relevante, que fue el alpinismo.

El CV completo del profesor Rivas puede consultarse en Penas *et al.* (2021a).

### **Sus inicios en la Botánica**

El Prof. Rivas Martínez se licenció en Farmacia en Barcelona en 1958, obteniendo el Premio Extraordinario de Licenciatura y el Premio Nacional Fin de Carrera. En 1967 se licenció en Ciencias Biológicas por la Universidad Complutense de Madrid con la calificación de sobresaliente.

Aun sin haber finalizado la carrera de Farmacia ya colaboraba en la Cátedra de Botánica de la Facultad en la preparación de plantas para introducir en el herbario, así como en la identificación de especies y organización de las prácticas de campo de sus propios compañeros de segundo y tercer curso. Las buenas relaciones del Dr. Rivas Goday con ilustres botánicos de su tiempo permitieron que Salvador estableciera pronto contacto con sus futuros maestros, realizando con ellos numerosas estancias de investigación que pronto marcarían su futura trayectoria profesional.

Especial mención merecen las estancias realizadas, muchas siendo aún estudiante, en Alemania y Francia. En Alemania, concretamente en el Instituto alemán Zentralstelle für Vegetationskartierung de Stolzenau, conoció y trabajó con el Prof. Reinhold Tüxen y en la Estación Internacional de Geobotánica Mediterránea y Alpina (SIGMA) de Montpellier (Francia), trabajó con Josias Braun-Blanquet (**Figura 1**). Ambos son considerados actualmente los padres de la Fitosociología clásica y fundadores de la conocida como Escuela fitosociológica europea de Zurich-Montpellier



**Figura 1.** Salvador Rivas Martínez (segundo por la izquierda) con Géhu (cuarto por la izquierda), Tüxen (quinto por la izquierda) y Manuel Costa (a la derecha de Salvador) (Islas Frisias, 1972).

Contaba Salvador que su padre, el Dr. Rivas Goday, conoció personalmente al Prof. Tüxen en el 7º Congreso Internacional de Botánica celebrado en 1950 en Estocolmo. Allí, y después de presentar la comunicación titulada *Essai sur las climax dans la Peninsule Iberique*, los organizadores del evento le propusieron preparar la X Internationalen Pflanzengeographischen Exkursion (IPE) que se celebraría en España desde el 25 de junio al 23 de julio de 1953 y que recorrería el país de norte a sur. En ese periplo, que puede calificarse como un hito importante en el desarrollo de la fitosociología hispana (Díaz, 2004), se terminó de consolidar la amistad entre los profesores Tüxen y Goday. Allí fue donde el Dr. Rivas Goday le sugirió a Tüxen la posibilidad de que su hijo Salvador fuera admitido a pasar unos días con él en Alemania para así conocer de primera mano las metodologías más punteras en Fitosociología, cartografía de la vegetación e interpretación del paisaje vegetal. El Prof. Tüxen aceptó con mucho agrado, Sal-

vador tenía 18 años. Serían varias las estancias de investigación que en veranos consecutivos realizó el Prof. Rivas a Alemania (1955-1962).

Las enseñanzas adquiridas con su padre, considerado precursor de la Fitosociología en España, junto con las recibidas de Tüxen y Braun-Blanquet, además de su incommensurable capacidad de trabajo, permitieron que el Prof. Rivas Martínez adquiriera una sólida formación botánica desde una temprana edad. Comenta el Prof. Wildpret (Wildpret de la Torre, 2021), que ya el Prof. Tüxen el día 31 de agosto de 1955, al finalizar su estancia conjunta en Stolzenau, habría vaticinado a Salvador un brillante futuro profesional y científico. Fue en este año 1955, cuando publicó su primer trabajo científico, firmado con su padre y otros miembros de la Cátedra de Botánica (Rivas Goday *et al.*, 1955). En esta obra, el camino fitosociológico se abre paso, aunque todavía poco evolucionado, si bien buscando ya algo que siempre pretendió y que fue la síntesis entre la flora, las comunidades vegetales que esta conforma y las razones para que ello se produzca.

El Prof. Rivas alcanzó en 1961 el grado de doctor en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid con la tesis doctoral titulada *Estudio de la flora y vegetación de las Sierras de Guadarrama y Gredos*. El trabajo mereció la obtención del Premio Extraordinario. Comentaba Salvador que, desde sus inicios botánicos y montañeros, se interesó por el estudio de la vegetación existente en el Sistema Central por encima de los 1600 m (Rivas Martínez, 1963). Su primera estancia en Alemania y el apoyo de su padre le animaron a llegar hasta el final de ese estudio. Tenía terminada su tesis doctoral en el verano de 1959 (un año después de licenciarse) pero no fue hasta 1961 cuando realizó la defensa de la misma. La tesis se publicó en los Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles (1964) y supuso un hito en los estudios de vegetación españoles al aplicar una estricta y ortodoxa metodología fitosociológica.

Entre 1955 y 1961 publicó ocho trabajos científicos estableciendo las relaciones entre la vegetación, el clima y el suelo. Esta fue una constante en todos los trabajos y proyectos que realizó.

Fue por oposición profesor adjunto de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (1963-1964), donde comenzó su carrera docente. En 1965, con 29 años, accedió por oposición a la Cátedra de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona. Ocupó este puesto hasta 1970. Desde Barcelona se trasladó a la Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid, para ocupar la plaza vacante de catedrático de (1970-1976). En 1976 optó a la vacante de la cátedra de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, plaza que ocupó hasta el final de su vida académica (2005). Fue catedrático emérito de la misma desde octubre de 2005 hasta la fecha de su fallecimiento.

### Avances y aportaciones en Fitosociología

El Prof. Rivas trabajó prácticamente en todas las líneas de investigación botánica, si bien fue a la Fitosociología a la que dedicó más tiempo y esfuerzo, siendo el impulsor fundamental de la Sinfitosociología y Geosinfitosociología.

Partiendo de su conocimiento florístico, trabajó sin descanso en establecer un modelo que permitiera entender lo mejor posible el comportamiento de esa flora cuando conformaba comunidades vegetales y las razones que determinaban su configuración. Para ello integraba, entre otros, los condicionantes edáficos y climáticos que lo hacían posible, al tiempo que relacionaba unas comunidades con otras y con la vegetación clímax de cada territorio.

Es en el año 1976 cuando Salvador Rivas establece el concepto de Sinfitosociología, también hoy denominada Fitosociología dinámica, como *la parte de la Fitocenología clásica que estudia los complejos de comunidades o, dicho de otra manera, que intenta valorar el paisaje vegetal como el conjunto de sus distintas etapas evolutivas conducentes a un mismo óptimo estable o climax* (Rivas-Martínez, 1976). Se establece la serie de vegetación, sinasociación o *sigmetum* como una unidad básica de la Sinfitosociología. La serie expresa el conjunto de comunidades vegetales o estadios que pueden hallarse en unos espacios teselares afines como resultado del proceso de sucesión, lo que incluye tanto la asociación representativa de la etapa madura o cabeza de serie, como las asociaciones sub-seriales que pueden reemplazarla (Rivas-Martínez *et al.*, 2007). Son también unidades básicas de estudio de la Sinfitosociología las permaserías de vegetación o permasigmetum, referidas a las comunidades vegetales estables muy afines de estaciones excepcionales (territorios polares, dunas vivas, acantilados, etc.). Más recientemente el Prof. Rivas incorporó el concepto de minoriserie de vegetación o minorisigmetum para referirse a aquellas comunidades permanentes de vegetación y sus correspondientes etapas de sustitución perennes y anuales, que se hallan en los espacios teselares y en sus territorios de jurisdicción, que por causas mesológicas excepcionales no llegan a alcanzar en la sucesión progresiva, la etapa madura de la cabeza de series climatófila o edafófila habitual del entorno biogeográfico y bioclimático que le correspondería (Rivas-Martínez *et al.*, 2011).

Salvador Rivas fue también el impulsor de la Fitosociología catenal o Geosinfitosociología, también conocida como ciencia del paisaje. Tiene como una de sus unidades fundamentales la geoserie de vegetación, geosinasociación o geosigmetum. La geoserie corresponde a una catena de series de vegetación edafojerófilas, climatófilas y edafohigrófilas que se hallan en vecindad en un piso bioclimático y en un territorio geográfico dados, y que alternan entre sí en función de los gradientes hídricos que las condicionan (Rivas-Martínez *et al.*, 2007). Son también unidades básicas de estudio de la Geosinfitosociología las geopermaseries de vegetación o geopermasigmetum, referidas a las comunidades vegetales estables muy afines de estaciones excepcionales (territorios polares, dunas vivas, acantilados, etc.). Son definidas como la expresión catenal de un conjunto

de permaserías en vecindad delimitadas por situaciones topográficas o edáficas cambiantes (Rivas-Martínez *et al.*, 2007). Estableció además, por vez primera, el concepto de *geomínorisigmetum* para referirse al conjunto catenal de una clino-secuencia topográfica de *minorisigmetos* (Rivas-Martínez *et al.*, 2011).

Las obras que por excelencia recogen los principales avances en la ciencia fitosociológica se publicaron en 2007 y en 2011. Esta última (Rivas-Martínez *et al.*, 2011) es una continuación de la publicada cuatro años antes (Rivas-Martínez *et al.*, 2007) y en ella se definen 355 series de vegetación, 420 facitaciones, 50 geoserías, 66 geofacitaciones, 52 geopermaserías y 16 geopermaserías, de las cuales 788 son unidades nuevas que no estaban representadas en el Mapa de series de vegetación de España del año 1987 (Rivas-Martínez, 1987).

Sirva también como resumen para finalizar con las aportaciones del Prof. Rivas a la Fitosociología, los 221 sintaxones publicados (bien hayan sido descritos, corregidos, enmendados, mutados o invertidos para África; los 207 para América o los 2448 (hasta el nivel de asociación) para Europa (Penas y del Río, 2021; Penas *et al.*, 2021b,c).

### **Avances y aportaciones en Bioclimatología**

La Bioclimatología es la ciencia que estudia la relación entre el clima y la distribución de los seres vivos y sus comunidades en la Tierra (Rivas Martínez *et al.*, 2007).

A ningún botánico de campo, y menos al Prof. Rivas, se le escapa la influencia del clima sobre la presencia de una planta en un determinado lugar. Mencionamos anteriormente que, ya desde sus primeros trabajos de investigación, Salvador trataba de establecer las relaciones entre el clima y la vegetación. El interés del Prof. Rivas por la Bioclimatología queda puesto de manifiesto en su discurso de ingreso como doctor *honoris causa* por la Universidad de Granada en el año 1996 en el que afirma: *Desde hace más de una década he tratado de poner a punto una "Clasificación Bioclimática de la Tierra"*. Y él mismo decía del método de clasificación que estaba diseñando: *Con cierta ventaja sobre otros métodos o fórmulas, el que presento puede expresar gráficamente (en coordenadas cartesianas) la tendencia del clima, en función de la temperatura y pluviosidad, y es el que utiliza para encajar los tipos de vegetación (alianzas) de la alta montaña española continental, a los que adscribe los endemismos y especies que sirven a su diferenciación.*

Es en la década de los 90, aprovechando un periodo sabático en la ciudad de San Luis (Missouri, EE.UU.), cuando el Prof. Rivas se embarca en la tarea de establecer una nueva clasificación bioclimática para la Tierra. Su capacidad de trabajo, inteligencia y fuerza de voluntad, amén de los conocimientos que tenía sobre la vegetación mundial debido a la multitud de territorios que había recorrido y estudiado, le permitía tener una visión global e integradora para llevar a cabo tal hazaña. Y decía el propio Salvador: *Las razones del empeño son llegar*

*a disponer de una tipología bioclimática fácilmente cuantificable que muestre una relación ajustada entre los componentes vegetacionales y los valores del clima; al tiempo que, habida cuenta el elevado valor predictivo de las unidades bioclimáticas, puedan utilizarse en otras ciencias, en los programas de estudio y conservación de la biodiversidad, así como en la obtención de recursos agrícolas y forestales. Y continuaba diciendo: Los modelos biofísicos así establecidos han demostrado tener una elevada reciprocidad en el binomio clima-vegetación, lo que está permitiendo realizar mapas bioclimáticos y biogeográficos mundiales bastante precisos (Rivas Martínez et al., 2007).*

Se aprecia una notable evolución, desde las primeras aproximaciones publicadas, en las que no son muchas las variables empleadas, hasta la complejidad de sus últimos trabajos en los que se incorporan numerosos factores climáticos determinantes para la vegetación (Izco, 2021). Efectivamente, en la obra por excelencia que recoge el nuevo sistema de clasificación bioclimática de la Tierra (Rivas-Martínez et al., 2011), así como en sus últimas actualizaciones (Rivas-Martínez et al., 2017a; Rivas-Martínez et al., 2021), son un total de 25 (entre parámetros e índices bioclimáticos), los que con mayor frecuencia se utilizan para realizar diagnosis bioclimáticas. Diagnosis bioclimáticas caracterizadas por las unidades bioclimáticas que definió en su nuevo sistema: macrobioclima, bioclima, piso bioclimático y variante bioclimática en el caso de existir. De notable utilidad en el caso de la delimitación de la variante submediterránea son los índices ombrotérmicos estivales (Ios), fundamentales para diferenciar entre los macrobioclimas Templado y Mediterráneo.

Tres son las diferencias más significativas entre la propuesta del Prof. Rivas Martínez y las clasificaciones bioclimáticas previas. Dos de ellas relacionadas con la existencia de un único clima de montaña o de desierto para todas las montañas o desiertos del mundo, propuesto en otras clasificaciones. A este respecto, el Prof. Rivas comentaba: *Los sistemas de clasificación más conocidos tratan en una sola categoría o zona bioclimática todas las altas montañas de la Tierra (oroclimas y orobiomas). Por mi parte, considero que las montañas representan variaciones térmicas altitudinales, en la mayoría de los casos expresables a través de la zonación de los pisos bioclimáticos propios de los macrobioclimas que reinan en los valles y llanuras adyacentes. Las montañas, climáticamente, determinan fenómenos de convergencia, pero sus climas no son homólogos entre sí. Como consecuencia, estimo que no es posible que las montañas constituyan una sola unidad bioclimática en la Tierra.*

Y con relación a los desiertos señalaba: *Hasta ahora todas las clasificaciones han reconocido un único tipo de clima desértico para todos los desiertos del mundo. Por mi parte, en armonía con la oscilación anual del fotoperiodo y con el ritmo estacional de las precipitaciones y temperaturas, además de los criodesiertos polares y pergélidos, reconozco cuatro tipos de bioclimas desérticos: Dos en el seno del macrobioclima Tropical con lluvias en el solsticio de verano (tropical desértico y tropical hiperdesértico), y cuatro en el macrobioclima*

*Mediterráneo sin lluvias en dicho solsticio (mediterráneo desértico oceánico y continental, así como mediterráneo hiperdesértico oceánico y continental)* (Rivas-Martínez *et al.*, 2011).

La tercera diferencia hace referencia a la definición y caracterización del clima (macrobioclima) Mediterráneo. En este contexto mencionaba: *De forma casi unánime, las clasificaciones de referencia tratan como bioclima mediterráneo únicamente el tipo subtropical templado-cálido con abundantes lluvias de invierno y sequía en verano, en relación casi exclusiva con los bosques y prebosques esclerófilos. Por mi parte, considero que hay un amplio macrobioclima Mediterráneo, siempre al exterior de los trópicos, con aridez estival, que como mínimo tiene dos meses consecutivos con  $P$  (precipitación)  $< 2T$  (temperatura), si bien tal aridez puede prolongarse incluso hasta los doce meses del año. Según sea la cuantía de las precipitaciones, la estructura de la vegetación potencial mediterránea corresponde a tipos muy diversos: bosques cerrados sempervivientes o deciduos, bosques abiertos, arbustedas, semidesiertos, desiertos o hiperdesiertos. Tal vez sea útil volver a recordar que las fitocenosis regidas por los bioclimas mediterráneos poseen una flora muy original, rica y diversa, y, por ende, una vegetación radicalmente distinta a la de los territorios de bioclimas tropicales con precipitaciones de similar cuantía* (Rivas-Martínez *et al.*, 2011).

En su último trabajo el Prof. Rivas realiza por vez primera la caracterización bioclimática de la Antártida (Rivas-Martínez *et al.*, 2021). La propuesta está fundamentada en datos objetivos, procedentes de estaciones meteorológicas precisas. Se reconocen para el área de estudio los macrobioclimas, bioclimas, termotipos, quionotipos y continentalidad. Se delimitan, además, las unidades biogeográficas definidas por su flora y características bioclimáticas.

Como puede deducirse de los párrafos anteriores y coincidiendo con el Prof. Izco (Izco, 2021), el afán del Prof. Rivas por integrar los distintos aspectos de la Geografía Botánica mediante un compendio de distintas síntesis queda claramente reflejado en las publicaciones del año 2017 (Rivas-Martínez *et al.*, 2017a, b).

La propuesta de sistematización bioclimática es hoy seguida en todo el mundo y su último trabajo (Rivas-Martínez *et al.*, 2021) es un modelo metodológico de investigación en Geobotánica.

### **Avances y aportaciones en Biogeografía**

Al tiempo que desarrollaba y establecía las bases de la Fitosociología dinámico-catenal y Bioclimatología, se hacía prácticamente imprescindible la necesidad de incidir en el desarrollo de otra ciencia Geobotánica, la Biogeografía y, más concretamente, la Fitogeografía. La relación entre las ciencias que conforman la Geobotánica se aprecia claramente en la definición de la unidad elemental de la Biogeografía que es la tesela. La tesela definida bajo el criterio del Prof. Rivas (1982), está presente de forma imprescindible en la definición del concepto

básico de la Fitosociología dinámica, que es la serie de vegetación, en la que se sustenta el modelo geobotánico universal que Salvador Rivas Martínez pudo culminar poco antes de su fallecimiento y que integra en el mismo, de forma inseparable, las tres ciencias que hemos mencionado desde nuestras primeras palabras (Fitosociología, Bioclimatología y Biogeografía).

En este sentido, mencionaba el Prof. Rivas que, *con el desarrollo de la Fitosociología dinámico-catenal, el conocimiento sintaxonómico de amplios territorios de la Tierra y de su conocimiento cartográfico, las series y geoseries de vegetación han pasado a ser criterios esenciales sobre todo en la delimitación y definición de las unidades biogeográficas, a los que se han unido los factores bioclimáticos y edáficos bien elaborados y cartografiados* (Rivas-Martínez *et al.*, 2007).

