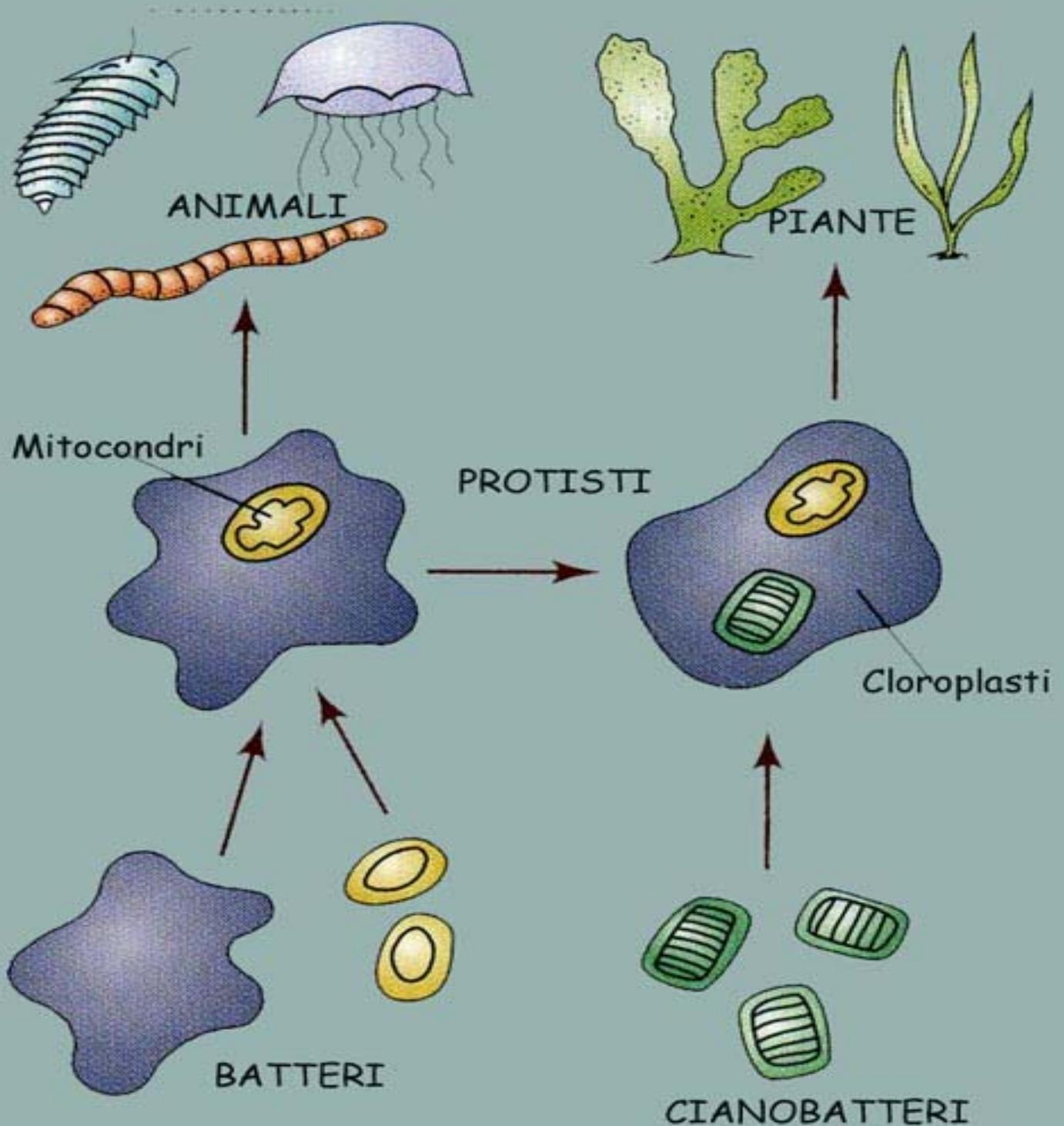


REBIO

revista da facultade de bioloxía
da universidade de vigo



2008

REBIO

revista da facultade de bioloxía
da universidade de vigo

2008

VOLUMEN 3

HOMENAXE A LYNN MARGULIS



UNIVERSIDADE
DE VIGO

Facultade de Bioloxía

Esta publicación foi financiada con fondos procedentes da Facultade de Bioloxía da Universidade de Vigo.



CONSELLO EDITORIAL

M ^a LUISA CASTRO CERCEDA	Profesora Titular da Área de Botánica. Dpto. de Bioloxía Vexetal e CC. do Solo
FUENCISLA MARIÑO CALLEJO	Profesora Titular da Área de Zooloxía. Dpto. de Bioloxía Animal e Ecoloxía
MANUEL MEGÍAS PACHECO	Profesor Titular da Área de Bioloxía Celular. Dpto. de Bioloxía Funcional e CC. da Saúde
PILAR MOLIST GARCÍA	Profesora Titular da Área de Bioloxía Celular. Dpto. de Bioloxía Funcional e CC. da Saúde
MANUEL ÁNGEL POMBAL DIEGO	Profesor Titular da Área de Bioloxía Celular. Dpto. de Bioloxía Funcional e CC. da Saúde

COLABORADORES

EMILIO GIL MARTÍN	Profesor Titular da Área de Bioquímica. Dpto. de Bioquímica, Xenética e Inmunoloxía.
M ^a JESÚS IGLESIAS BRIONES	Profesora Titular da Área de Zooloxía. Dpto. de Bioloxía Animal e Ecoloxía.
JOSÉ M ^a SÁNCHEZ FERNÁNDEZ	Profesor Titular da Área de Botánica. Dpto. de Bioloxía Vexetal e CC. do Solo
DAVID POSADA GONZÁLEZ	Profesor Titular da Área de Xenética. Dpto. de Bioquímica, Xenética e Inmunoloxía.
CRISTINA ARIAS FERNÁNDEZ	Catedrática da Área de Parasitoloxía. Dpto. de Bioloxía Funcional e CC. da Saúde.
JOSÉ FARO RIVAS	Profesor contratado Parga Pondal. Área de Inmunoloxía. Dpto. de Bioquímica, Xenética e Inmunoloxía.
PALOMA MORÁN MARTÍNEZ	Profesora Titular da Área de Xenética. Dpto. de Bioquímica, Xenética e Inmunoloxía.
FRANCISCO ROCHA	Profesor contratado Parga Pondal. Área de Zooloxía. Dpto. de Bioloxía Animal e Ecoloxía.
CASTOR MUÑOZ SOBRINO	Profesor contratado Parga Pondal. Área de Botánica. Dpto. de Bioloxía Vexetal e CC. do Solo.
PEDRO P. GALLEGU VEIGAS	Profesor titular da Área de Fisioloxía Vexetal. Dpto. de Bioloxía Vexetal e CC. do Solo.

ENMAQUETADO:

ALBA MOYA GARCÉS Alumna de 2º Ciclo de Bioloxía. Especialidade Biotecnoloxía

EDITA: DECANATO DA FACULDADE DE BIOLOXÍA

PEDRO PABLO GALLEGU VEIGAS	Decano
VICENTA SOLEDAD MARTÍNEZ ZORZANO	Vicedecana
CARMEN SIEIRO VÁZQUEZ	Vicedecana
PALOMA MORÁN MARTÍNEZ	Secretaria

IMPRIME: ARTES GRÁFICAS PRELO, S.L.

ISSN: 1886 - 6557

Dep. Legal: VG 647-2006

DRA. LYNN MARGULIS: CIENTÍFICA DIVULGADORA

La científica norteamericana Lynn Margulis ostenta el envidiable mérito de haber conseguido lo que la mayoría de nosotros no alcanzará jamás pese a haberlo recreado en nuestros sueños de adolescencia: pasar a la historia formando parte de los textos educativos básicos, sin duda el legado más delicioso a que un científico puede aspirar. Tómese entre las manos cualquier manual de biología general o de algunas de las áreas conceptuales más importantes de la biología actual, búsquese la referencia a la “teoría endosimbionte” y en la mayoría de los casos se encontrará junto a ésta referencia concreta a la obra de Lynn. Mitocondrias y cloroplastos recuerdan bacterias por su forma, tamaño y por disponer de un genoma propio (del que hoy conocemos su cercanía estructural y secuencial con el de los procariotas), lo que movió a Lynn a proponer la hipótesis de que su origen arranca de bacterias aeróbicas Gram negativas de vida independiente, que en algún momento remoto de la evolución establecieron relaciones simbióticas con cierto protoeucariota anaeróbico primigenio. El hospedador protoeucariótico presumiblemente proporcionó nutrientes y un entorno protegido y acogedor a sus huéspedes, mientras éstos le devolvieron el favor con creces dotándole del extraordinario rendimiento energético del metabolismo aeróbico. Hoy, la hipótesis ha pasado a constituir una teoría que cuenta con una más que considerable cantidad de pruebas indirectas (a título de inventario, por ejemplo, la ameba *Pelomyxa*, uno de los pocos eucariotas que ha perdido sus mitocondrias, mantiene en permanente y biosintético abrigo a bacterias aerobias perfectamente reconocibles).

La obra científica de la Dra. Margulis resulta vital, por tanto, para la comprensión del origen de la complejidad en el mundo biológico y ha supuesto una auténtica revolución –tranquila– en el modo de investigar y comprender la evolución. En estos ámbitos, la trayectoria de Lynn es, por lo demás, un ejemplo edificante de cuán fértil resulta en ciencia la valiente demolición de las fronteras conceptuales, pero cuán costosa, por otro lado, la denuncia sin ambages de las rigideces disciplinares y académicas.

Por si sus aportaciones en la investigación no representaran una hazaña singular de extraordinario valor científico, siendo Profesora Asociada en la Universidad de Boston allá por el año 1970, en su mítica obra *Origen de las células eucariotas* Lynn marcó un nuevo hito, esta vez en la alta divulgación científica, al ser capaz de reconstruir en poco más de 100 páginas de lenguaje llano, y comprensible para toda persona con una mínima instrucción científica, ese complejo y fascinante momento de la historia evolutiva que ella tan bien conoce. Desde entonces, tanto en solitario como al alimón con su hijo Doris Sagan, cientos de miles de nosotros, repartidos por todos los confines del mundo, hemos podido deleitarnos con tantas otras obras de divulgación, devorándolas con la fruición de un público fiel que admira y disfruta tanto de la exquisitez narrativa e intelectual de los autores como de su rabiosa actualidad científica. Para tantos y tantos de nosotros, Lynn no es un genio científico más, sino que al modo de Ludwig Boltzmann o Einstein su estilo personal y su trayectoria de lucha conforman una biografía destinada a ser reconocida más pronto que tarde en su justa medida.

Emilio Gil Martín

ACTO DE NOMEAMENTO DE LYNN MARGULIS
COMO «DOCTORA HONORIS CAUSA »
POLA UNIVERSIDADE DE VIGO, 26-XANEIRO-2007

LAUDATIO PRESENTADO POLA PROF. MARISA CASTRO

EXMO. SEÑOR RECTOR DA UNIVERSIDADE DE VIGO

DIGNÍSIMAS AUTORIDADES

MEMBROS DA COMUNIDADE UNIVERSITARIA

SEÑORAS/ES,

Creo que en mi vida universitaria nunca me había sentido más honrada que en el momento en que se me propuso, en nombre del Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, y de la Facultad de Biología, hacer hoy la *laudatio* a la profesora Lynn Margulis. A pesar de la enorme responsabilidad que trae consigo presentar ante todos ustedes a una científica universalmente conocida, y reconocida, acepté halagada.

De todos es sabido que las pequeñas y constantes aportaciones son necesarias, tanto en la ciencia como en la vida; sin embargo son las grandes innovaciones las que fuerzan el avance del conocimiento. Por eso, como van a ver, Lynn Margulis es una científica de las que cambian la visión preestablecida que se puede tener del mundo.

Desde su licenciatura por la Universidad de Chicago, en el año 1958, manifestó especial interés por la Genética. Por ello, realizó un master en la Universidad de Wisconsin sobre «Estabilidad del RNA en *Amoeba proteus*» y allí conoce al profesor James F. Crow, del que, en alguna ocasión, dijo: «Después de las clases de Crow supe que sólo quería estudiar genética».

Hasta ese momento, el evolucionismo se centraba en el estudio de animales y plantas, como posibles inductores de las modificaciones que condujeron a los actuales niveles de complejidad. Sin embargo, desde el principio la doctora Margulis manifiesta su curiosidad por la posible relación entre ciertos microorganismos, como las bacterias, y el proceso evolutivo.

Comienza revisando publicaciones, como las de E.B. Wilson o las de E.B. Webs, que relacionan el desarrollo celular con la herencia. Estas investigaciones la acercan a la escuela rusa de A.S. Famintsyn y K.S. Merezhkovsky, que ya planteaban la hipótesis de que los orgánulos internos de las células nucleadas -eucariotas- eran formas evolucionadas a partir de bacterias no patógenas. Consigue así reunir pruebas que apoyan las simbiosis que originaron las mitocondrias -centros productores de la energía celular- y los plastos -zona donde la luz solar permite fabricar macromoléculas orgánicas-, o el aparato responsable de la motilidad y distribución de cromosomas en la división celular.

Tras varios intentos fracasados de publicar sus innovadores y revolucionarios trabajos, logra que la revista *Journal of Theoretical Biology* los acepte y, finalmente, en 1967 publica su artículo sobre el origen de la mitosis celular (*Origin of Mitosing Cell*).

Comienza aquí el desarrollo de la teoría sobre el «origen de las células eucariotas» (*Serial*

Endosymbiosis Theory), que, tres años más tarde, ve la luz en formato de libro (1970. *Origin of Eukaryotic Cells: Evidence and research implications of a theory of the origin and evolution of microbial, plant and animal cells on the Precambrian Earth*), libro que fue nuevamente editado, y ampliado, en 1981 (*Symbiosis in Cell Evolution: Life and its environment on the early earth*).

Recupera el término simbiogénesis, para describir la relación de contacto físico entre dos organismos de diferentes especies, que a través del tiempo tiene continuidad, y que acaba evolucionando hacia un nuevo tipo de ser vivo, más complejo, que contiene los genes de ambos.

Lynn Margulis, durante los últimos 35 años, mantuvo un intenso ritmo de publicación y discusión sobre este tema, en los principales foros y reuniones científicas mundiales, que van confirmando la teoría de que mitocondrias y plastos se formaron a partir de la incorporación de bacterias libres a conjuntos más complejos. Así, en 1993 publica la segunda edición ampliada y modificada del trabajo sobre Simbiosis en la evolución celular (*Symbiosis in Cell Evolution: Microbial communities in the archaic and Proterozoic eons*).

Durante este período, el conocimiento adquirido con las nuevas técnicas bioquímicas, microscópicas y genéticas, revelaron afinidades y diferencias a nivel subcelular, lo que originó diversas propuestas para establecer una clasificación de los seres vivos en reinos, diferente al sistema linneano -animales y plantas-, basado en estructuras observables a simple vista.

Así, a mediados del siglo XX hubo diversas propuestas de clasificación en 4, 5, 7 y hasta 13 reinos, que permitían ubicar de forma adecuada a bacterias, hongos, algas, etc. Clasificaciones durante largo tiempo ignoradas, o consideradas -al menos en España- como curiosidades sin importancia.

En una de estas propuestas, la realizada por Whittaker en 1959, participa también la doctora Margulis y, en colaboración con Karlene V. Schwartz, publica en 1982, su conocido libro Cinco Reinos (1982 – *Five Kingdoms. An illustrated Guide to the Phyla of Live on Earth*), reeditado y ampliado en 1994.

En él se clasifican a los seres vivos en 5 reinos: Moneras (bacterias); Protoctistas (algas, protozoos y mixomicetos); Hongos (setas, mohos y líquenes), Animales (animales vertebrados e invertebrados) y Plantas (musgos, helechos y plantas con flores). Cada uno de estos reinos es subdividido en grupos o *phylla*, hasta un total de 89.

Como Lynn Margulis considera a las bacterias organismos altamente sensibles y receptivos a cambios genéticos, participa, con nuevas interpretaciones, en el desarrollo de las teorías evolutivas. Acepta las ideas de Darwin; pero defiende que los organismos son los verdaderos protagonistas activos de la evolución, mientras que el genoma es el registro que estos organismos se encargan de modificar.

Opina que la simbiosis microbiana es una fuente de innovación evolutiva, frente a las teorías neodarwinistas que defienden la selección natural procedente de mutaciones al azar, integradas en el genoma y transmitidas de forma hereditaria, y de las que -en palabras suyas- *no hay evidencia. Y..., sin evidencia, no hay ciencia.*

Crítica la compartimentación e incomunicación entre disciplinas académicas, lo que únicamente conduce a dogmatismos que impiden interpretar sin prejuicios los fenómenos relacionados con la historia de la Vida.

Una investigadora de la Vida, universalista como Lynn Margulis, no puede obviar en sus trabajos el entorno en el que viven los organismos. Su contribución al conocimiento de la Geofisiología es notable. No es por casualidad que actualmente ejerza como Profesora en el Departamento de Geociencias de la Universidad de Massachusetts y que haya sido codirectora de la sección de Biología Planetaria de la NASA y premiada por este organismo en 1981.

No se conoce exactamente como se ha originado la vida en nuestro planeta y, mucho menos, por qué se mantiene; pero se sabe que la historia de la Tierra y la de la Vida transcurren en paralelo. No de forma independiente, ya que vida implica flujo de energía y materia, un continuo intercambio entre las células y el ambiente, un fenómeno planetario que permite la transformación de la energía solar en formas cada vez más complejas, más diversas y más dispersas.

Al no conseguir explicar el funcionamiento de este planeta únicamente por la Física y la Química, el químico James Lovelock propuso la hipótesis GAIA, según la cual, la Biosfera es algo más que la suma de todos los fenómenos vivos, es decir, surge de la interacción entre estos y el entorno, hasta constituirse en una entidad autorreguladora del medio abiótico.

Desde la perspectiva biológica, Lynn Margulis realiza una importante colaboración en el desarrollo de la misma.

Y... Como todo lo que se sabe se debe, en buena medida, a lo que otros estudiaron antes y dieron a conocer, los investigadores están (estamos) "obligados" a comunicar nuestros descubrimientos.

Esta máxima ha sido cumplida con creces por Lynn Margulis.

Desde sus primeras publicaciones a finales de los años 60 (1967) se ha convertido en una gran comunicadora de la investigación científica: numerosos artículos y libros, conferencias, entrevistas, películas, vídeos, CDs,... lo atestiguan. Todos los medios de comunicación han sido usados por ella, tanto para darlo a conocer a especialistas, como a la sociedad en general, contribuyendo así a hacer una sociedad más culta. En definitiva, más libre.

Además, los trabajos de Lynn Margulis son de esos que no pierden vigencia y sus libros pueden leerse y releerse una y otra vez, porque siempre hay «letra pequeña» que al principio puede pasar inadvertida.

Son publicaciones que, además de informarnos, nos estimulan a reflexionar, tanto sobre el conocimiento del mundo biológico como del planetario.

Esta universalidad de Lynn Margulis se ve reforzada por los numerosos reconocimientos recibidos hasta el momento: Miembro de la National Academy of Sciences de USA, de la Russian Academy of Natural Science, Medalla Nacional de la Ciencia en 1999, otorgada por Bill Clinton, Doctorados Honoris Causa otorgados por algunas de las más prestigiosas universidades y State Colleges de América, como la de Chicago (su ciudad natal), Massachusetts, Westfield Tulane, Montreal, Quito, Chestertown o Plymouth, y de Europa, como la de Oldenburg, o las españolas, Autónoma de Madrid y Valencia. Larga lista a la que espero que, a partir de hoy, pueda sumarse la Universidad de Vigo.

En palabras de Edward O. Wilson, Lynn Margulis es *una de las pensadoras sintéticas más prodigiosas de la biología moderna*, además de ser una persona muy preocupada por la educación y divulgación del conocimiento científico. Por ello, ha sido capaz de conseguir lo que muchos

investigadores desean y no siempre alcanzan: ¡que se reescriban los libros de texto y estar presente a diario en las aulas de todo el mundo!

Así pues, considerados y expuestos todos estos hechos, dignísimos invitados y miembros de la comunidad universitaria, solicito con todo respeto, y encarecidamente ruego, que se otorgue y confiera el supremo grado de Doctora «Honoris Causa» por la Universidad de Vigo a Doña Lynn Margulis.

He dicho.

Gnathostomosis: Una enfermedad parasitaria

Trabajo seleccionado de la 1ª RAP Internacional de la Universidad de Vigo

N. CARBALLO FERNÁNDEZ; G. POUSADA FERNÁNDEZ & T. TRONCOSO SOBRINO

natcarballo@alumnos.uvigo.es, gupousada@alumnos.uvigo.es, ttroncoso@alumnos.uvigo.es

Alumnos 2º de Biología, Materia: Parasitología (2006-2007), Universidade de Vigo

Profesora: Mª Cristina Arias Fernández

Resumen: La Gnathostomosis es una zoonosis causada por diferentes nematodos del género *Gnathostoma*. La especie más común es *Gnathostoma spinigerum*. En el hombre, hospedador paraténico, las larvas del tercer estadio producen un síndrome de *larva migrans* (migra al azar por el cuerpo, en vez de alojarse en el estómago o esófago como hace en el hospedador definitivo natural). Ésta es ingerida mediante productos mal cocinados o agua sin filtrar.

Resumo: A Gnathostomose é unha zoonose causada por diferentes nematodos do xénero *Gnathostoma*. A especie máis común é *Gnathostoma spinigerum*. No home, hospedador paraténico, as larvas do terceiro estadio producen un síndrome de larva migrans (migra ó azar polo corpo, en lugar de aloxarse no estómago ou esófago como fai no hospedador definitivo natural). Esta é ingerida mediante produtos mal cociñados ou auga sen filtrar.

HISTORIA

El género *Gnathostoma* fue descrito por primera vez en 1836 por Richard Owen, que encontró al parásito en un tigre (*Felis tigris*) que había muerto en el zoológico de Londres. Cincuenta y tres años después, en 1889, Levensen lo encontró, por primera vez, en el hombre; en concreto en el pecho de una mujer tailandesa.

A lo largo de los años se han ido descubriendo distintas especies del género *Gnathostoma*.

Al principio, los casos más claros de enfermedad se daban en la zona asiática (Tailandia, Malasia, Japón, China) y Sudamérica (México), donde alimentarse con pescado crudo o mal cocinado es habitual entre la población. Con el paso del tiempo, el círculo de la gnathostomosis se ha ido expandiendo y, actualmente, se están encontrando casos en casi todo el mundo. En cada zona geográfica se presenta una determinada especie de *Gnathostoma* dependiendo de la fauna de la zona y, principalmente, de la alimentación. Los viajes a países exóticos y la emigración contribuyen a que los hábitos alimenticios se extiendan por todo el mundo y a que los casos de Gnathostomosis aumenten considerablemente cada año. Debido a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) advierte sobre los riesgos de comer alimentos crudos o mal cocinados.

TAXONOMÍA

Reino: *Animalia*.

Subreino: *Metazoa*.

Phylum: *Nemathelminthes*.

Clase: *Nematoda*.

Orden: *Eunematoda*.

Superfamilia: *Spiruroidea*.

Familia: *Gnathostomidae*.

Subfamilia: *Gnathostominae*.

Género: *Gnathostoma*.

MORFOLOGÍA

Huevo: Con forma oval, miden 60-70 x 35-39 micras. Se eliminan en fase de una célula o una mórula. No están embrionados al ser expulsados. Presentan una pared gruesa con uno o dos bulbos polares. Al igual que en el estado adulto, los huevos son diferentes dependiendo de la especie. (Fig. 1)

G. doloresi es el de menor tamaño y además es el que presenta dos tapones polares. Las otras 3 especies son de mayor tamaño y constan de un solo tapón polar.

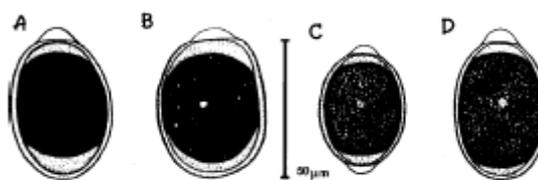


Fig. 1. Morfología de los huevos: A) *G. spinigerum*; B) *G. hispidum*; C) *G. doloresi*; D) *G. nipponicum*

Larvas: Las larvas de estadio I y II presentan un esófago rabadiforme, en cambio la larva III ya lo presenta filariforme.