Ejemplos de su interés por el desarrollo de la Biogeografía son las muy diversas publicaciones en las que además de establecer un modelo jerárquico universal, partiendo de unidades biogeográficas como la tesela, crea y define rangos principales y auxiliares que hagan más fácil su interpretación. Todas ellas fundamentadas en la flora y las unidades sinfitosociológicas de cada territorio geográfico. Entre las unidades principales se establece el Reino, la Región, Provincia, Sector, Distrito y Tesela, y como unidades auxiliares acepta las siguientes: Subregión, Superprovincia, Subprovincia, Territorio biogeográfico, Subsector y, de rango subteselar, la comarca y el área biogeográfica.

Son muchas las publicaciones (incluyendo la correspondiente cartografía) que el Prof. Rivas realizó desde un punto de vista biogeográfico. Entre las más actuales es reseñable la publicación de 2017 (Rivas-Martínez *et al.*, 2017b), en la que estableció y cartografió las unidades biogeográficas hasta nivel distrital de la Península Ibérica e Islas Baleares. Fueron 264 los distritos reconocidos. Entre las propuestas biogeográficas no ibéricas caben destacar las de los Andes, Europa, América del Norte, América del Sur, Marruecos, y su último trabajo sobre la Antártida. Siempre tuvo en mente realizar la biogeografía mundial, aunque, lamentablemente, no pudo concluir. Las primeras aproximaciones en este sentido las podemos encontrar en Rivas-Martínez *et al.* (1999, 2007).

### **Relación con la Universidad de León**

La relación del Prof. Rivas con la Universidad de León fue siempre estrecha y fructífera, tanto desde el punto de vista personal como científico, siendo doctor *honoris causa* de la misma desde el año 2005 (**Figura 2**). Es por ello que, sin lugar a dudas, podemos decir que es, como reza el título de la sección de este artículo, “uno de los nuestros”.

Comenzó de manera más intensa en el verano de 1982, cuando el Dr. Tomás E. Díaz González, hoy catedrático emérito de la Universidad de Oviedo, era Prof. agregado de Botánica de la Facultad de Biología de la Universidad de León (Penas, 2021a).



**Figura 2.** Acto de investidura del Prof. Rivas Martínez como doctor *honoris causa* por Universidad de León (2005).

Mientras el resto de España estaba pendiente de la Copa Mundial de Fútbol, en León se iba a constituir el denominado grupo Orocantábrico, conformado por uno de nosotros (Ángel), junto con José Antonio Fernández Prieto, Javier Loidi y, obviamente, Tomás y Salvador. El primer objetivo del grupo fue realizar un estudio completo, e inédito hasta aquel momento, de la vegetación de la Cordillera Cantábrica. Liderados por el Prof. Rivas recorrimos durante dos veranos completos (70 días de campo) los Picos de Europa, publicando los resultados en 1984 en el libro titulado: *La Vegetación de la alta montaña cantábrica: los Picos de Europa* (Rivas Martínez *et al.*, 1984). A semejanza del grupo Orocantábrico, Salvador organizó otros grupos en España y Portugal: el Bético, Valenciano, Gallego, Vasco..., pues el Prof. Rivas tenía una enorme capacidad de integración y de trabajo.

La relación con León continuó después de las campañas botánicas en los Picos de Europa, pues entre 1986 y 1989 se organizaron dentro de los Cursos de Verano de la Universidad de León, varios programas relacionados con la Fitosociología y a los que el Prof. Rivas nunca dejó de acudir, enseñando la ciencia Geobotánica en el campo, que era donde más le gustaba practicarla (**Figura 3**). *El paisaje vegetal del noroeste de la Península Ibérica* o *La vegetación del Mediterráneo occidental* fueron algunos de los cursos que se impartieron y que reunieron a un número importante de fitosociólogos españoles, portugueses, franceses e italianos. Estos cursos fueron la base para que, en lo sucesivo, se fuera concretando la posible Escuela Europea de Fitosociología.



**Figura 3.** Salvador Rivas Martínez trabajando en una jornada de campo.

También en la Universidad de León se organizaron las IV (1984) y XVIII (2001) Jornadas de Fitosociología, a las que, por supuesto, acudió el Prof. Rivas Martínez, siempre interviniendo en pro del avance de la ciencia de la vegetación.

En la década de los 80, concretamente en 1987, comenzó su andadura otra idea que el Prof. Rivas Martínez llevaba unos años fraguando. No era otra que crear una publicación monográfica que trasladara al mayor número de investigadores posible los nuevos conceptos fitosociológicos que habían ido surgiendo en los arduos años de trabajo previo. Nació así la revista *Itinera Geobotanica*, de la que se publicaron hasta el año 2011, 18 volúmenes, que fueron enviados a más de 400 centros de investigación y universidades de todo el mundo (Penas, 2021a,b). Fue decisión del Prof. Rivas, que depositó su confianza en mí y en mi equipo, que todos los volúmenes de la revista se maquetaran y publicaran en la Universidad de León.

En la década de los años 90 comienza el Prof. Rivas a desarrollar su sistema de clasificación bioclimática mundial. Y es a partir de las tablas que iba reparatiendo entre sus amigos y compañeros cuando junto con Miguel Ángel Luengo, hoy Prof. titular de la Universidad de Salamanca y en aquel momento doctorando del Dpto. de Geografía de la ULe, comenzamos a elaborar un programa informático para obtener de forma automática la diagnosis bioclimática de cualquier territorio. 5000 de las estaciones meteorológicas que fueron la base para el desarrollo del sistema de clasificación bioclimática mundial (Rivas-Martínez *et al.*, 2011), se introdujeron por alguna alumna interna del área de Botánica que

hoy firma estas letras, en los ordenadores del aquel entonces Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de León.

En 1999 la Universidad de León firma con la empresa TRAGSA un proyecto nacional para ampliar y mejorar la cartografía de hábitats que se había realizado en un proyecto europeo previo para aplicar la Directiva comunitaria 92/43 en nuestro país. Nuevamente Salvador confió en mí y en mi equipo para llevar adelante tal ingente proyecto, que finalizó en el año 2008. Toda la gestión económica del mismo recayó sobre el equipo de la Universidad de León. El proyecto incluía, además, la elaboración del nuevo mapa de series de vegetación a escala 1:400.000. En este ámbito fue clave la colaboración del Prof. Rivas con el Servicio de Cartografía de la Universidad de León.

Sin entrar en demasiado detalle, fueron también muchas las salidas y campañas botánicas que compañeros de la Universidad de León compartimos con el Prof. Rivas. Argentina, diversos estados de EEUU, Sudáfrica, Islandia, Suiza, Italia, Francia, Cabo Verde y, por supuesto, la Península Ibérica, son algunos de los territorios que tuvimos el privilegio de recorrer con Salvador recibiendo de forma directa sus enseñanzas (**Figura 4**).



**Figura 4.** Salvador Rivas Martínez en una expedición en los Alpes (Suiza, 2012) con los Dres. Tomás E. Díaz (a su derecha) y Ángel Penas (a su izquierda).

Y muchas e inolvidables las reuniones que en el despacho de la Facultad tuvimos los autores de este artículo, el Dr. Tomás Díaz y el propio Salvador. Además de cuestiones más personales, discutíamos sobre los trabajos que teníamos

en marcha y preparábamos expediciones botánicas para culminar otros que estaban aún pendientes

La última muestra de la excelente relación que tuvo Salvador Rivas con la Universidad de León fue la donación, por su expreso deseo, de toda su biblioteca personal a dicha institución. La Facultad de CC. Biológicas y Ambientales cedió el espacio para la creación de la “Biblioteca Salvador Rivas Martínez” que cuenta aproximadamente con un total de 3000 libros, 18000 separatas, 1300 revistas y 40000 fichas bioclimáticas. La Biblioteca se inauguró en septiembre de 2021, en el marco de la celebración en León del Simposio Internacional en honor al Prof. Rivas Martínez, coincidiendo con el primer aniversario de su fallecimiento.

### **Su otra gran pasión**

Con la misma, o casi con más vocación y pasión que la Botánica, vivía el Prof. Rivas la montaña. Considerado una leyenda del alpinismo español, la afición al montañismo le fue inculcada desde muy pequeño por su padre. Comenzó a practicarlo a los 12 años y continuó con ello durante toda su vida. Se inició, como no podía ser de otra manera, en su amado Sistema Central, escalando las altas cumbres de Guadarrama y Gredos para la realización de su memoria doctoral. Allí abrió nuevas y míticas vías de escalada a finales de los años 50, formando parte de la famosa cordada el “Perro que Fuma”. En la década de los 60 formó parte de las primeras expediciones españolas a los grandes macizos montañosos del planeta, lo que le convirtió en una autoridad del montañismo español. Así, en 1961 participó en la primera expedición oficial de la Federación Española de Montañismo a los Andes del Perú, encabezando la cordada que abrió la ruta de la arista del Huascarán y en la que tristemente, acabada la escalada, falleció su querido amigo Pedro Acuña al caer a una grieta. En 1968, junto con Carlos Soria y César Pérez de Tudela, formó parte de la expedición castellana al Cáucaso. También con Carlos Soria y Antonio Muñoz Repiso, conquistó en 1970 la cima del McKinley (Alaska). Participó en todas las expediciones nacionales en la década de los 70: Denali (1971), Manaslu (1973 y 1975) y Broad Peak (1979). Intentó el Everest en 1986 y 1993 por la arista norte en estilo alpino sin sherpas ni oxígeno.

Rememoraba Rubayo (escalador y presidente de la Federación Madrileña de Montaña) al poco de su fallecimiento que, aunque seguía físicamente fuerte, a los 55 años dejó las grandes expediciones y las grandes montañas punteras, para escalar con su amigo José Luis Consuegra. Siguió hasta sus últimos días compitiendo en rallies de escalada. Mencionaba Rubayo que *en los rallies de escalada, habrá sido probablemente el participante más veterano, pues con 80 años participó en el Rally de Leyva.*

Y en todas y cada una de sus salidas y expediciones a la montaña estaba presente su otra gran pasión, la Botánica. Así lo recuerda su gran amigo el Prof. Manolo Costa, con quien compartió muchas de las escaladas y expediciones realizadas (Costa Talens, 2021). En dicho trabajo relata las numerosas comunidades

vegetales, algunas por ellos descritas o por primera vez citadas, que con el Prof. Rivas analizó e interpretó en sus salidas a la montaña.

Salvador Rivas Martínez fue una figura indiscutible en los avances que durante los siglos XX y XXI tuvieron las Ciencias de la Vegetación a nivel mundial, cuyos conceptos y paradigmas perdurarán por tiempo. Como ya hemos indicado, era uno de los nuestros, y nos sentimos orgullosos herederos de su conocimiento.

## Referencias

- Costa Talens, M. 2021. Experiencias y vivencias con Salvador Rivas-Martínez. *Global Geobotany*, 5(2): 349–376.
- Izco Sevillano, J. 2021. Salvador Rivas-Martínez, actor de los cambios de paradigma en la investigación botánica (Bioclimatología y Sinfitosociología). *Global Geobotany*, 5(2): 125–135.
- Penas, A. 2021a. Toda una historia. *Global Geobotany*, 5(1): 379–397.
- Penas, A. 2021b. Salvador Rivas Martínez. Su aportación a las ciencias botánicas. En: *La Biología a hombros de gigantes. 23 de los nuestros* (Luis Calabuig, E. y Acebes, J.L. coords.), pp. 297–316. León, España.
- Penas, A. y del Río, S. 2021. Sintaxones descritos (novo), corregidos (corr.), enmendados (em.), mutados (nom. mut.) o invertidos (nom. inv.), publicados por Salvador Rivas-Martínez para la vegetación de Europa. *Global Geobotany*, 5(1): 121–228.
- Penas, A., Díaz González, T.E., Loidi Arregui, J., Molero Mesa, J., Amigo Vázquez, F.J. y del Río González, S. 2021a. Curriculum vitae del Prof. Dr. Salvador Rivas Martínez. *Global Geobotany*, 5(1): 1–33.
- Penas, A., Molero, J. y del Río, S. 2021b. Sintaxones descritos (novo), corregidos (corr.), enmendados (em.), mutados (nom. mut.) o invertidos (nom. inv.), publicados por Salvador Rivas-Martínez para la vegetación de África. *Global Geobotany*, 5(1): 81–94.
- Penas, A., Navarro Sánchez, G. y del Río, S. 2021c. Sintaxones descritos (novo), corregidos (corr.), enmendados (em.), mutados (nom. mut.) o invertidos (nom. inv.), publicados por Salvador Rivas-Martínez para la vegetación de América. *Global Geobotany*, 5(1): 95–119.
- Rivas Goday, S., Borja, J., Monasterio, A., Fernández-Galiano, E. y Rivas-Martínez, S. 1955. Aportaciones a la Fitosociología hispánica. *Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles*, 13: 335–422.
- Rivas Martínez, S. 1963. Estudio de la vegetación y flora de las sierras de Guadarrama y Gredos. *Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles*, 21(1): 5–325.
- Rivas Martínez, S. 1976. Sinfitosociología, una nueva metodología para el estudio del paisaje vegetal. *Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles*, 33: 179–188.
- Rivas-Martínez, S. 1982. Etages bioclimatiques, secteurs chorologiques et séries de végétation de l'Espagne méditerranéenne. *Ecologia Mediterranea*, 8 (1-2): 275–288.

- Rivas-Martínez, S. 1987. Memoria del Mapa de Series de Vegetación de España. I.C.O.N.A. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Rivas-Martínez, S., Díaz, T., Fernández Prieto, J.A., Loidi, J. y Penas, A. 1984. La Vegetación de la alta montaña cantábrica: Los Picos de Europa. Ediciones Leonesas. pp. 295. España.
- Rivas-Martínez, S., Sánchez-Mata, D., y Costa, M. 1999. North American Boreal and western temperate forest vegetation. *Itinera Geobotanica*, 12: 5–316.
- Rivas-Martínez, S. *et al.* 2007. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. (memoria del mapa de vegetación potencial de España. Parte I. *Itinera Geobotanica*, 17: 1–436.
- Rivas-Martínez, S. *et al.* 2011. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. Memoria del mapa de vegetación potencial de España. *Itinera Geobotanica*, 18(1-2): 5–800.
- Rivas-Martínez, S., Rivas-Sáenz, S. y Penas, A. 2011. Worldwide bioclimatic classification system. *Global Geobotany*, 1: 1–634+4 Maps.
- Rivas-Martínez, S., Penas, A., del Río, S., Díaz, T. y Rivas-Sáenz, S. 2017a. Bioclimatology of the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. En: The Vegetation of the Iberian Peninsula (vol. 1). (Loidi, J. ed.), pp. 21–80. Springer Nature.
- Rivas-Martínez, S., Penas, A., Díaz, T., Cantó, P., del Río, S., Costa, J.C., Herrero, L. y Molero, J. 2017b. Biogeographic Units of the Iberian Peninsula and Balearic Islands to District Level. A Concise Synopsis. En: The Vegetation of the Iberian Peninsula (vol. 1). (Loidi, J. ed.), pp. 131–188. Springer Nature.
- Rivas-Martínez, S., del Río, S., Penas, A., Herrero, L., Prieto, I., Álvarez, M., Molero, J., Rivas-Sáenz, S., Cantó, P. y Sancho, L. 2021. Biogeographical and bioclimatic outline of Antarctica. *Plant Biosystems*, 155(1): 5–15.
- Wildpret de la Torre, W. 2021. Evocar, recordar: In memoriam Salvador Carmelo Marcelo Trinidad Rivas-Martínez (Madrid 16 VII 1935-Pozuelo de Alarcón 27 VIII 2020). *Global Geobotany*, 5(2): 293–305.



## Severo Ochoa, enzimólogo y fundador de la biología molecular

Francisco Javier Rúa Aller<sup>1</sup> y M<sup>a</sup> Rosario García Armesto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Área de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Biología Molecular. Universidad de León. [javier.rua@unileon.es](mailto:javier.rua@unileon.es)

<sup>2</sup> Área de Nutrición y Bromatología Departamento de Higiene y Tecnología de Los Alimentos. [mrgara@unileon.es](mailto:mrgara@unileon.es)

Escribir sobre Severo Ochoa, su enorme y significativa trayectoria científica y los grandes resultados alcanzados en química fisiológica, enzimología y biología molecular, es una labor sencilla y compleja a la vez. De una parte, porque él mismo trazó su autobiografía en 1980 y porque en su centenario se publicaron dos libros de alcance que recogían datos biográficos más personales (Gómez Santos, 2005) o más científicos (Santesmases, 2005). Además, también varios bioquímicos españoles, discípulos directos e indirectos, han reflejado la personalidad e investigación del Premio Nobel, incluyendo sus impresiones personales. La complejidad, por supuesto, radica en el compendio de toda esta información, el espigado de la misma y su presentación en el espacio establecido para este artículo.

### Un asturiano de Luarca

Severo Ochoa de Albornoz nació el 24 de septiembre de 1905 en Luarca, un pueblo costero asturiano, que él describió como “una pequeña villa del norte de España en la costa atlántica, en una región lluviosa y verde donde las montañas se deslizan hacia el océano” (Ochoa, 1980). Fue hijo de Severo Ochoa Pérez, un filántropo licenciado en Derecho que mantenía, junto con sus hermanos, varios negocios en Puerto Rico y donde fundó el Auxilio Mutuo Español, un gran centro médico. Su madre era Carmen de Albornoz, procedente de una familia ilustrada levantina. En este ambiente familiar culto, religioso y con suficientes medios económicos creció Severo, el menor de los ocho hijos que tuvo el matrimonio.

Tras la muerte del padre, en 1912, la familia se trasladó a Málaga, una ciudad de clima más templado que permitiría aliviar la bronquitis crónica de doña Carmen. Allí, Ochoa terminaría su infancia y pasaría su primera adolescencia, completando los estudios que había iniciado en el Colegio de los Hermanos Maristas en Gijón, primero en el colegio de los Jesuitas y luego en el Instituto de Enseñanza Media de la capital malacitana. Obtuvo el grado de bachiller en 1921 y forjó su carácter “metódico y disciplinado y su personalidad sencilla, afable y refinada”, como recordaría el profesor Manuel Losada en un entrañable y enjundioso escrito sobre nuestro personaje (Losada, 1994). Según manifiesta en su

autobiografía el propio Severo, en su vocación biológico-médica tuvo mucho que ver el profesor Eduardo García Rodeja, del Instituto malagueño.

### **Estudios de Medicina en Madrid**

Entre 1923 y 1928 Ochoa estudió Medicina en la Universidad de Madrid, residiendo en alguna pensión, en casas unifamiliares y finalmente en la afamada Residencia de Estudiantes hasta 1931, donde coincidió con Federico García Lorca y Salvador Dalí. En ese año se casó con la también asturiana Carmen García Cobián, amiga de sus hermanas y la persona que se convertiría en la razón de su vida y en su apoyo continuo ante los desalientos de la labor investigadora (**Figura 1**).