Adultos: Presentan un cuerpo cilíndrico, según el sexo y edad tienen una longitud diferente, machos 10-25 mm, hembra 9-31 mm (Fig. 2). En el extremo anterior tienen un gran bulbo cefálico con hileras concéntricas de ganchos y en su parte central tienen un par de labios que rodean una cavidad alargada. Sobre la superficie del cuerpo existen hileras de espinas cuticulares que varían en distribución, forma y tamaño dependiendo de la especie.

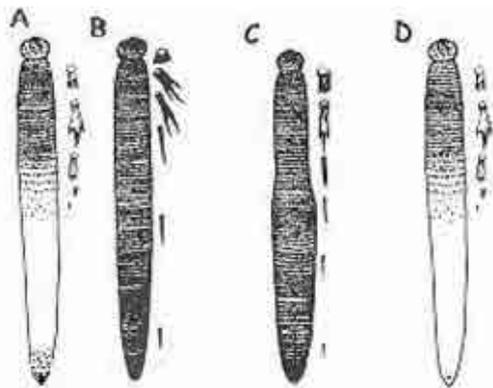


Fig. 2. Morfología de 4 especies de *Gnathostoma*: A) *Gnathostoma spinigerum*; B) *G. hispidum*; C) *G. doloresi*; D) *G. nipponicum*. *Gnathostoma spinigerum* y *G. nipponicum* no presentan espinas en la porción posterior, mientras que las otras dos especies que observamos en la imagen si. Las dos primeras especies se diferencian también del resto por ser de menor tamaño.

CICLO BIOLÓGICO

La especie que más afecta al hombre, y en la que nos vamos a centrar para explicar el ciclo biológico, es *Gnathostoma spinigerum*, Pero la enfermedad también puede ser causada por *G. hispidum*, *G. nipponicum* (Japón), *G. doloresi* y *G. binucleatum*.

Todas presentan en su ciclo biológico varios hospedadores:

Hospedadores definitivos: Mamíferos silvestres o domésticos.

Se requieren dos hospedadores intermedios: Los **primeros hospedadores intermedios** pueden ser diversas especies de pequeños crustáceos (copépodos de los géneros *Cyclops*, *Eucyclops*, *Mesocyclops*, *Tropocyclops* y *Acartocyclops*) y los **segundos hospedadores intermedios** son peces dulceacuícolas (*Clarias batrachus*, *Dphiocephalus striatus*, *Glossogobius giurus*, *Therapon argenteus*).

Hospedadores paraténicos: Aves ictiófagas, anfibios, reptiles y el ser humano (hospedador accidental)

Las distintas especies se diferencian entre sí por su morfología y por el lugar donde se alojan los adultos en los hospedadores definitivos naturales (gatos, perros, marsupiales y cerdos, entre otros). En la figura 3 se puede observar las diferentes localizaciones según la especie de la que se trate:

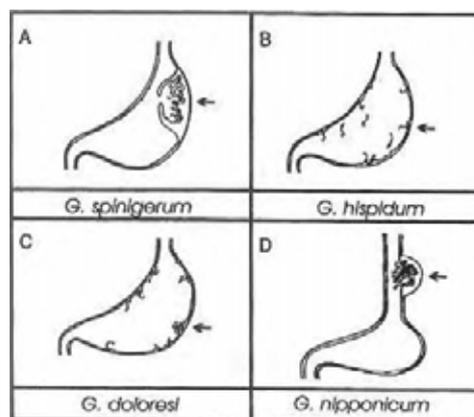


Fig. 3. Localización del parásito adulto en el hospedador definitivo natural. A) Estómago, formando nódulos en la pared del estómago; B) Estómago, libre o en el lumen del estómago; C) Estómago, en la pared del mismo; D) Esófago, en forma de granulomas.

En el caso de *G. spinigerum*, los adultos, de ambos sexos, se encuentran en cavidades formadas por células hiperplásicas infiltradas por un exudado inflamatorio en la mucosa gástrica de perros, tigres, gatos, mapaches y tlacuaches.

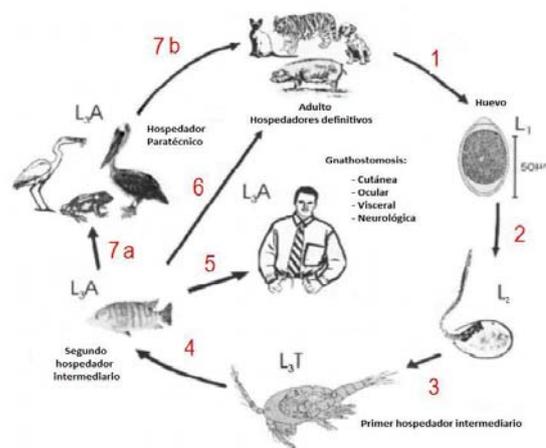


Fig. 4. Ciclo biológico.

El ciclo biológico se muestra en la figura 4:

1. Las hembras liberan los huevos fecundados (no embrionados), y estos son eliminados con las heces del hospedador definitivo. En el agua dulce, con temperaturas



Fig. 5. Huevo de *G. spinigerum* sin embrionar (fase con 4 blastómeros).

de 24-28° C, es decir, si las condiciones ambientales son favorables, se desarrollan al estadio de larva I (L1) dentro del huevo.

2. Esta larva sufre una muda y se transforma a una larva de estadio II (L2). Eclosiona del huevo a través de un opérculo y se



Fig. 6. Larva en estadio 2 nadando libremente.

mueve libremente en el agua hasta ser ingerida por los copépodos (*Cyclops*).

3. En un periodo de 7-10 días la larva L2 se transforma a L3 temprana (L3T) en el hemocele de los copépodos infectados, que sirven de alimento a diversas espe-

cies de peces dulceacuícolas.



Fig. 7. *Cyclops* infectado con larvas en estadio 2-3.

4. En el estómago de los peces, se libera la larva L3T, que perfora la pared y migra hacia el tejido muscular esquelético, donde se enquistada y se transforma en larva L3 de estadio avanzado (L3A). Los peces infectados con larva L3A pueden ser alimento de vertebrados como ranas y culebras así como aves ictiófagas o mamíferos, que no son hospedadores naturales del parásito.
5. Entre los mamíferos, se encuentra el ser humano como hospedador accidental donde este estadio de larva L3A es infectante. Las principales causas son: ingesta de carne infectada de pescado cruda o insuficientemente cocida, o bien por la ingestión de agua, con larvas de estadio L3, sin filtrar. Esta larva en muy pocos casos alcanza el estado adulto, suele quedarse en forma de larva o adulto inmaduro, así que no se establece en el estómago como en hospedadores naturales, sino que circula bajo la piel o tejidos más profundos (“larva migrans cutánea o visceral”).
- 6 y 7. El ciclo biológico se completa cuando los segundos hospedadores intermediarios (peces dulceacuícolas) o paraténicos (aves ictiófagas, anfibios y reptiles) son

ingeridos por los hospedadores definitivos en los que la larva L3A se transforma en parásito adulto.

Este ciclo puede ser más lento si las condiciones no son tan favorables, así, en el huevo sólo tendría el desarrollo de la L1, el copépodo ingeriría el huevo y aquí tendría lugar el paso al estadio II. Estos copépodos son ingeridos por los peces, donde el desarrollo de la larva alcanza el estadio III, el infectante. Desde aquí, el resto del desarrollo no tiene diferencias significativas. Es importante señalar que la larva L3A es la forma que parasita al hombre, siendo éste un hospedador accidental que adquiere la enfermedad cuando consume carne infectada de pescado cruda o insuficientemente cocida en platillos como “cebiche”, “sushi” o “sashimi”.

El ciclo biológico se completa cuando los segundos hospedadores intermediarios o paraténicos son ingeridos por los hospedadores definitivos, en los que la larva L3A se transforma en parásito adulto.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de las infecciones por parásitos depende en gran parte de procedimientos de laboratorio, que sirven para establecer, confirmar o descartar un diagnóstico realizado en bases clínicas. Las parasitosis generalmente se confirman por el hallazgo directo del parásito, o por la detección de la respuesta inmune que provoca.

El diagnóstico definitivo de la Gnathostomosis humana o Paniculitis nodular migratoria se confirma con la demostración parasitoscópica de la larva L3A. Dada la naturaleza migratoria del parásito, identificar al mismo, presenta dificultades. Esto ha hecho importante el desarrollo de métodos inmunológicos para esta-

blecer el diagnóstico a través de pruebas cutáneas. Los antígenos que se han usado con mayor frecuencia en estas pruebas han sido extractos crudos de larvas L3A de *G. spinigerum* y de adultos de *G. doloresi*, ya que existe menor dificultad para obtenerlos en hospedadores naturales y las diferentes especies comparten un gran número de antígenos.

Las pruebas cutáneas, originalmente consideradas sensibles y específicas, fueron sustituidas más tarde por métodos de precipitación y en la actualidad por ELISA, cuya técnica se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una base sólida mediante anticuerpos que, directa o indirectamente, producen una reacción cuyo producto puede ser medido espectrofotométricamente. Se trata de una técnica muy versátil, fiable y sencilla.

Las pruebas de inmunofluorescencia indirecta e inmunohistoquímica enzimática se han empleado, básicamente, para detectar antígenos específicos del parásito en tejidos de biopsia, usando sueros de pacientes o anticuerpos monoclonales.

Tras los exámenes histopatológicos realizados hay que tener bastante cuidado ya que sus síntomas pueden ser confundidos con Síndrome Hipereosinofílico y con el Síndrome de Wells.

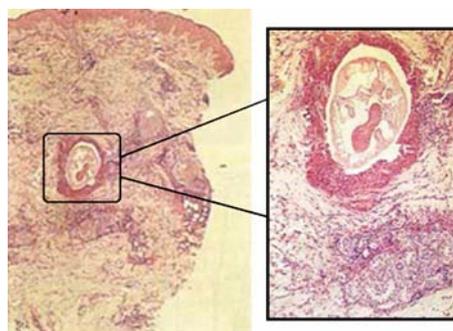


Fig. 8. Micrografía de piel gruesa donde se observa un corte transversal de una larva del género *Gnathostoma*.

PATOLOGÍA

Se conoce poco acerca de los mecanismos precisos que participan en la patogenia de las larvas de tercer estadio avanzado de *Gnathostoma* (L3A). El daño es ocasionado principalmente por una combinación de factores como el efecto mecánico causado por la migración del parásito, la eliminación de sustancias tóxicas similares a acetil-colina, enzimas proteolíticas como la hialuronidasa, una sustancia hemolítica y la reacción inmunológica del hospedador que se traduce en un proceso inflamatorio.

Se manifiesta por la formación de un edema, casi siempre en forma de placa redondeada u oval que aparece en el tórax o en el abdomen, doloroso al tacto, con aumento de temperatura, pero siempre acompañado de prurito intenso (sensación desagradable que produce el deseo de rascarse). Los pacientes se alarman porque a los pocos días cambia de lugar y sienten que algo se desplaza debajo de su piel con dolor y comezón.

Cuando la larva L3A es ingerida por el hospedador, ésta se libera en el estómago, perfora la pared y migra hacia el hígado. En esa etapa, los pacientes pueden presentar fiebre, dolor epigástrico, náuseas y vómito.

Posteriormente, la larva puede dirigirse a cualquier parte del cuerpo y la sintomatología dependerá del área afectada. Este proceso ocasiona un síndrome de *larva migrans* y las manifestaciones pueden ser cutáneas, oculares, neurológicas, viscerales o una combinación de ellas.

Cutáneas:

Las manifestaciones cutáneas son las más frecuentes y menos graves y se han clasificado en cuatro variedades: inflamatoria, serpiginosa, pseudofurunculosa y mixta.

- La variedad inflamatoria se caracteriza por la aparición de edemas migratorios intermitentes y con aumento de la temperatura local. Al desaparecer el edema, con frecuencia queda una zona hemorrágica o placa pigmentada que desaparece en aproximadamente de dos a cinco semanas.
- En la variedad serpiginosa o superficial, se observan surcos poco sinuosos, eritematosos e indurados, los cuales son más anchos en el extremo por donde avanza la larva, ya que en esa zona la reacción inflamatoria es más intensa.
- La forma pseudofurunculosa se manifiesta como pápula roja e indurada que en ocasiones muestra un centro de color pardo, a través del cual la larva puede salir espontáneamente.
- La forma mixta es una mezcla de las anteriores.

Después de varias horas o días su intensidad disminuye o desaparece. Permanece latente durante semanas o meses, reapareciendo en el mismo sitio o regiones vecinas, teniendo una duración variable, de hasta varios años. La localización principal de este tipo de lesiones es el tronco.

Oculares:

Cuando la larva L3A migra hacia el ojo, puede causar dolor, uveítis anterior aguda, aumento de la presión intraocular y hemorragias en la retina y el vítreo; en ocasiones el daño puede conducir a la pérdida de la visión.

Neurológicas:

Estas afecciones pueden producir meningoencefalitis eosinofílica, radiculitis, mielitis, hemorragias subaracnoideas, cefalea intensa, deficiencias motoras y sensitivas en las extremidades, pérdida de la consciencia, estado de

coma y la muerte.

Viscerales:

La larva L3A puede migrar hacia pulmones, estómago, intestinos, endometrio o vías urinarias. Cuando el parásito se encuentra en los pulmones, el paciente puede presentar tos, dolor torácico, neumotórax e hidroneumotórax. En algunos casos, la larva es expulsada durante la expectoración. En el aparato digestivo, la enfermedad puede ser asintomática, (sin síntomas reconocibles).

Vías genitourinarias:

Los casos registrados de gnathostomosis en las vías genitourinarias son pocos y se han asociado con dolor, fiebre, sangrado vaginal...

TRATAMIENTO

No existe un tratamiento específico para la gnathostomosis y generalmente se recomienda tratar de recuperar al parásito a través de maniobras quirúrgicas; sin embargo, esto resulta difícil principalmente por la naturaleza migratoria de la larva o bien por su localización en órganos o tejidos diferentes de la piel.

Algunos medicamentos como Bitionol, Tia-bendazol, Metronidazol, Astiben, soluciones de yodo, utilizados en otras enfermedades parasitarias, fueron inútiles al ser probados experimentalmente en animales infectados con larvas L3A de *Gnathostoma*; sin embargo, el Albendazol, un medicamento antimicótico o antifúngico pero con actividad específica frente a cierto tipo de helmintos, nematodos y cestodos, fue probado inicialmente en ratas y gatos infectados, lográndose en algunos casos la muerte de la larva L3A.

Con este medicamento se ha mostrado que las larvas emergen hacia la superficie de la piel entre los días 10 al 14 después del trata-

miento, formándose una lesión pseudofurunculosa que indica el momento más oportuno para realizar una biopsia y recuperar el parásito.

Todavía se continúa investigando y probando nuevos tratamientos para aumentar la eficacia contra la Gnathostomosis humana ya que el Albendazol, al menos en los 14 días postratamiento, no destruye el parásito en todos los casos.

MEDIDAS DE PREVENCIÓN

La principal medida de prevención para disminuir la frecuencia de este padecimiento es evitar el consumo de pescado crudo o insuficientemente cocido de aguas dulces o salobres, aves de corral,... También es importante controlar la presencia de perros, gatos, cerdos, mapaches,... en áreas de explotación de peces dulceacuícolas ya que las excretas de estos mamíferos domésticos o silvestres, pueden contaminar las aguas con huevos del parásito.

La difusión de la información sobre diferentes aspectos de la gnathostomosis a través de medios de comunicación puede constituir una herramienta de gran utilidad para controlar y prevenir esta parasitosis.

BIBLIOGRAFÍA

- BEAVER, P. C. 2003. *Parasitología clínica de Craig Faust* (2ª ed.). Masson Doyma. México, D.F.
- BORCHET, A. 1981. *Parasitología veterinaria* (4ªed.). Acribia. Zaragoza.
- CORDERO, M. 1981. *La parasitología hoy*. Investigación y Ciencia, 58: 80-86.
- MITCHISON, A. 1993. *¿Sobreviviremos?* Investigación y Ciencia, 206: 6-14.

PAZ, S. 2000. *Gnathostomosis*. Revista de la Facultad de Medicina de UNAM, 43: 26-33.

SOULSBY, E. J. L. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos* (3ª ed.). McGraw-Hill. México.

VILLAR DE PRICIANI, E. 2003. *Paniculitis migratoria eosinófila en el Perú. Gnathostoma como agente causal*. Medicina Experimental y Salud Pública, 20: 4-12.

WILLIAM, E. P. 1993. *Enfermedades infecciosas y sistema inmunitario*. Investigación y Ciencia, 206: 54-62.

ZAMAN, V. 1988. *Atlas color de parasitología clínica* (1ª ed.). Editorial Médica Paname-

ricana. Buenos Aires.

ALMEIDA-ARTIGAS, R. J. 1991. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. *Hallazgo de Gnathostoma binucleatum en felinos silvestres y el papel de peces dulcea-cuícolas y oligohalinos como vectores de la Gnathostomiasis*. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1991-2/>

2008. Sociedad Andaluza de enfermedades infecciosas. Gnathostomosis. <http://www.saei.org/>

GENÉTICA DEL ENVEJECIMIENTO.

G. POUSADA FERNÁNDEZ; M. P. SELAS CANGA & T. TRONCOSO SOBRINO

gupousada@alumnos.uvigo.es, maselas@alumnos.uvigo.es, ttroncoso@alumnos.uvigo.es

Alumnos 2º Bioloxía, Materia: Xenética (2006-2007), Universidade de Vigo

Profesor: David Posada González

Resumen: Todas las células del organismo están abocadas a morir y solamente permanecen vivas si reciben señales de supervivencia procedentes de las células que les rodean, que impiden así que se ponga en marcha el programa de muerte celular. Para ello, normalmente no basta con la reducción de los niveles de los factores de supervivencia, sino que se requiere, además, que el paso del tiempo o alguna lesión hagan disminuir la expresión de los genes de la familia Bcl-2, que codifican proteínas inhibidoras de la apoptosis.

Resumo: Tódalas células do organismo están abocadas a morrer, e soamente permanecen vivas se reciben sinais de supervivencia procedentes das células que as rodean, que impiden deste xeito que se poña en marcha o programa de morte celular. Para iso normalmente non basta coa redución dos niveis dos factores de supervivencia, senón que se require ademais que o paso do tempo ou algunha lesión fagan disminuir a expresión dos xenes da familia Bcl-2, que codifica proteínas inhibidoras da apoptose.

INTRODUCCIÓN

Todos los organismos envejecen de forma natural como paso inexorable hacia la muerte. No existe ninguno que consiga escapar de ese destino y hacerse inmortal. Sólo los seres más sencillos de la escala biológica, los unicelulares como las bacterias, no envejecen. El envejecimiento acompaña, en cambio, a la reproducción sexual. Los gametos femeninos y masculinos, al fundirse en la fecundación, darán origen a un nuevo individuo, pero el resto del organismo productor sufrirá las consecuencias del paso del tiempo, sujeto a envejecimiento, destrucción y muerte. Los materiales que lo integran no pasarán a los hijos, como tampoco su propio mensaje genético intacto. Con los gametos se transmite al nuevo ser el mensaje genético de la especie y una mezcla de las peculiaridades individuales paternas y maternas.

Todo ser vivo, una vez que ha madurado y formado las células germinales, vive durante un espacio de tiempo que le permite transmitir la vida, contribuyendo así a mantener su especie, pero una vez cumplida esa función inicia un declive irreversible.



Fig. 1. El envejecimiento.

Suelen distinguirse entre los procesos de senescencia y de envejecimiento, como dos etapas del camino hacia la desaparición de

los seres vivos. Envejecimiento es el conjunto de modificaciones morfológicas y fisiológicas que aparecen como consecuencia de la acción del tiempo sobre los seres vivos y, en biología, senescencia se refiere a que las células, después de haber pasado por un número de divisiones, dejan de proliferar. Puesto que tanto el envejecimiento como la senescencia están bajo control genético, es inevitable que algunas personas puedan padecer enfermedades de envejecimiento prematuro debidas a la alteración de algún gen.

MECANISMOS QUE PRODUCEN EL ENVEJECIMIENTO

Existen una serie de mecanismos y procesos relacionados, con el proceso de envejecimiento o senescencia. Entre estos podemos hablar del suicidio celular, la reparación de ADN, el acortamiento de los telómeros por la acción de la telomerasa y la importancia del Citocromo C en el envejecimiento.

Genes del suicidio celular:

Ciertos genes tienen la función de terminar prematuramente la vida de una célula, mientras que la de otros es permitir que sobreviva, teniendo estos últimos el papel predominante: los productos de los genes verdugos no implican la muerte mas que en ausencia de las moléculas preescritas por los genes salvadores.

Durante el suicidio celular o apoptosis, también conocido como muerte celular programada, se activa un programa "suicida" en la célula, que conduce posteriormente a la fragmentación del ADN, el encogimiento del citoplasma, cambios en la membrana y muerte celular sin lisis ni alteración de las

células vecinas.

El nemátodo *Caenorhabditis elegans* proporcionó la primera prueba de que son los genes los que gobiernan el suicidio celular. De las 1090 células que se producen durante el desarrollo embrionario de este nemátodo, mueren 131. Se han podido identificar los 14 genes que gobiernan todas las fases del suicidio celular en este nemátodo, demostrando cuáles intervienen en que la célula tome o no la decisión de suicidarse, cuales participan directamente en la autodestrucción y cuales permiten que las células apoptóticas sean ingeridas por las circundantes.

La mutación de un único gen, el *age-1*, aumenta el periodo de vida de *C. elegans* en un 70%. Los nemátodos mutantes producen niveles elevados de antioxidantes y son más resistentes al Paraquat®, herbicida que induce la generación del radical superóxido. La mutación del gen *age-1* parece inactivar el gen, lo que significa que la proteína que codifica deja de producirse. Si la eliminación de una proteína conduce a un incremento de la producción de antioxidantes, es posible entonces que sean las proteínas normales las que inhiban la producción de estas sustancias.

En la senescencia de la levadura de cerveza, se han identificado varios genes que prolongan su vida; así, *LAG1* ("Longevity assurance gen1") garantiza la longevidad. Este gen es más activo en las células jóvenes que en las viejas. Al inducir una actividad *LAG1* extra, después del declive normal de su expresión, se le alarga la vida hasta un 30%. Las células de levadura maduras que llevan el gen extra activo no se tornan inmortales, como ocurre con las células cancerosas en

los organismos pluricelulares; sencillamente se mantienen jóvenes durante un periodo mas prolongado. Se ha descubierto que un gen similar se expresa en ciertas células humanas.

Después de cruzamientos sucesivos de hembras y machos longevos en la mosca de la fruta, se han conseguido poblaciones de *Drosophila melanogaster* que viven el doble de lo normal. La longevidad es uno de los rasgos extraordinarios de estos Matusalenes en miniatura. Se tratan de moscas superiores, más robustas que otras de su misma edad y mejor equipadas para resistir el estrés. Ya viejas, muchas de ellas siguen siendo más fuertes que las jóvenes normales. Muchas de las moscas longevas producen una versión extraordinariamente activa de la enzima antioxidativa superóxidodismutasa, lo que significa que albergan una variante del gen especificador de la enzima; sintetizan, en particular, una versión muy eficiente de la forma de la enzima que se da en el citoplasma de las células. En la mosca de la fruta, como en el hombre y en otros organismos, las superóxidodismutasas defienden contra el daño oxidativo, al neutralizar el superóxido, un radical libre muy dañino. De esa diferencia genética hemos de inferir que las moscas normales envejecen antes porque sus defensas frente a los radicales libres no son tan eficientes como las sometidas a una reproducción selectiva.

Los seres humanos tenemos dos genes muy parecidos a los de *C. elegans*, los llamados ICE, los cuales codifican una cisterna proteasa, y *Bcl-2* (Fig. 2). Las investigaciones sobre los mecanismos de determinadas enfermedades, como el cáncer y el SIDA, han ido descubriendo poco a poco la importante

función que los programas de suicidio celular continúan teniendo en la fase adulta.

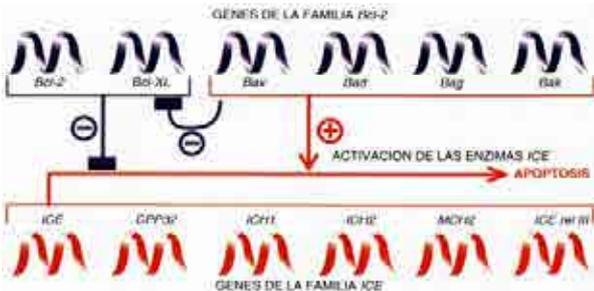


Fig. 2. Las familias de los genes Bcl-2 e ICE se componen de seis miembros cada una. Bcl-2 y Bcl-xL favorecen la pervivencia (signo menos) impidiendo la activación o los efectos de las enzimas ICE. Bax, Bad, Bag y Bak promueven el suicidio (signo más), oponiéndose a los efectos de sus congéneres y apoyando la actividad de las enzimas ICE.