A pesar de su ilusión por los estudios en la Facultad de San Carlos de Madrid, recibió una frustración nada más llegar, al comprobar que Santiago Ramón y Cajal, el sabio español de quien tenía grandes esperanzas de recibir sus clases, se había jubilado justo el mismo año del ingreso de Ochoa en la universidad. Por aquel tiempo, nuestro personaje ya había leído a Cajal, especialmente la versión revisada de su discurso de ingreso en la Academia de Ciencias de 1897, *Reglas y consejos sobre investigación científica: los tónicos de la voluntad*. Como compañero de Facultad, tuvo Ochoa, hasta el tercer curso a Pedro Arrupe, que llegó a ser general de los Jesuitas, y en segundo curso recibió las clases de Fisiología de Juan Negrín, un joven profesor formado en las universidades alemanas de Kiel y Leipzig y doctorado en esta última en 1912 en un trabajo dirigido por Theodor von Brücke, con quien había estudiado las glándulas suprarrenales y el sistema nervioso simpático.

En octubre de 1925, al comenzar el tercer año de licenciatura, Ochoa junto con sus compañeros García Valdecasas (inseparable desde sus estudios de bachiller en Málaga) y Pérez Cirera fueron citados por Negrín para trabajar en su laboratorio de la Junta para la Ampliación de Estudios (JAE), en la Residencia de Estudiantes de Madrid. El tema de su investigación se refería a la creatina y sus funciones en la contracción muscular, para la que Ochoa elaboró un método de extracción y análisis que consiguió publicar, junto a Valdecasas, en la prestigiosa revista *Journal of Biological Chemistry*, de la que llegaría a ser años más tarde miembro del equipo editorial y presidente de la *American Society of Biological Chemists* (ASBC).

Se licenció en Medicina en 1928, con un expediente brillante y solo dos suspensos. Ese mismo año colaboró con el profesor José Hernández Guerra en la redacción del texto *Elementos de Bioquímica*, un breve manual de prácticas de fisiología, que alcanzó varias ediciones. En 1930 trabajó en el Laboratorio de la Residencia, junto con su buen amigo Francisco Grande Covián, sobre la función de las glándulas suprarrenales en la contracción muscular.

Ocupó los cargos académicos e investigadores de profesor auxiliar de Fisiología (1931), Ayudante de Universidad (1932) y jefe de la Sección de Fisiología en el Instituto de Investigaciones Clínicas y Médicas, en la Ciudad Universitaria

de Madrid (1935), cargo que le ofreció el prestigioso doctor Carlos Jiménez Díaz, fundador de dicho Instituto. Durante esos años realizó su tesis doctoral sobre la glucólisis en el músculo cardíaco, titulada *Los fenómenos químicos y energéticos de la contracción muscular en la insuficiencia adrenal experimental*, la cual defendió en 1934.



**Figura 1.** Severo Ochoa encontró en Carmen García Cobián un apoyo continuo en su vida y en su labor investigadora. (Fotografía cedida por la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular [SEBBM]. Copyright SEBBM).

Tras fracasar en la oposición a la Cátedra de Fisiología de la Universidad de Santiago de Compostela, a la que se había presentado contra su voluntad (aconsejado por Negrín) y con el inminente comienzo de la Guerra Civil, Ochoa, junto a su esposa Carmen, abandona definitivamente España, con la firme convicción de convertirse en un gran científico.

### Formación en Europa

La carrera investigadora de Ochoa en el extranjero se inició tempranamente, durante sus años de estudiante en medicina, con una estancia de tres meses en el laboratorio del profesor Noël Paton, de la Universidad de Glasgow, que sufragó él mismo o su familia. Paton, *Regius Chair Professor of Physiology* en dicha universidad escocesa, era un especialista en fisiología química del músculo y mantenía que la creatina se formaba a través de la guanidina; sin embargo, Ochoa durante su estancia no encontró ningún incremento de creatina tras inyectar guanidina en músculo de rana. Aun así, Paton presentó estos resultados ante la *Royal Society of London* y fueron publicados en las Series B de los *Proceedings* de dicha Sociedad.

El científico que más influyó, sin duda, en la carrera investigadora de Ochoa fue el alemán Otto Meyerhof, en cuyos laboratorios permaneció durante dos períodos diferentes. El primero se inició en otoño de 1929, tras haber asistido al XIII Congreso Internacional de Fisiología (Boston, 19 al 24 de agosto), donde

adquirió conocimientos novedosos sobre la contracción muscular y las moléculas implicadas en la misma. En el laboratorio que Meyerhof ocupaba en el *Kaiser Wilhelm Institut* de Berlín, Ochoa permaneció hasta 1930 y se le asignaron experimentos para comprobar la existencia de una fuente de energía diferente al glucógeno que permitiera la contracción en el músculo de rana. Otto Meyerhof era experto en la química y energética de la contracción muscular, trabajos por los que había recibido, junto al británico Archibald Vivian Hill el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1922.

Después de residir en el Instituto Nacional de Investigaciones Médicas de Londres, entre 1932 y 1933, la segunda etapa con Meyerhof, de una duración de dos años, tuvo lugar tras la salida de España en 1936. Por entonces, los intereses del fisiólogo alemán se habían desplazado del músculo entero a extractos de músculos o de levadura, así como a enzimas purificadas que catalizaban reacciones del metabolismo glicosídico (glucólisis y fermentación). El aprendizaje de los métodos bioquímicos del laboratorio de Meyerhof le llevaría a Ochoa a convertir el estudio de las enzimas en el tema preferente de sus investigaciones. Primero en Berlín y luego en Heidelberg, Ochoa estudió la acción de la coenzima piridín-nucleótido, conocida entonces como coenzima y después, de forma abreviada, como DPN y NAD.

Meyerhof, por su origen judío, tuvo que abandonar Alemania una vez que el Partido Nazi se había impuesto en el gobierno del país, si bien consiguió una beca para Ochoa en 1937 para que pudiera trabajar en el *Marine Biological Laboratory* de Plymouth, en la costa sur de Inglaterra, donde estudió la producción de ATP y la disminución de NAD en músculos de langostas (invertebrados). En esta etapa resultó muy beneficiosa la ayuda de su esposa Carmen quien, si bien no tenía ninguna experiencia, trabajó en el laboratorio junto a su marido.

Un año después, Ochoa se trasladó con una beca Nuffiel al laboratorio que dirigía Rudolf A. Peters en la Universidad de Oxford, donde residió hasta 1941 y realizó una fructífera labor, investigando sobre las funciones del pirofosfato de tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) en el metabolismo del piruvato, para lo cual empleó preparaciones de cerebro e hígado de paloma. Quizás su contribución más importante en este período fue la demostración de que la oxidación del piruvato está relacionada con la formación de enlaces ricos en energía, algo que también señalaron, casi simultáneamente, los investigadores Kackar en Dinamarca y Bolitzer en la Unión Soviética. De esta manera, Ochoa entraba en contacto con el proceso de la fosforilación oxidativa, un tema que sería preferente en sus investigaciones hasta que dio el paso hacia el estudio de los ácidos nucleicos.

### **Investigación independiente en la Universidad de Nueva York**

Cuando Inglaterra entró en el conflicto de la Segunda Guerra Mundial, Ochoa decidió marchar a América y, desde la Ciudad de México, negociar su entrada en los Estados Unidos, gracias a una ayuda de la Fundación Rockefeller y al apoyo de Carl Cori de la *Washington University* en St. Louis (Missouri).

En el laboratorio de Carl y Gerty Cori, si bien no logró resultados brillantes, aprendió y perfeccionó diversas técnicas de aislamiento, purificación y caracterización de enzimas, que le servirían para sus estudios posteriores, al tiempo que ponía de manifiesto la presencia de pirofosfato inorgánico en extractos de hígado de rata.

A partir de 1942, Ochoa emprendió una carrera de investigación independiente en la Universidad de Nueva York, primero en el Departamento de Medicina y posteriormente en los de Farmacología y Bioquímica, ocupando la jefatura de ambos en 1946 y 1954, respectivamente. Desde su llegada, participó en la creación del *Enzyme Club* de Nueva York, un grupo de 20-30 científicos que se reunían de manera informal una vez al mes, durante el año académico y, tras un protocolo de cóctel y cena, escuchaban la charla de un conferenciante invitado, el cual trataba sobre temas recientes de enzimología y otras áreas de la biología. En 1948 figuró en el cuarto lugar, junto al estadounidense David Green, en la lista de la Fundación Rockefeller que agrupaba a los diez mejores bioquímicos que trabajaban en Estados Unidos, algo que resultaría esencial para que Ochoa fuera nombrado miembro de consejos científicos y asesores de la mayoría de las agencias públicas y privadas estadounidenses, entre ellas los *National Institutes of Health*.

La investigación que desarrolló hasta finales de los años 1950 estuvo dirigida hacia diferentes enzimas del metabolismo energético de hidratos de carbono y de ácidos grasos, entre ellas las que intervenían en el ciclo de Krebs (o de los ácidos tricarbóxicos) y en el mecanismo de la fosforilación oxidativa.

Para estos estudios, Ochoa tuvo en cuenta los trabajos de Krebs y Lipmann (antiguos compañeros suyos en los laboratorios alemanes de Meyerhof y que, por su condición de judíos, habían emigrado a Inglaterra y Estados Unidos). Ambos, en 1937, habían propuesto varias de las reacciones clave de la bioenergética del fosfato y de la ruta de degradación del ácido láctico a dióxido de carbono e hidrógeno asociado al piridín-nucleótido, por lo que ambos fueron galardonados con el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1953.

Partiendo de esta base y contando con un amplio y destacado grupo de colaboradores, entre ellos Arthur Kornberg (su primer discípulo), purificaron y caracterizaron entre 1945 y 1955 varias de las enzimas del ciclo de Krebs: citrato sintasa (denominada durante mucho tiempo la “enzima condensante de Ochoa”), isocitrato deshidrogenasa,  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa, succinato tioquinasa, enzima málica, la enzima de la descarboxilación oxidativa del piruvato y las enzimas del metabolismo del propionato. También estudiaron el papel del complejo vitamínico B en estos ciclos y la reducción fotoquímica con agua de la coenzima NADP en el proceso fotosintético.

La fosforilación oxidativa, término que había acuñado en 1940 en una de sus publicaciones en la prestigiosa revista *Nature*, fue su “problema favorito”, como alguien lo denominó y se refería al proceso de síntesis de ATP (la moneda energética universal), acoplado a la respiración aeróbica. En su trabajo en Nueva

York y empleando homogenados de corazón porcino logró mostrar que por cada átomo de oxígeno consumido en la oxidación de piruvato, se sintetizaban tres enlaces ricos en energía. Este importante hallazgo fue confirmado más tarde por Lehninger y otros investigadores, por cuanto el tema era objeto de interés e intensa competición por muchos de los más prestigiosos laboratorios bioquímicos del momento (entre ellos los de David Green, Paul Boyer y Albert Lehninger). Por ello, Arthur Kornberg lo llegó a denominar la búsqueda del “santo grial” de la bioquímica.

Por la consideración de los trabajos en esta época, en los campos de farmacología y bioquímica Ochoa recibió la Medalla Brewberg, en 1951.

### **El descubrimiento de la polinucleótido fosforilasa**

A pesar de todas las investigaciones enzimológicas anteriores, la imagen pública que se asocia al trabajo científico de Ochoa es la de la síntesis *in vitro* del ácido ribonucleico (ARN) y el posterior desciframiento del código genético.

El primero de los hechos está relacionado con el descubrimiento de la enzima polinucleótido fosforilasa, en el que tuvo un papel muy destacado la investigadora francesa de origen ruso, Marianne Grunberg-Manago, becaria en el laboratorio de Ochoa desde 1953. Como sucede algunas veces dentro del trabajo experimental, la casualidad tuvo mucho que ver en este hallazgo. En realidad, Ochoa, continuamente preocupado con encontrar una explicación para el mecanismo de generación de ATP durante la fosforilación oxidativa, buscaba un intermediario rico en energía, que al igual que ocurre con la fosforilación en el sustrato durante la glucólisis, cediera el fosfato rico en energía al ADP y así se formara ATP. Para poder comprobar su hipótesis, Ochoa puso a trabajar a Grunberg-Manago con un organismo sencillo, como era la bacteria *Azotobacter vinelandii*, caracterizada por mostrar una respiración aeróbica muy activa. El sistema de ensayo consistía en incubar ATP con un extracto de la bacteria y fosfato marcado. Según la hipótesis de partida, el ATP fosforilaría al supuesto intermediario, que a su vez cambiaría su fosfato energético con el fosfato marcado y este producto fosforilaría al ADP para dar ATP marcado.

Lo que ocurrió fue que Grunberg-Manago obtuvo un producto de alto peso molecular que se movía muy lentamente en cromatografía en papel y que se formaba no sólo con ADP, sino con otros nucleósidos difosfato. Por tanto, en el extracto bacteriano debería existir una enzima que convertía los nucleósidos difosfato en una molécula de gran tamaño que no tenía nada que ver con la fosforilación oxidativa. Tras el análisis realizado con otros grupos de Nueva York, se comprobó que la macromolécula tenía una estructura de ácido ribonucleico y que, usando mezclas de nucleósidos difosfato, se podía obtener ARN con las cuatro bases características de este ácido. La enzima se llamó polinucleótido fosforilasa (PNPasa), ya que fabricaba ARN *in vitro* a partir de nucleósidos difosfato, con liberación de ortofosfato, sin necesidad de emplear una hebra de ácido nucleico como molde.

En la primavera de 1955, en el transcurso del Congreso de la Federación de Sociedades de Biología Experimental de los Estados Unidos, celebrado en San Francisco (California), Grunberg-Manago y Ochoa hicieron público por primera vez su trabajo sobre la obtención de polinucleótidos *in vitro*. Unos meses más tarde, también presentaron sus resultados en el Congreso Internacional de Bioquímica, en Bruselas. Ambos científicos publicaron, ese mismo año de 1955, sendos artículos sobre el tema en dos revistas de gran prestigio: *Journal of the American Chemical Society* y *Science*. El título del artículo para esta última fue *Enzymatic synthesis of nucleic acid like polynucleotides*.

Cuatro años más tarde, Ochoa recibía el Premio Nobel de Fisiología o Medicina por esta síntesis, si bien la Fundación Nobel no consideró suficiente la contribución de Grunberg-Manago para hacerla compartir el galardón, cuya concesión menciona explícitamente que se atribuye *for the discovery of the mechanisms in the biological synthesis of ribonucleic acid*. Quizás la Academia sueca premió más el conjunto de los trabajos de Ochoa que solo el relacionado con el papel de la enzima PNPasa en la síntesis de ARN. Compartió el galardón con su primer discípulo Arthur Kornberg, que había descubierto en 1956 en la bacteria *Escherichia coli* la enzima ADN polimerasa que, con el requerimiento de un molde de ácido desoxirribonucleico (ADN), sintetizaba este ácido a partir de nucleósidos trifosfato, con liberación de pirofosfato. El Premio Nobel de Severo Ochoa no debe considerarse como el otorgado a un español, ya que tres años antes, tanto él como su mujer habían obtenido la ciudadanía americana y con Estados Unidos no existía por entonces un tratado de doble nacionalidad. Eso sí, fue un galardón concedido a un científico norteamericano de origen español.

En 1956, pese a que Ochoa le ofreció un trabajo en su laboratorio, Grunberg-Manago, que estaba esperando su primer hijo, decidió regresar a París, para reunirse con su esposo Armand Manago. Fue nombrada jefa de un grupo de investigación de bioquímica en el *Institut de Biologie Physico-Chimique* (IBPC), donde continuó estudiando la enzima PNPasa. Empezó una carrera profesional extensa y brillante, con estudios concernientes al código genético y al mecanismo de biosíntesis de proteínas. Por sus valiosas contribuciones recibió numerosos premios y llegó a ser una experta muy respetada en su tiempo. Falleció en enero de 2013.

### **Investigación tras el Premio Nobel: el desciframiento del código genético y la síntesis de proteínas**

Inicialmente, se pensó que la PNPasa también podría ser la enzima principal de la síntesis de ARN *in vivo*, pero el hecho de que no requiriera un molde era preocupante, al igual que la aparente ausencia de la enzima en las células eucariotas. Finalmente, en 1961, se comprobó que la síntesis de ARN *in vivo* correspondía a otra enzima, la ARN polimerasa, mientras que la PNPasa participaba en la degradación de los ARN mensajeros bacterianos. Sin embargo, la enzima resultó de gran utilidad para la formación de polinucleótidos sintéticos que se

tradujeron en péptidos de distinto tamaño, lo que también contribuyó a establecer el código genético, que relaciona el mensaje escrito en forma de tripletes de nucleótidos de los ácidos nucleicos con el lenguaje aminoacídico de las proteínas.

El desciframiento de este código, junto con el descubrimiento de la estructura de doble hélice y los mecanismos de replicación del ADN, fueron los hitos sobre los que se cimentó el desarrollo de la biología molecular, en la cual Severo Ochoa tuvo mucho que ver y por ello se le considera un pionero de esta disciplina científica.