Una variedad de agentes que causan la muerte celular programada pueden quedar bloqueados por el producto del gen *Bcl-2*. La apoptosis de una célula provocada por los linfocitos T citotóxicos aporta las proteasas, que desencadenan la fragmentación del ADN y la destrucción celular; ésta es la razón de que este tipo de apoptosis no dependa del estado del producto del gen *Bcl-2*, mientras que las otras vías pueden quedar bloqueadas por sus efectos. Es poco lo que se sabe acerca de cómo las proteínas codificadas por los genes de la familia *Bcl-2* bloquean la apoptosis. Estas proteínas se localizan en las membranas de la mitocondrias, del núcleo y del retículo endoplasmático, y parecen tener actividad antioxidante; recogen a manera de "basurero" los radicales libres que, o bien median la activación de las proteasas, o bien intervienen en la cascada de reacciones destructoras que estas proteasas ponen en marcha.

Reparación del ADN:

La vida de un organismo y su continuidad de

generación en generación dependen de la estabilidad a largo plazo de la información genética cifrada en la doble hélice de ADN. El ADN se muestra muy sensible a los daños producidos por las radiaciones perjudiciales y por los agentes químicos presentes en el medio ambiente. Su estabilidad y la precisión de su replicación están protegidas por enzimas que continuamente reparan las lesiones genéticas. Las lesiones importantes en la molécula de ADN pueden inducir una respuesta de emergencia (SOS), mediante la cual se sintetizan mayores cantidades de enzimas reparadoras, que actúan en perfecta coordinación.

La incorporación en el ADN de una base incorrecta o alterada, así como la presencia de una lesión que distorsione la doble hélice o impida el perfecto apareamiento de las bases, obstaculizarán la replicación, la síntesis de proteínas y la recombinación. A menos que se repare satisfactoriamente la lesión causada, puede sobrevenir la muerte de la célula. Tales lesiones pueden iniciar un proceso que conduce al cáncer.

En una célula en crecimiento, que no ha sufrido daño alguno, los genes reparadores del ADN se encuentran casi inhibidos por *LexA*. Cuando las células se exponen a una dosis significativa de radiación ultravioleta, los dímeros de pirimidina que no pueden reparar las pocas moléculas de proteína *Uvr* originan huecos postreplicativos. Las proteínas *RecA* que haya en la célula se unen al ADN uncatenario que queda frente a los huecos. El ADN estimula la actividad proteasa de *RecA* y se induce una respuesta masiva y muy rápida denominada respuesta SOS. La proteína *RecA* destruye a los represores *LexA*. La respuesta SOS estimula la

reparación eficaz del ADN, pues aumenta la disponibilidad de enzimas para la reparación por escisión y abre la vía de la reparación postreplicativa.

El telómero humano y la telomerasa:

La longitud de los telómeros (Fig. 3) desciende progresivamente en las células somáticas que se dividen en el organismo, y lo mismo sucede en el envejecimiento de los fibroblastos en cultivo. La longitud del telómero es un mejor indicador del potencial de división que la edad del individuo del que proceden las células. Dicho acortamiento obedece a la incapacidad de las polimerasas de ADN para comenzar *de novo* cadena de ADN (las polimerasas de ADN sólo pueden añadir nucleótidos a una cadena naciente), que le impide replicar los extremos de los cromosomas. Siempre que se produce una nueva copia de ADN se elimina un pequeño fragmento de cada telómero. Estos hallazgos sugieren que el telómero podría ser el reloj que determina la capacidad proliferativa de las células. Gran interés tiene también la observación de que la longitud del telómero se mantiene, que está ligeramente aumentada, en los espermatozoides y en las células transformadas e inmortalizadas. Esta

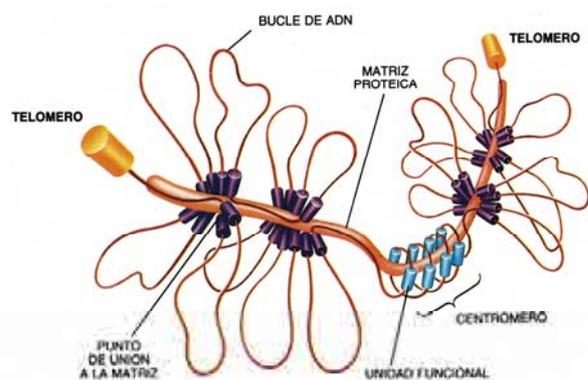


Fig. 3. Los telómeros, extremos de los cromosomas, impiden que los cromosomas se adhieran entre sí e interactúen hasta amenazar su estabilidad.

estabilidad podría explicar porqué las células germinales normales y las malignas no pierden su capacidad replicativa.

Podría suceder que el organismo entrara en decadencia cuando los órganos pierden su capacidad reparadora de las células dañadas.

La telomerasa (Fig. 4) es una enzima formada por un complejo proteína-ácido ribonucleico con actividad reverso transcriptasa (ARN => ADN) que es producida en células germinales embrionarias que impide el acortamiento de los telómeros. La telomerasa es reprimida en las células somáticas maduras después del nacimiento, pero sigue funcionando en las células germinales y transformadas. Al desempeñar un importante papel en la formación, mantenimiento y renovación de los telómeros, la telomerasa es clave en procesos tales como el envejecimiento y el cáncer.

La telomerasa tiene una gran importancia en los organismos unicelulares. Estos

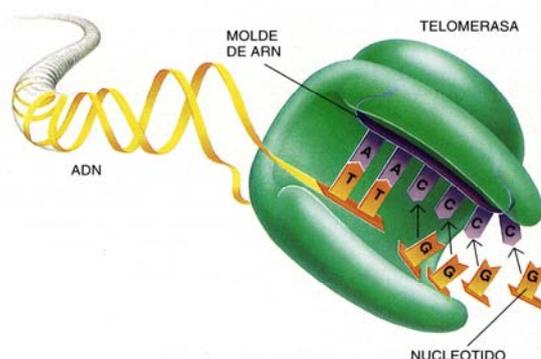


Fig. 4. La telomerasa porta su propio molde para sintetizar ADN telomérico. En este dibujo la telomerasa está añadiendo la secuencia TTGGGG complementaria a un cromosoma de *Tetrahymena*.

organismos son inmortales en el sentido de que, salvo accidentes o intrusiones genéticas, pueden dividirse indefinidamente. *Tetrahymena* necesita telomerasa para mantener esa inmortalidad y cuando la enzima se degrada los telómeros se acortan y

las células mueren. En levaduras, las células que carecen de telomerasa acortan la longitud de sus telómeros y mueren.

Muchas células humanas carecen de telomerasa. Las células somáticas procedentes de recién nacidos suelen dividirse unas 80 o 90 veces, mientras que las de un anciano solo se dividen entre 20 y 30 veces. Cuando las células humanas detienen su reproducción adquieren un aspecto diferente y funcionan con menos eficacia que cuando son jóvenes. Después de cierto tiempo, mueren. Las células pierden segmentos de sus telómeros a medida que se dividen, lo que indica que la telomerasa no es activa.

Un ciclo letal: El Citocromo C.

El citocromo C juega un doble papel. Cuando una célula recibe la orden de que cometa el suicidio apoptótico, el citocromo C abandona su lugar habitual en la mitocondria y se instala en el citosol, donde ayuda a activar el proceso de apoptosis. La sobreexposición de los supresores de la muerte celular, Bcl-2 y Bcl-xL, evita la salida del Citocromo C.

Las caspasas se activan mediante procesos proteolíticos, hidrolizan un número limitado de sustratos apoptóticos y de ellas depende de mayoría de los cambios característicos de la

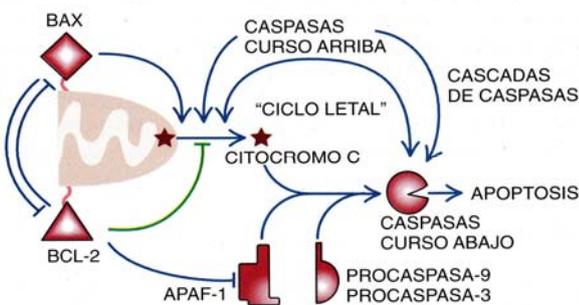


Fig. 5. Modelo explicativo de la función del supresor Bcl-2 en la apoptosis. El Bcl-2 bloquea la activación de caspasas, evitando la amplificación de las señales pro-apoptóticas.

apoptosis (Fig. 5).

El homólogo de la caspasa CED-3 se activa en el nematodo *Caenorhabditis elegans* por la interacción física entre la proCED-3 y la CED-4, ya que la muerte celular programada no se produce en los animales mutantes en el gen CED-4. En las células que han de sobrevivir, la CED-9, que pertenece a la familia Bcl-2, se une a la CED-4 y la mantiene en una conformación inactiva, impidiendo por tanto la activación de la proCED-3 mediada por la CED-4. La capacidad de CED-9, CED-4 y CED-3 de formar un complejo multiproteico ha conducido al modelo del aptosoma en la regulación de la muerte celular.



Fig. 6. Foto de dos niños afectados con el Síndrome de Hutchinson-Gilford donde se pueden observar las lesiones típicas de la enfermedad como ojos saltones, carecen de cejas y pestañas,... Este aspecto de describe a veces como "Pájaro desplumado".

SÍNDROME DE ENVEJECIMIENTO PREMATURO

La Progeria o Síndrome de Hutchinson-Gilford es una enfermedad rara que destaca por sus síntomas, que se asemejan bastante al envejecimiento humano normal, pero entre 5 y 10 veces más rápido de lo habitual, y se presenta en niños pequeños (Fig. 6). En todo el mundo son conocidos alrededor de 50 casos.

Aparece independientemente del grupo social o racial. La enfermedad afecta tanto a niños como a niñas. La esperanza de vida promedio es de aproximadamente 13 años.

Esta enfermedad es el producto de un "error de ortografía genético" de una sola letra entre las tres mil millones del genoma humano. Tras muchas investigaciones, los científicos encontraron en 18 de los 20 niños estudiados la misma mutación en el llamado gen lamin. En este gen, dónde debería aparecer el nucleótido C, encontraron una T.

Un error mínimo con un increíble efecto. Este gen permite la elaboración de una proteína ya conocida llamada lámina A. Estas láminas intervienen en el mantenimiento de la estructura de la membrana que cubre el núcleo de la célula, en el cual se halla el ADN. Si no existen láminas A, la membrana resulta alterada y las células no se dividen, o lo hacen mal. La reparación y renovación de los tejidos sufre una perturbación importante, lo que provoca un envejecimiento anormal. Gracias a este importante descubrimiento, fue finalmente posible diagnosticar la enfermedad tempranamente y así mejorar la calidad de vida de estos niños.

ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER: EL GEN P53

La transformación cancerosa está relacionada con la inactivación de otra familia de genes, los antioncogenes o los genes supresores de tumores, que normalmente frenan la multiplicación celular. Uno de ellos es el gen *p53*, cuya inactivación por mutación es muy frecuente en los cánceres humanos, y participa en el inicio del suicidio celular. Al igual que sucede con la activación de *Bcl-2*, la inactivación de *p53* favorece la superviven-

cia anormal de las células. Este gen vela por la integridad del genoma celular y obliga a la célula a interrumpir su multiplicación y reparar la lesión genética cuando ésta se produce. Si la lesión es demasiado importante, *p53* desencadena el suicidio de la célula. Las mutaciones que dejan inactivo a *p53* tienen como consecuencia que las células alteradas puedan seguir multiplicándose y sufrir nuevas transformaciones genéticas favorables a la tumoración (Fig. 7)

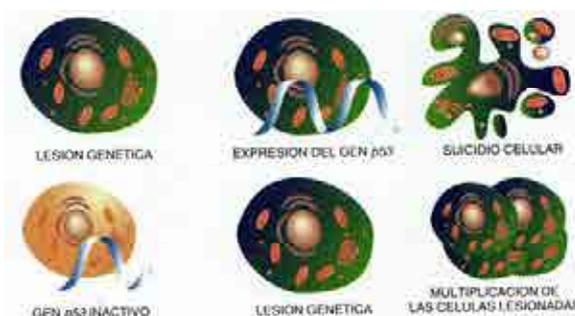


Fig. 7. El gen *p53* es un guardián de la integridad celular. Si una célula sufre una lesión genética, *p53* se manifiesta y produce la destrucción de la célula (arriba). Pero si está inactivo, las células alteradas se multiplican en exceso y sufren modificaciones cromosómicas que no se eliminan.

Algunas proteínas de ciertos virus humanos inactivan o destruyen la proteína *p53*, lo que impide que esa célula muera por efecto de la infección. Otros virus portan genes que codifican proteínas virales que actúan como el *Bcl-2*, inmortalizando a la célula infectada.

EPÍLOGO

A pesar del extraordinario avance conseguido en la investigación de las células en cultivo, los radicales libres, los genes determinantes de la longevidad y otras vías prometedoras, el proceso de envejecimiento humano continúa siendo un gran misterio. A lo que hay que añadir la confusión provocada por el hecho de que los cambios relacionados con la edad no ocurren de manera

uniforme, ya sea entre individuos o entre células. Hay estudios que confirman que una alimentación con gran aporte energético produce un mayor número de radicales libres y por lo tanto un envejecimiento más rápido. También el ejercicio produce este efecto. El envejecimiento se produce por una combinación de agentes externos y por los genes de cada individuo.

Saber con exactitud hasta cuándo podrá extenderse la vida intentando echar remiendos en el proceso de envejecimiento, es algo que queda reservado para la imaginación de cada uno. La prolongación de la vida tendría profundas consecuencias sociales, económicas y ambientales, y obligaría a plantearse la cuestión de si debería o no intentarse esa ampliación.

BIBLIOGRAFÍA

- DUKE, R. C., OJCIUS, D. M. & YOUNG, J. D. 1997. *Suicidio celular, en la salud y en la enfermedad*. Investigación y Ciencia. 245: 43-51.
- FALKENSTEIN, M. & SOMMER, S. 2006 *Envejecimiento y actividad laboral*. Mente y Cerebro. 19: 28-35.
- GARCÍA-CAO, M. & BLASCO, M. A. 2003. *Conexión entre el ciclo celular y los telómeros. Importancia para el cáncer*. Investigación y Ciencia. 321: 14-20.
- HAYFLICK, L. 1980. *Biología celular del envejecimiento humano*. Investigación y Ciencia. 42: 62-69.
- HOWARD-FLANDERS, P. 1982. *Reparación inducible del ADN*. Investigación y Ciencia. 64: 68-95
- LOPEZ MORATALLÁ, N. 1995. *La destrucción de los seres vivos*. Investigación y Ciencia. 11: 4-8.
- LOPEZ MORATALLÁ, N. 1995. *Sistema inmunitario y envejecimiento*. Investigación y Ciencia. 11: 73-74.
- MOYZIS, R. K. 1991. *El telómero humano*. Investigación y Ciencia. 181: 36-44.
- SONNENMOSER, M. 2005 *Facultades mentales y envejecimiento*. Mente y Cerebro. 13: 43-51.
- Enciclopedia Wikipedia. 2007. *Envejecimiento humano*. <http://es.wikipedia.org/wiki/>
- ALVAREZ, G. 2002. Sin Dioses. *La fuente de la juventud está en los genes*. <http://www.sindioses.org/>
- Salud y Discapacidad. 2007. *Progeria o envejecimiento prematuro*. <http://salud.discapnet.es/Castellano/>

COMBINACIONES DE CÉLULAS DE TIMO Y MÉDULA ÓSEA: SINERGIA EN LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS

Traducción y modificación del trabajo original:

HENRY N. CLAMAN, EDWARD A. CHAPERON and R. FASER TRIPLETT. 1966. Thymus-Marrow Cell Combinations. Sinergism in Antibody Production. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 122:1167–1171.

G. POUSADA FERNÁNDEZ; N. CARBALLO FERNÁNDEZ & O. MARIÑO CRESPO

gupousada@alumnos.uvigo.es, inatcarballo@alumnos.uvigo.es, omarino@alumnos.uvigo.es

Alumnos 3º Bioloxía, Materia: Introducción á Historia da Inmunoloxía (2006-2007),

Universidade de Vigo. Profesor: José Faro Rivas.

Resumen: Inyectamos suspensiones que contenían células de timo, bazo o médula normales en ratones singénicos irradiados, a los cuales se les inyectó como antígeno glóbulos rojos de oveja (GRC). Las células de bazo normal dieron lugar a áreas discretas de producción de anticuerpos en los bazos receptores, y el número de áreas fue proporcional al número de células transferidas. Los ratones que recibieron tanto células de timo como de médula tuvieron más centros de actividad hemolítica en sus bazos que los ratones que las recibieron por separado.

Resumo: Inxectamos suspensións que contiñan células de timo, bazo e médula ósea normais en ratos sinxénicos irradiados, ós que se lles inxectou como antíxeno glóbulos vermellos de ovella (GRC). As células do bazo normal xeraron áreas discretas de produción de anticorpos nos bazos receptores, e ó número de áreas foi proporcional o número de células transferidas. Os ratos que recibiron tanto células do timo como de médula tiveron mais centros de actividade hemolítica nos seus bazos que os ratos que a recibiron por separado.

INTRODUCCIÓN

La fuente de células potencialmente inmunocompetentes y los mecanismos reguladores implicados en su maduración son problemas de gran interés sin resolver. Recientemente se han acumulado evidencias considerables que indican que el timo juega un importante papel en la linfocitopoyesis y en el desarrollo y mantenimiento del sistema inmunitario (Good y Gabrielsen 1964). Aunque en un timo sano se sintetizan pequeñas cantidades de anticuerpos (Landy et al. 1965), un papel más importante para esta estructura puede ser suministrar células linfoides potencialmente competentes que migran a otras estructuras linfoides como el bazo o los ganglios linfáticos, para diferenciarse en células inmunológicamente activas (Nossal 1964). También existen datos que muestran que el timo puede producir un producto semejante a una hormona difusible que promueve la multiplicación y maduración de las células linfoides en los tejidos linfoides periféricos (Metcalf 1956, Levey et al. 1963, Osoba y Millar 1964). Estos dos mecanismos no son mutuamente excluyentes.

Los experimentos aquí descritos buscaban probar la existencia de células potencialmente inmunocompetentes en el timo, de acuerdo con el método para células de bazo recientemente descrito por Playfair et al. (1965). Este método permite el estudio de células potencialmente inmunocompetentes mediante la demostración de clones discretos de células activas productoras de anticuerpos, procedentes de un cierto número de células progenitoras no sensibilizadas que son transferidas a hospedadores irradiados y estimulados con antígeno. En el transcurso de estos experimentos, hemos encontrado que la combina-

ción de células normales de timo y de médula ósea es mucho más activa produciendo hemolisinas que ambas por separado. La actividad injerto contra hospedador de las células se eliminó dado que usamos células donantes y receptoras de la misma cepa consanguínea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se sometió a ratones LAF1 y CBA/J de entre 9 y 12 semanas de edad a una exposición de rayos X de entre 650-750 r (en el aire) y 250 kvp (30 ma, 0.5 mm CU, 1.0 mm Al, 100 cm) seguida de inyecciones intravenosas de células singénicas (bazo, timo, médula o timo y médula). El bazo donante o las suspensiones de timocitos se obtuvieron forzando al tejido a pasar a través de una malla de acero inoxidable en solución salina F fría. La médula se extrajo de fémures, forzando el paso de una solución salina a su través con una jeringuilla tras haber cortado las epífisis, y las suspensiones se obtuvieron pasando las muestras de médula a través de una aguja graduada número 26. Las células se lavaron en solución salina F fría y las contamos en un hemocitómetro. Se ajustaron las concentraciones de modo que cada animal recibió el número deseado de células en 0,5 mL de solución salina F. Cuando los ratones recibieron tanto células de timo como de médula, ambas poblaciones celulares se habían mezclado un poco antes de la inyección, en un volumen total de 0,5 mL. A todos los sujetos se les inyectó una muestra antes de que hubieran transcurrido dos horas tras la irradiación.

En el primer grupo de experimentos, se les inyectó a los ratones 0,2 mL de una suspensión al 10% de eritrocitos de oveja lavados durante el primer día tras la irradiación. Cinco días después de la irradiación se sacrificaron

los ratones y se les extrajo los bazos, cortamos éstos en fragmentos y los pusimos a continuación en placas siguiendo la técnica de Playfair et al. (1965), excepto que la pulpa roja no fue eliminada de los fragmentos. Tras dos horas de incubación a 37° C añadimos 2 mL de complemento de cobaya al 33% en cada placa. Se incubaron las placas 30 minutos más y se fijaron añadiendo formalina neutra al 10% sobre la superficie de los cultivos; a continuación se marcaron con un código y se contaron mediante un ensayo ciego usando dos métodos.

Los fragmentos de bazo con hemólisis circundante significativa (trozos activos), no estaban distribuidos aleatoriamente, sino que

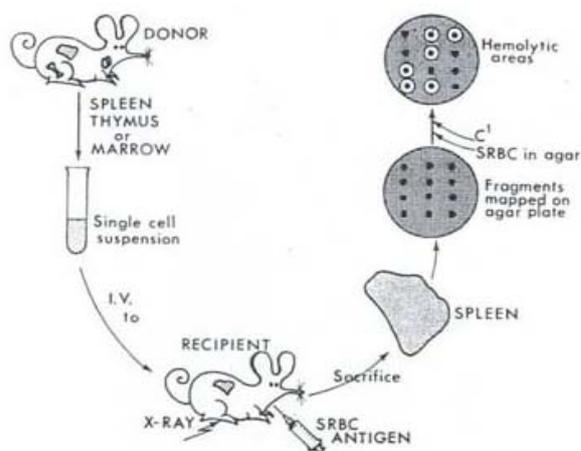


Fig. 1. Diseño experimental.

tendían a aparecer en grupos o “áreas activas”. Playfair et al. (1965) demostraron que un área activa probablemente deriva de un grupo de células precursoras, pero cuando hay muchos fragmentos activos la delimitación de áreas activas concretas resulta complicada ya que tienden a solaparse. Por esta razón, se calculó el porcentaje de fragmentos de bazo con hemólisis y se denominó “actividad específica”. Encontramos que estaba relacionado linealmente con el número de áreas activas y que permitía el conteo cuanti-

tativo de un amplio espectro de actividades. Durante la evaluación de los datos consideramos que dos errores estándar eran el intervalo de confianza del 95%.

Para determinar el porcentaje de células que alcanzaban los bazos receptores, se incubaron por separado suspensiones de células de bazo y timo CBA durante 6 horas y media con H^3 -timidina. Fueron lavadas las células y determinado el porcentaje de células marcadas mediante autoradiografías de las alícuotas. A los ratones receptores se les inyectó 10^6 células de timo o de bazo por vía intravenosa y se sacrificaron 1 hora después. Con sus bazos se hicieron suspensiones simples y se determinó el número de células totales. Hicimos frotis de las alícuotas medidas y determinamos mediante autoradiografía el número de células marcadas. El número total calculado de células marcadas en el bazo fue de 6,5% de las inyectadas del bazo y el 2,9% de las de timo. Asumiendo que la distribución de las células marcadas reflejaba la distribución de todas las células donantes, aproximadamente el doble de células de bazo que de timo llegaron a los bazos receptores.

RESULTADOS

En la Tabla I se muestran los resultados del primer grupo de experimentos, usando células normales e inmunizadas de bazo y de timo. Cuando inyectamos 5×10^6 células de bazo de ratones CBA/J no inmunizados en unos receptores singénicos irradiados, el número medio de áreas activas en el bazo 5 días después era unas 2,5 veces que el encontrado cuando inyectamos 2×10^6 células de bazo. Aproximadamente $2,2 \times 10^6$ células producían un área activa en ambos casos.

Quinientas mil células de bazo de donantes a los cuales se les habían inyectado eritrocitos de oveja 3 días antes producían tantas áreas activas como 2 millones de células de ratones no inmunizados. Las células de timo de donantes normales e inmunizados no produjeron un número significativamente distinto de áreas activas que los controles, a los cuales no se les inyectó ninguna célula.

En el siguiente grupo de experimentos, los receptores irradiados con rayos X recibieron inyecciones del antígeno en el primer y cuarto día y fueron sacrificados al octavo día tras la irradiación (Tabla II).