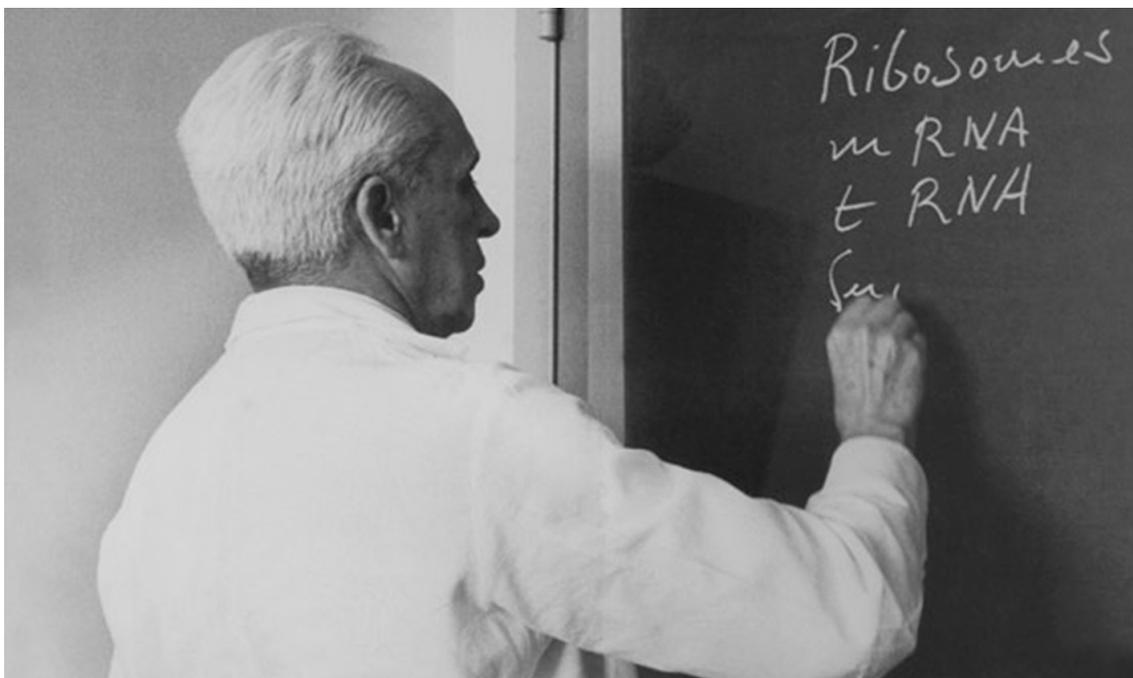
Brevemente, podemos indicar que la carrera por la elucidación del código genético se inició cuando los investigadores Marshall Nirenberg y Heinrich Matthaei, del *National Institute of Health* en Bethesda (Maryland) presentaron, en un congreso internacional de bioquímica celebrado en Moscú en 1961, los primeros datos de polirribonucleótidos que se podían obtener en el laboratorio con un mismo tipo de nucleósido difosfato, empleando la PNPasa. Así, por ejemplo, los UDP se polimerizaban en poliU, el cual se traducía en un polipéptido que solo contenía el aminoácido fenilalanina (Phe). De esta forma, la palabra del código genético para Phe era una secuencia específica de tres residuos de UMP. De la misma forma CMP codificaba sólo para prolina y AMP para lisina. El establecimiento de las palabras del código para los otros 17 aminoácidos fue más complicado y, así, se realizaron diferentes tipos de experimentos: primero con polímeros de secuencia aleatoria con los que se pudo establecer la composición de nucleótidos, posteriormente con la síntesis de polirribonucleótidos de secuencia regular repetida, por el grupo de Gobind Khorana, y en 1964, Philip Leder y Marshall Nirenberg emplearon trinucleótidos sintéticos que podían unirse a ribosomas y especificaban la unión de los ARN de transferencia (ARNt) específicos. Por medio de estos abordajes y con el uso de diferentes técnicas se llegó a descifrar el código.

Al mismo tiempo y empleando combinaciones de nucleótidos que daban lugar a diferentes tipos de polímeros sintéticos, el grupo de Ochoa contribuyó también a proporcionar más pistas sobre el código genético. Los resultados de ambos grupos se sucedieron rápidamente y fueron publicados en la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences*, de las más prestigiosas de Estados Unidos y de cuya academia, Ochoa ya era miembro. En 1965 se llegó a esclarecer la información de tan importante código, establecida en forma de 64 tripletes (codones) de bases, algunos “sin sentido” (que no codifican aminoácido alguno) y otros “con sentido” (que codifican un aminoácido particular).

En 1968, Nirenberg, Khorana y Holley recibieron el Premio Nobel, *por su interpretación del código genético y su función en la síntesis de las proteínas*. Según diversos autores, este Nobel pudo haber sido compartido también por Ochoa, ya que se no se podrían haber alcanzado estos resultados, sin la utilización de la enzima descubierta por Grunberg-Manago y Severo Ochoa. Este último afirmaba al respecto: *Puede considerarse que la polinucleótido fosforilasa ha sido la Piedra Rosetta del código genético* (Ochoa, 1980). En cualquier caso, por sus

contribuciones, puede ser considerado como uno de los más destacados fundadores de la biología molecular.

Posteriormente, el grupo de Ochoa pasó de utilizar polímeros sintéticos a ARN naturales, realizando sus ensayos de síntesis de proteínas con ARN de bacteriófagos, como el MS2 (**Figura 2**). En dichos trabajos (realizados en su grupo por Eladio Viñuela como primer autor y por Margarita Salas) se descubrió que todas las proteínas tienen como aminoácido iniciador la formilmetionina. Años después, el grupo empezó a estudiar el complejo de iniciación de la síntesis de proteínas mediante el análisis de los factores implicados en dicha iniciación; un trabajo en el que también destacó la bioquímica Margarita Salas y posteriormente otros investigadores españoles como José Manuel Sierra, César Nombela y César de Haro, quien estudió la síntesis de proteínas en un sistema óptimo para ello, como eran los reticulocitos.



**Figura 2.** Tras la recepción del Premio Nobel, Severo Ochoa y su grupo realizaron estudios sobre la síntesis de proteínas. (Fotografía depositada en la Fundación Carmen y Severo Ochoa).

### El apoyo a la bioquímica española

La recepción del Premio Nobel de Ochoa en 1959 había tenido un gran eco en España, al ser difundida de forma extensa por la prensa nacional del momento. Se obviaba la circunstancia de que Ochoa era un ciudadano estadounidense y no español y se proyectaba su imagen como un insigne científico patrio, enumerando los éxitos de su carrera investigadora. Además, a principios de la década de 1960, existía en nuestro país un grupo de científicos suficientemente preparados (surgidos mayoritariamente del Centro de Investigaciones Biológicas, CIB,

inaugurado en 1958), dispuestos a establecerse en el país y crear nuevos grupos de investigación en diversas áreas de la experimentación biológica y biomédica (bioquímicos, biólogos moleculares y celulares y microbiólogos). Varios acudieron a Severo Ochoa, considerando que el prestigio y el reconocimiento científico adquirido por el Nobel podría abrir las puertas a la consecución de apoyo público para la investigación biomédica en España.

La respuesta de Ochoa fue positiva desde el primer momento y, si bien su laboratorio se encontraba en la cima de su producción científica, desarrollando diversos temas de biología molecular, no dudó en dedicar parte de su tiempo y esfuerzo para ayudar a que España alcanzara, algún día, el nivel científico de los países europeos más avanzados. Así, ejerció una influencia directa sobre los científicos españoles que acogió y formó en su laboratorio de Estados Unidos, los cuales, al volver a España, crearon importantes escuelas de investigadores y éstos, a su vez, fueron maestros de nuevos científicos.

Las visitas científicas de Ochoa a España (que cada vez serían más frecuentes e intensas) se iniciaron en 1961, con la celebración en Santander de la I Reunión de Bioquímica, donde hubo presentaciones orales de los científicos pioneros. Como recuerdo gráfico queda la famosa imagen “fotografía de la escalera” de los asistentes (**Figura 3**). En 1963 acudió también a Santiago de Compostela para el I Congreso Nacional, donde se fundó la Sociedad Española de Bioquímica (SEB), gracias sobre todo al impulso de Alberto Sols, bioquímico formado en el laboratorio de los Cori. Ochoa pronunció la conferencia titulada *El metabolismo propiónico*. La influencia de Ochoa también se manifestó en la invitación, por parte de la FEBS, para que España organizara su VI Congreso, el cual tuvo lugar en Madrid del 7 al 10 de abril de 1969, y al que asistieron diez premios Nobel. Esta celebración, presidida por él, tuvo un fuerte impacto en la ciencia española y a la misma asistieron unos dos mil participantes.

Otra labor impulsora de la bioquímica española por parte de Ochoa fue la consecución del Centro de Biología Molecular (CBM) Severo Ochoa (CBMSO) inaugurado en 1975 y que estuvo totalmente operativo en septiembre de 1977, constituyendo un centro mixto del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y de la Universidad Autónoma de Madrid. En él se preparó un laboratorio para el Premio Nobel, donde pasaba largas temporadas, hasta que, a finales de 1985, al cumplir 80 años, se incorporó plenamente al mismo, siendo nombrado director honorario hasta su muerte en 1993. Su presencia fue siempre muy activa, formando a sus integrantes en los seminarios y aconsejando al órgano directivo sobre su funcionamiento.

Mantuvo su presencia pública en numerosas declaraciones y artículos en la prensa, en los que subrayaba la necesidad de dotar de mayores recursos a las ciencias experimentales y, especialmente a los centros dedicados a la biología. Perteneció, además, a comités nacionales en los que se decidían repartos de subvenciones, como el Fondo de Investigaciones Sanitarias (del Ministerio de

Sanidad) y la Fundación Ramón Areces, que el creador del Corte Inglés dotó con su propio nombre para ayudar a la investigación. Impulsó y presidió los jurados de varios premios de investigación: Príncipe de Asturias, Rey Jaime I y Severo Ochoa de la Fundación Ferrer, entre otros, con el propósito de distinguir y resaltar el grado de excelencia investigadora alcanzado por algunos de los miembros de nuestra comunidad científica.



Reunión preparatoria de la Sociedad Española de Bioquímica. Santander, 1961.

**Figura 3.** Primera reunión de bioquímicos españoles celebrada en Santander, en julio de 1961, bajo el auspicio de Severo Ochoa. (Fotografía cedida por la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular [SEBBM]. Copyright SEBBM).

### Homenajes, reconocimientos y años finales

Además de la inauguración del CBMSO, en 1975, por los entonces Príncipes de España, don Juan Carlos y doña Sofía, Ochoa recibió otros homenajes por su 70 cumpleaños. Así, los propios príncipes le hicieron entrega de tres volúmenes que recogían toda su obra científica, fruto de una idea de Alberto Sols, que contó con la colaboración de Federico Mayor y Carlos Asensio: *Trabajos Reunidos de Severo Ochoa (1928-1975)*. Más adelante, la Fundación Colegio Libre de Eméritos editaría un cuarto volumen *Trabajos Reunidos de Severo Ochoa (1975-1986)*, y *Severo Ochoa en imágenes*, que recibió de manos del ministro de Educación y Ciencia en una exposición-homenaje organizada en 1989 en el Museo Español de Arte Contemporáneo.

En septiembre de 1975 se celebró también, durante cuatro días, un simposio sobre *Enzymatic mechanisms in biosynthesis and cell function*, en Barce-

lona y Madrid, con el que sus discípulos, colaboradores y amigos le tributaban un homenaje de admiración y afecto. Asistieron diez premios Nobel: Bloch, Cori, Chain, Khorana, Kornberg, Krebs, Leloir, Lipmann, Lynen y Theorell y, además, Salvador Dalí le regaló un cuadro conmemorativo que fue portada del libro *Reflections on biochemistry*, que los participantes del simposio dedicaron a Ochoa.

En 1980, Ochoa accedió a que su legado científico pasase a constituir un Museo en Valencia bajo la dirección de su distinguido discípulo Santiago Grisolia y su mujer Frances Thompson. Algunos de sus artículos periodísticos, así como su autobiografía y trabajos traducidos fueron editados por primera vez en 1989 por su biógrafo y amigo Marino Gómez-Santos con el título *Escritor*. Con motivo del trigésimo aniversario de la concesión del Nobel a Ochoa, un grupo de amigos celebró en 1990 un simposio en su honor, publicándose las contribuciones en el libro *Nuestros Orígenes: El Universo, La Vida, El Hombre*. Dos años más tarde, Santiago Grisolia editó el libro *En el umbral del tercer milenio*, donde Ochoa incluyó una de sus últimas frases: *La mente humana siempre busca el origen del Universo*, el inicio y el final de todos los seres vivos.

En 5 de mayo de 1986 se produjo la muerte de su mujer, Carmen, la cual le sumió en una gran depresión. Se truncaba así una relación admirable de más de 50 años, en la que Carmen le había dado sentido a su vida. A partir de entonces, decidió no volver a publicar ningún trabajo científico más, con lo que puso totalmente fin a su brillante carrera investigadora de 58 años, dedicándose sólo a dar conferencias, a atender a los medios de comunicación y a tratar con los estudiantes del CBM de Madrid (**Figura 4**).

En junio de 1993, Ochoa presentó en Madrid su biografía titulada *La emoción de descubrir*, escrita por el periodista Marino Gómez-Santos y en noviembre de ese mismo año murió en la capital de España, a la edad de 88 años, a consecuencia de una neumonía. Sus restos, junto con los de su esposa, descansan en el cementerio de Luarca (Asturias).

A su muerte, y cumpliéndose su testamento, se creó la Fundación Carmen y Severo Ochoa, encargada de premiar cada año a científicos españoles dedicados a las ciencias biológicas y biomédicas. También el CBM recuerda a Ochoa anualmente en sus lecciones conmemorativas que, en muchas ocasiones, han sido impartidas por científicos discípulos suyos.

Entre los reconocimientos no indicados en otras partes de este texto, figuran los siguientes: Presidente de la Unión Internacional de Bioquímicos (IUB) (1961-1968); Medalla Gallatin de la Universidad de Nueva York (1970); Presidente del Patronato del Instituto de Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid (1971); Miembro de la Academia Nacional de Estados Unidos (1957), de la de Ciencias de la URSS (1966), y de la Pontificia de Ciencias (1974). Además, a lo largo de su vida, Ochoa recibió una treintena de doctorados *honoris causa* de diversas universidades, entre las que podemos citar las siguientes: Salamanca (1961), Manila (1963), Granada y Oviedo (1967), Buenos Aires (1968), Valencia y

Autónoma de Madrid (1985). La última, *in memoriam*, fue en 1993 por la de Las Palmas de Gran Canaria.



**Figura 4.** Severo Ochoa mantuvo una presencia pública en congresos, declaraciones y artículos de prensa hasta una edad avanzada. (Fotografía cedida por la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular [SEBBM]. Copyright SEBBM).

Como también demostró en sus escritos científicos y no científicos, en inglés y en español, Ochoa, además de un gran hombre de ciencia, fue un excelente escritor, sobrio, elegante y preciso, por lo que la Sociedad Española de Médicos Escritores lo acogió como miembro de honor. También ha gozado en España de fama y reconocimientos públicos y su nombre figura en centros de sanidad y enseñanza, así como en calles de distintas ciudades españolas.

### Referencias

- Alfonseca, M. 1998. *Grandes científicos de la humanidad*. Ed. Espasa-Calpe, Madrid, pp. 157–158.
- Ávila, J. 2005. Severo Ochoa, biólogo molecular. *SEBBM*, 146: 5–6.
- de Haro, C. 2005. Severo Ochoa, su compromiso con el desarrollo de la bioquímica y biología molecular en España. *SEBBM*, 146: 12–15.
- Fernández, T. y Tamaro, E. 2004. Biografía de Severo Ochoa. En *Biografías y Vidas*. La enciclopedia biográfica en línea [Internet], Barcelona. Disponible en: <https://www.biografiasyvidas.com/biografia/o/ochoa.htm>
- Gancedo, C. 2005. La contribución de un enzimólogo a la biología molecular. *SEBBM*, 146: 7–10

- Gancedo, C. 2011. Semblanza de Alberto Sols, maestro de bioquímicos españoles. *SEBBM*, 170: 28–33.
- García García, E. 2004. “Severo Ochoa: otros exilios”. *Ábaco: revista de cultura y ciencias sociales*, N.º 42, Disponible en Web: <https://www.raco.cat/index.php/Anales-Medicina/article/view/103471>. Consultado el 4 de diciembre de 2023.
- García Mena, J. 2006. Polinucleótido fosforilasa: una joya de las ribonucleasas. *Cinvestav*, Oct-Dic: 49–57
- García Olmedo, F. 2006. Ochoa, por fin en serio. *Revista de Libros*. Domingo, 1 de enero, pp. 1–4.
- Gómez-Santos, M. 2005. *Severo Ochoa y España*. Editorial Trotta, Madrid.
- Kornberg, A., Horecker, B.L., Cornudella, L. y Oró, J. (eds.). 1976. *Reflections on biochemistry: in Honour of Severo Ochoa*. Pergamon Press, New York.
- Losada Villasante, M. 1994. *Ochoa. Hombre de ciencia y de bien*. Universidad de Sevilla. Secretariado de Publicaciones. Sevilla.
- Martínez Pulido, C. 2017. Marianne Grunberg Manago. Disponible en: <https://mujeresconciencia.com/2017/10/03/marianne-grunberg-manago-destacada-bioquimica-luz/>
- Méjica García, J.M. y Rodríguez Blanco, M.D. (eds.). 2019. *Severo Ochoa y la belleza de la Ciencia a través de la mirada de Juan Méjica*. Fundación Méjica y Universidad de Oviedo, Oviedo.
- Ochoa, S. 1959. *Enzymatic synthesis of ribonucleic acid*. Nobel Lecture, December 11, 1959. Disponible en: [www.nobelprize.org/uploads/2018/06/ochoa-lecture.pdf](http://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/ochoa-lecture.pdf)
- Ochoa, S. 1980. The pursuit of a hobby. *Annual Review of Biochemistry*, 49: 1–30
- Ochoa, S. 1985. Carl Ferdinand Cori 1896-1984. *TIBS*, April, 147–150
- Rubio, V. 2008. The Spanish Society of Biochemistry and Molecular Biology, the development of Biochemistry in Spain, and IUBMB. *Life*, 60: 270–274.
- Salas, M. 2020. Severo Ochoa. La bioquímica como “hobby”. Disponible en: [web2020.sebbm.es/web/images/archivos/archivos\\_tinymce/28.9.11\\_severo\\_ochoa\\_pdf.pdf](http://web2020.sebbm.es/web/images/archivos/archivos_tinymce/28.9.11_severo_ochoa_pdf.pdf)
- Sánchez Ron, J.M. 2020. *El país de los sueños perdidos. Historia de la ciencia en España*. Ed. Taurus, Barcelona.
- Santemas, M.J. 2005. *Severo Ochoa. De músculos a proteínas*. Ed. Síntesis, Madrid (398 pp.)
- Santemas, M.J. 2004. Severo Ochoa (1905-1993). En: *Cuarenta años de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (1963-2003)* (eds. Santemas,

- M.J., Romero, A. y Avila, J.), pp. 323–326. Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, S.A., Madrid.
- Sols, A. y Estévez, C. (eds.). 1975. *Trabajos reunidos de Severo Ochoa, 1928-1975. (Tomos I, II y III)*. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Educación y Ciencia, Madrid.
- Sols, A. y Grisolia, S. (eds.). 1987. *Trabajos reunidos de Severo Ochoa (1975-1986) (Tomo IV)*. Fundación Colegio Libre de Eméritos Universitarios, Madrid, 1987.
- Yong Tan, S. y Pettigrew, K. 2018. Severo Ochoa (1905–1993): The man behind RNA. *Singapore Medical Journal*, 59(1): 3–4.