A algunos animales se les dio 10^7 células singénicas de médula, bien solas o junto con células de timo. Los bazos de los ratones que recibían 5×10^7 células de timo más 10^7 células de médula generaban más zonas de lisis y considerablemente más grandes que los animales que habían recibido sólo uno u otro tipo celular. La médula no producía actividad por sí sola mayor que el nivel basal, pero el timo

por sí mismo producía una ligera actividad a los 8 días.

En los subsiguientes experimentos se usaron ratones LAF1/J por su gran resistencia a los rayos X. La figura 2 presenta los datos combinados de 6 experimentos mostrando la actividad específica en función de la dosis de timocitos. Cuando los ratones recibieron 10^7 células de médula (Graf. 2, línea superior), la curva de respuesta era lineal por lo menos hasta los 5×10^7 timocitos, de los cuales $5,5 \times 10^6$ células generaron un área activa y un 10% de actividad específica. Las células de timo por separado (Graf. 2, línea inferior) eran mucho menos efectivas y se necesitaron aproximadamente $4,3 \times 10^7$ células para generar un área activa (10% de actividad específica).

En el experimento recíproco, evaluamos la respuesta hemolítica en función del número de células de médula inyectadas. En los grupos de ratones que recibieron un número variable de células de médula más 2×10^7 células de timo (línea superior), la respuesta fue

Tabla I. Producción de áreas activas de hemólisis en bazos de ratones CBA que fueron irradiados y se les inyectó células de bazo y timo en el día 0, eritrocitos de oveja en el día 1 y que fueron sacrificados en el día 5.

CÉLULAS INYECTADAS	Nº DE CÉLULAS ($\times 10^6$)	ÁREAS ACTIVAS POR BAZO	MEDIA DE ÁREAS ACTIVAS
Bazo normal	2	00111112	0.83
Bazo normal	5	111122222222334444	2.3
Bazo inmunizado	0.5	00113	0.80
Bazo inmunizado	5	*****	*
Timo normal	20	00000002	0.25
Timo normal	50	0000	0.0
Timo normal	90	00011	0.40
Timo inmunizado	100	000	0.0
Control	0	0000000000000001111	0.2

* Demasiadas áreas activas para contarse con precisión.

Tabla II. Actividad hemolítica en los bazo de ratones CBA que fueron irradiados y que se les inyectó células de bazo, timo y/o de médula en el día 0, eritrocitos de oveja (iv en el día 1 e ip en el día 4) y que fueron sacrificados en el día 8.

CÉLULAS INYECTADAS	Nº DE CÉLULAS (x 10 ⁶)	ÁREAS ACTIVAS POR BAZO	MEDIA DE ÁREAS ACTIVAS	ACTIVIDAD ESPECÍFICA MEDIA
Timo	30 – 50	000111112333	1.3	12.3 ± 3.9
Médula	10	00000000001111122	0.5	1.6 ± 0.5
Timo + Médula	50 + 10	1334*****	< 3.0	70.7 ± 3.3
Bazo	5	12334*****	< 3.0	66.1 ± 9.0
Ninguna		00000000111112	0.5	7.4 ± 2.9

ca

* Demasiadas áreas activas para contarse con precisión.

lineal entre 2×10^6 y 2×10^7 células de médula, pero se estabilizó a mayores dosis de médula. Los ratones que recibieron únicamente células de médula (Graf. 3, línea inferior) nun-

fueron significativamente más activos que los controles, a los cuales no se les suministró ninguna célula.

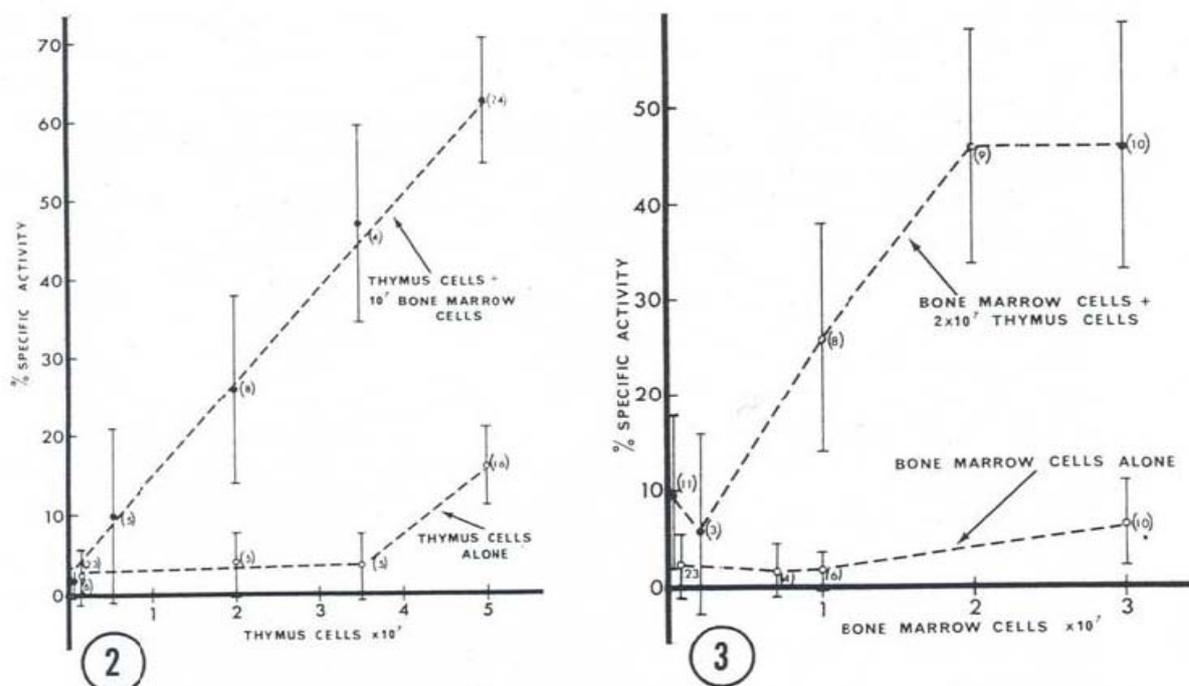


Fig. 2. Gráficas con el porcentaje de la actividad específica hemolítica.

Gráfica 2: Porcentaje de actividad específica hemolítica de receptores de fragmentos de bazo frente al número de células de timo o de timo y 10⁷ células de médula inyectadas.

Gráfica 3: Porcentaje de actividad específica hemolítica de receptores de fragmentos de bazo frente al número de células de médula o de médula y 2x10⁷ células de timo inyectadas.

En ambas gráficas, los números entre paréntesis son el número de ratones usados en cada punto. El intervalo indica dos errores estándar.

DISCUSIÓN

Los resultados confirman el trabajo de Playfair et al. (1965) mostrando la producción de grupos de células productoras de anticuerpos en los bazos de ratones singénicos irradiados a los cuales se les había suministrado células normales de bazo y luego el antígeno. En cuanto al rango testado, el número medio de áreas activas era directamente proporcional al número de células inyectado. 5×10^6 células de bazo produjeron más áreas activas en los experimentos de 8 días que en los experimentos de 5 días. Ya que $2,2 \times 10^6$ células normales de bazo producían un área activa, que presumiblemente contienen una célula precursora, y puesto que el 6,5% de las células de bazo transferidas (marcadas *in vitro*) aparecían en el bazo receptor, entonces hay un precursor por cada 143.000 células normales de bazo. Aunque es posible que más células puedan localizarse finalmente en el bazo después de ser retenidas temporalmente en los pulmones, el valor que presentamos aquí concuerda bastante bien con el 4% presentado por Playfair et al. (1965) en las 24 horas siguientes a la transferencia. Puesto que un bazo normal de ratón posee sobre 10^8 células nucleadas, equivaldría a unas 700 células precursoras. Esto es considerablemente más que los 50 precursores estimados por Maki-nodan y Albright (1962) o que los 100 precursores estimados por Jerne et al. (1963)

El timo no parece contener células semejantes potencialmente inmunocompetentes, puesto que los timocitos de donantes normales o inmunizados no producían actividad hemolítica significativa en los bazos receptores a los 5 días. A los 8 días había una ligera actividad en los ratones receptores de células de timo, pero ninguna en los que recibieron

células de médula. La combinación de células de timo y médula, sin embargo, produjo más áreas activas y una mayor actividad específica de las que pueden dar cuenta la suma de las actividades de las dos poblaciones donantes.

La interpretación más simple es que una población celular contiene células capaces de sintetizar anticuerpos ("células efectoras"), pero solamente en presencia de células de otra población ("células auxiliares"). Estos datos no establecen qué suspensión celular contiene las células efectoras o las auxiliares ni cómo interactúan estas células (Fishman 1959, Auerbach 1965, Globerson 1966).

Otros experimentos de transferencias han mostrado la producción de anticuerpos por las células del timo de donantes inmunizados, pero las células generalmente han sido transferidas muchas semanas después de que comenzara la inmunización del donante (Stoner y Bond 1963). La conocida actividad productora de anticuerpos de la médula de donantes inmunizados (Gengozian et al. 1963), junto con la evidencia de que las células de médula migran a través del timo (Harris y Ford 1964), hacen posible que la inmunocompetencia de timos transferidos de donantes inmunizados es debida a la presencia de células derivadas de la médula dentro del timo. Una cantidad creciente de datos muestra que la inmunocompetencia de las células de médula es debida a la presencia del timo (Globerson y Feldman 1964, Millar et al. 1964). En base a todos estos datos, nosotros creemos que es más probable que la célula efectora en nuestros experimentos derive de la médula, y que el timo suministre las células auxiliares.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBRIGHT, J. F., MAKINODAN, T. 1966. *Growth and senescence of antibody-forming cells*. J. Cell. Comp. Physiol., 60 (suppl. 1): 185.
- AUERBACH, R. 1965. *Experimental analysis of lymphoid differentiation in the mammalian thymus and spleen*, p. 539. In *Organogenesis*, (R. De Haan and H. Ursprung, editors). Holt, Rinehart, and Wistar Press, New York.
- FELDMAN, M., GLOBERSON, A. 1964. *The role of the thymus in restoring immunological reactivity and lymphoid cell differentiation in x-irradiated adult mice*. Acad. Sci., 120: 182-190.
- FISHMAN, M. 1959. *Antibody formation in tissue culture*. Nature, 183:1200-1201.
- GENGOZIAN, N., MAKINODAN, T., SHEKARCHI, L. C. 1961. *Transplantation of antibody-forming cells in lethally irradiated mice*. J. Immunol., 86, 113-122.
- GLOBERSON, A. 1966. *Immunocompetence of spleen cells from neonatally thymectomized mice conferred in vitro by a syngeneic thymus extract*. J. Exp. Med., 130: 765-75.
- GOOD, R. A., GABRIELSEN, A. E., eds. 1964. En: *The Thymus in Immunobiology*, Hoeber-Harper, New York.
- HARRIS, J. E., FORD, E. E. 1964. *Cellular traffic of the thymus: experiments with chromosome markers. Evidence that the thymus plays an instructional part*. Nature, 201: 884-885.
- JERNE, N. K., NORDIN, A. A., HENRY, C. 1963. En: *Cell-bound Antibodies*, 1: 109. Wistar Inst. Press, Philadelphia.
- LANDY, M., SANDERSON, R.P., BERNSTEIN, M. T., LERNER, E. M. 1965. *Involvement of thymus in immune response of rabbits to somatic polysaccharides of gram-negative bacteria*. Science, 147: 1591-1592.
- LEVEY, R. H., TRAININ, N., LAW, L. W. 1963. *Evidence for function of thymic tissue in diffusion chambers implanted in neonatally thymectomized mice. Preliminary report*. J. Natl. Cancer Inst., 31:199-217.
- METCALF, D. M. 1956. *The thymic origin of the plasma lymphocytosis stimulating factor*. Br. J. Cancer., 10:442-457.
- MILLER, J. F. A. P., LEUCHARS, E., CROSS, A. M., DUKOR, P., ANN, N. Y. 1964. *Immunologic role of the thymus in radiation chimeras*. Acad. Sci., 120: 205-17.
- NOSAL, G. J. V. 1964. *Studies on the rate of seeding of lymphocytes from the intact guinea pig thymus*. Ann. NY Acad. Sci., 120:171-181.
- OSOBA, D., MILLER, J. F. A. P. 1964. *The lymphoid tissues and immune responses of neonatally thymectomized mice bearing thymus tissue in millipore diffusion chambers*. J. Exp. Med., 119: 177-194.
- PLAYFAIR, J. H. L., PAPERMASTER, B. W., COLE, L. J. 1965. *Focal antibody production by transferred spleen cells in irradiated mice*. Science, 149: 998-1000.
- STONER, R. D., BOND, V. P. 1963. *Antibody formation by transplanted bone marrow, spleen, lymph nodes and thymus cells in irradiated recipients*. J. Immunol., 91: 185-196.

DETECCIÓN DE GMOS EN ALIMENTOS

E. GONZÁLEZ FERNÁNDEZ; I. BLANCO GARCÍA; L. ANDREY LÓPEZ; B. GARCÍA FRAGA; O. SÁNCHEZ CONDE & T. VILA VILA

estelgonzalez@alumnos.uvigo.es, ireblanco@alumnos.uvigo.es, martini_vigo@hotmail.com, belengarcia@alumnos.uvigo.es, oscsanchez@alumnos.uvigo.es, tvila@alumnos.uvigo.es

Alumnos 4º Biología, Materia: Xenética Molecular (2007-2008)

Universidade de Vigo. Profesora: Paloma Morán Martínez.

Resumen: un organismo modificado genéticamente (GMOs) es aquel cuyo material es manipulado en laboratorios genéticos donde ha sido diseñado o alterado. En la actualidad hay alimentos que son o se componen en parte por GMOs. Mediante técnicas de detección o amplificación de ADN (PCR) y electroforesis podemos comprobar si estos alimentos son transgénicos o no. En este trabajo se realiza una descripción sobre la determinación de GMOs llevada a cabo durante las prácticas de la asignatura de Genética Molecular junto con una discusión de los resultados obtenidos.

Resumo: un organismo modificado xeneticamente (GMOs) é aquel no que o seu material é manipulado en laboratorios xenéticos onde foi deseñado ou alterado. Na actualidade hai alimentos que son ou se compón en parte por GMOs. Mediante técnicas de detección ou amplificación de ADN (PCR) e electroforesis podemos comprobar se estes alimentos son transxénicos ou non. Neste traballo realízase unha descrición sobre a determinación de GMOs levada a cabo durante as prácticas da asignatura de Xenética Molecular xunto cunha discusión sobre os resultados obtidos.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de estas prácticas es detectar la presencia de transgénicos de maíz y soja en determinados alimentos. Para ello, se realiza una extracción de ADN de un alimento. Una vez confirmada la extracción de ADN, se realiza una primera PCR para amplificar el material genético y comprobar que el alimento contiene maíz o soja. Posteriormente realizamos otra PCR para comprobar si se trata de maíz o soja transgénica.

ALIMENTOS EMPLEADOS

Para la práctica de determinación de GMOs (Genetic Modified Organisms) cada grupo escogió al menos cinco productos alimenticios distintos que contenían soja y/o maíz:

1. Galletas de soja
2. Tiras de maíz fritas
3. Lecitina de soja
4. Semillas de soja fritas
5. Leche de soja
6. Soja en legumbre marca DIET (agricultura ecológica)
7. Galletas Fontaneda Digestive ®(con soja)
8. Galletas dietéticas con chocolate y soja, Arluy®
9. Soja estadounidense
10. Doritos ®
11. Cereales Carrefour
12. Harina de maíz marca P.A.N

De todos ellos, la lecitina de soja era la única que venía etiquetada como producto modificado genéticamente.

PROCEDIMIENTO Y RESULTADOS

Paso 1:

Se realizó una extracción de ADN utilizando un protocolo de fenol-cloroformo. Para poder

seguir con el protocolo es necesario que el ADN extraído tenga un tamaño de al menos 200 pb. La comprobación del tamaño se realiza mediante una electroforesis en gel de agarosa y utilizando como referencia un marcador de peso molecular.

Resultados Grupo 1 (alimentos del 1 al 5)

Los productos de los que se extrajo más cantidad de ADN fueron las galletas de soja y la soja frita, posiblemente por ser los menos procesados en su elaboración. En la lecitina de soja la extracción fue muy baja, pero este producto se trata de un derivado de las semillas, concretamente está formado por un complejo de fosfolípidos, por lo que es muy probable que apenas haya trazas de ADN de soja en este producto. La cantidad y estado del ADN se comprobó realizando una electroforesis en gel de agarosa. Se detectó la presencia de ADN de maíz o soja en tres de nuestros alimentos. Aún así, como en todos los productos se encontró, aunque fuera muy poco, cierta cantidad de ADN, se procedió a su electroforesis en gel de agarosa para observar con más sensibilidad si existía o no ADN. En todas las calles cargadas encontramos ADN, siendo muy débil la visualización de las calles correspondientes a las tiras de maíz, lecitina de soja y leche de soja.

Resultados Grupo 2 (alimentos del 6 al 12)

En la fotografía de la electroforesis se observa la presencia o la ausencia de ADN (Fig. 1):

- Presencia de ADN: carriles 2, 3, 5 y 7. En los carriles 2 y 7 los fragmentos de ADN en un tamaño algo inferior a 150 pb. Por otro lado, los carriles 3 y 5 presentan un rastro a lo largo del carril lo que indica que hay fragmentos de distintos tamaños.

Ausencia de ADN: carriles 1, 4 y 6. El no

tienen un tamaño algo inferior a 150 pb. Por otro lado, los carriles 3 y 5 presentan un rastro a lo largo del carril lo que indica que hay fragmentos de distintos tamaños.

- Ausencia de ADN: carriles 1, 4 y 6. El no poder observarlo por este método no quiere decir que no haya, sino que se encuentra en una cantidad inferior a 15 ng.

- En el carril 2 se observa ADN de pequeño tamaño pero no un rastro a lo largo del carril, esto quiere decir que el ADN se encuentra muy degradado.

En los carriles 4 y 6 no observamos presencia alguna de ADN, esto puede ser debido a una mala extracción, a cantidades inferiores a 15 ng o a una degradación del ADN. En el carril 5 observamos una gran "mancha" blanca debido a que hay una gran cantidad de fragmentos de ADN de pequeño tamaño.

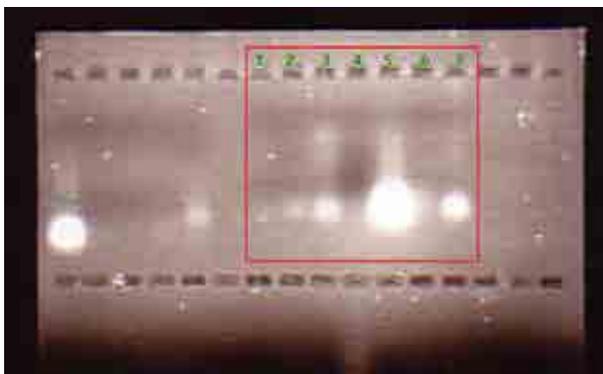


Fig. 1. Resultados de la primera electroforesis. Carril 1: harina de maíz; carril 2: soja en legumbre; carril 3: galleta de soja Fontaneda; carril 4: cereales; carril 5: galleta dietética con chocolate y soja; carril 6: Doritos; carril 7: soja estadounidense.

Paso 2:

Amplificación del ADN extraído mediante PCR utilizando cebadores específicos de maíz y de soja.

Resultados Grupo 1 (alimentos del 1 al 5)

Se comprobó la presencia de ADN de maíz

o soja en tres de nuestros alimentos. Para el ADN de aquellos alimentos que no conseguimos amplificar mediante esta PCR podemos decir que es debido a que estos no poseen ADN de este tipo o que, al emplear cebadores para fragmentos de 200 pb, aquellas muestras que tengan su ADN muy degradado y, por tanto, sus fragmentos muy pequeños no amplificarán.

Para comprobar si ese ADN se corresponde específicamente con soja o maíz, se realizó una PCR en la que se usaron cebadores específicos: cebadores para el gen de la lectina en el caso de la soja y cebadores para el gen de la invertasa en el caso del maíz. Estos cebadores sobrepasan los 200 pares de bases, puesto que, como el ADN de los productos está degradado, el uso de cebadores de mayor tamaño conllevarían a que, con una alta probabilidad, no se unieran al ADN a amplificar.

Los resultados de esta PCR fueron positivos para las galletas de soja y la soja frita. Esto seguramente se deba, como se dijo antes, a la alta degradación de ADN y no necesariamente a que en los restantes productos no haya soja o maíz.

Resultados Grupo 2 (alimentos del 6 al 12)

Se realizó una PCR de 30 ciclos a una temperatura de anillamiento de 50°C para comprobar si el ADN obtenido de la extracción pertenece a maíz o a soja utilizando cebadores específicos para estos alimentos. En el caso del maíz los cebadores utilizados son de la invertasa y para la soja de la lecitina. Después realizamos una electroforesis para observar los resultados de la amplificación (Fig. 2).

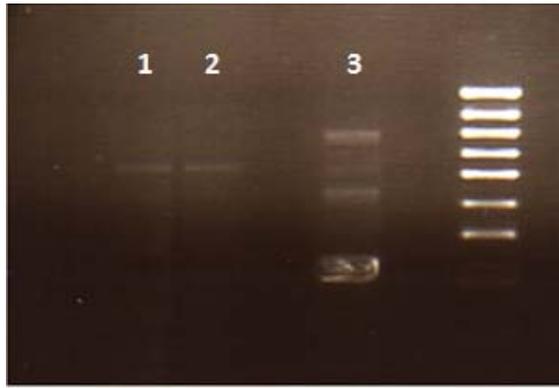


Fig. 2. Resultados de la segunda electroforesis. Carril 1: galletas dietética con chocolate y soja; carril 2: galleta soja Fontaneda; carril 3: Doritos.

Paso 3:

Una vez que se detecta mediante PCR la presencia de maíz o de soja, se realiza una segunda tanda de PCR utilizando cebadores específicos del fragmento transgénico, bien del promotor, del terminador o del gen en si.

Resultados Grupo 1 (alimentos del 1 al 5)

Con los dos productos confirmados se procedió a la averiguación de si contenían soja transgénica. Para ello se realizó una PCR en la que los cebadores son específicos para productos transgénicos en general, puesto que no los hay específicos para soja transgénica. Los cebadores utilizados fueron para el promotor 35s y para el terminador NOS. Tras la amplificación se realizó una nueva electroforesis en gel de agarosa para la visualización de las bandas de ADN, comparándolas con un marcador que se cargó en otra calle.

El resultado para organismos genéticamente modificados fue negativo para ambos productos. Por tanto, el etiquetado de los mismos es correcto.

Resultados Grupo 2 (alimentos del 6 al 12)

Se realizó una nueva PCR para amplificar el ADN de los tres alimentos en los que

detectamos la presencia de maíz o soja. Para ello utilizamos, como cebadores 35S y NOS para la soja y 35S, Cry y NOS para el maíz. El objetivo de este último punto es poder comprobar si son alimentos transgénicos o no.

Aunque parece que ninguna de estas tres

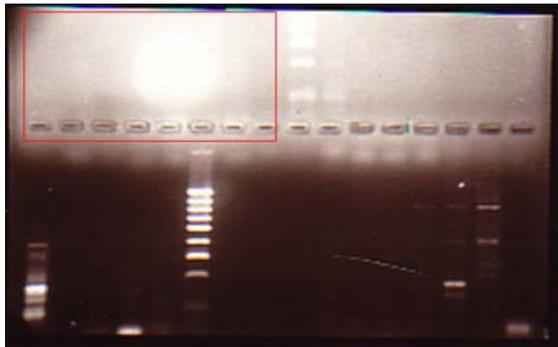


Fig. 3. Resultado de la tercera electroforesis

muestras pertenece a un alimento transgénico realizamos otra PCR de comprobación ya que los resultados no son del todo claros (Fig. 3).

En esta PCR de comprobación modificamos la temperatura de anillamiento de 50°C a 53°C para aumentar la especificidad de la

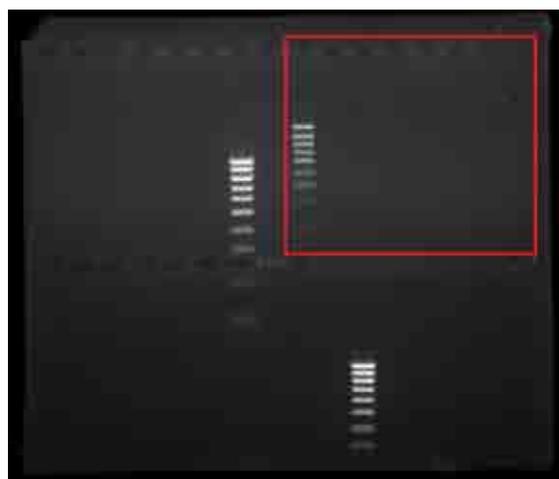


Fig. 4. Comprobación de la tercera electroforesis.

prueba.