## AMBIÓLOGOS DE AQUÍ

### De biotecnóloga a astronauta

Sara García Alonso

Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO).

Email: [sgarciaa@cnio.es](mailto:sgarciaa@cnio.es)

De niña, sentía tanta curiosidad por el mundo que me rodeaba que, cuando me preguntaban “¿qué quieres ser de mayor?”, respondía astronauta, bióloga, física, química, ingeniera (dependía del día). Aunque era un mar de dudas, parece que mi vocación por las carreras STEM ya había calado, dado que una cosa sí tenía clara: deseaba dedicarme a una profesión que, a través del avance en el conocimiento y el desarrollo tecnológico, mejorase la vida de las personas y el entorno en el que vivimos.

Aunque no tenía referentes dentro del mundo de la ciencia y la tecnología, ni siquiera había ejemplos de universitarios en mi familia, decidí dejarme llevar por ese impulso y encontré en la biotecnología una respuesta a mi deseo. “¿BioQué?” es lo que me preguntaban cuando decía que estudiaba biotecnología. Y debo confesar que ni yo misma estaba muy segura de lo que significaba. Elegí esa carrera cuando me encontré con esta definición: *toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos*. La idea de una ciencia capaz de transformar el conocimiento basado en la biología en realidades que reviertan en el beneficio de la sociedad me cautivó. Y no solo eso, la biotecnología, presente en casi todas las áreas y actividades que realiza a diario el ser humano, me ofrecía un auténtico arcoíris de colores o, mejor dicho, posibilidades. El rojo para las aplicaciones biosanitarias, el verde para aplicaciones en el sector agrícola, el blanco para las aplicaciones en el sector industrial, etc.

En 2007, la licenciatura en Biotecnología se ofertaba en un número limitado de universidades y, afortunadamente, la facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, en mi ciudad natal, era una de ellas. Fue durante mi etapa universitaria cuando conocí a mis auténticos referentes: gente brillante, valiente y con muchas inquietudes. Muchos de ellos trabajamos codo con codo en movimientos estudiantiles como ABLe y FEBiotec, desde donde organizamos numerosos eventos para visibilizar la biotecnología en el conjunto de la sociedad. Estas personas sí que representaban un espejo en el que yo podía mirarme y fueron la mecha que me dio alas para pensar “si ellos pueden enfrentarse a estos desafíos, yo también”.

Durante mi paso por la Universidad, tomé la decisión de empezar a entrenarme en laboratorios para aprender a ser una buena investigadora. Nunca

le estaré lo suficientemente agradecida a Margot Marqués, por enseñarme a dar los primeros pasos y guiarme con tanto cariño y dedicación. Hoy en día, sigo sintiéndome privilegiada por la formación recibida en esta facultad, que cuenta con un gran número de profesores que han dejado un poso en mí. También experimenté por primera vez la satisfacción de participar en congresos científicos, donde compartí mi trabajo con otros colegas. Fiel a mi alto nivel de autoexigencia y a mi cultura del esfuerzo, estudié mucho y obtuve dos premios a la excelencia académica en mi graduación. Me especialicé en esta misma facultad, cursando el Máster en Investigación Biomédica y experimentando en primera persona lo que es formar parte de un gran equipo de investigación, el de Carmen Marín. Quizá lo más importante de mi etapa en la facultad es que descubrí mi vocación.



Decidí perseguir una carrera científica y encontré en la investigación contra el cáncer una doble motivación: por un lado, se trata de un conjunto de enfermedades con una complejidad enorme que requiere enfoques diversos y multidisciplinarios, y la colaboración de miles de científicos. Por otro lado, el objetivo es mejorar la vida de los pacientes. En 2013, me trasladé al Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca para realizar mi doctorado. Fue una etapa de trabajo y aprendizaje muy intensa, pero fascinante, tanto a nivel científico como personal, que culminó con una tesis que compendia los tres proyectos distintos que abordé en este período y que fue premiada en la categoría de Medicina. En 2019, contacté con un científico al que admiraba desde pequeña, explicándole los motivos por los que me interesaba trabajar con él y los motivos por los que debía darme una oportunidad. Al día siguiente tuve mi respuesta y me incorporé como inves-

tigadora postdoctoral al grupo del Dr. Mariano Barbacid, en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Tres años después, me ascendieron a científica de plantilla y actualmente dirijo un equipo maravilloso en el que trabajamos para sacar adelante un proyecto que me apasiona, enfocado a desarrollar nuevos fármacos para tratar un tipo de adenocarcinoma de pulmón. Además, ahora también tengo la suerte de transmitir todo lo que yo he aprendido a otros estudiantes y doctorandos que comparten el amor por la ciencia.

Sin embargo, en febrero de 2021 se abrió una oferta de trabajo para ser astronauta de la Agencia Espacial Europea (ESA), y de repente la niña que dijo alguna vez “de mayor quiero ser astronauta” volvió a surgir en mí. Pero ¿por qué me presenté, si mi vocación es la investigación contra el cáncer? Porque el trabajo de astronauta combina a la perfección proyectos científicos inspiradores con la última y más avanzada tecnología, mediante el trabajo en equipo en un ambiente internacional y multicultural. De alguna manera, ya había encontrado todo eso en mi profesión como científica. Pero este trabajo me brindaba la extraordinaria oportunidad de viajar al espacio y ver nuestro planeta como un punto azul pálido sin fronteras.

Nunca pensé que una mujer biotecnóloga podría optar a este puesto e incluso ser idónea para él. Menos aun cuando descubrí que casi 23.000 personas altamente cualificadas optaban al mismo puesto (lo que implica que las posibilidades de éxito eran del 0,004 %). Si me hubiera fiado de eso, me habría rendido antes casi de empezar, pero quería intentarlo y ver qué me encontraba y qué lecciones vitales iba a aprender. Fui valiente para dar el primer paso, me preparé todo lo bien que pude y puse toda mi pasión durante los 18 meses que duró el proceso porque, aunque mi profesión no estaba relacionada con el espacio, mi determinación y compromiso sí que van más allá de este planeta.

¿Pero cuál es el propósito de todo esto? ¿Qué le espera a un astronauta cuando se le asigna una misión? La exploración espacial beneficia a la sociedad en general, aborda cuestiones fundamentales relacionadas con la historia, la existencia y el futuro de la vida y amplía los límites del conocimiento. Los conocimientos desarrollados para explorar y conquistar el espacio pueden hacer que la vida en la Tierra sea más productiva, limpia y sostenible, impulsando la economía y creando puestos de trabajo. Es una gran fuente de inspiración, especialmente para las generaciones jóvenes. Y, por último, fomenta las asociaciones internacionales.

Al igual que ocurre con la biotecnología, la exploración, pulsión inherente a la condición humana, se basa en la investigación e innovación. Y para mí, esas son las piezas fundamentales de un rompecabezas multidisciplinario que, cuando se ajustan con precisión, revelan el progreso y las respuestas que impulsan nuestro mundo hacia nuevas fronteras del conocimiento.

Ahora, como primera mujer española miembro del cuerpo de astronautas de la ESA, tengo un altavoz para animar a jóvenes y futuras generaciones a que vacíen sus mochilas de piedras como la baja autoestima, la falta de referentes o

los estereotipos, y la llenen con valentía para atreverse a explorar, con amabilidad hacia los demás, pasión, aprendizaje continuo y esfuerzo. Esa es la mochila que me puse a la espalda cuando empecé mi camino, simplemente dando el primer paso motivada por aquello que me hacía feliz, sin pensar demasiado en el objetivo. Todos los pasos siguientes han seguido esas premisas y me han llevado a cumplir mis sueños. Pero la historia no termina aquí, sino que comienza una nueva etapa, con objetivos y propósitos a alcanzar. No sé cuál es el camino perfecto para conseguirlo ni qué dificultades me voy a encontrar, pero sí sé cómo comienza: siendo valiente para dar ese primer paso.



## MI PROYECTO DE TESIS

### Efectos del cambio climático en hábitats naturales y táxones vegetales de importancia comunitaria (Directiva 92/43/CEE) en la cuenca mediterránea europea

Giovanni-Breogán Ferreiro-Lera

Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental (Área de Botánica). Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales. Universidad de León. [gferl@unileon.es](mailto:gferl@unileon.es)

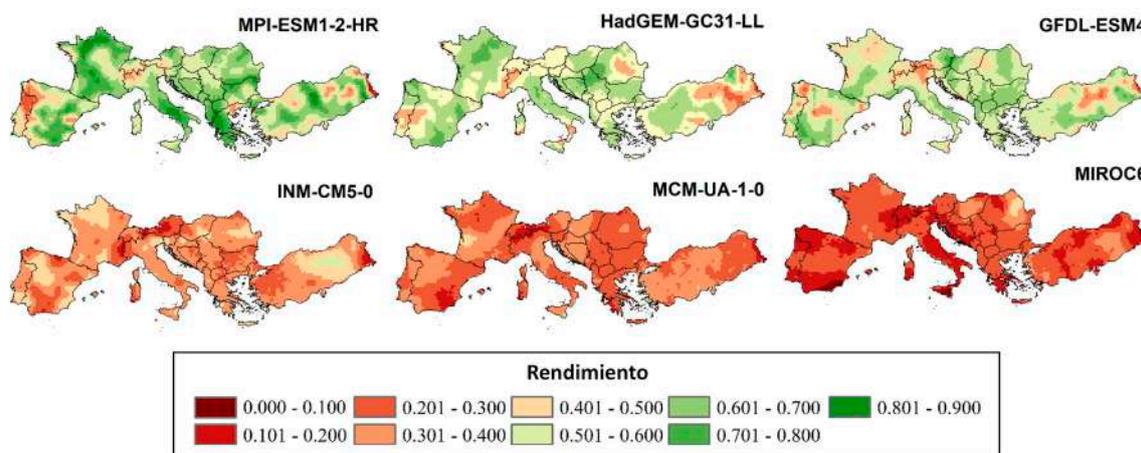
Hace casi 50 años que el ser humano es consciente de que nos enfrentamos a un período de calentamiento global. Desde que W. S. Broecker acuñara el término en 1975 hasta que en el año 2020 el secretario general de las Naciones Unidas declarara el estado de “emergencia climática mundial”, investigaciones dirigidas desde todas las partes del mundo apuntan en una misma dirección: el clima está cambiando. La causa no nos es ajena. Ya en 1971 el afamado Instituto Tecnológico de Massachusetts (más conocido como MIT o “*emeité*”) publicó un informe en el que creían haber encontrado una “modificación climática inadvertida”, que podía atribuirse a la quema masiva de combustibles fósiles iniciada a mediados del siglo XIX para alimentar la naciente industria humana (Weart, 2003). El último informe del IPCC cifra el aumento en la temperatura media global con respecto al período de referencia 1850-1900 en **1,6 °C** (IPCC, 2021). Esto, unido a la ocurrencia de veranos más calurosos, de olas de calor más frecuentes y de mayor magnitud que ya no se limitan sólo al estío, de eventos de precipitación extrema y de un larguísimo etcétera de eventos meteorológicos inusuales, hacen que la modificación climática insinuada por el MIT a principios de los setenta ya no sea tan inadvertida.

Recientes informes a escala regional nos alertan de que la cuenca mediterránea será, con una probabilidad elevada, una de las zonas del globo más afectadas por el cambio climático (MedECC, 2020). Para esta región los incrementos anuales en la temperatura podrían superar los **4,5 °C** a finales del presente siglo, y las precipitaciones podrían decaer incluso un **40 %**. De este modo, el mediterráneo parece encaminarse hacia un futuro con mayor prevalencia de eventos de **sequía** (Mukherjee *et al.*, 2022) y donde fenómenos como los **medicanes** o “huracanes mediterráneos”, otrora discrecionales y tan sorprendentes para el público general, adquieran cierta periodicidad (Cavicchia *et al.*, 2014).

Existen en la comunidad científica *sombras de sospecha* acerca del concepto de **puntos de no retorno**, es decir, valores de emisión de CO<sub>2</sub> a partir de los cuales nuestros esfuerzos de mitigación pueden ser completamente fútiles (van Zalinge *et al.*, 2017). Esta posibilidad, por muy alarmista que parezca, nos pone sobre aviso de cuán importante es comenzar a desarrollar mecanismos de

adaptación eficaces para soportar la creciente demanda humana en un contexto de cambio climático. A fin de cuentas, todo lo que las sociedades humanas poseen o pueden poseer depende directa, o indirectamente, del medio natural. Cómo el cambio climático modificará los servicios ecosistémicos que el medio ambiente nos proporciona es una pregunta que cobra mayor relevancia cada día que nos acercamos a los escenarios pronosticados. En este sentido, el presente proyecto de tesis pretende aportar su granito de arena investigando acerca de cómo los cambios climáticos predichos en la región mediterránea europea afectarán a hábitats naturales y táxones vegetales de importancia comunitaria, es decir, aquellos amparados por la Directiva 92/43/CEE o Directiva *HABITATS*.

El objetivo con esta investigación es doble. Por un lado, se pretenden analizar las variaciones climáticas y bioclimáticas proyectadas para la cuenca mediterránea europea a corto (hasta 2050), medio (2051-2075) y largo plazo (a partir de 2076) bajo escenarios optimistas y pesimistas en cuanto a emisión de gases de efecto invernadero. Por otro lado, se determinarán posibles variaciones en la distribución de táxones vegetales y hábitats naturales de importancia comunitaria en respuesta a las variaciones climáticas observadas y se realizarán análisis de vulnerabilidad y estado de conservación en los diferentes escenarios de cambio climático.

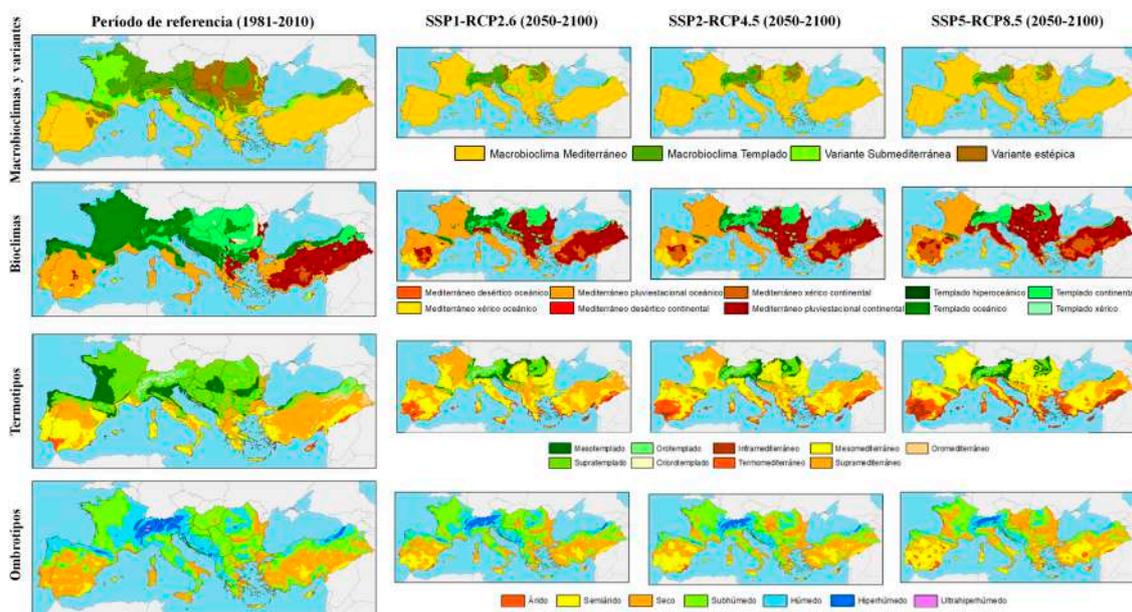


**Figura 1.** Rendimiento entre 0 (pésimo) y 1 (óptimo) de varios modelos de circulación general en la región mediterránea europea.

Actualmente nos encontramos en proceso de desarrollo del primero de los objetivos. A lo largo de la primera anualidad en el programa de doctorado en *Ecología Funcional y Aplicada*, se han evaluado los **modelos de circulación general (MCG)** que mejor simulan las variables climáticas en el área de estudio. Estos modelos son complejas fórmulas matemáticas que interrelacionan los diferentes componentes del sistema climático (atmósfera, biósfera, criósfera, hidrósfera y suelo) (O'Neill *et al.*, 2016). Conocer cuáles de ellos reproducen mejor el clima de una región es útil a la hora de realizar proyecciones a futuro fiables y ajustadas a la realidad climática actual. En la **Figura 1** podemos observar el ren-

dimiento, valorado entre 0 (pésimo) y 1 (óptimo), de algunos MCG que ofrecen buenos resultados en el área de estudio, y de otros que no tanto...

En base a esta evaluación podemos obtener **modelos de consenso** que nos permitan inducir la tendencia que seguirán en las próximas décadas variables climáticas como temperatura o precipitación, así como parámetros e índices bioclimáticos. En la **Figura 2** se muestran algunos de los resultados obtenidos recientemente a este respecto, que parecen concordar con investigaciones previas en sugerir un futuro más térmico y seco para la cuenca mediterránea europea.



**Figura 2.** Cambios esperados en los parámetros e índices bioclimáticos de Rivas-Martínez *et al.* (2011) en la región mediterránea europea a medio-largo plazo (2050-2100) bajo diferentes escenarios de emisión de gases de efecto invernadero: optimista (SSP1-RCP2.6), intermedio (SSP2-RCP4.5) y pesimista (SSP5-RCP8.5).

El presente proyecto de tesis continuará con el desarrollo de los objetivos más relacionados con el ámbito corológico-vegetacional. Se espera que las conclusiones obtenidas respalden futuras medidas encaminadas a mejorar la conservación vegetal de hábitats y táxones vulnerables al cambio climático, así como a planificar y ordenar adecuadamente el territorio en un contexto de cambio climático.

**Referencias**

Cavicchia, L., von Storch, H. y Gualdi, S. 2014. A long-term climatology of medicanes. *Climate Dynamics*, 43: 1183–1195.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2021. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds. V. Mas-

- son-Delmotte, P. Zhai, *et al.*), pp. 147–1767, Nueva York, Cambridge University Press.
- MedECC (Mediterranean Experts on Climate and environmental Change). 2020. Climate and Environmental Change in the Mediterranean Basin – Current Situation and Risks for the Future. First Mediterranean Assessment Report (eds. Cramer, W., Guiot, J. y Marini, K.), pp. 1–632, Marsella, UNEP/MAP.
- Mukherjee, S., Mishra, A.K., Ashfaq, M. y Kao, S.C. 2022. Relative effect of anthropogenic warming and natural climate variability to changes in compound drought and heatwaves. *Journal of Hydrology*, 605: 127396.
- O'Neill, B.C., Tebaldi, C., Van Vuuren, D.P., Eyring, V. *et al.* 2016. The scenario model intercomparison project (ScenarioMIP) for CMIP6. *Geoscientific Model Development*, 9 (9): 3461–3482
- Rivas-Martínez, S., Rivas-Sáenz, S. y Penas, Á. 2011. Worldwide bioclimatic classification system. *Global Geobotany*, 1: 1–638 + 4 maps.
- van Zalinge, B.C., Feng, Q.Y., Aengenheyster, M. y Dijkstra, H.A. 2017. On determining the point of no return in climate change. *Earth System Dynamics*, 8 (3): 707–717.
- Weart, S. 2003. The discovery of rapid climate change. *Physic Today*, 56 (8): 30–36.

## EDUCANDO EN LO NUESTRO

### Experiencias fascinantes en la docencia de la Biología de las Plantas

José Luis Acebes, M<sup>a</sup> Luz Centeno, Antonio Encina, Carlos Frey, Penélope García-Angulo, Asier Largo-Gosens, Alba Manga-Robles y Hugo Mérida

Grupo de Innovación Docente “Savia Sabia”. Área de Fisiología Vegetal. Universidad de León

“Savia Sabia” es un grupo de innovación docente integrado por docentes del Área de Fisiología Vegetal de la Universidad de León, dedicado a crear entornos educativos motivadores para la enseñanza de la Biología de las Plantas. Entre sus objetivos está la puesta en marcha de recursos de enseñanza-aprendizaje basados en la fascinación por las plantas. Desde que comenzó como grupo en 2014, su filosofía ha sido motivar el interés de los alumnos de los Grados de Biotecnología y Biología por el mundo de la Biología de las Plantas a través de actividades en las que participan directamente y desarrollan diferentes habilidades. Muchos de estos recursos han surgido a partir de la participación del grupo en el Día internacional de Fascinación por las Plantas, a través de la puesta en marcha del Taller denominado “Experimentos fascinantes con plantas”. Fruto de esta iniciativa surgió la publicación del libro “Experimentos fascinantes con plantas” y de vídeos en YouTube, que facilitarían la integración de los experimentos en la docencia propia de diversos niveles educativos. Otros proyectos han consistido en la elaboración del programa de radio “Hablando en verde”, la obra de teatro “Historia de la Biotecnología Vegetal”, la edición de mini-vídeos “Yo me quedo en casa estudiando Fisiología Vegetal”, un taller de escritura científica, así como el desarrollo de diversas experiencias de creatividad y gamificación, como “el desafío” y “retos de cine”, y más recientemente la creación de PLANTA, un juego de cartas didáctico. Todas estas iniciativas han sido valoradas muy positivamente por los estudiantes, han sido difundidas a través de ponencias y comunicaciones en congresos y otras publicaciones, y son transferibles a otras materias universitarias.

#### Palabras clave

Aprendizaje basado en problemas, aprendizaje servicio, día de fascinación por las plantas, experimentos, gamificación

#### La apuesta por la fascinación como recurso docente

La experiencia docente de un buen grupo de profesores del área de Fisiología Vegetal nos había permitido constatar que la curiosidad, y más aún, el asom-

bro, constituyen motores eficaces tanto para el aprendizaje de los alumnos como para la práctica docente. Por ello, cuando en 2014 la Universidad de León publicó las directrices para la creación de Grupos de Innovación Docente (GID), nos propusimos solicitar el reconocimiento como uno de tales grupos, y de hecho fuimos aprobados ya en esa primera convocatoria con el número 8 (SAVIAGIDO8). El nombre que elegimos, “Savia Sabia”, era toda una declaración de intenciones, ya que lo que pretendíamos era poner en marcha experiencias de innovación docente (savia) en el marco de la biología de las plantas (savia).

Desde entonces, a lo largo de estos diez años (2014-2023), hemos presentado y desarrollado un buen número de proyectos, todos ellos encaminados a suscitar el asombro en la enseñanza-aprendizaje de la biología de las plantas en distintos niveles educativos a través de metodologías docentes proactivas. A continuación iremos presentando doce de esas experiencias, seleccionadas en función de su valoración por los alumnos y su aplicabilidad a otros contextos.

#### 1. Taller “Experimentos fascinantes con plantas”. Actividades del día internacional de fascinación por las plantas

Desde el 18 de mayo del 2012, la Organización Europea para la Ciencia de las Plantas (EPSO, por sus siglas en inglés) invita todos los años a museos, centros de investigación, universidades y otras entidades alrededor del mundo, a celebrar el Día Internacional de la Fascinación por las Plantas, dedicado a fomentar el interés y concienciar a la población sobre la importancia de la investigación en estos organismos.

Desde 2014 hemos organizado y participado en las actividades desarrolladas por el Día Internacional de la Fascinación por las Plantas en la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales (Manga-Robles *et al.*, 2022). Las experiencias que hemos puesto en marcha a lo largo de los años han ido variando, pero se pueden englobar principalmente en tres: la impartición de los talleres “experimentos fascinantes con plantas”, la organización de mini-congresos relacionados con la Biotecnología Vegetal y la realización de una gymkhana denominada “Plantas en acción”. Todas las actividades buscan la participación, tanto en la organización como en la realización, de alumnos voluntarios de asignaturas de diferentes cursos de los grados de Biología y Biotecnología, bajo la supervisión y coordinación de los miembros del GID. Las actividades se han impartido a otros alumnos de diferentes grados universitarios, alumnos de primaria y secundaria, (con la colaboración de diversos colegios e institutos de la provincia de León) y a la sociedad en general. Cabe destacar la buena valoración que han tenido estos talleres, tanto por parte de los alumnos que los imparten, como de los asistentes a ellos, lo que nos ha abierto puertas para la divulgación de la investigación en plantas en un variado tipo de eventos durante todos estos años.



**Figura 1.** Celebración de uno de los talleres del Día Internacional de Fascinación por las Plantas.

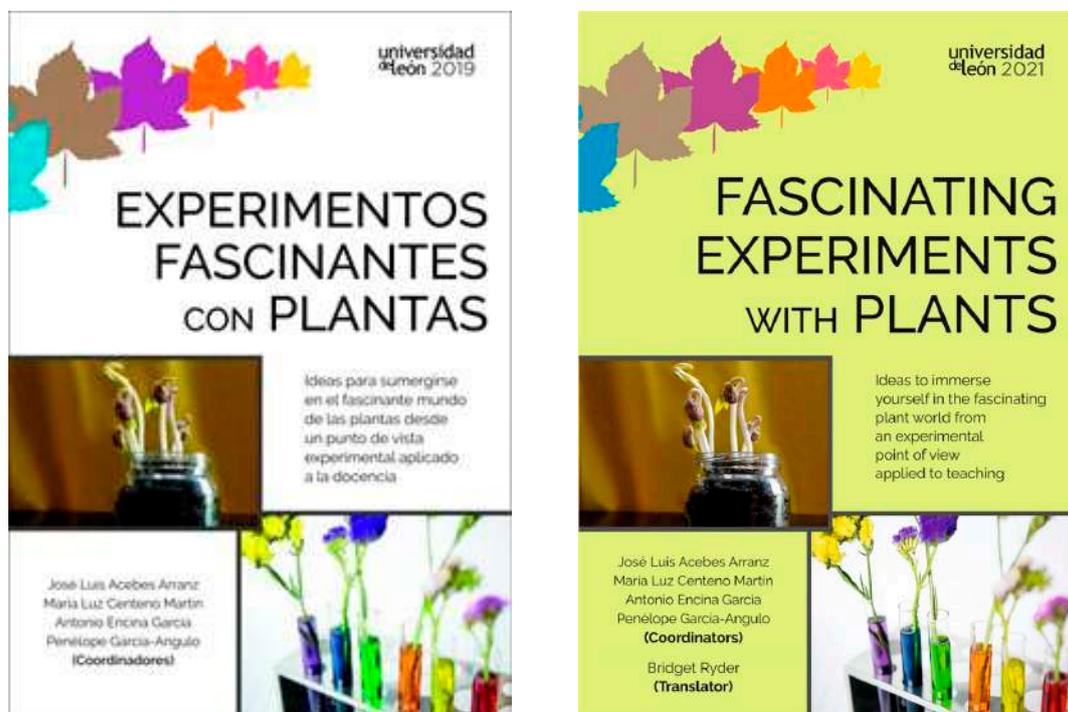
## 2. Publicación del libro “Experimentos fascinantes con plantas”

Tomando como base los talleres “Experimentos fascinantes con plantas”, presentamos un proyecto de innovación docente que ha resultado en la publicación de un libro titulado “Experimentos fascinantes con plantas”. En este libro se recoge la versión extendida de los materiales didácticos que se prepararon en su día para guiar a los asistentes a los talleres de divulgación científica que organiza el GID. El libro se encuentra disponible en español (Acebes *et al.*, 2019) e inglés (Acebes *et al.*, 2021) y ha sido editado por el Servicio de Publicaciones de la Universidad de León.

Esta publicación consta de nueve capítulos dedicados a aspectos diferentes de la fisiología de las plantas (p. ej.: fotosíntesis en acción, los movimientos de las plantas o los colores fascinantes de las plantas). Dentro de cada capítulo se puede encontrar entre dos y cuatro experimentos diferentes que se describen detalladamente siguiendo el siguiente esquema: resumen, introducción, método experimental, qué hemos aprendido y para saber más. Todos los experimentos seleccionados reúnen una serie de características comunes: ser aplicables al aula, ser activos, atractivos, sencillos de realizar, rápidos y didácticos. El libro está dirigido en un principio a alumnos de educación secundaria obligatoria, pero las experiencias de laboratorio que contienen son fáciles de adaptar a otros niveles como educación primaria, bachillerato o primeros cursos de grados universitarios.

Los textos, imágenes e infografías dedicados a cada experimento son originales y en sí mismos representan una actividad de innovación docente porque

en su elaboración participaron activamente alumnos de los grados de Biología y Biotecnología bajo la supervisión y coordinación de uno de los miembros del GID. Todos los alumnos participantes en la elaboración de alguno de los capítulos figuran como coautores de la publicación.



**Figura 2.** Portadas de los libros “Experimentos fascinantes con plantas” (2019) y “Fascinating experiments with Plants” (2021).

### 3. Edición de mini-videos “Yo me quedo en casa estudiando Fisiología Vegetal” y creación de un canal de YouTube

Esta actividad se desarrolló en el contexto de la crisis generada por el coronavirus, en la que los docentes tuvimos que plantear nuevos recursos y actividades online que permitieran a los alumnos continuar su proceso de aprendizaje bajo la situación de confinamiento. La iniciativa consistió en elaborar lecciones de corta duración a modo de pequeñas píldoras de información que abarcaran y sintetizaran de forma ágil los contenidos más relevantes de los temas (*microlearning*) (Martínez-Rubio *et al.*, 2022). En este contexto, se desarrolló una actividad de *microlearning* basada en vídeos elaborados por alumnos de Fisiología Vegetal de 2º curso del Grado en Biotecnología. Para ello, se les planteó trabajar de forma voluntaria en grupos reducidos para hacer un vídeo divulgativo, de corta duración, sobre el proceso de la fisiología de las plantas que ellos eligieran. Cada grupo tuvo que cumplimentar una ficha con el título, un resumen de su propuesta y una pequeña presentación PowerPoint con formato común. Una vez que la profesora revisó la ficha, los estudiantes grabaron el vídeo desde sus casas utilizando una

aplicación disponible online (Screencast O Matic). El trabajo se evaluó y permitió que los alumnos incrementan hasta en un punto su calificación en la asignatura.

La serie de vídeos, titulada “Yo me quedo en casa estudiando Fisiología Vegetal”, está disponible en YouTube y también se puede acceder a los vídeos en el enlace <https://www.unileon.es/investigadores/investigar-transferir/difusion-investigacion/difusion-y-cultura-cientifica>. Los destinatarios son los propios compañeros, así como estudiantes de primaria y secundaria y público en general. Así, se presta también un servicio de formación a la comunidad (*Service learning*). Los vídeos han sido elaborados como material docente, ya que se les ha incluido una serie de preguntas a lo largo del video, empleando la herramienta Edpuzzle, que hay que contestar correctamente para poder seguir viendo el vídeo. Después, los vídeos fueron visualizados a modo de prueba por 12 estudiantes de bachillerato y 65 del grado en Biotecnología. De los resultados analizados pudimos comprobar que los estudiantes de grado respondían mejor que los de bachillerato, como cabría esperar, y que los alumnos de bachillerato no comprendían bien los temas relacionados con fotosíntesis. Posteriormente, en grupos de 3-4 alumnos elaboraron un nuevo vídeo de 2 minutos para explicar dos problemas propuestos por el profesor sobre (1) la capilaridad y el transporte del xilema, y (2) la mejora de la fotosíntesis.

La actividad fue evaluada mediante una escala de Likert de cinco puntos (5-Likert) aplicada a los alumnos tras el visionado de los vídeos y las principales conclusiones que se sacaron fueron: 1) Los vídeos han sido muy útiles para desarrollar las habilidades orales y de comunicación y estudiar la materia de forma divertida, y 2) Los vídeos cortos son una buena forma de acercar la ciencia a la sociedad.

#### 4. Obra de teatro “La Biotecnología Vegetal como la hubiera contado Charles Dickens”

La obra de teatro es una actividad de aprendizaje que involucra directamente a los estudiantes en su proceso de formación y les resulta muy motivadora. Además, si se plantea en el marco de una metodología docente más amplia como es el aprendizaje basado en problemas (ABP), posibilita que éstos desarrollen varias competencias transversales: búsqueda y selección de información, expresión escrita, oral y corporal, creatividad y trabajo en equipo. También les permite adquirir conocimientos nuevos de una materia y/o ampliar otros (competencias específicas). Por ello, en 2014 se adaptaron los recursos y herramientas del ABP aplicando en la docencia de Biotecnología Vegetal (asignatura de tercer curso del grado en Biotecnología) una obra titulada “La Biotecnología Vegetal como la hubiera contado Charles Dickens” (García-Angulo *et al.*, 2022).

Las profesoras idearon tres ABPs que consistían en representar algunos hechos históricos de la Biotecnología Vegetal sucedidos en tres periodos definidos como pasado, presente y futuro. Los ABPs se asignaron por sorteo a tres

grupos de cinco estudiantes. Cada grupo buscó y seleccionó los descubrimientos y aplicaciones más relevantes de la materia. Una vez que las profesoras supervisaron el trabajo en una tutoría, los estudiantes redactaron los hitos a modo de escenas de teatro y pusieron en común los tres escritos para elaborar un guion (trabajo escrito evaluable del ABP). En una segunda tutoría, representaron una de las escenas, que fue grabada, y la grabación se puso a su disposición como herramienta de mejora. Tras realizar un par de ensayos, los grupos representaron la obra (exposición oral evaluable) en el Salón de Grados de la Facultad. Las profesoras evaluaron el trabajo utilizando la misma rúbrica aplicada al resto de ABPs. La calificación obtenida por los estudiantes supuso un 25 % de su nota en la asignatura.

La obra se representó de nuevo en noviembre para celebrar el Año de la Biotecnología y la festividad de San Alberto Magno. Participaron estudiantes del curso 2014-15, que todavía no habían cursado la asignatura, entre los que se distribuyó una encuesta de evaluación de la actividad. Todos los ítems alcanzaron una nota superior a 4,2 en una escala 5-Likert, siendo el valor divulgativo de la obra y la mejora de ciertas competencias transversales (trabajo en equipo y comunicación oral) los aspectos mejor considerados. El proyecto recibió la mención honorífica en el premio 2015 a la innovación en la enseñanza convocado por el Consejo Social de la Universidad de León en 2015 (García Angulo y Centeno, 2015).



**Figura 3.** Profesoras y alumnos de Biotecnología que participaron en la puesta en escena de “Historia de la Biotecnología Vegetal”.

##### 5. Elaboración de podcasts. Programa de radio “Hablando en verde”

Otra de las experiencias de innovación docente del GID en la que los estudiantes pudieron realizar divulgación del conocimiento fue el programa de radio “Hablando en verde”. En este caso se planteó a los estudiantes de Fisiología Vegetal Aplicada (asignatura de tercer curso del grado en Biología) elaborar podcasts sobre la fisiología de las plantas aplicada a aspectos del desarrollo agrícola y de procesos industriales relacionados con la producción y la biotecnología (Centeno *et al.*, 2022).

La actividad fue voluntaria y en ella participaron 42 de 102 estudiantes. Se hicieron 11 grupos de trabajo de 3-4 alumnos y cada grupo propuso un tema o, mayoritariamente, eligió uno de los 15 propuestos por los profesores. Los grupos prepararon en un mes una reunión con el profesor-tutor asignado en la que debían presentar: a) un esquema general del espacio radiofónico con una duración entre 30 y 40 minutos (escaleta), b) los contenidos formativos, c) el tipo de actividades de divulgación entrevistas a profesionales, tertulias, encuestas en la calle, noticias, etc.). Una vez consensuado todo con el tutor, hicieron un guion que le entregaron al cabo de dos meses para que lo supervisara. Las grabaciones a pie de calle las hicieron los alumnos, mientras que el resto se realizaron en los estudios de la radio universitaria con la ayuda y colaboración de los estudiantes responsables de su funcionamiento, quienes también intervinieron en el montaje de los programas.

Los participantes en la actividad manifestaron que la experiencia fue más satisfactoria de lo esperado, sobre todo por la novedad y la posibilidad de hacer divulgación en un contexto real, y que recomendarían la experiencia a sus compañeros. Los profesores valoraron la participación de los estudiantes en la actividad, su capacidad comunicativa y la calidad de guion, valoración que se utilizó para aumentar en un punto su calificación en la asignatura.

Finalmente, el programa no pudo ser emitido debido al cierre de las instalaciones de la radio universitaria, quedando pendiente la grabación de un espacio o de presentación del programa. Aun así, consideramos que los estudiantes desarrollaron competencias específicas y transversales similares a las expuestas para la obra de teatro. Por otro lado, ambas experiencias son muy versátiles, pues se puede extrapolar a otras disciplinas, y permiten que los estudiantes realicen un servicio a la comunidad (*Service learning*) a través de la divulgación.

##### 6. Taller de escritura científica

La redacción de resultados científicos es una competencia transversal de gran importancia en la carrera científica. Por este motivo se diseñaron y desarrollaron los “talleres de escritura científica” en la asignatura Aplicaciones Biotecnológicas del Metabolismo y el Desarrollo de plantas, optativa del último curso del grado en Biotecnología (Centeno *et al.*, 2022).