Con esta segunda PCR verificamos que entre nuestros alimentos no hay ningún transgénico (Fig. 4).

PROPUESTAS DE MEJORA DEL PROTOCOLO DE DETECCIÓN DE GMOS

1. Realización de un control negativo: para comprobar cómo sería un resultado negativo para transgénicos, hacemos las mismas pruebas con las mismas disoluciones pero sin añadir ADN.
2. Realizar un control positivo: para comprobar cómo sería un resultado positivo para transgénicos, realizamos las mismas pruebas con las mismas disoluciones añadiendo ADN de algún alimento que sepamos, de antemano, que es verdaderamente transgénico.
3. Disminuir la temperatura de anillamiento de la primera PCR para obtener resultados más genéricos y detectar, así, presencia de maíz o soja en algún alimento más.

POSIBLES FALLOS COMETIDOS EN ESTAS PRÁCTICAS

- Error en el pipeteo.
- Mala extracción del ADN.
- Que los alimentos estén en condiciones

inadecuadas para la realización de estas prácticas. Por ejemplo el proceso industrial que sufre el maíz para obtener harina de maíz.

- Dificultades en la extracción de ADN.

En el caso del maíz se han registrado numerosos falsos negativos debido a la dificultad de la extracción del ADN causado por la acción inhibitoria sobre la PCR de sustancias como el almidón y polisacáridos acidificados (Porcar et al., 2007). Por ello, quizás la extracción de ADN en maíz debió haberse realizado con otro procedimiento como el que llevaron a cabo en su estudio Porcar et al. (2007).

En el caso de la leche de soja y la lecitina de soja, también existe bibliografía en la que se pone de manifiesto la dificultad de la extracción de ADN debido a los procesos que sufren durante su elaboración. Así se pone de manifiesto en el estudio realizado por Vrodet et al. (2007) en el que a pesar de realizar tres tipos distintos de procedimientos, todos los resultados en estos productos fueron muy bajos (Fig. 5).

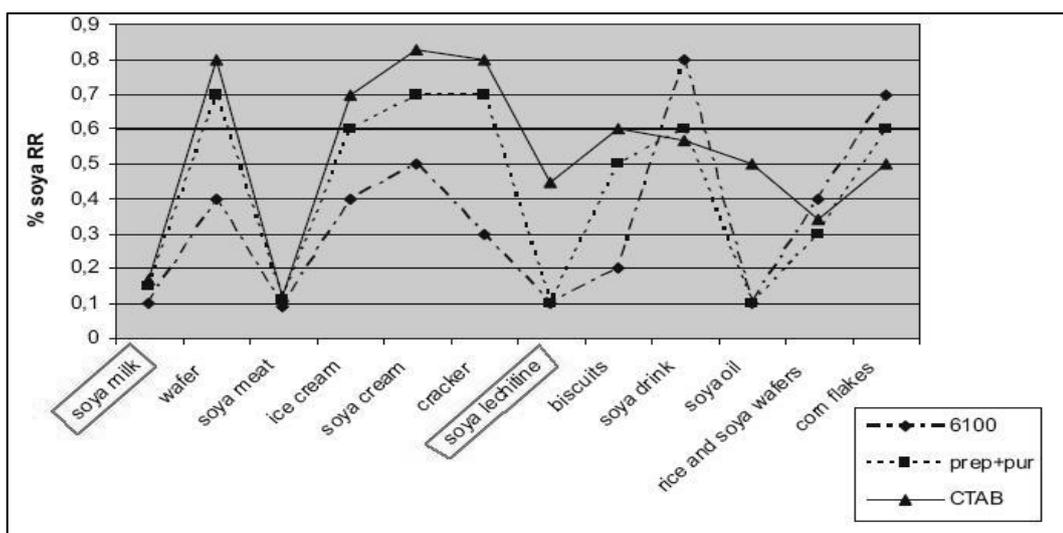


Fig. 5. Gráfica que muestra como los resultados en la extracción de ADN de la leche de soja y la lecitina de soja son bajos con respecto a los resultados obtenidos con otros alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

BARAHONA ECHEVARRÍA, A. 2004. *Ingeniería Genética: origen y desarrollo*. En Muñoz Rubio, Julio (Coord). Alimentos transgénicos: ciencia, ambiente y mercado: un debate abierto. Siglo XXI Editores. 1º ed. México, D. F.

HELLER, K. 2003. *Genetically engineered food: methods and detection*. Wiley-VCH Weinheim.

PEDAUYÉ, J. 2000. *Alimentos transgénicos: la nueva revolución verde*. McGraw-Hill/

Interamericana, España.

PORCAR, M., RAMOS, S. & LATORRE, A. 2007 *A simple extraction method suitable for PCR detection of genetically modified maize*. JSFA. Vol. 37, pp. 2728-2731.

VODRET, B., MILIA, M., ORANI, M.G., SERRATRICE, G. & MANSUCO, M.R. 2007. *Detection of Genetically Modified Organisms* En Food: Comparison Among Three Different Extractions Methods. Vet. Res. Comm. 31: 385-388.

AS ALGAS COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN

V. ASENSIO FANDIÑO & M. C. FERNÁNDEZ LAGO

verossaf@hotmail.com, amen/04@hotmail.com

Alumnos 4º Biología, Materia: Biodiversidad de Plantas no Vasculares (2006-2007)

Universidad de Vigo. Profesora: Marisa Castro Cerceda.

Resumen: La conciencia social acerca de la protección del medio ambiente está en aumento en las últimas décadas, lo que promueve la búsqueda de líneas científicas para combatir la contaminación y evaluarla. Se expone a continuación una de ellas, el uso de algas como bioindicadores de la calidad del agua contaminada por metales pesados y exceso de materia orgánica.

Palabras clave: *algas, contaminación, eutrofización, metales.*

Resumo: A conciencia social acerca da protección do medio ambiente estase a ver incrementada nas últimas décadas, o que promove a procura de liñas científicas para combatala contaminación e evalualas. Exponse a continuación unha delas, o emprego das algas como bioindicadores da calidade da auga contaminada por metais pesados e exceso de materia orgánica.

Palabras clave: *algas, contaminación, eutrofización, metais.*

INTRODUCCIÓN

Pola importancia que ten a contaminación actualmente nos ecosistemas acuáticos, o obxectivo deste traballo é procurar e dar a coñecer aquelas especies de algas nas que as características morfolóxicas e biolóxicas servan para o análise da calidade das augas.

A contaminación segundo a RAE consiste en “alterar nocivamente a pureza ou as condicións normais dunha cousa ou un medio por axentes químicos ou físicos”.

Hai diversos tipos de contaminación, segundo a orixe dos contaminantes: por nutrientes, materia orgánica, axentes patóxenos, sustancias radioactivas, tóxicas, cheirentas, acidificantes, salinizadoras, metais pesados, etc. (Ederra, 1994).

A contaminación pode ser medida por diferentes métodos, bióticos ou abióticos. Algúns seres vivos, a diferenza dos mecanismos abióticos (pH-metros, espectrofotómetro de masas, cromatografías, reactivos químicos, etc.), presentan características (Cadro 1) que os fan aptos para ser considerados bioindicadores, e por elo son o tema central do noso traballo.

METODOLOXÍA

Para obter a información precisa para este traballo recurriuse en primeiro lugar á Biblioteca da Facultade de Ciencias (Universidade de Vigo), co fin de procurar a información básica e os conceptos de botánica e ecoloxía (Izco et al. 1998; Margalef, 1995).

Para procurar información máis concreta usáronse textos sobre contaminación, eutrofización (Barker et al., 1996; Mason, 2001) e algúns específicos sobre contaminación por metais pesados (Clark et al., 1997; Penas, 1992; Ray y Whyte, 1976).

Os buscadores de Internet foron útiles á hora de atopar imaxes, esquemas e definicións.

Tamén se realizaron titorías e consultas coa profesora encargada da materia, que nos facilitou guías para a descripción das algas (Bárbara & Cremades, 1993) e nos recomendou contactar coa prof^a. Aida García Morales (Botánica, Facultade Bioloxía), que nos aconsellou o uso do texto Botánica Ambiental Aplicada (Ederra, 1994).

A partir de toda a información recollida (datos de autores e palabras clave) recurriuse ao servizo de consulta de revistas especializadas.

<p>Dan respostas de interese para o ecosistema de estudo, relativamente fáciles de observar e/ou medir.</p> <p>Teñen límites estreitos de tolerancia respecto a variables ambientais, é dicir, son estenoicos e non eurioicos.</p> <p>Dan respostas diferentes ante estímulos diferentes.</p> <p>Teñen como única fonte de estudo o que proceda do foco de contaminación.</p> <p>Son sedentarios e teñen unha capacidade de dispersión limitada.</p> <p>Son fáciles de mostrear.</p> <p>Están presentes en cantidades suficientes para non alterar, ou incluso destruír a poboación, no caso de que teñan que facerse muestreos sucesivos.</p> <p>Son sensibles á acumulación de contaminantes.</p> <p>Teñen un tempo de vida o suficientemente longo como para que as respostas poidan manifestarse.</p>

Cadro 1. Características importantes nos organismos potencialmente bioindicadores (Ederra, 1994).

Desta búsqueda resultaron aproveitables unha tese de doutoramento e algúns artigos. Finalmente procedeuse a lectura, selección do material máis relevante e síntese de toda a información recopilada, antes de proceder á redacción do traballo.

RESULTADOS E DISCUSIÓN

1. Contaminación por metais pesados

Os metais pesados son compostos naturais do medio ambiente, a diferencia doutros contaminantes (compostos radioactivos, DDT, PCB) e poden presentarse como ións, compostos e complexos. Algúns metais, en pequenas cantidades, son esenciais para a vida: Fe, Cu, Zn, Co; pero nocivos en concentracións maiores. Outros non son beneficiosos e resultan tóxicos en cantidades moi pequenas: Hg, Pb, Cd, etc.

Os metais son considerados elementos "conservativos", non poden ser degradados polos microorganismos, e non se poden eliminar, de forma efectiva, a moi longo prazo. Hai especies bioacumuladoras (acumulan no seu organismo os metais que non son capaces de excretar) e biomagnificadoras (acumulan metais en grandes cantidades).

Os metais pesados poden chegar aos medios acuáticos de varias formas (procedentes da atmósfera, dos ríos ou das industrias), derivadas principalmente da actividade humana, en adición aos fenómenos naturais (Clark et al., 1997).

No litoral galego atopouse, en sedimentos intermareais centrados nas zonas con aglomeracións urbanas e industriais, un enriquecemento moderado por algúns metais: cobalto, chumbo, níquel, zinc, cobre e cromo (Penas, 1992). Os maiores grados de enri-

quecemento son de cobre, cromo e chumbo, aparecendo o dato de "considerable" ou "moi contaminado" no 20-30% dos casos estudados.

Algas bioindicadoras de contaminación por metais pesados

As especies bioindicadoras deben presentar as seguintes características (Ray y Whyte, 1976):

- Ser representativas da localidade, abundantes, fáciles de apañar e de identificar.
- Ter moita tolerancia aos metais pesados e ás altas concentracións deles.

Non é doado facer unha clasificación das algas que poidan ser bioindicadoras dun metal pesado, xa que depende da zona de estudo e do grupo de traballo. En base aos traballos realizados por varios investigadores (Ray y Whyte, 1976; Clark et al., 1997) relacionanse metais pesados con algunhas algas representativas no acúmulo de metais:

Mercurio: A alga vermella *Plumaria elegans*;
Cobre e zinc: Algas pardas como *Fucus vesiculosus* en calas de centos de ppm e *Ectocarpus confervoides* que medra nos cascos de barcos con pintura de cobre. A diatomea *Phaeodactylum sp.* medra máis en presenza de cobre; Chumbo: *Phaeodactylum sp.* incrementa o seu crecemento con concentracións superiores a 0,8 ppm; Prata: pode ser bioacumulada polo fitoplancton e algunhas algas macroscópicas. Algúns destes exemplos obsérvanse na figura 1.

Noutros casos observáronse algunhas especies con certa tolerancia a metais pesados (Ederra, 1994) como se mostra no cadro 2.

2. Contaminación por nutrientes e materia orgánica

A eutrofización pode definirse como o enri-



Fig. 1. De esquerda a dereita *Phaeodactylum tricorutum* (Bohlin) Lewin (ICMAN, 2006), *Plumaria elegans* Schmitz. (Universidade de Hamburgo, 2006) e *Ectocarpus confervoides* Le Jolis (Guiry, 2006)

quecemento de auga por nutrientes inorgánicos, especialmente o nitróxeno e o fósforo, que dan lugar a un incremento na produción primaria (Mason, 2001), aínda que foron múltiples os autores que definiron este termo: Nixon (en Barker y Richardson, 1996); Heip, 1995; Goldberg, 1995; Pelley, 1998; US-EPA, 2001; Cloern (en Aranda, 2004).

En definitiva, a eutrofización (Fig. 2) é o proceso de enriquecemento das augas con nutrientes (ligado a contaminacións orgánicas ou químicas), que poden proceder de fontes ur-

banas, como augas residuais domésticas (o máximo problema son os deterxentes) e desfeitos e drenaxes industriais; ou fontes rurais, como a agricultura con uso de fertilizantes artificiais, manexo do monte, fosas sépticas sen impermeabilizar, etc., que facilitan a entrada dos fertilizantes nos cursos dos ríos e a súa deposición tanto en lagoas ou lagos (augas lénticas), como no mar (augas lóxicas) (Mason, 2001).

Existen varias clasificacións dos ecosistemas mariños e doceacuícolas propostos por diversos autores, como Nixon (en Barker y Richardson, 1996) e Rodhe's (en Barker y Richardson, 1996)

A eutrofización causa unha serie de efectos e problemas sobre as fitocomunidades como o aumento do fitoplancton, cambios na composición do bentos e, en xeral, diminúe a biodiversidade. Diminúe a cantidade de diatomeas, aumenta a de clorófitas e chegan a predominar as cianófitas debido a súa capacidade captadora de nitróxeno (moitas delas tóxicas) (Ederra 1994, Aranda 2004).

Unha destas consecuencias son os afloramentos de algas ("blooms"), eventos de multiplicación e acumulación das microalgas que viven libres nos sistemas acuáticos, o fitoplancton, e que presentan un incremento significativo da biomasa dunha ou dunhas poucas especies, en períodos de horas a días. Estes eventos, asociados á eutrofización e ás mareas vermellas, tamén poden acontecer de maneira natural (Ederra, 1994, de León, 2006).

Eutrofización en ecosistemas mariños

A contaminación en ecosistemas mariños, a través dos aportes nutritivos e de materia orgánica, estimula o crecemento dalgunhas

Algas	Tolerancia a metais pesados
<i>Phormidium</i>	Tolerante a As e sensible a Sb
<i>Oscillatoria, Schizothrix</i>	En augas contaminadas por Zn, sensibles a Cu.
<i>Navicula, Synedra</i>	En augas ricas en metais de curso lento.
<i>Nitzschia palea</i>	Moi tolerante a Cu.
<i>Chlorella, Scenedesmas</i>	Alta resistencia a metais.
<i>Euglena, Chlamydomonas</i>	Resistentes a Cd.
<i>Cladophora glomerata</i>	Usada como monitor de Zn.
<i>Stigeoclonium, Hormidium, Mongeotia, Ulothrix</i>	Resistentes a Zn.
<i>Lemanea</i>	Abunda en ríos enriquecidos en metais.

Cadro 2. Tolerancia de determinadas algas a metais pesados según Ederra (1994)

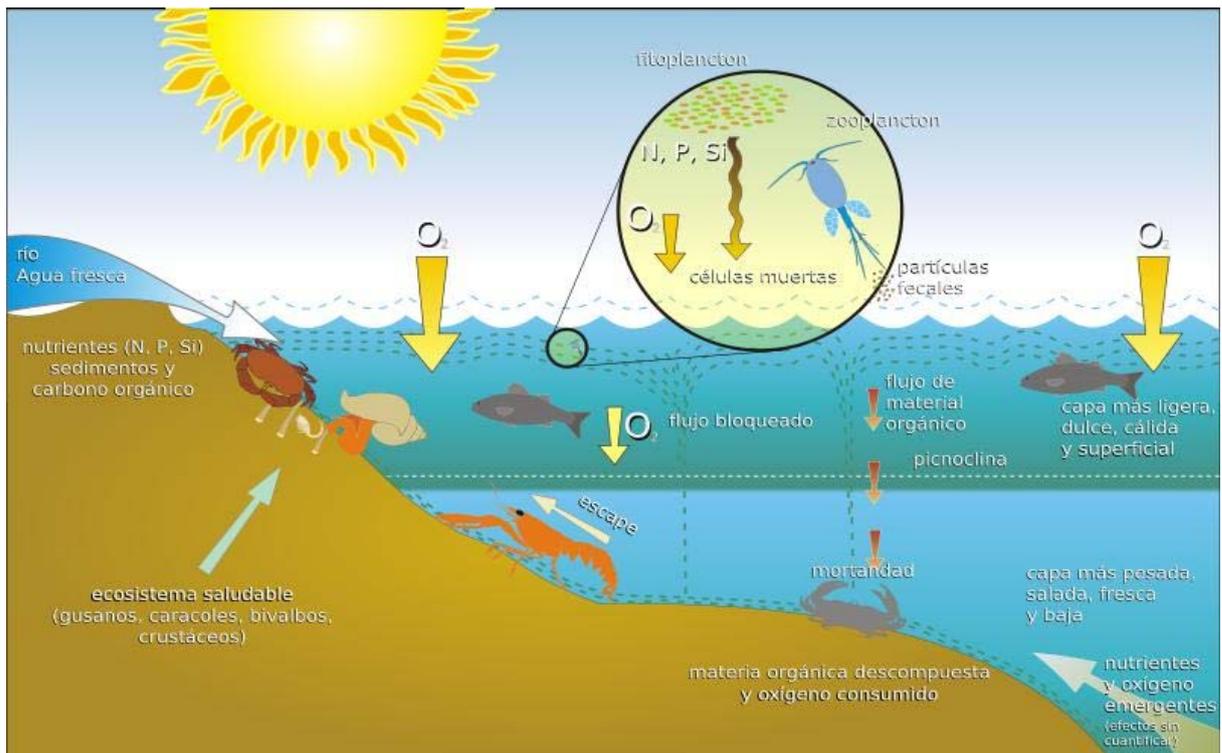


Fig. 2. Proceso de eutrofización (Aranda, 2004).

algas. As primeiras en aparecer son as clorófitas e as cianófitas, despois son substituídas polas feófitas (Ederra, 1994).

Algunhas das cianófitas que se poden atopar en mares eutrofizados son *Lyngbya sp.*, *Oscillatoria sp.* e *Phormidium sp.* (Pinedo et al. 2007). Tamén microalgas como *Enteromorpha crinita*, *Rhizoclonium sp.* e *Ulva rigida*, xa que son resistentes á contaminación, e incluso se ven favorecidas polos aportes de nitróxeno (Bates et al. en Mulgrew y Williams, 2006) e tamén *Enteromorpha intestinalis* (Bárbara et al., 1994) dada a capacidade reproductora e alta taxa de crecemento, polo que poden ser consideradas como bioindicadoras de contaminación mariña (Ederra, 1994).

As algas verdes, presentan en xeral ciclos de vida curtos, unha eficaz reprodución asexual e unha ampla tolerancia ao nitróxeno, polo que a súa bioloxía fainas aptas en ecosistemas contaminados. Outras algas ver-

des que aparecen en mares eutrofizados son *Caulerpa sp.*, *Chaetomorpha sp.*, *Cladophora sp.* e *Codium isthmocladum* (Lapointe et al, 2005).

A maioría das algas verdes acostuman a ser epífitas en zonas contaminadas por aporte de nitróxeno e xofre (Bates et al. en Mulgrew y Williams, 2006). A posible desaparición do hóspede deixará un espazo idóneo para ser colonizado por cianofíceas ou algas verdes (Ederra, 1994; Pinedo et al., 2007). Polo tanto, as algas verdes epífitas (ou parásitas) poden ser consideradas, nestes casos, como bioindicadoras de eutrofización (Brakenhielm en Mulgrew y Williams, 2006).

As algas vermellas son as máis sensibles á contaminación. Son as primeiras en desaparecer e as que se atopan en menor proporción nas zonas contaminadas. Isto débese a que precisan, mais que outras algas, da transparencia na auga para estimular os pigmentos fotosintéticos.

Ademáis, as células sexuais carecen de flaxelos e o ciclo biolóxico é moi complexo, o cal se reflicte nunha maior dificultade á hora de dispersarse e colonizar outros hábitats (Ederra, 1994).

En canto ás algas pardas, non existe un consenso. Algunhas parecen ser sensibles, como *Fucus vesiculosus*, mentras que outras (*Fucus spiralis*) parecen non verse afectadas, ou incluso favorecidas, en zonas contaminadas (López en Ederra, 1994).

Eutrofización en ecosistemas doceacuícolas

A contaminación en augas doces é máis complicada de avaliar mediante algas, pois a gran maioría son microscópicas e é necesario ser especialista para identificalas; ademáis, en ecosistemas doceacuícolas danse de forma natural cambios nas poboacións de microalgas ao longo do ano, debido a factores externos á contaminación (Ederra, 1994).

As diatomeas dominan no inverno e primavera e son substituídas no verán por clorofíceas, e por cianofíceas no outono, pero tanto cianofíceas, diatomeas como euglenas chegan a dominar en augas eutróficas e con materia orgánica (Vidal en Ederra, 1994).

Pódense citar algúns exemplos das algas máis comúns en augas lénticas eutróficas:

- Chlorophyta: *Chlorella vulgaris*, *Cladophora sp.*, *Scenedesmus quadricauda*, *Stigeoclonium tenue* (Mason, 2001), *Closterium sp.*, *Mougeotia sp.* (Fontúrbel et al., 2006), *Cladophora sp.*, *Spirogyra sp.* (Cirujano et al., 2000; García et al., 2003).

- Haptophyta: *Chrysochromulina polylepis*, *Phaeocystis sp.* (Barker y Richardson, 1996) *Prymnesium parvum* (Mason, 2001).

- Cyanophyta: *Chamaesiphon sp.* (Mason, 2001), *Anabaena sp.*, *Merismopedia*

tenuissima, *Microcystis sp.*, *Planktothrix agardhii*, *Pseudanabaena galeata*, *Spirulina abbreviata* (Ortega y Rojo, 2000).

- Pyrrophyta: *Glenodinium sp.*, *Peridinium sp.* (Mason, 2001), *Gymnodinium cf. wawrite*, *Katodinium fungiforme*, *Peridinium umbonatum* (Ortega y Rojo, 2000).

- Bacillariophyta: *Asterionella formosa*, *Fragillaria crotonensis*, *Gomphonema parvulum*, *Melosita granulata*, *Nitzschia palea*, *Stephanodiscus astraea*, *Stephanodiscus niagarae* (Mason, 2001).

- Cryptophyta: *Cryptomonas phaseolus* (Ortega y Rojo, 2000).

CONCLUSIÓNS

1. O uso de algas como indicadores de contaminación é moi interesante fronte a outros tipos de indicadores non biolóxicos, xa que éstas son máis fiables por formar

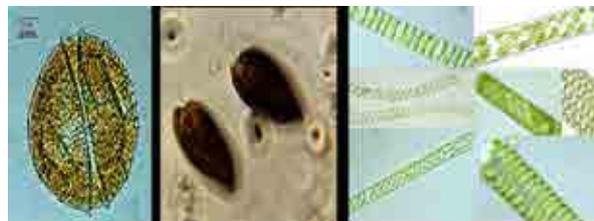


Fig. 3. De esquerda a dereita *Peridinium umbonatum* Stein (AYMA, 2006), *Cryptomonas sp.* (Miljolare, 2007) e *Spirogyra sp.* (Ruseot, 2006)

- parte dun método de medición directo.
2. O uso de algas tamén presenta algunhas vantaxes fronte á maioría dos bioindicadores de orixe animal, xa que estes últimos son máis difíciles de atopar e recoller.
3. Á hora de facer un estudio de contaminación dunha auga, usando algas como bioindicadores, hai que ter moi en conta a ecoloxía da zona. As condicións ambientais e polo tanto as especies de

algas que alí poden aparecer son propias de cada ecosistema e a mesma sustancia contaminante pode estar indicada por varias especies de algas distintas.

4. As algas poden ser bioindicadoras de case todas as sustancias contaminantes coñecidas, polo que se poden usar en case todas as ocasións que precisen medir a presenza ou índice de contaminación.

BIBLIOGRAFÍA

- ARANDA, N. 2004. *Eutrofización y calidad del agua en una zona costera tropical*, Universidad de Barcelona (tese doutoral inédita).
- BÁRBARA, I. & CREMADES, J. 1993. *Guía de las algas del litoral gallego*. Casa de las Ciencias, A Coruña.
- BÁRBARA, I., CREMADES, J. & PÉREZ CIRERA, J.L. 1994. Zonación de la vegetación bentónica marina de la Ría de A Coruña, *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)* 5: 5-23
- BARKER, J. B. & RICHARDSON, K. 1996. *Coastal and estuarine studies. Eutrophication in coastal marine ecosystems*. American Geophysical Union, USA.
- CIRUJANO, S., MEDINA, L., MORENO, M. e& RUBIO, A. 2000. *Aspectos botánicos y limnológicos de la balsa de Zurbano (Vitoria)*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Galetarako Ikastegia, Vitoria-Gasteiz (informe inédito).
- CLARCK, R. B., FRID, C. & ATTRILL, M. 1997. *Marine Pollution*. Clarendon Press Oxford, 4ª ed., Gran Bretaña..
- EDERRA, A. 1994. *Botánica Ambiental Aplicada, las plantas y el equilibrio ecológico de nuestra tierra*, Ediciones Universidad de Navarra S.A.
- FONTÚRBEL, F., MOLINA, C. & RICHARD, E. 2006. *Evaluación rápida de la diversidad de fitoplancton en aguas eutróficas del lago Titikaka (Bolivia) y su uso como indicador del grado de contaminación*, *Ciencia Abierta Internacional* 29: 1-12
- GARCÍA, C., MARTÍNEZ M., MARTÍNEZ, V., SÁNCHEZ, J. M. & ANTIGÜEDAD, I. 2003. *Westland restoration and nitrate reduction: the example of the perturban wetland of Vitoria-Gasteiz (Basque Country, North Spain)*, *Hydrology and Herat System Sciences* 7 (1):109-121.
- IZCO J. et al., 1998, *Botánica*, McGraw-Hill. Interamericana, Madrid.
- LAPOINTE, B. E., BARILE, P. J., LITTLER, M. M., BEDFORD, B. J. & GASQUE, C. 2005. *Macroalgal blooms on sutheast Florida Coral reefs I. Nutrient stoichiometry of the invasive green alga *Codium isthmocladum* in the wider Caribbean indicates nutrient enrichment* *Harmful Algae* 4: 1092-1105.
- MARGALEF, R. 1995. *Ecología*, Omega, Barcelona.
- MASON, C. F. 2001. *Biology of freshwater pollution*. Pearson. Prentice Hall, 4ª ed. China.
- ORTEGA, E. & ROJO, C. 2000. *Fitoplancton del parque nacional Las Tablas de Daimiel II. Las cianofíceas, los dinoflagelados, las criptofíceas y las xantofíceas*. *Anales Jara. Bot. Madrid* 57(2):251-266.
- PENAS, X. M. 1992. *A contaminación mariña do litoral galego*. Ediciós do Castro, A Coruña.
- PINEDO, S., GARCÍA, M., SATTÀ, M. P., TORRES, M. & BALLESTEROS, E. 2007. *Rocky-shore communities as indicators of water quality: A case study in the Northwestern Mediterranean* *Marine Pollution Bulletin* 55: 126-135

RAY, S. & WHITE, W. 1976. *Selected aquatic plants as indicator species for heavy metal pollution*, Journal of Environmental Science and Health, A11(12): 717-725.

AYMA (AGUA Y MEDIO AMBIENTE), <http://personal.telefonica.terra.es/web/ayma/aplicaciones.htm>, [30/12/2006].

DE LEÓN, L., 2006. <http://limno.fcien.edu.uy/pdf/Floracionesdecianobacterias.pdf> [26/12/2006]

GUIRY M., *Seaweed Site*, <http://seaweed.ucg.ie/descriptions/masste.html>, [30/12/2006].

ICMAN (Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía), http://www.icman.csic.es/principa.htm?colec/coleMI_sp.htm, [23/12/2006].

MILJOLARE, <http://www.miljolare.no/aktiviteter/vann/natur/vn19/ferskvannsfytoplankton.php>, [2/1/2007].

MYRDAL, M. 2007. <http://www2.nrm.se/kbo/drypt/cladglom/cladglom2.html.se> [02/01/2007].

MULGREW A. & WILLIAMS P., 2006. *Biomonitoring o fair quality using plants* In www.umweltbundesamt.de/whocc/AHRIO/content2.htm [26/12/2006].

RAE, Real Academia Española, 2006. www.rae.es, [30/12/2006].

RUSEOT (A REVIEW OF THE UNIVERSE STRUCTURES, EVOLUTIONS, OBSERVATIONS AND THEORIES) <http://universe-review.ca>, [30/12/2006].

RUSEOT (Review of the Universe Structures, Evolutions, Observations and Theories) 2006. <http://universe-review.ca> [30/12/2006].

SEF (Sociedad Española de Ficología). 2006. <http://sefalgas.org> [30/12/2006].

THRONSEN J. 2007. *Marine mikroalger i farger*, Universitetet i Oslo, <http://www.uio.no> [2/1/2007].

TOYOTA M. 2006. *Clorofíceas marinhas bentônicas do estado do Espírito Santo*, www.ibot.sp.gov.br/teses/181104diogina.htm [30/12/2006].

UCA 2006. www2.uca.es/grup-invest/microbentos/PAGES/album_fotos.htm [30/12/2006]

UNIVERSIDADE DE HAMBURGO, Departamento de biología, www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/d44/plumaria.htm [23/12/2006].

ESTUDIO DAS COMUNIDADES DE MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS DOS ECOSISTEMAS FLUVIAIS GALEGOS CUNHA ZONA LÉNTICA NO SEU CAUCE.

P. GONZÁLEZ PORTO & M. C. FERNÁNDEZ LAGO

pablogonzalez@alumnos.uvigo.es, amen104@hotmail.com

Alumnos 5º Bioloxía, Materia: Métodos en Zooloxía (2007-2008)

Universidade de Vigo. Profesor: Francisco Rocha Valdés

Resumen: Se analizaron y compararon las comunidades de macroinvertebrados bentónicos de dos ecosistemas fluviales con una zona léntica en su cauce. Los dos ecosistemas fueron muestreados en 2004 y en 2006. No existen diferencias significativas ($P < 0,05$) entre ambos ecosistemas y no parece que las zonas lénticas ejerzan ningún efecto sobre las comunidades de macroinvertebrados. Tampoco se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la composición de las comunidades entre el 2004 y el 2006.

Resumo: Foron analizadas e comparadas as comunidades de macroinvertebrados bentónicos de dous ecosistemas fluviais cunha zona léntica no seu cauce. Os dous ecosistemas foron mostreados no 2004 e no 2006. Non existen diferencias significativas ($P < 0,05$) entre ámbolos ecosistemas, polo que non parece que as zonas lénticas exerzan efecto algún sobre as comunidades de macroinvertebrados. Tampouco se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) nas comunidades entre os anos 2004 e 2006.

INTRODUCCIÓN

Nos ecosistemas fluviais, diversos factores contribúen a determinala estrutura da comunidade biolóxica: os relacionados coas características da cunca, as características físico-químicas do agua e os factores relativos ó hábitat (Hynes, 1970, Statzner e Higler, 1985, García de Vicuña et al. 1987), ademáis das interaccións competitivas entre especies (Cummins, 1973; Resh et al., 1988; Modde y Drewes, 1990).

As perturbacións, xunto coa heteroxenidade espacial, son consideradas como os maiores determinantes da estrutura da comunidade fluvial (Prat y Ward, 1994; Ward, 1998). Isto, unido a que os estudos ecolóxicos dunha comunidade teñen unha serie de vantaxes sobre as análises puramente físico-químicas (Diez Bugallo, 2006) para determinalo estado dun ecosistema, fai que os animais que viven nun arroio sexan os melhores indicadores das súas características e da súa saúde xeral (Centre for Ecology & Hydrology, 2006b). Concretamente, considérase que o grupo de organismos máis eficaz para detectar ditas perturbacións son os macroinvertebrados acuáticos, por presentares unha serie de vantaxes sobre outros grupos (Diez Bugallo, 2006).

Nos últimos anos unha das formas de perturbación que tivo unha maior incidencia nos ecosistemas fluviais foi a contaminación orgánica (Prat y Ward, 1994), o cal provoca importantes efectos no ecosistema fluvial, entre outros, cambios no funcionamento e na estrutura da comunidade biolóxica (Hellawell, 1986).

O Campus Universitario de As Lagoas-Marcosende, pertencente á Universidade de Vigo, está atravesado por dous sistemas

fluviais próximos entre sí. Ámbos presentan unha zona léntica no medio do seu cauce, a cal divide a cada un dos regatos nun tramo alto (ta; antes da zona léntica) e un tramo baixo (tb; despois de dita zona). Esta zona léntica podería actuar como unha pequena presa, causando unha perturbación nos regatos, a semellanza do que acontece coas presas que alteran a estrutura das comunidades de macrobentos (Tiemann et al., 2004). O primeiro sistema fluvial (s1) presenta unha poza artificial colmatada e cuberta de *Typha angustifolia* L. Nas marxes do regato só medran especies herbáceas e algunha árbore dispersa, aínda nova, sen que se chegue a formar un bosque de ribeira. O segundo sistema (s2) presenta unha lagoa moito maior que a anterior, na que se atopan zonas cunha alta densidade de *T. angustifolia* e zonas ausentes de vexetación. A súa vexetación de ribeira é máior que no s1.

Asimesmo, ó posible efecto da zona léntica, pódese sumar outro elemento de perturbación causado polas obras próximas ó área de estudio durante o 2004, perturbación que afectaría ás comunidades biolóxicas ese ano, polo cal se podería ver a evolución da estrutura das comunidades nun período de dous anos (2004 a 2006), e comprobala existencia ou non de cambios temporais en ámbolos ecosistemas.

Neste traballo, avaliarase o grao de similitude dos dous regatos mediante a comparación das súas comunidades de macroinvertebrados. Ademáis, analizarase a variación da estrutura da comunidade de macroinvertebrados dentro de cada un dos sistemas fluviais antes e despois da zona léntica, para ver se efectivamente as zonas

lénticas causan efecto algún. Finalmente, os macroinvertebrados acuáticos utilizaranse como bioindicadores para avaliar a calidade das augas destes regatos.

MATERIAL Y MÉTODOS

As mostraxes realizáronse en dous regatos do Campus Universitario de Vigo, (Pontevedra, España) na primavera do 2004 e no outono do 2006. En cada un dos sistemas (s1 y s2) mostreouse tanto o tramo alto (ta) como o baixo (tb), obténdose así 4 grupos de mostrax: s1 ta, s1 tb, s2 ta, e s2 tb. O número de mostreos e a súa distribución ó longo do tempo especificábase na táboa 1. Durante o 2006, no sistema 2 non se puido mostrear no tramo alto porque non levaba auga. Respecto ó tramo baixo (s2tb), só se puido mostrear unha vez no 2006 (27/10/2006), obténdose 12 mostrax, xa que durante o segundo mostreo tamén se atopaba seco.

Os mostreos realizáronse cunha rede Surber (boca de 0,109 m² e apertura de malla de 500µm). As mostrax recolléronse en puntos aleatorios ó longo do cauce de cada tramo. Rexistrouse o número de macroinvertebrados recollidos en cada mostra e identificáronse a nivel de orde empregando unha lupa

binocular, claves e guías de identificación taxonómica (Chinery, 2001, Sansoni, 2001, Tachet et al., 2003, Barrientos, 2004).

Para os análises empregáronse datos de presenza / ausencia (1 / 0) e calculouse a abundancia de cada taxón mediante a súa frecuencia de aparición. As mostrax foron agrupadas por anos e calculouse a media das abundancias por tramo e ano xunto coa súa desviación típica.

Para determinar a representatividade dos mostreos realizados, estimouse o tamaño mínimo de mostra, que se estableceu no maior valor (20 mostreos) no tramo alto do sistema 1 no 2006.

Como parámetros descritores da comunidade empregouse a riqueza de especies, a distribución das abundancias dos taxóns mailo Índice de diversidade ecolóxica de Shannon-Weaver (H'). Estes parámetros comparáronse entre sistemas para avaliar o seu grao de similitude; entre tramos para analizar a estrutura da comunidade dentro de cada sistema; e entre anos para examinar a evolución dos sistemas ó longo do tempo. O Coeficiente de similitude de Jac-card (J') e o Índice de Renkonen (I) empregáronse para comparar os sistemas estudados. A proba estadística aplicada foi a proba "T" de

Ano	2004				2006		
Data	16/3	31/3	20/4	total	27/10	10/11	total
S1ta	2	2	2	6	12	9	21
S1tb	2	2	2	6	12	9	21
S2ta	2	2	2	6	0	0	0
S2tb	2	2	2	6	12	0	12

Táboa 1. Distribución dos mostreos nos distintos tramos dos dous sistemas fluviais ó longo do tempo. S1: sistema 1; S2: sistema 2; ta: tramo alto; tb: tramo baixo.

Student bimodal cun 95% de confianza (Zar, 1999). A significación estadística estableceuse en $p < 0,05$.

RESULTADOS

Recolectáronse un total de 17 taxóns diferentes (Anfípodos, Arácnidos, Coleópteros, Copépodos, Dípteros, Efémeras, Gasterópodos, Hemípteros, Himenópteros, Miriápodos, Odonatos, Oligoquetos, Ostrácodos, Planarias, Plecópteros, Samesugas e Tricópteros). No sistema 1 identificáronse 15 taxóns diferentes (Anfípodos, Arácnidos, Coleópteros, Dípteros, Efémeras, Gasterópodos, Hemípteros, Himenópteros, Miriápodos, Odonatos, Oligoquetos, Planarias, Plecópteros, Samesugas e Tricópteros) e no sistema 2 identificáronse 10 (Coleópteros, Copépodos, Dípteros, Efémeras, Gasterópodos, Odonatos, Oligoquetos, Ostrácodos, Plecópteros e Samesugas).

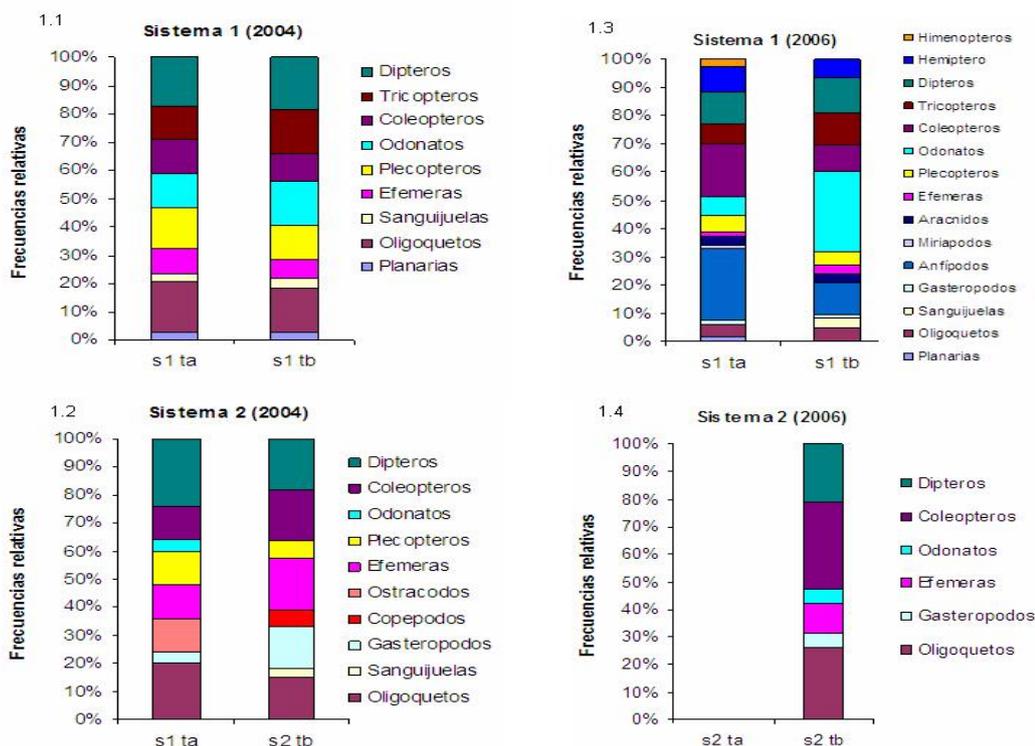
Os Anfípodos, Arácnidos, Hemípteros, Himenópteros, Miriápodos, Planarias e Tricópteros só apareceron no sistema 1 mentras cos Copépodos e Ostrácodos só se atoparon no sistema 2.

Por outro lado, do 2004 ó 2006 apareceron os seguintes taxóns: Anfípodos, Arácnidos, Himenópteros e Hemípteros, mentras cos taxóns Copépodos e Ostrácodos desapareceron.

O Índice de diversidade de Shannon-Weaver (S-W), é lixeiramente maior no sistema 1 que no sistema 2 no 2004, inda que estas diferencias redúcense ó relativizalos valores do índice con respecto á diversidade ecolóxica máxima (Táboa 2). Debido á composición do índice, estes resultados indican cos valores máis altos do sistema 1 se deben principalmente a que a riqueza de especies é lixeiramente maior que no sistema 2, posto que a equitatividade entre os distintos taxóns é semellante en ámbolos sistemas (Fig. 1.1 y 1.2 da Gráf. 1).

	Riqueza de especies	Índice de Shannon-Weaver (H')	Diversidade ecolóxica máxima (B)	H'/B*100 (%)
2004				
s1ta	9,00	2,07	2,20	94,26
S1tb	9,00	2,06	2,20	93,58
s2ta	8,00	1,94	2,08	93,31
s2tb	8,00	1,95	2,08	93,70
2006				
s1ta	14,00	2,24	2,64	84,95
s1tb	12,00	2,19	2,48	88,21
s2ta				
s2tb	6,00	1,59	1,79	88,74

Táboa 2. Parámetros descritores da comunidade de macroinvertebrados dos regatos de estudio (s2ta: ausencia de datos); s1: sistema fluvial 1; s2: sistema fluvial 2; ta: tramo alto; tb: tramo baixo.



Gráfica 1. Representación da estrutura da comunidade de macroinvertebrados considerando as súas frecuencias relativas no: sistema 1 no 2004 (1.1), sistema 2 no 2004 (1.2), sistema 1 no 2006 (1.3) e sistema 2 no 2006 (1.4). ta: tramo alto; tb: tramo baixo.

O Índice de diversidade de S-W tamén é maior no sistema 1 que no sistema 2 durante o 2006, inda que neste ano as diferencias son maiores que no 2004. Si se observan os valores do índice relativizados ca diversidade ecolóxica máxima, apréciase que os valores son maiores no sistema 2 que no 1 (Táboa 1). Isto indica que a maior diversidade atopada no sistema 1 se debe á maior riqueza de especies de dito sistema e non ás abundancias dos taxóns, as cales son máis homoxéneas no sistema 2 que no 1 (Fig. 1.3 y 1.4 da Gráf. 1).

Entre os anos 2004 e 2006 o Índice de diversidade de S-W e a riqueza de especies aumentaron no sistema 1 e diminuíron no sistema 2, mentres ca diversidade relativa diminuíu en ámbolos sistemas (Táboa 1). O aumento do índice e da riqueza de especies,

sistema 1 débese á aparición de novos taxóns no 2006 (Himenópteros, Hemípteros, Aracnidos, Miriápodos, Anfípodos e Gasterópodos) que non se atopaban no sistema 2 nin durante o 2004. Como a maioría destes taxóns son de baixa abundancia, provocan que o índice relativo sexa menor que no 2004 (Fig. 1.1 y 1.3 da Gráf. 1). O descenso do índice de S-W e da riqueza de especies no sistema 2 débese ó descenso no número de taxóns (desaparecen os Plecópteros, Ostrácodos, Copépodos e Samesugas) e ó descenso da súa equitatividade, polo que tamén provoca unha diminución no índice relativo (Fig. 1.2 y 1.4 da Gráf. 1).

Mediante o índice de Jaccard obsérvase que, no 2004, os tramos do sistema 1 son máis semellantes entre si cos tramos do sistema 2. Lamentablemente, esta comparación non se pode facer para o 2006, xa que non existen datos para comparalos tramos do sistema 2. Con este índice tamén se pode ver que existen maiores similitudes dentro dos sistemas que entre eles (Táboa 3).

En canto á evolución dos sistemas 1 e 2 entre o 2004 e o 2006, é semellante, tanto nos tramos altos como nos baixos, e o valor do índice está próximo a 0,5, o cal é semellante ó que se obtén ó comparalos dous sistemas (Táboa 2). Isto indica que existe un grupo de taxóns compartido entre ámbolos sistemas (Coleópteros, Dípteros, Efémeras e Oligoquetos), o cal se mantén ó longo de tódolo período de estudio (Fig. 1).

O Índice de similitude de Renkonen non deu resultados significativos nin tendencia apreciable entre os grupos estudados debido á gran variabilidade observada nos resultados (Táboa 3).

A proba "T" de Student para comparalos diferentes tramos só deu un valor con diferencias significativas (2,094; $p < 0,05$) correspondente á comparación entre o 2004 e o 2006 dos taxóns do tramo baixo do sistema 2. As demais comparacións entre tramos e anos non deron diferencias significativas ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

A comparación dos dous sistemas fluviais, empregando os valores do índice de diversidade y da riqueza de especies, indican que as comunidades de macroinvertebrados que habitan nos dous sistemas foron moi seme-llantes no 2004.

	Índice de Jaccard (J')	Índice de Renkonen (I)	Proba T ($P(-2,037 \leq t \leq 2,037) = 0,95$)
2004			
s1ta-s1tb	1,000	0,908	0,157
s2ta-s2tb	0,600	0,674	0,599
s1ta-s2ta	0,550	0,719	0,717
s1tb-s2tb	0,550	0,580	0,069
2006			
s1ta-s1tb	0,730	0,675	-0,264
s2ta-s2tb			
s1ta-s2ta			
s1tb-s2tb	0,500	0,370	1,271
2004-2006			
s1ta-s1ta	0,533	0,503	1,280
s1tb-s1tb	0,615	0,646	-1,295
s2ta-s2ta			
s2tb-s2tb	0,556	0,673	2,094*

Táboa 3. Valores dos Índices de similitude de Jaccard e de Renkonen e da proba T de Student ($p < 0,05$) para as comparacións entre tramos de cada sistema (ta-tb), entre sistemas (s1-s2) e entre anos (2004-2006). s1: sistema fluvial 1; s2: sistema fluvial 2; ta: tramo alto; tb: tramo baixo. * Diferencia significativa ($p < 0,05$)

Isto revela que ámbolos regatos foron tamén semellantes en tódalas ou na maioría daquelas características que inflúen sobre a estrutura das comunidades biolóxicas: nas características físico-químicas do agua, nos factores relativos ó hábitat, etc. (Hynes, 1970, Statzner et Higler, 1985, García et al., 1987). Esta similitude é coincidente co resultado da prueba T de Student, que non atopou diferencias significativas entre ambos sistemas.

Esta situación parece cambiar no 2006 onde os índices empregados indican diferencias entre ámbolos sistemas. Isto pode ser causado por unha diferente evolución de ámbolos sistemas dende o 2004 ata o 2006. Sen embargo, novamente a prueba T de Student non atopou diferencias significativas entre ámbolos sistemas, polo que se pode considerar que, inda que os dous regatos presentan diferencias na súa diversidade, estas non son o suficientemente significativas como para que se reflexen nunha comparación entre ámbolos sistemas, polo que se consideran semellantes.

A aparición de novos taxóns no sistema 1 durante o 2006, inda que sexa en baixa abundancia, pode indicar o inicio da recuperación do sistema despois de sufrires unha perturbación. Esta podría sela secuencia das obras realizadas no Campus anteriores ó 2004. Neste caso a proba estadística non atopou diferencias significativas entre ámbolos anos, inda que os resultados están máis próximos ó límite do intervalo de confianza co resto de valores non significativos (1,28 y -1,29 ó comparar entre anos os tramos altos e baixos do sistema 1 respectivamente, con $p < 0,05$ e un valor crítico de $\pm 2,037$).