Tras la realización de las prácticas de laboratorio al inicio del curso, a cada pareja de alumnos se le asignó una de las prácticas con el objetivo de que utilizaran los datos para elaborar un artículo. Para guiarles, se impartieron 5 talleres de 2 horas. En ellos se les dan las claves para redactar los apartados de un trabajo científico y se hacen ejercicios de escritura en el aula. Cada uno de estos ejercicios son corregidos por otra pareja de estudiantes y, una vez examinados por los autores, se envían al profesor para su revisión y calificación. De este modo todos los estudiantes adquieren dos roles durante el desarrollo de la actividad: el rol de autores y el de revisores, y ambos son evaluados y calificados. Con ello se busca que los estudiantes desarrollen también su capacidad de crítica constructiva a través de la corrección a sus compañeros.

Antes de entregar el trabajo escrito final, los alumnos realizaron una exposición de 10 minutos y, tras los comentarios de profesores y alumnos, dispusieron de un tiempo para mejorarlo. Los trabajos definitivos tenían que ser enviados junto con una carta de presentación (*cover letter*) al editor (profesor responsable de la asignatura). Finalmente, cada trabajo fue asignado a otra pareja de alumnos, quienes lo revisaron y emitieron el informe correspondiente. Si de los informes emitidos por los revisores (alumnos revisores + profesor) se obtiene una calificación de revisión a fondo (*major revision*), los autores deben revisar su trabajo y hacer una carta contestando a todas las alegaciones hechas por los revisores. Tanto el trabajo realizado como autores como el de revisores se tuvo en cuenta en la calificación final, que en este caso fue el 80 % de la calificación final de la asignatura. La actividad se viene desarrollando desde el inicio de la asignatura en el plan de estudios y hasta la fecha ha sido muy bien acogida por los estudiantes.

#### 7. El cine como recurso docente. El proyecto “Retos de cine”

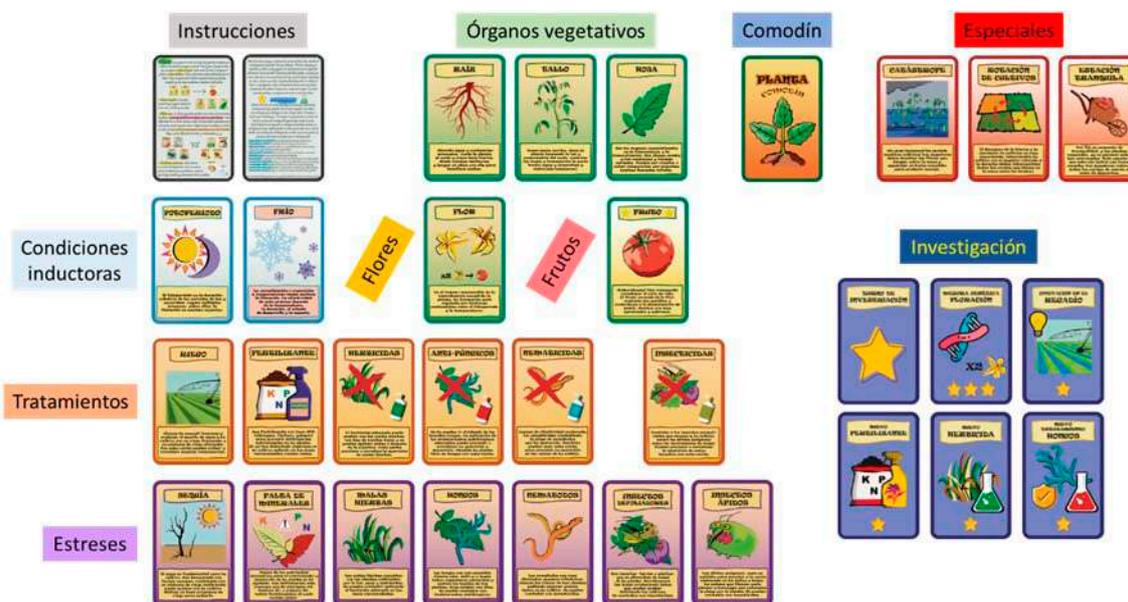
El cine constituye un recurso docente de primer orden. Las películas comerciales brindan frecuentemente contenidos relacionados con las temáticas de muy diversas asignaturas. Estas películas, o fragmentos de ellas, pueden ser utilizadas para profundizar en diferentes aspectos del proceso de enseñanza-aprendizaje. En las asignaturas Fisiología Ambiental de las Plantas y Metabolismo Secundario de las Plantas (optativas del 4º curso del Grado en Biología), se ofrecieron fragmentos de películas como desafíos para que los alumnos profundizaran en algunos contenidos de las materias, en un proyecto denominado «retos de cine» (Frey *et al.*, 2022a).

Los desafíos pueden agruparse en tres tipos: 1) Interpretar biológicamente un fragmento de una película –p. ej. en *Jurassic Park* (1993), ¿Por qué enfermó el triceratops? 2) Actuar como asesores científicos y mejorar el guion de una escena de una película, teniendo en cuenta los conocimientos de la asignatura –p. ej. en *Casino Royale* (2006), ¿cómo dar más realismo a la escena del envenenamiento de James Bond? 3) Detectar errores «de película» –p. ej. en *Una taza de amor* (2016), la científica protagonista revela que ha elaborado una nueva bebida con cafeína, pero lo que muestra su presentación es la fórmula del ácido cafeico.

Mediante sus respuestas, los participantes podían aumentar sus calificaciones finales hasta en un punto. Los alumnos colaboraron muy activamente en los retos y respondieron de forma creativa. El formato de desafío promovió una implicación creciente y la aportación de contribuciones de mayor calidad. Los alumnos valoraron positivamente el proyecto.

### 8. PLANTA: un juego de cartas didáctico

PLANTA es una iniciativa novedosa de gamificación educativa consistente en un juego de cartas didáctico, versátil y atractivo, que explora aspectos fundamentales del cultivo de plantas, abordando su fisiología, los desafíos que afectan la productividad y las estrategias para superarlos (**Figura 4**). El juego plantea a los participantes el reto de cultivar, mantener y cosechar un cultivo, enfrentándose a factores de estrés generados por otros jugadores (Frey *et al.*, 2023a y b). Con un enfoque amplio, el nivel básico se adapta a estudiantes de secundaria, mientras que el avanzado está diseñado para quienes cursan carreras universitarias relacionadas con las ciencias de la vida.



**Figura 4.** Los diferentes tipos de cartas que componen la baraja de PLANTA.

El proceso de desarrollo del juego incluyó la creación de una versión básica en español con diseños originales, ajustando reglas para partidas de 30 minutos. Después de sesiones con estudiantes voluntarios, la respuesta fue positiva. Actualmente, el juego se encuentra en la fase de protección de propiedad intelectual, con un prototipo en desarrollo respaldado por la Universidad de León. La financiación ha permitido crear una versión avanzada en inglés, con la incorporación de fichas de preguntas clave sobre biología vegetal. También se han podido elaborar guías didácticas, para la aplicación del juego en los diferentes niveles de educación.

Por último, se ha desarrollado una aplicación web del juego, que permite jugar a cualquiera desde un ordenador o un dispositivo móvil, lo que permitirá su uso en clases y su difusión fuera de nuestro GID.

#### **9. La fotografía como recurso docente. El proyecto “Fotografías para una exposición”**

El empleo de la fotografía como recurso docente tiene un extraordinario potencial formativo, máxime cuando son los alumnos quienes aportan y exponen fotografías seleccionadas. En la asignatura “Fisiología Ambiental de las Plantas” se llevó a cabo un proyecto de aprendizaje colaborativo en el que los alumnos presentaron fotografías de su entorno inmediato relacionadas con la asignatura (daños que sufren las plantas ante estreses ambientales o adaptaciones a dichos estreses). El objetivo era que fueran «capaces de reconocer síntomas de estrés y de interpretarlos correctamente» (Mélida y Acebes, 2023). Las fotografías deberían ir acompañadas de una ficha explicativa de su aportación al tema y posteriormente se presentaron en una jornada denominada “Fotografías para una Exposición: la Fisiología Ambiental de las Plantas en la vida diaria”. En ella cada alumno dispuso de cinco minutos para exponer la relevancia de su fotografía en el contexto de la asignatura. La calificación del proyecto suponía el 20 % de la nota final.

Cabe destacar, en general, el rigor y la calidad de muchas de las fotografías aportadas. En una encuesta 5-Likert los alumnos manifestaron un alto grado de satisfacción por el proyecto. Mostraron asimismo que les había ayudado a abordar aspectos prácticos de la asignatura y que las exposiciones les habían ayudado a repasar o profundizar conceptos. El proyecto cumplió en gran medida, y podría ser transferido a otras asignaturas con ligeras adaptaciones.

#### **10. “El desafío”: experiencia de creatividad y gamificación en el aula**

“El desafío” es un nuevo recurso docente basado en la superación de retos, que engloba un conjunto de actividades que tienen por objetivo fomentar competencias de creatividad y razonamiento crítico y mejorar la implicación de los alumnos en el proceso de enseñanza aprendizaje. Las actividades de “El desafío” están relacionadas con aspectos clave de la fisiología vegetal, son de corta duración y de carácter voluntario (Frey *et al.*, 2022b). El proyecto se implementó durante los cursos 2019-20, 20-21 y 21-22 en tres asignaturas del grado en Biología: Biología I (1<sup>o</sup>), Fisiología Ambiental de las Plantas (4<sup>o</sup>) y Metabolismo Secundario de las Plantas (4<sup>o</sup>).

Las actividades se plantearon como un conjunto de tareas en Moodle (4-5 por asignatura), que deberían entregarse con un plazo de ejecución 48-72 horas. Los desafíos fueron muy diversos, como la redacción de noticias de prensa interpretando algún acontecimiento desde la asignatura, la elaboración de modelos funcionales (explicando p. ej. el mecanismo de relajación de la pared celular, o la

apertura y cierre de los estomas), la realización de experimentos caseros (p. ej. la evitación del pardeamiento de frutas), o la elaboración de supuestos informes técnicos para empresas. Las tareas enviadas eran calificadas con iconos de frutos de distinto color en función de la calidad de las respuestas (verde, amarillo o rojo). La mejor de todas las respuestas entregadas era premiada con el color dorado. Los alumnos podían incrementar la calificación final hasta un punto en función de las coloraciones de sus frutos.

Cabe destacar la alta tasa de aceptación (aunque la experiencia era voluntaria, aproximadamente el 75 % de los alumnos matriculados aceptaron participar en los desafíos) y la elevada valoración de los alumnos.

#### **11. Participación en ferias científicas. Taller “Planta S.A.: las plantas y sus productos” en la ExpoCiencia**

Además de la educación y la investigación, una de las labores de las universidades es la divulgación de la ciencia que se realiza dentro y fuera de sus instalaciones. Por este motivo, y para mostrar el trabajo realizado en la Universidad de León al público general, desde el 2018 se ha organizado anualmente la ExpoCiencia-ULE (Centeno *et al.*, 2022a, Manga-Robles *et al.*, 2022). El objetivo de esta feria científica es mostrar a la sociedad leonesa los diferentes grupos de investigación que esta universidad posee, mediante una serie de talleres y experiencias didácticas.

El GID ha participado en varias ediciones con el proyecto “Planta S.A.: las plantas y sus productos”, que está integrado por diferentes talleres experimentales impartidos por alumnos de diferentes asignaturas de los grados de Biología y Biotecnología, bajo la supervisión de los miembros del GID (**Figura 5**). Los talleres “plantas dinamiteras”, “arte científico y tintas invisibles” y “detectives del almidón” son muy útiles para dar a conocer importantes productos de las plantas y sus aplicaciones en diferentes industrias. Al tener un carácter lúdico representan una buena herramienta didáctica, capaz de generar interés, y tienen una muy buena valoración por parte del público asistente a la ExpoCiencia. Además de los talleres, también se ofrece una explicación de las principales líneas de investigación que desarrollan los miembros del GID en la Universidad de León. La participación de los alumnos en la impartición de los talleres siempre ha sido una experiencia muy bien valorada, y el número de alumnos que desean participar ha ido incrementando año a año.



**Figura 5.** Miembros del GID Savia Sabia y colaboradores.

## 12. “Cazadores de mitos vegetales”: una introducción al método científico

El método científico y el diseño de experimentos figuran entre los contenidos y competencias asociados a la asignatura Biología I (1er curso del Grado en Biología); sin embargo, hasta el momento, no se habían diseñado actividades para cubrir dichos objetivos. La iniciativa «Cazadores de mitos vegetales» se ha puesto en marcha como un proyecto de inmersión en el método científico buscando que los alumnos se impliquen como protagonistas de la acción investigadora y la integren en su ambiente cotidiano (Acebes, 2023). Se ha desarrollado en los cursos 2022-23, y 2023-24 aprovechando dos sesiones de seminario y el tiempo comprendido entre ambos. Los alumnos formaron equipos de 4-5 «investigadores», eligieron un «mito» (entendido como creencia popular arraigada, pero sin fundamentos reconocidos) relacionado con la biología de las plantas, y plantearon experimentos para someterlo a prueba. Los experimentos deberían ser cortos (factibles en una o dos semanas), sencillos (sin equipamiento especializado) y «caseros» (realizables en sus domicilios). El diseño experimental debería identificar los controles, el número de réplicas y la(s) variable(s) independiente(s) y dependiente(s), y los alumnos tendrían que mostrar su viabilidad en una ficha evaluable. Una vez validado el plan con el profesor, los equipos procedían a la fase experimental, en la cual deberían tomar los datos con rigor, ilustrarlos con fotografías, y traducirlos en gráficas o tablas para su exposición ante sus compañeros en el siguiente seminario. La evaluación valoraría las fichas que contenían

el planteamiento experimental, el documento de apoyo a su presentación, y la calidad de la exposición en público.

Cabe destacar, en general, la creatividad mostrada en los planteamientos experimentales, el rigor en la toma de datos, la calidad de las presentaciones y el entusiasmo en las exposiciones. La encuesta final 5-Likert (n=87) reflejó un elevado grado de satisfacción (4,82 de media, sobre 5). Como mejoras, los alumnos propusieron una mayor separación entre las sesiones de seminario, con el fin de posibilitar más variedad de experimentos y preparar mejor las exposiciones. La experiencia es transferible a otras titulaciones de Ciencias.

### **Valoración final**

El conjunto de proyectos e iniciativas expuesto permiten concluir que la metodología basada en promover la experimentación y la fascinación por las plantas está ayudando a generar un ambiente idóneo para la transmisión de conocimientos y capacidades –tanto entre alumnos como entre los docentes– relacionados con la Biología de las Plantas. En la actualidad quedan por acometer nuevos retos y proyectos, como la implementación de gamificación mediante el juego PLANTA entre distintos niveles educativos, y la transferencia de las experiencias anteriores en cursos de innovación docente.

Por último, desde aquí queremos agradecer a los miembros colaboradores del GID y a los alumnos (innumerables) que han participado de manera entusiasta en los diferentes proyectos planteados por el grupo, a la Escuela de Formación de la ULE por la financiación aportada a lo largo de estos diez años, y a la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, por su colaboración y apoyo en todo momento.

### **Bibliografía**

- Acebes, J.L. 2023. Cazadores de mitos vegetales: un proyecto de inmersión en metodología científica para primero de Biología. VI Jornadas de Innovación Docente de la Universidad de León. León, 10-11 febrero.
- Acebes, J.L., Centeno, M.L., Encina, A. y García Angulo, P. (coord.). 2019. Experimentos Fascinantes con Plantas”. Universidad de León, León. ISBN 987-84-9773-949-7.
- Acebes, J.L., Centeno, M.L., Encina, A., García Angulo, P. (coord.). 2021. Fascinating Experiments with Plants. Universidad de León, León. ISBN 987-84-18490-07-1.
- Centeno, M.L., Encina, A., García-Angulo, P., Mérida, H., de la Rubia, A.G., Manga-Robles, A., Frey, C., Pascual, L., y Acebes, J.L. 2022a. Enseñando desde la fascinación por las plantas: experiencias del grupo de innovación docente “Savia Sabia”. I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.
- Centeno, M.L., Mérida, H., Encina, A. y García-Angulo, P. 2022b. Plan piloto para la iniciación a la escritura científica. I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.

- Frey, C., de la Rubia, A.G., Mérida, H., Pascual, L. y Acebes, J.L. 2022a. «Retos de cine» en la docencia de la biología de las plantas. Carlos Frey, Alfonso Gonzalo de la Rubia, Hugo Mérida, Laura Pascual y José Luis Acebes. I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.
- Frey, C., Manga-Robles, A., del Hierro, I., Encina, A., Centeno, M.L., García-Angulo, P., Largo-Gosens, A., Mérida, H. y Acebes, J.L. 2023a. Una iniciativa de gamificación para el aprendizaje de la biología de las plantas basada en un juego de cartas. *Boletín de la Sociedad Española de Biología de las Plantas* 73:36-40.
- Frey, C., Manga-Robles, A., del Hierro, I., Encina, A., Centeno, M.L., García-Angulo, P., Largo-Gosens, A., Mérida, H. y Acebes, J.L. 2023b. Planta: un proyecto de aprendizaje basado en juegos en Fisiología Vegetal. VI Jornadas de Innovación Docente de la Universidad de León. León, 10-11 febrero.
- Frey, C., Mérida, H. y Acebes, J.L. 2022b. “El desafío”: aprendizaje basado en retos en fisiología vegetal. 2022. I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.
- García-Angulo, P. y Centeno, M.L. 2015. La obra de teatro como metodología docente para la adquisición de competencias ¿un aprendizaje basado en problemas más? En: Premio 2015 a la innovación de la enseñanza, pp: 60-76. Universidad de León (LE-258-2015).
- García-Angulo, P., Encina, A., Manga-Robles, A. y Centeno, M.L. 2022. La obra de teatro: un interesante aprendizaje basado en problemas(ABP). I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.
- Manga-Robles, A., Frey, C., de La Rubia, A.G., Centeno, M.L., García-Angulo, P., Mérida, H., Acebes, J.L. y Encina, A. 2022. Experimentar la fascinación: diseño de talleres para la enseñanza-aprendizaje experimental de la biología de las plantas. I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.
- Martínez Rubio, R., Centeno Martín, M.L., de la Rubia, A.G., Manga-Robles, A., Frey, C., Pérez-Pueyo A. y García-Angulo, P. 2022. Mini videos de Fisiología Vegetal por y para alumnos. I Jornada de Innovación Docente de las Universidades Públicas de Castilla y León. Valladolid, 22 abril.
- Mérida, H. y Acebes, J.L. 2023. Fotografías para una exposición: un proyecto de aprendizaje colaborativo en Fisiología Ambiental de las Plantas. VI Jornadas de Innovación Docente de la Universidad de León. León, 10-11 febrero.