Por outro lado, o descenso observado no número de taxóns do sistema 2 (tramo baixo) no 2006 podría deberse a outra perturbación, acontecida entre o 2004 e o 2006, como por exemplo a drenaxe da lagoa realizada no 2005. Isto corrobórase ca proba T, que atopou aquí diferencias significativas, o que indica que a evolución experimentada no tempo polo sistema 2 foi máis intensa ca do sistema 1.

O Índice de Jaccard sinala a existencia dun grupo de taxóns (Coleópteros, Dípteros, Efémeras e Oligoquetos) compartidos por ámbolos sistemas, os cales, ademais se manteñen ó longo do tempo. Probablemente sexa a permanencia destes taxóns a que inflúa no feito de que non atopemos diferencias significativas entre os sistemas. A constancia destes taxóns pode deberse a que sexan grupos tolerantes a amplos rangos de variación ambiental, o cal se pode constatar no tramo baixo do sistema 2 no 2006 (tramo perturbado) onde son practicamente os únicos grupos presentes.

A falta de resultados significativos no Índice de Renkonen pode ser causa de que este considera unha variable máis na comparación dos grupos. Deste xeito, este índice, ademais de ter en conta os grupos taxonómicos presentes, inclúe a súa frecuencia relativa. Isto fae que os seus valores varíen moito e non mostren tendencia algunha ó comparar os sistemas entre si, nin tampoco os tramos altos e baixos de cada sistema.

A similitude dos resultados do índice S-W e da riqueza de especies entre os tramos de cada sistema, indican que os tramos lénticos (lagoas ou encoros) que separan os tramos mostreados en cada sistema non teñen un efecto

significativo sobre a estrutura da comunidade; inda que o Índice de Jaccard mostra que a diferenca entre os tramos do sistema 2 (ano 2004) son maiores que no sistema 1. Isto último pode deberse ó maior tamaño da lagoa do sistema 2, inda que novamente a proba estadística non indica diferencias significativas ó comparar ámbolos tramos de cada sistema.

Estes resultados non concordan cos obtidos noutros estudos sobre o efecto das presas nas comunidades de macroinvertebrados (Tiemann et al., 2004). En consecuencia, estas zonas lénticas non deberían considerarse como elementos perturbadores no cauce dos dous sistemas estudados. Sen embargo, existen factores dependentes da metodoloxía de mostreo que poden alteralos resultados presentados e a súa comparación cos estudos previos. En primeiro lugar, inda que a toma de mostras en cada tramo se realizou ó azar, non se tivo en conta que, por efecto da corrente, os mostreos río arriba interfieren nos mostreos río abaixo. Polo tanto, estudos posteriores deberían considerar este factor e realizalos mostreos dende as zonas baixas ás altas. Por outra parte, non en tódolos tramos se puido obter o tamaño mínimo de mostra estimado a partires dos datos deste estudio, o cal afecta negativamente os resultados. Esta podría sela razón pola que a prueba estadística non indique diferencias significativas.

En canto ós valores de abundancia, estes foron calculados a partires de datos presencia-ausencia, o que reduce a variación existente entre as abundancias dos diferentes taxóns (Broker, 1990).

Para empregarlas especies estudadas como bioindicadores do nivel da calidade das

augas, o mejor sería empregar un índice biótico, como el índice B.M.W.P. (Biological Monitoring Working Party) (Diez Bugallo, 2006). Pero, para o seu cálculo teríanse que coñecer as familias presentes en cada tramo, e neste estudio só se determinou ata o nivel taxonómico de orde. Inda así, pódese realizar unha primeira aproximación da calidade das augas destes dous sistemas en base ós datos dos que se dispón. Os sistemas non alterados posúen unha riqueza faunística elevada e unha representación equilibrada dos diferentes grupos taxonómicos, entre os que se poden atopar Plecópteros, Tricópteros e Efémeras (Diez Bugallo, 2006). Cando os sistemas son alterados, prodúcese un descenso na riqueza dos taxóns e no equilibrio da abundancia dos distintos grupos faunísticos, facendo que uns poucos grupos, que toleran a contaminación orgánica, sexan moi abundantes, como Oligoquetos e Dípteros, mentres que outros grupos diminúen a súa abundancia, como Plecópteros e Tricópteros, xa que son grupos moi esixentes ca calidade físico-química do auga (Centre for Ecology & Hydrology, 2006a; Armitage et al., 1983).

Así, e segundo os resultados obtidos, pódese concluír que a calidade do auga no 2004 é semellante en ámbolos regatos, quizais algo superior no sistema 1 pola presenza dos Tricópteros que non aparecen no sistema 2. No 2006 apréciase unha mejora na calidade das augas do sistema 1 ó aumentala diversidade de taxóns ca presenza de Anfípodos, Hemípteros, etc.

Isto é un indicador de que as augas no 2004 contiñan algún tipo de contaminación que actualmente estase a reducir. En canto ó sistema 2, no 2006 diminúe a cantidade de

taxóns, sendo os Dípteros mailos Oligoquetos moi abundantes, polo que se reduce a calidade das augas. Esta diminución da calidade no sistema 2 no 2006 pode deberse, máis que á presenza dalgún contaminante no sistema, á notoria diminución do caudal observada ese ano, redución que, precisamente, impediu levar a cabo parte dos mostreos nese sistema.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMITAGE, P.D., MOSS, D., WRIGHT, J. F. & FURSE, M. T. 1983. *The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running water sites*. Water Res.17: 333-347.
- BARRIENTOS, J.A. 2004. *Curso práctico de entomología*. Asociación Española de Entomología: 947. Servicio de Publicaciones, Universidad Autónoma de Barcelona. Alicante, Bellaterra.
- BROKER, J.E., ZAR, J.H. & VAN ENDE, C.N. 1990. *Field and Laboratory Methods for General Ecology*: 120-126. Ed. WCB, USA.
- CUMMINS, K. W. 1973. *Trophic relations of aquatic insects*. Ann. Rev. Entol. 18: 183-206.
- CHINERY, M. 2001. *Guía de los insectos de Europa*: 320. Ediciones Omega, Barcelona.
- GARCIA DE VICUÑA, B. BASAGUREN, A., CACHO, M. & ORIVE, E. 1987. *Características físicoquímicas de las aguas superficiales de los principales ríos de Vizcaya en*: Actas del IV Congreso Español de Limnología: 165-178. Asociación Española de Limnología.
- HELLAWELL, J. M. 1986. *Biological indicators of freshwater pollution and environment management*: 546. Elsevier Applied Science Publishers, London.
- HYNES, B. N. 1970. *The biology of polluted waters*: 202. Liverpool University Press.
- MODDE, T. & DREWES, H. G. 1990. *Comparison of biotic values for invertebrate collections from natural and artificial substrates*. Freshwater Biology 23(2): 171-180.
- PRAT, N. & WARD, J. V. 1994. *The tamed river*. En *Limnology now: A paradigm of planetary problems*: 219-236. Elsevier Science.
- RESH, V. H., BROWN, A. V., COVICH, A. P., GURTZ, M. E., LI, H. W., MINSHALL, G. W., REICE, S. R., SHELDON, A. L., WALLACE, J. B. & WISSAM, R. C. 1988. *The role of disturbance in stream ecology*. J. N. Am. Benthol. Soc. 7 (4): 433-455.
- SANSONI, G. 2001. *Atlante per il Riconoscimento dei macroinvertebrati dei corsi d'acqua italiani: 190*. Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente, Provincia Autonoma di Trento. Ed. APR & B Editrice, Italia.
- STATZNER, B. & HIGLER, B. 1985. *Questions and comments on the river continuum concept*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 1038-1044.
- TACHET, H., P. RICHOUX, M. BOURNAUD & P. USSEGLIO-POLATRA. 2003. *Invertébrés d'eau douce: Systématique, biologie, écologie*: 587. CNRS Editions, Francia.
- TIEMANN, J. S., GILLETTE, D. P., WILDHABER, M. L. & EDDS, D. R. 2004. *Transactions of the American Fisheries Society*, 133(3): 705-717.
- WARD, J. V. 1998. *Riverine landscapes: biodiversity patterns, disturbance regimes and aquatic conservation*. Biol. Conservation 83 (3): 269-278.
- ZAR J.R. 1999. *Biostatistical analysis*: 122-129. Prentice-Hall: New Jersey.

CENTRE FOR ECOLOGY & HYDROLOGY.
Natural Environment Research Council.
2006a. *En:* **http://schools.ceh.ac.uk**,
[03/12/06].

CENTRE FOR ECOLOGY & HYDROLOGY.
Natural Environment Research Council.

2006b. *En:* <http://schools.ceh.ac.uk/advanced/freshpoll/freshpoll2.htm>, [03/12/06].

DIEZ BUGALLO, J. 2006. Biological Monitoring Working Party (BMWP). *En:* www.geocities.com/juana_diez/BMWP.html [03/12/06].

MICROPROPAGACIÓN VEGETAL

L. MARTÍNEZ NÚÑEZ & J. GAGO MARIÑO

lmartinez@uvigo.es, jmarino@uvigo.es

Alumnos de tercer ciclo, laboratorio de Biotecnología Vexetal (2007-2008).

Universidade de Vigo. Profesor: Pedro Pablo Gallego Veigas.

Resumen: La micropropagación es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro*, en la cual, a partir de un fragmento (explanto) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. En este trabajo se describe de forma general el proceso de micropropagación, sus diferentes etapas, sus dificultades, sus ventajas y las perspectivas de futuro.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, biotecnología vegetal, propagación, mejora genética.

Resumo: A micropropagación é unha das aplicacións máis xeralizadas do cultivo *in vitro*, na cal, a partir dun fragmento (explanto) dunha planta nai, obtéñese unha descendencia uniforme, con plantas xenéticamente idénticas, denominadas clons. Neste traballo descríbese de forma xeral o proceso de micropropagación, as súas diferentes etapas, as súas dificultades, as súas vantaxes e as perspectivas do futuro.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, biotecnología vexetal, propagación, mellora xenética

INTRODUCCIÓN

Las plantas superiores pueden propagarse o reproducirse de forma sexual y/o asexual, dependiendo de su estado evolutivo. Si se emplea la propagación sexual las nuevas plantas surgen de la fusión de gametos parentales, dando lugar a embriones (semillas) que representan una nueva combinación de genes y por ello diferentes genéticamente de sus progenitores. Por el contrario, la reproducción asexual implica la formación de las nuevas plantas a partir de células somáticas, y por tanto con idéntica composición genética, denominándose clones (Hartman y Kester, 1980), (Fig. 1).

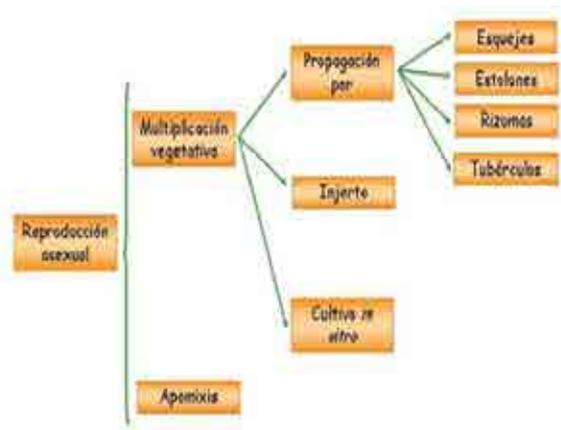


Fig. 1. Esquema que muestra las diferentes formas de la reproducción asexual.

El término clon fue aplicado por primera vez en 1903 por H. J. Webber para definir a las plantas que se propagaban vegetativamente. El código oficial de nomenclatura de las plantas cultivadas define clon como “el conjunto genéticamente uniforme de individuos (que pueden ser de naturaleza quimérica) originalmente derivados de un solo individuo mediante propagación asexual”.

La agricultura actual se basa en el cultivo de un número muy limitado de especies, que

presentan una variación genética reducida en comparación con las especies silvestres de las que proceden. Esto provoca que sean más vulnerables a las enfermedades y limita su potencial de mejora. La biotecnología, y más concretamente la micropropagación, puede ayudar a conseguir una mayor productividad, ya que permite la obtención de plantas resistentes a patógenos, como hongos, virus y artrópodos, que atacan a las cosechas.

CULTIVO IN VITRO

El concepto original de cultivo de tejidos vegetales se ha extendido para abarcar tanto el cultivo aséptico de tejidos como el de células y órganos, dentro de un grupo de técnicas que se fundamentan en varios principios. Entre estos principios, los más importantes son la totipotencialidad celular, propuesta por Haberlandt (1902), “todas las células vegetales tienen la capacidad de regenerar plantas completas”; y la hipótesis del balance hormonal sugerida por Skoog et al. (1975), (Fig. 2).

Las técnicas de cultivo *in vitro* han contribui-

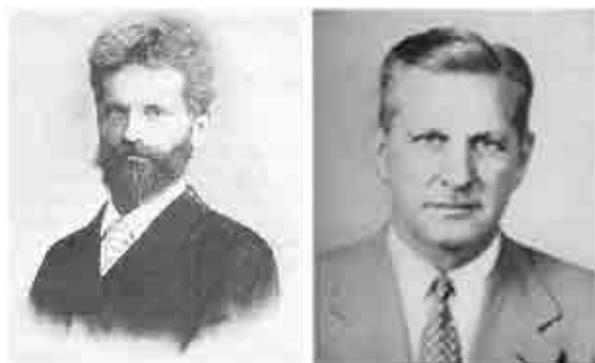


Fig. 2. G. Haberlandt y F. Skoog

do a un mejor entendimiento de los eventos de la diferenciación celular y a un mejor aprovechamiento de tales eventos en la explotación más eficiente de las plantas (Debergh y Zimmerman, 1991). Así surgen diferentes

usos de las técnicas de cultivo *in vitro*:

- Micropropagación
- Obtención de plantas libres de virus y patógenos
- Conservación de germoplasma
- Mejora genética

El término micropropagación se definió por primera vez en 1986 como “cualquier proceso aséptico que comprenda la manipulación en las plantas de sus órganos, de sus tejidos o de sus células y que produzcan poblaciones de plántulas y que permitan el desvío tanto del proceso sexual normal como de la propagación vegetativa no aséptica que se practica convencionalmente”. De una forma más genérica se puede definir como la “propagación de genotipos seleccionados usando técnicas de cultivo *in vitro*”.

Las técnicas de cultivo *in vitro* que teóricamente se pueden emplear en la micropropagación se dividen en:

- Micropropagación axilar: a partir de yemas axilares se forman directamente vástagos.
- Micropropagación adventicia: mediante la formación de vástagos adventicios y/o de embriones somáticos. Este tipo de micropropagación se puede dividir en:

Directa: multiplicación a partir de piezas de tejidos u órganos (explantos) obtenidos directamente de la planta madre, es decir, en ausencia de proliferación de callo (masa celular sin diferenciación aparente).

Indirecta: en la que la formación de callo es un paso previo al desarrollo de estructuras organizadas: vástagos y/o embriones.

ETAPAS DE LA MICROPROPAGACIÓN.

En la actualidad se sugieren cinco etapas que se numeran desde la etapa 0 hasta la IV, en cada una de ellas los objetivos están per-

fectamente definidos.

Etapa 0. Selección del material vegetal.

En esta fase se incluyen los tratamientos, preparación y selección de las plantas madre a partir de las cuales se inicia la micropropagación, siendo imprescindible comprobar la identidad (especie, variedad o cultivar) y su estado de salubridad (libre de patógenos, deficiencias o estrés).

Etapa I. Iniciación del cultivo.

Una vez seleccionadas las plantas (aquellas que posean unas características fenotípicas deseadas) se requiere desinfectar superficialmente el material escogido para evitar que en el medio de cultivo crezcan microorganismos, principalmente bacterias y hongos, que competirán ventajosamente con el explanto (Fig. 3).

La selección y concentración de los desinfectantes y el tiempo de desinfección se determinan inicialmente por las características del explanto; en la práctica tienen que ser establecidas de forma exacta mediante el método de ensayo y error.

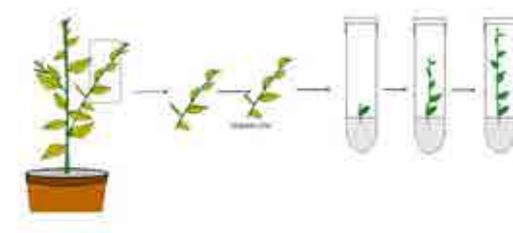


Fig. 3. Etapa I de la micropropagación.

Etapa II. Multiplicación.

El objetivo de esta fase es inducir la multiplicación de los explantos mediante la formación de nuevas estructuras a través de la vía elegida (axilar o adventicia, embriogenética, etc.). En esta fase se producen nuevos brotes o propágulos que cuando son separados del

cultivo son capaces de formar una planta, pudiendo usarse como el inicio de otro ciclo de multiplicación con el fin de aumentar su número (Fig. 4).

Etapa III. Inducción y desarrollo de raíces

En esta fase se produce la formación de raíces adventicias. El enraizamiento puede realizarse tanto en condiciones *in vitro* como *ex vitro*. En el primer caso se transfieren los brotes obtenidos en la etapa anterior a un medio libre de reguladores de crecimiento o que sólo

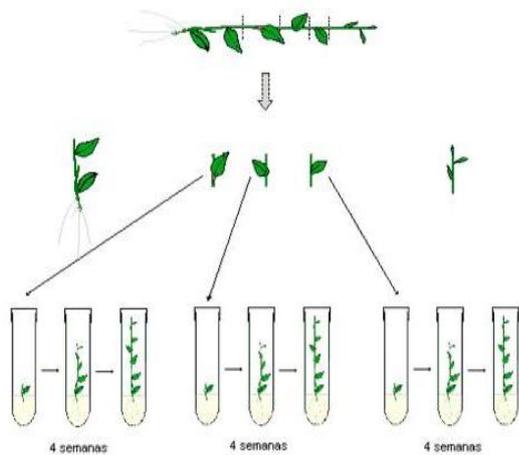


Fig. 4. Etapa II de la micropropagación.

contenga auxinas. Esta operación se realiza en condiciones de esterilidad (en cabina de flujo). En el segundo caso los brotes se sumergen en una solución concentrada de auxinas y se transfieren a un sustrato limpio, no necesariamente estéril, que puede ser una mezcla de turba con perlita o vermiculita. Los brotes que se utilicen en el enraizamiento *ex vitro* deben ser vigorosos y poseer hojas bien desarrolladas, ya que las plantas deben realizar la fotosíntesis para obtener la energía necesaria para desarrollarse y formar las raíces.

El enraizamiento *ex vitro* permite que la fase de enraizamiento y la fase de aclimatación se logren simultáneamente y que raramente se forme callo en la base alta de los explantos,

asegurando así una conexión vascular, continua entre el vástago y la raíz. En la actualidad esta técnica permite reducir entre un 35 y 75% los costes totales de la micropropagación (Kane, 2005), lo que la convierte en altamente deseable para la industria dedicada a la producción de plantas.

Etapa IV. Aclimatación.

Las plantas cultivadas en condiciones *in vitro* poseen habitualmente estomas no funcionales y cutículas poco desarrolladas debido a la alta humedad relativa en el interior del frasco de cultivo y a la escasa realización de la fotosíntesis. Bajo las condiciones de cultivo *in vitro* los explantos son mixotróficos, casi no fotosintetizan y su necesidad de carbono orgánico lo suplen con los azúcares añadidos al medio. Por tanto, antes de transferirlas a las condiciones externas deben sufrir un proceso de acondicionamiento gradual: protección a la luz y control de la transpiración estomática y cuticular (Fig. 5).

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MICROPROPAGACIÓN.

Existen diferentes factores que determinan el éxito en la micropropagación, los más importantes son los siguientes:

Planta que dona el explanto.

El estado fisiológico de la planta madre influ-

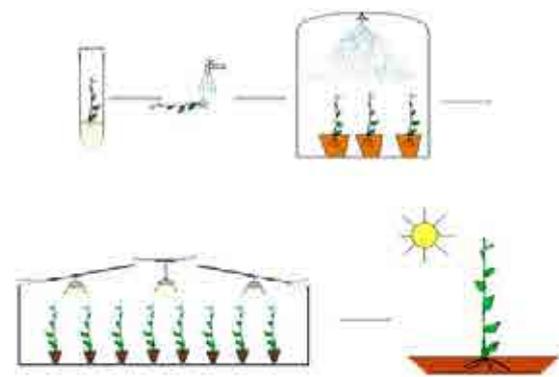


Fig. 5. Etapa IV de la micropropagación y transferencia a campo.

ye significativamente en la capacidad morfo-genética del explanto. Asimismo, se ha observado que la edad fisiológica del explanto tiene gran influencia en la morfogénesis, cuanto más joven y menos diferenciado esté el tejido que se va a sembrar, mejor será la respuesta *in vitro*. La posición relativa de las yemas es otro factor importante. Se ha observado en algunas especies que las yemas axilares obtenidas de la parte media del tallo se desarrollan más rápidamente que aquellas obtenidas de la base o de la porción apical. Sin embargo, en otras especies las yemas apicales son las únicas que producen plantas *in vitro*.

El explanto.

Generalmente, la selección del explanto se hace teniendo en cuenta el sistema de propagación de la planta. Así, si las plantas que se van a micropropagar se reproducen por semilla, las partes embrionarias son las fuentes más comunes de explantos; las semillas pueden ser desinfectadas superficialmente y germinar en condiciones de asepsia. Este método se usa en coníferas y otras especies maderables. En el caso de especies propagadas vegetativamente, los brotes jóvenes y los ápices meristemáticos son, generalmente, la fuente de los explantos (Roca y Mroginski, 1991).

Factores físicos.

La temperatura a la que está expuesto el explanto cultivado *in vitro* afecta a la mayoría de procesos fisiológicos y por consiguiente es un factor fundamental a controlar. En general, cada especie tiene un intervalo de temperaturas en el que se produce el crecimiento óptimo. Este intervalo puede variar en función del genotipo, del órgano del que procede el explanto, del fotoperiodo, etc. La temperatura de incubación para la propagación de la mayoría

de las familias fluctúa entre los 24 y 28°C.

El control de la temperatura no es solamente importante porque pueda afectar al crecimiento del cultivo sino también porque puede ser un factor que induzca determinados procesos fisiológicos. Así, temperaturas bajas (del orden de 4-5°C) permiten superar los periodos de dormición de algunas leñosas y la conservación prolongada de determinados cultivos *in vitro*; mientras que una temperatura constante de 20°C induce la formación de raíces en la mayoría de coníferas.

La luz es uno de los factores principales que determinan el desarrollo de los organismos autótrofos, en ello radica la importancia de controlar el factor luz en los cultivos *in vitro*. Se asume que las necesidades de luz en cultivo *in vitro* son inferiores de las plantas *in vivo*, dado que las plantas *in vitro* sólo son parcialmente autótrofas (utilizan como fuente de carbono los azúcares añadidos al medio, realizando por tanto una fotosíntesis muy reducida).

Medio de cultivo.

El medio de cultivo es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua (Tabla 1, Fig. 6). A menudo se denomina medio basal y puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento y con otras sustancias. Los requerimientos nutritivos para un crecimiento *in vitro* óptimo varían con la especie e incluso son específicos de acuerdo a la parte de la planta que se esté cultivando y de la respuesta que se desea obtener. Debido a estas necesidades específicas se han desarrollado muchas formulaciones diferentes para los medios de cultivo.

El control del pH inicial del medio y de su dinámica durante el cultivo tiene una gran importancia, ya que su valor puede afectar a

la absorción de determinados nutrientes por parte del explanto y puede afectar al pH del citoplasma, y como consecuencia a la actividad de muchos enzimas.

INCONVENIENTES Y VENTAJAS DE LA MICROPROPAGACIÓN.

Las desventajas de la micropropagación son

Sustancias orgánicas	Macro	Micro
	elementos	
Azúcares Aminoácidos Auxinas Citoquininas Giberelinas Acido abscísico	N P K Ca Mg S	Fe Zn B Mn Cu Ni Co Al Mo I
Mezclas de sustancias poco definidas: Extracto de levadura Leche de coco Extractos vegetales Hidrolizados de caseína Peptona y triptona.		