## DE TODO UN POCO

### Obituario de D. Francisco J. Ayala Pereda

El día 4 de marzo de este 2023 falleció Francisco J. Ayala Pereda, a nueve días de cumplir 89 años. Ayala fue el primer Doctor Honoris Causa de la Universidad de León, desde que nuestra universidad se independizó de la de Oviedo. Este reconocimiento se produjo en 1982 a propuesta de la propia Facultad de Biología. Nacido en Madrid y con doble nacionalidad desde que en 1971 obtuvo la ciudadanía norteamericana, ha sido uno de los científicos más premiados y con mayor reconocimiento a nivel internacional nacido en España. Fue miembro de diferentes Academias de Ciencias, incluidas la de Estados Unidos, Rusia, Italia y por supuesto España; presidente de la AAC (Asociación Estadounidense para el Avance de la Ciencia), que edita la revista Science; y asesor científico del presidente Bill Clinton.

Ayala estudió Biología en Salamanca y realizó su tesis doctoral con Theodosius Dobzhansky, el genetista más importante en la elaboración de la teoría sintética de la evolución. Con esa formación, se especializó como científico y docente en el campo de la evolución biológica, estudiando cómo los cambios evolutivos a nivel de secuencia se ajustan al modelo de reloj molecular y la especiación y su relación con la variabilidad genética de las poblaciones. También realizó numerosos trabajos sobre los cambios evolutivos que se han producido en distintas especies de tripanosomas y la relación de estos cambios con enfermedades como el mal de Chagas y la malaria, colaborando con numerosos investigadores hispanoamericanos.

No sólo estuvo interesado en el conocimiento científico, también es conocido por sus artículos de corte humanista. Ayala defendió intensamente la independencia de la ciencia y la religión, tema sobre el que podía hablar con autoridad, ya que antes de dedicarse a la ciencia estudió teología y llegó a ordenarse como dominico. Desde la AAC, participó en distintos foros y procesos legales defendiendo la enseñanza de la evolución.

Ayala vivió rodeado de luces, inmerso en una dedicación absoluta al avance científico, a la divulgación y a la formación de estudiantes de todo el mundo. Muchos de sus lectores y discípulos son ahora los encargados de enseñar evolución. En sus últimos años también le acompañó alguna sombra, pero sin duda su legado es inmenso. Sus enseñanzas permanecerán vivas entre los que aprendieron de él, y también entre los que aprenden y aprenderán de sus discípulos.



## Noticias de actualidad

Durante el año 2023 nuestra Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales (FCCBA) ha continuado organizando y participando en multitud de eventos de carácter formativo, científico y cultural.

Nuevamente figuramos (y ya son ocho años consecutivos), en el ranking que elabora el diario *El Mundo* sobre las mejores universidades de España, para cursar, en esta ocasión, la titulación de Biología.

## Jornadas, congresos y conferencias

Un año más, y coordinado por la Unidad de Cultura Científica de la ULe, se conmemoró en el mes de febrero el ***Día Internacional de la mujer y la niña en la Ciencia***. Se organizó un variado programa de actividades, charlas y talleres con el que se pretendió visibilizar el trabajo de las científicas y tecnólogas en la institución, eliminar los estereotipos de género dentro del ámbito STEM (Ciencia, Tecnología, Ingeniería y Matemáticas) y fomentar las vocaciones científicas y tecnológicas en niñas y adolescentes.

Las actividades tuvieron lugar en León, Ponferrada y en algunos centros educativos de nuestra provincia y de la provincia de Zamora, siendo varias las profesoras de la Facultad que participaron en las mismas con temáticas sobre, entre otras cuestiones, los líquenes o los incendios forestales.

La Asociación de Biotecnólogos de León (ABLE), organizó una nueva edición del ciclo de conferencias de divulgación científica ***ConCiencia***. Las ponencias se presentaron en la Fundación Sierra Pambley todos los viernes en los meses de marzo y abril. El Dr. García Girón impartió el 17 de marzo la conferencia titulada: *Los últimos días de los dinosaurios. Claves para comprender la gran extinción*. El 14 de abril, el Dr. Fuentes Martínez presentó la ponencia: *¿Un virus es un trozo de ácido nucleico rodeado de malas noticias?* También organizadas por ABLe, junto con la Federación Española de Biotecnólogos, se celebraron bajo el lema *Explorando la ciencia desde tu taza de té*, una nueva edición del ciclo de las jornadas ***Con Ciencia, Té***. Las charlas fueron impartidas en el café Varsovia por estudiantes de grado de nuestra Facultad.

Los días 22 y 23 de marzo en Vila Real (Portugal) y el 24 y 25 del mismo mes en León, se celebraron las ***V Jornadas Ibéricas de Genética y Biotecnología*** (Figura 1). Es un evento científico organizado por el Centro de Estudiantes de Genética y Biotecnología, junto con estudiantes y profesores de la Universidad de León y con la colaboración de profesores del departamento de Genética y Biotecnología de la Universidad de Trás-os-Montes y Alto Duero en Portugal. Los principales objetivos de las Jornadas son la actualización de las diferentes áreas de la Genética y la Biotecnología y el intercambio de conocimientos científicos entre estudiantes, docentes e investigadores. El foco principal de este evento es, por tanto, la organización de conferencias impartidas por reconocidos investigadores nacionales e internacionales, así como talleres prácticos que per-

mitan la aplicación de conocimientos teóricos. Varios profesores y alumnos de la Facultad participaron en las Jornadas presentando comunicaciones y conferencias relacionadas con la temática de las Jornadas.



**Figura 1.** Asistentes a las V Jornadas Ibéricas de Genética y Biotecnología.

Desde los Vicerrectorados de Estudiantes y Empleo y de Relaciones Institucionales y con la Sociedad, se organizaron los días 28 y 29 de marzo las **Jornadas de Puertas Abiertas**, consistentes en un programa de charlas y visitas guiadas, entre otras actividades. Paralelamente, tuvieron lugar del 11 al 13 de abril las **IV Jornadas online de Puertas Abiertas de la ULe**. El objetivo de las mismas es que los estudiantes de bachillerato y enseñanza secundaria obligatoria conozcan la oferta educativa de la ULe, las instalaciones y las actividades complementarias a la formación académica. El día 17 de marzo tuvo lugar en la Facultad una sesión informativa sobre los **másteres que se imparten en el Centro**.

El día 12 abril se impartió en el aula magna de la Facultad la conferencia titulada: *Biología de Sistemas y Ciencia de Datos, una de las ramas más sexies de la ciencia y cómo acceder a ella*, a cargo de Eva Caamaño Gutiérrez, de la Universidad de Liverpool (UK).

El Dr. Jon Swenson, catedrático emérito de la *Norwegian University of Life*, impartió los **días 19 y 20 de abril** las conferencias invitadas tituladas: *The scientific value and challenges of long-term research projects; the Scandinavian brown bear research project as an example* y *Wildlife management systems are very different. A comparison of a European model (Norway) and a North American model (Montana, USA)*.

El día 25 de abril se organizó desde la Facultad, y a través de la plataforma Google Meet, una nueva edición de las **Jornadas de Orientación Profesional**. Ainhoa Del Río Matilla (ILDEFE); Fernando Sandoval Viñas y Susana Vara Sánchez (Colegio Oficial de Biólogos de Castilla y León) y Marian Fernández y Yolanda González (FGULEM), fueron los encargados de impartir charlas sobre

becas, ofertas de empleo y salidas profesionales en la primera sesión. En la segunda sesión participaron como ponentes egresados de la FCCBA, exponiendo su trayectoria y experiencia profesional en ámbitos diversos.

### Cursos y talleres

Varios profesores de la Facultad participaron, como en ediciones anteriores, en la organización, dirección e impartición de **talleres, Cursos “o”, Cursos de Verano y Cursos de Extensión Universitaria.**

El Dr. Eduardo García Ortega dirigió e impartió del 4 al 15 de septiembre el Curso “o” titulado: *Física para estudiantes de Ciencias*. Los Dres. Roberto López González y Fernando José Pereira García dirigieron y también actuaron como ponentes en el curso *Química para titulaciones de grado en Ciencias Experimentales*, que tuvo lugar del 1 al 22 de septiembre. Los cursos “o” están orientados a alumnos de nuevo ingreso y tienen como objetivo repasar, afianzar y complementar conceptos básicos ya estudiados en el bachillerato y en la formación profesional.

Del 10 al 14 de julio se celebraron los **Curso de Verano: Biologic-Art** (organizado por las Dras. Marta Eva García González y Estrella Alfaro Saiz) y del 17 al 21 del mismo mes el curso titulado: *Biología de la Conservación de Flora y Fauna en la Cordillera Cantábrica* bajo la dirección de las Dras. Marta Eva García González y Raquel Alonso Redondo.

El día 18 de mayo se organizó por parte del Grupo de Investigación Geología Ambiental, Cuaternario y Biodiversidad de la ULe un **taller** sobre *Google Engine* que fue impartido por el Dr. Khaled M. Hazaymeh de la Universidad de Jordania (**Figura 2**).



**TALLER DE GOOGLE EARTH ENGINE (en inglés)**  
**Dr. Khaled M. Hazaymeh – University of Yarmouk (Jordan)**  
 Jueves 18 de mayo, de 10:30-14:00  
 Aula Informática 1 de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales

Organiza: **GEO**

Taller para iniciarte en el tratamiento múltiples imágenes de satélite. No necesitas haber trabajado antes con la herramienta, sólo tener conocimientos básicos de Teledetección y saber lo que son los índices de vegetación NDVI. **INSCRÍBETE**

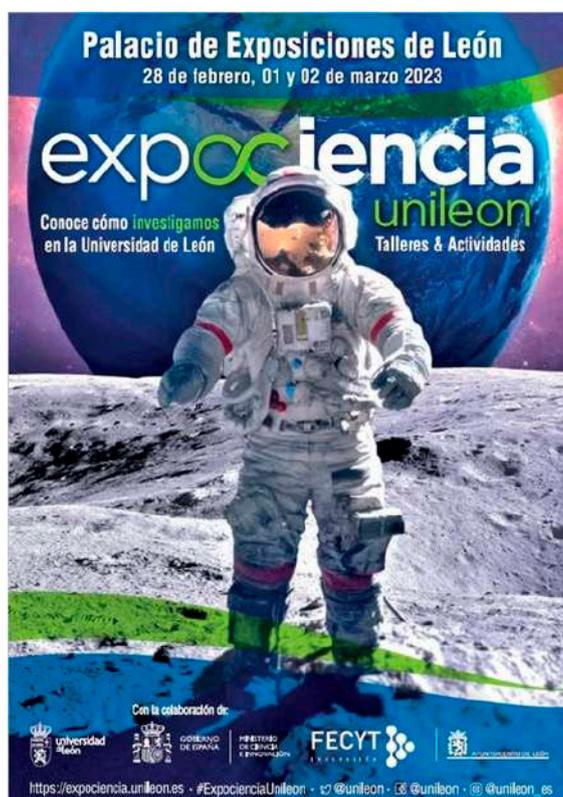
**Figura 2.** Cartel informativo sobre taller impartido en la FCCBA.

El Dr. Arsenio Fernández López dirigió e impartió del 9 de octubre al 25 de noviembre el **Curso de Extensión Universitaria** titulado: *Buenas prácticas de laboratorio*.

### **Innovación docente, divulgación científica y otras actividades**

El PDI de la Facultad ha continuado durante este curso organizando y participando en actividades de innovación docente y divulgación científica.

Del 28 de febrero al 2 de marzo se celebró en el Palacio de Exposiciones de León la **Expociencia Unileon 2023** (Figura 3). Fue la cuarta edición de la feria, organizada por la Unidad de Cultura Científica e Innovación de la Universidad de León con la colaboración de la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) del Ministerio de Ciencia e Innovación y el Ayuntamiento de León, y en ella participaron numerosos profesores e investigadores de la Facultad.



**Figura 3.** Cartel informativo ExpoCienca 2023.

El día 12 de abril se estrenó oficialmente en el Salón de Grados de la Escuela de Ingenierías el documental *El Bosque Salvaje de Pardomino*. Es un largometraje de Bicho Producciones dirigido por Carlos Rodríguez Villafañe, antiguo alumno de la Facultad. Para la consecución de este trabajo documental se ha contado con la participación de nuestro Centro. Además, se presentó el libro *Diario de Pardomino*, que narra el día a día del documental y que también fue escrito por Carlos Rodríguez Villafañe.

El día 22 de mayo se celebró en el Café Varsovia una nueva edición del **Festival Pint of Science** (Figura 4). El evento tiene como objetivo ofrecer charlas interesantes, divertidas y cercanas sobre las últimas investigaciones científicas, en un formato accesible al público, siendo los bares de todo el mundo el escenario elegido para ello. Este formato permite a los asistentes discutir la investigación con las personas que la llevan a cabo. Varios profesores e investigadores de la Facultad participaron en el evento: Laura Rodríguez García con la charla titulada: *El gordo y el flaco: Tamaño y forma del cuerpo en la Evolución Humana*; Carlos Del Blanco Alegre con: *El aire que respiramos* y Rayo Pinto Prieto con: *Después del fuego, lo que el ojo no ve*



Figura 4. Cartel informativo Festival Pint of Science.

También durante el mes de mayo se celebró la tercera edición de la **Liga Botánica de la ULe**, organizada por el Grupo de Innovación Docente “Adquisición de competencias en Botánica, Sistemática y Conservación vegetal mediante aprendizaje activo” (ACBoSCo). El objetivo es fomentar el interés y apreciación por las plantas, algas y hongos entre los estudiantes universitarios y público participante. Con ese mismo fin tuvieron lugar, entre el 22 y 26 de mayo, las **X Jornadas Prácticas de Botánica**, organizadas por la Dra. Ferrero Vaquero.

El viernes día 7 de julio se desarrolló en el aula magna San Isidoro del Rectorado de la ULe el acto de **graduación de las promociones 2022-23** de la FCCBA (**Figura 5**). La Dra. M<sup>a</sup> Paz Herráez impartió la conferencia titulada *El espermatozoide, tecnología de la información para futuras generaciones*



**Figura 5.** Acto académico de la graduación de las promociones 2022-23 de la FCCBA.

La Unidad de Cultura Científica de la ULE organizó una nueva edición de la **Noche europea de l@s investigador@s**, que tuvo lugar el viernes 29 de septiembre. Numerosos investigadores tuvieron la oportunidad de mostrar la diversidad de la ciencia y su impacto en la vida cotidiana de los ciudadanos, así como estimular el interés por las carreras científicas y técnicas, especialmente entre los jóvenes. Varios profesores e investigadores de la Facultad participaron en el evento. Así, el grupo ATMOSENV (Ambiente Atmosférico) centró su actividad en la contaminación atmosférica, sus causas, consecuencias y cómo se puede reducir. El Laboratorio de Diatomología de la ULe participó con el taller *¿Quién vive entre las algas debajo del agua?* Por su parte, el grupo de investigación GEAT (Ecología Aplicada y Teledetección) participó con varias actividades relacionadas con la regeneración de suelos quemados y la gestión de ecosistemas propensos a incendios

Después de varias ediciones suspendidas por la pandemia, la Facultad organizó el **XVI Curso de Actualidad Científica y Cultural de la ULe**. Desde el 26 de octubre al 12 de diciembre se impartieron en el aula magna de la Facultad once conferencias de divulgación científica sobre temas muy diversos. Destacamos la presencia de la escritora Belén Gopegui, la astronauta leonesa Sara García, el director científico de Doñana, Eloy Revilla, o el último doctor *honoris causa* por la ULe, el investigador Juan José Badiola, que fue el encargado de cerrar el ciclo. La actividad tiene como objetivo trasladar a la sociedad algunos de

los temas que en cada momento protagonizan las tareas de investigación o debate en los campos de la ciencia y la cultura.

Del 11 al 19 de noviembre tuvo lugar una nueva edición de la **Semana de la Ciencia en Castilla y León**, con la coordinación del Parque Científico de la Universidad de Valladolid y la colaboración de la Consejería de Educación a través de la Fundación Universidades y Enseñanzas Superiores de Castilla y León. Se realizaron talleres, conferencias, charlas, exposiciones y visitas, con el objetivo de cumplir con la misión de acercar a todos los públicos la ciencia, la tecnología y la innovación. Varios profesores de la Facultad participaron en las mismas desarrollando, entre otras, las actividades siguientes: *Descubre las fascinantes criaturas que viven en nuestros ríos y lagos*; *Visita al laboratorio de Inmunología e Inmunoterapia* o *¿Podemos ayudar a proteger los bosques de los incendios forestales?*, entre otras.

La Asociación BIOMA (Asociación Cultural de estudiantes de Biología) continuó durante este año organizando varias actividades, entre las que se pueden destacar visitas al viñedo del Palacio de Canedo y al Museo de Colecciones de la Universidad de León (MULE), así como diferentes talleres sobre papel reciclado, ecotintes y exosferas, entre otros.

### Festividad de San Alberto Magno

El viernes 10 de noviembre celebramos, un año más, la festividad de nuestro patrón, San Alberto Magno (**Figura 6**). El acto académico tuvo lugar en el aula magna de la Facultad y fue presidido por el rector de la Universidad. Ana del Río Salgado, antigua alumna de la Facultad, y hoy *country manager* (España y Portugal) de la empresa multinacional noruega DNV, impartió la conferencia titulada: *Soy bióloga: un propósito personal y profesional*.



**Figura 6.** Acto académico San Alberto Magno 2023.

Se entregaron distinciones honoríficas a los profesores de la Facultad jubilados durante el curso 2022-23, se impusieron las becas a los licenciados en Biología de la promoción 1992-97 y se realizó un homenaje a los alumnos de la promoción 1973-2023. por su 50 aniversario. Se anunció, además, la concesión de los premios anuales “dsm-firmenich/Vitatene Awards for Academic Excellence” y “Premio Fin de Carrera a la Excelencia Académica Insud Pharma S.L.” Posteriormente, Marcos Vecín, también antiguo alumno de la Facultad realizó la actuación: *Del biólogo al monólogo*.

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:  
<https://centros.unileon.es/biologia/ambiociencias1/>



AmbioC iencias



REVISTA DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA E INNOVACIÓN DOCENTE

**En contraportada:** logotipo diseñado por el Dr. Estanislao de Luis Calabuig como anuncio del quincuagésimo aniversario de los estudios de Biología en León.



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES. UNIVERSIDAD DE LEÓN