Tabla 1. Necesidades nutricionales y hormonales de los cultivos de órganos y tejidos vegetales.

las mismas que las derivadas de la tecnología del cultivo *in vitro*, de las que se pueden destacar la necesidad de personal especializado, la construcción y mantenimiento de costosas instalaciones especializadas, y los cuidados rigurosos para evitar riesgos de contaminación. A esto se une también la ausencia de

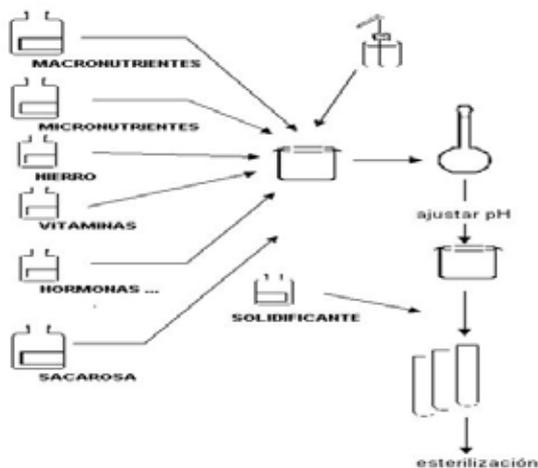


Fig. 6. Diagrama que muestra la preparación de un medio de cultivo a partir de soluciones stock.

protocolos de micropropagación universales y por tanto es necesario definir protocolos para cada especie y cultivar. Por otro lado, los microtallos originados del cultivo *in vitro* pueden mostrar morfologías o fisiologías extrañas denominadas con el término “vitrificación”.

La micropropagación presenta una serie de ventajas con respecto a los métodos tradicionales. Se necesita solamente la utilización de explantos de pequeño tamaño para iniciar y mantener el cultivo; se pueden crear y seleccionar nuevas variedades; la técnica permite una rápida multiplicación del cultivar seleccionado, con ahorro en tiempo y costes respecto a los métodos convencionales de macropropagación. Además, la producción de plantas es continua a lo largo de todo el año permitiendo ajustar los factores que influyen en la regeneración vegetativa, como los niveles de nutrientes y de reguladores del crecimiento, así como la luz y la temperatura (Krikorian, 1991).

Asimismo, estos métodos de cultivo sirven como base para la aplicación de técnicas de mejora genética con el objetivo de introducir nuevas características que permitan una mejor adaptación a las condiciones de cultivo y/o aumento de la producción. En el caso de existir algún tipo de enfermedad que afecte al cultivo permite también el saneamiento de plantas por la eliminación de enfermedades, en particular víricas.

FUTURO Y PERSPECTIVAS DE LA MICROPROPAGACIÓN.

Se estima que la población mundial superará los ocho mil millones de personas en el año 2030. En un mundo donde la superficie cultivable ha llegado al máximo posible y dónde la producción y la distribución de los alimentos

son un problema universal, se deben mejorar todas las condiciones relacionadas con la productividad de los cultivos (Vega y col., 2004). El incremento de la población superará el incremento de la producción agrícola; en este contexto, la mejora a través de la biotecnología vegetal es una necesidad. La biotecnología, y más concretamente la micropropagación, puede ayudar a conseguir una mayor productividad, permitiendo mejorar en diversos aspectos el rendimiento agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

DEBERGH P. C. & ZIMMERMAN R. H. (1991). *Micropropagation: Technology and Application*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London.

HARTMANN H. T. & KESTER D. E. (1980). *Propagación de plantas: principios y prácticas*. Ed. Compañía editorial continental S.A., de C.V. México.

KANE M. E. (2005). *Shoot Culture Procedures*. En: R. N. Trigiano y D. J. Gray (eds), *Plant Development and Biotechnology*.

CRC press, Florida, p. 145- 158

KRIKORIAN, A. D. (1991). *Propagación clonal in vitro*. En: *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical 6: 127-143.

PÉREZ DE LA VEGA, M., NUEZ, F., CARRILLO, J. M. (2004). *Resistencia genética a patógenos vegetales*. En: *La resistencia genética a patógenos vegetales y la mejora vegetal*. Soc. Española de Ciencias Hortícolas. Soc. Española de Genética. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. 1:3-39.

ROCA W. M., MROGINSKI L. A. 1991, *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. Ed. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Colombia.

WEBBER H. J. (1903). *New horticultural and agricultural terms*. Science 28: 501-503.

Imágenes obtenidas de: ANA MARÍA PELACHO AJA & LLUÍS MARTÍN CLOSAS, 2008. El libro electrónico del Cultivo in vitro.

RELACIONES FILOGENÉTICAS ENTRE ALGAS Y PLANTAS VASCULARES

J. M. SÁNCHEZ ROBLES & L. TORRES MUROS

jmsanchezrobles@hotmail.com, luciatorres_muros@hotmail.com

Alumnos Séneca (2006-2007).

Universidade de Vigo. Profesor: Marisa Castro Cerceda

Resumen: Las Embriófitas son un grupo monofilético representado por todas las plantas del medio terrestre, y algunas del medio acuático, cuyo ancestro parece encontrarse entre las carofíceas, un grupo de algas verdes. La historia inicial de las Embriófitas implica una divergencia evolutiva muy temprana y una subsiguiente evolución paralela entre los dos subgrupos diferenciados, briófitas y traqueófitas.

Palabras clave: Filogenia, Arquegonio, Carofíceas, Chlorophyta, Embriófitas, Esporofito.

Resumo: As Embriófitas son un grupo monofilético representado por todas as plantas do medio terrestre, e algunhas do medio acuático, cuxo devanceiro parece atoparse entre as carofíceas, un grupo de algas verdes. A historia inicial das Embriófitas implica unha diverxencia evolutiva moi temperá e unha subseguinte evolución paralela entre os dous subgrupos diferenciados, briófitas e traqueófitas.

Palabras clave: Filoxenia, Arquegonio, Carofíceas, Chlorophyta, Embriófitas, Esporofito.

INTRODUCCIÓN

Dos hechos fundamentales iniciaron la cadena de eventos que condujo a que las plantas de tierra firme prosperaran. El primer hecho fue su colonización por descendientes de plantas acuáticas, algas carófitas. Este hecho abrió las puertas de un nuevo mundo, donde la luz del sol no estaba atenuada por el paso a través del agua y donde el dióxido de carbono era abundante. El segundo hecho fue un cambio crucial en el ciclo vital de las plantas: la alternancia de generaciones esporofítica y gametofítica.

ORIGEN DE LA PRIMERA CÉLULA VEGETAL Y EVOLUCIÓN DE LAS ALGAS EUCARIOTAS

Las formas autotróficas procariotas ya se encontraban entre los primeros microorganismos existentes. Fue mediante una endosimbiosis primaria como se originó la primera célula eucariota. Hay una gran variedad de eucariotas heterótrofos unicelulares con mitocondrias. La fusión única de una de estas líneas de desarrollo con una bacteria fotoautótrofa (cianobacteria) en el transcurso de una segunda endosimbiosis primaria provocó la aparición de la primera célula vegetal al convertirse los endocitobiontes en plastidios (Fig. 1). De estas primeras células vegetales proceden todos los organismos vegetales (Strasburger 2002).

Estudios moleculares más recientes han venido a demostrar que la división Prochlorophyta es un grupo artificial y heterogéneo, en el que cada representante se ha originado independientemente a partir de diferentes grupos de Cianobacterias (Judd et al., 2002) y que la clorofila b se adquiere

paralelamente en clorobacterias y clorófitas. Las algas eucarióticas son por tanto un grupo

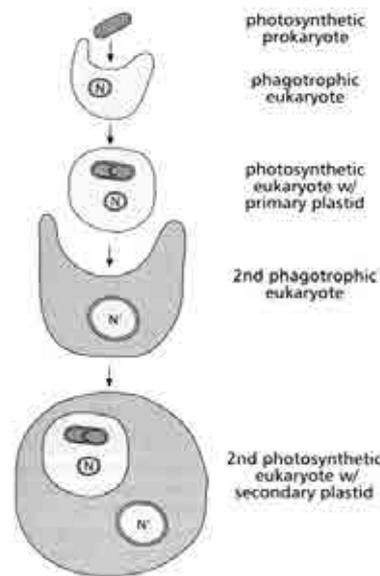


Fig. 1. Teoría de la Endosimbiosis

polifilético muy heterogéneo

El número de membranas juega un papel esencial a la hora de comprender el origen de la diversidad de los plastos. Los plastos de glaucófitas, clorófitas y rodófitas tienen dos membranas, los de euglenófitas y dinoflagelados tienen tres, los de criptófitas, cloraracniófitas, heterocontófitas y haptófitas tienen cuatro membranas. La variación en los plastos algales puede reflejar soluciones divergentes al problema de las membranas adquiridas por fagocitosis. La endosimbiosis primaria estaría relacionada con el origen de grupos como los glaucófitas.

Por otra parte resulta interesante estudiar los diferentes niveles de organización. En general, se ha llegado a admitir que las formas unicelulares son ancestrales en casi todos los grupos, lo que ha sido apoyado por estudios de secuenciación de rRNA. En el nivel de flagelados unicelulares hay interesantes variaciones internas, pero resulta difícil establecer tendencias evolutivas

En el paso de flagelados unicelulares a colonias pluricelulares con división de funciones, el caso mejor conocido es el de la línea volvocina (clorófitas), donde *Volvox* alcanza el punto culminante. En este género se alcanza la diferenciación de un polo anterior y otro posterior en la esfera. En el denominado nivel de organización de tricales, las células permanecen unidas después de la división mediante paredes celulares comunes y plasmodesmos. La tendencia evolutiva podría ser definida primero sobre el desarrollo de filamentos celulares y, después, en la aparición de estructuras laminares. La tendencia al desarrollo de talos complejos desde filamentos sencillos podría producirse a través de la aparición de los talos heterótricos. Es el caso de *Coleochaete*. Los procesos de diversificación habrían ido acompañados de una progresión hacia la organización colonial, cenobial y filamentosa a lo largo de varias líneas paralelas.

Si las primeras formas fueron, de hecho, flageladas, la evolución de una forma sedentaria desde una móvil traería como consecuencia un excedente de energía que podría ser utilizado para el crecimiento y la reproducción. Esta mayor capacidad reproductora proporcionaría la opción para establecer una línea evolutiva de organismos sedentarios. En la pérdida del movimiento libre, los estadios inmóviles comienzan como parte de un ciclo adaptativo para enfrentarse a condiciones pasajeras de desecación del biotopo. En el Orden *Chlorococcales* (clorófitas) se encuentran células que son inmóviles, permanentemente o durante la mayor parte de su progreso. En formas que viven en aguas dinámicas, la reproducción isógama parece ser una estrategia

extraordinariamente derrochadora y se comprenden las ventajas de que uno de los gametos permanezca relativamente quieto, especialmente si segrega feromonas quimiotácticas que causan la aproximación de los gametos móviles. Más aún, un cigoto que comienza su vida con una reserva copiosa tiene una mayor probabilidad de supervivencia. El incremento de tamaño, sin embargo, limita la movilidad, por lo tanto, también es una ventaja el que el gameto masculino permanezca pequeño y móvil mientras el femenino pierda su motilidad y se especialice en el almacenamiento de sustancia de reserva. Así la isogamia abre paso a la oogamia. Un cigoto inmóvil puede, por otro lado, resultar desventajoso si se posiciona de una forma desfavorable para la planta. Esto es compensado por algas, como *Coleochaete*, donde el cigoto germina mientras está todavía embutido dentro del gametófito, avanzando en cierto modo una característica de las arquegoniadas (Fig. 2)

De esta manera podemos decir que se

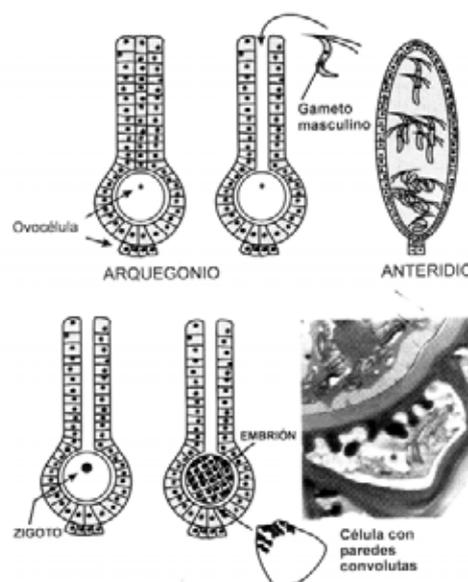


Fig. 2. Arquegonio.

pueden trazar tendencias evolutivas en algas desde los organismos más simples y

fototróficos con organización unicelular hasta la organización parenquimática, desde la Isogamia hasta la Oogamia y desde los ciclos más simples a los más elaborados. En su límite superior, la complejidad estructural y reproductora de un alga se aproxima a la de una planta terrestre. Considerando solamente el nivel de organización, la transición desde un alga compleja como *Laminaria* hasta una arquegoniada o incluso una angiosperma terrestre resulta bastante pequeña si se compara con la evolución interna que han experimentado las algas desde un unicelular flagelado.

ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LAS PLANTAS TERRESTRES: COLONIZACIÓN DEL MEDIO TERRESTRE

Planta terrestre es aquel organismo eucariota fotosintético que puede sobrevivir y reproducirse sexualmente sobre la tierra. En sentido estricto son Embriófitas y son un grupo monofilético. Se agrupan en Embriófitas no vasculares (Briófitas): musgos, hepáticas y anterozotas, y en Plantas Vasculares (Traqueófitos): helechos, equisetos, licopodios, gimnospermas y angiospermas. Todos los grupos de Embriófitas modernos comparten dos características esenciales del ciclo vital: una alternancia diplo-haplonte multicelular y la retención del cigoto y de su embrión dentro de una estructura llamada arquegonio (Carrión, 2003). Así la generación gametofítica de cada embriófito retiene sus embriones dentro de los arquegonios. Esta estructura aunque superficialmente tiene una apariencia simple, es un producto reproductor muy sofisticado. En él existen unas células del vientre que son fisiológicamente activas y transportan

azúcares desde el gametofito al cigoto o embrión, las células de transferencia tienen paredes muy ramificadas que incrementan enormemente la superficie a través de la cual pasan los nutrientes y las células estériles del arquegonio funcionan de modo análogo a las células placentarias de los mamíferos (Fig. 2).

La vida al aire libre, no en el agua, implicó la evolución de los tejidos vasculares, los cuales proporcionan conductos de escasa resistencia al flujo de nutrientes y agua. El salto evolutivo que aquí vamos a tratar es aquel que se enfrenta a la resistencia y tolerancia a la desecación, esto implica el recubrimiento de las superficies externas con una cubierta impermeable, la cutícula. Pero desgraciadamente la cutícula no es solo impermeable al agua sino también al oxígeno y al dióxido de carbono. Las plantas han solucionado este problema por medio de los estomas y las células guarda pero aun así la transpiración implica necesariamente pérdida de agua. Este avance evolutivo se encontró también asistido por la creación de tejidos laberínticos que proporcionan un medio de transporte de gases a través de un medio hidratado y también la aparición de esporopoleína en la cubierta de las esporas para resistir dicha desecación. La invaginación topológica de las áreas superficiales externas hacia el interior es un proceso general en seres aéreos, desde los alvéolos pulmonares hasta los aerénquimas de plantas terrestres (Carrión, 2003).

Las Clorófitas son el grupo de algas que mayores cambios sistemáticos han experimentado durante los últimos años. Todos los datos actuales confluyen en presentar a las clorófitas en dos linajes principales, ambos con formas multicelulares

(Carrión 2003). Uno de estos linajes o clados estaría constituido por las carófitas, el otro incluiría las ulvofíceas, trebouxofíceas y clorofíceas. De todas las especies de algas conocidas solo unas cuantas asignadas al orden *Coleochaetales* (dentro de la familia carófitas) comparten la mayoría de características biológicas con las 250.000 especies de Embriófitas vivientes. Este grupo tiene ovocélulas grandes e inmóviles, así que está claro que el ancestro de las Embriófitas fue oógamo. El género *Coleochaete* presenta gametos femeninos similares a los de Embriófitas. Así, el ancestro común de las Embriófitas y de *Coleochaete* tuvo la habilidad de producir un paquete de células estériles alrededor de los cigotos y estas células funcionaron de un modo análogo a las células del vientre del arqueogonio (Carrión y Cabezudo 2003) (Fig. 2). El registro fósil apoya la idea de que las algas verdes vivieron primero en el mar y luego colonizaron las aguas más continentales y someras. Resulta muy interesante que en las algas marinas sea general la producción de cigotos con paredes muy delgadas. Como estos organismos vivían en ambientes con abundancia de agua, la formación de cigotos con paredes gruesas sería de poca utilidad. Sin embargo, su aparición en algas de agua dulce tendría una gran ventaja selectiva puesto que el ambiente acuático podría ser más o menos temporal y es concebible la necesidad de supervivencia temporal al aire libre. Tiene cierto sentido presumir, por tanto, que los ancestros de las plantas terrestres eran dulceacuícolas y ya se habían adaptado a un ambiente temporalmente desecante.

Las carófitas, como hemos mencionado anteriormente, poseen muchos atributos que

podrían haber sido preadaptativos para la vida terrestre como son: divisiones celulares asimétricas de conformación espiralada (en cierto modo como las divisiones citogenéticas), células de transferencia similares a las de placentas de Embriófitas, compuestos químicos de resistencia en paredes de células vegetativas, propágulos tolerantes a la desecación, etc. (Carrión, 2003). Los ambientes impredecibles o susceptibles de sufrir desecación, resultarían idóneos para promover presiones de selección que llevaran a la terrestreización en algas acuáticas. Además las carófitas se caracterizan por presentar estructuras multiestratificadas, mitosis abiertas, huso mitótico persistente, superóxido dismutasa de Cu y Zn, aldolasas de la clase I y una glicolato-oxidasa contenida en peroxisomas que estructuralmente recuerdan a los de las plantas terrestres. El orden *Coleochaetales* y, más particularmente, el género *Coleochaete*, ha sido sometido a una intensa investigación bioquímica y citológica, por su afinidad con las embriófitas. Existen análisis moleculares que confirman que los órdenes *Charales* y *Coleochaetales* estarían más cercanos a las plantas terrestres que al resto de los clorofitas (Strasburguer 2002).

A pesar de estas semejanzas con las embriófitas los *coleochaetales* carecen de dos cosas muy importantes: el arqueogonio y una fase diploide multicelular en su ciclo vital. Podemos suponer una secuencia hipotética de eventos evolutivos en la cual se partiría de un organismo como *Coleochaete*, el cual vivía en masas someras de agua dulce o en microhabitats húmedos.

Este individuo debió tener ovocélulas grandes e inmóviles protegidas por células

corticales, las cuales habrían reducido la probabilidad del ataque microbiano y la desecación del cigoto.

Asumiremos que este organismo ya tenía algún tipo de transporte activo para los azúcares porque es lo que ocurre en la mayoría de las algas verdes (Van den Hoek et al.1999). El siguiente paso en la secuencia sería la existencia de un individuo con verdadero arquegonio, capaz de transportar nutrientes, así la ovocélula sería protegida y alimentada incluso antes de su fecundación. A continuación se produciría una evolución hacia la meiosis zigótica retrasada, la cual sucedería en una fase diploide multicelular en el ciclo vital. Las ventajas de esta innovación es que se amplifica el beneficio reproductor de cada fecundación, ya que una mitosis previa a la meiosis dará un mayor número de células que sufran meiosis, equiparables por tanto funcionalmente a la ovocélula.

Así aunque la fecundación fuera difícil, solo con que sucediese unas cuantas veces, tendríamos material para la siguiente generación poblacional. En último lugar se daría la evolución de un esporofito diploide

multicelular compuesto de células somáticas y reproductoras. Mediante el crecimiento de estas células somáticas se conseguiría elevar la porción reproductora de este esporófito, facilitando y haciendo más efectiva la dispersión a larga distancia de las esporas (Fig. 3).

Como hemos mencionado, la mayor parte de las hipótesis filogenéticas actuales apoyan la monofilesis de las plantas terrestres a partir de un grupo de algas verdes próximas a carofíceas. Así que parece que el ciclo de vida de las plantas terrestres surgió por un retraso de la meiosis en formas sin alternancia de generaciones. Esto apoyaría la llamada *teoría antitética* la cual postula que las Embriófitas habrían derivado de un antecesor con ciclo haplonte en el que el esporofito vendría a ser una generación nueva multicelular que se intercalaría entre dos gametofitos. Alternativamente, está la *teoría homologa o de la transformación*, que apoya que las Embriófitas derivaron de especies que ya presentaban alternancia de generaciones isomórficas, de manera que el esporofito se habría convertido en la fase dominante. Sin embargo, entre las algas verdes solo existe alternancia isomórfica en ulvofíceas; el resto, incluyendo carofíceas, presentan ciclo haplonte en el que el cigoto sufre la meiosis (Carrión 2003). Por este motivo es la *teoría antitética o de la interpolación* la más apoyada actualmente (Fig. 4).

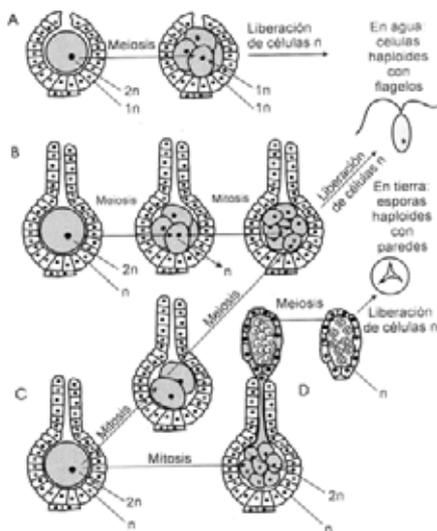


Fig. 3. Hipótesis: Aparición del arquegonio y de la fase diploide multicelular.

POSICIÓN EVOLUTIVA DE LAS BRIÓFITAS

Las Embriófitas se pueden subdividir en dos grupos: las Briófitas, que son las Embriófitas no vasculares y que incluyen musgos,

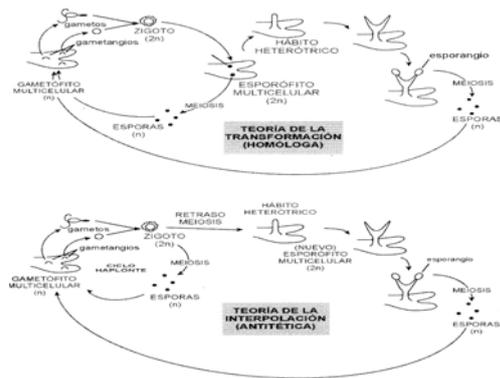


Fig. 4. Teoría Homóloga y Antitética

hepáticas y antocerotas, donde predomina el gametofito y las cormófitas o traqueófitos, donde es el esporofito el que alcanza un mayor grado de complejidad y que incluyen helechos, equisetos, licopodios, gimnospermas y angiospermas. Así deducimos que las Embriófitas exploraron dos posibles rutas evolutivas mutuamente exclusivas que parten del ancestro algal descrito anteriormente. La historia inicial de las Embriófitas implica pues una divergencia evolutiva muy temprana y una subsiguiente evolución paralela entre los dos grupos de Embriófitas, que compartieron un ancestro no vascular y arquegoniado con un ciclo alternante entre dos generaciones muy similares, ambas multicelulares (Carrión 2003).

Las briofitas son plantas terrestres, en general de pequeño tamaño, que secundariamente han colonizado el medio acuático, pero ninguna es estrictamente marina. Abundan en lugares húmedos y sombríos, pero hay especies xerófilas que pueden crecer sobre medios estacionalmente secos y algunas incluso en los desiertos. En estos casos, ligados a periodos estacionales húmedos o a humedades atmosféricas altas. En cualquier caso, su ciclo reproductor implica necesariamente una fase acuosa. A diferencia de las plantas vasculares, las

briofitas no presentan tejido conductor comparable al xilema o al floema característico de aquellas. Algunos carecen totalmente de células conductoras, absorben agua y nutrientes directamente por toda la superficie de la planta y la circulación se realiza por conducción externa capilar; unos pocos poseen, además un sistema conductor diferenciado (Izco 1998).

Las funciones reproductoras del gametofito, fase dominante en briofitas, pasan por la producción de gametos, asegurar la fecundación de ovocélulas y mantener, al menos durante un tiempo, al esporofito en desarrollo. Estas funciones requieren acceso continuo al agua líquida (Izco et al. 1998). Por esta razón los gametofitos de vida libre tienden a ser cortos, postrados y adosados al sustrato, de manera que se reduzca la distancia que ha de recorrer el gameto masculino hasta la ovocélula, minimizando así las pérdidas de agua. Por este motivo no se puede favorecer el crecimiento indiscriminado del gametofito hacia arriba, pero sí en la horizontal. Este hecho es el que determina las diferentes morfologías que pueden tener las briofitas.

En contraste con el esporofito, morfológicamente más conservador, el gametofito briofítico muestra una cierta esquizofrenia morfológica, la cual puede estar relacionada con el hecho de que se trata de la generación de vida más larga y, por tanto, la que tiene la responsabilidad primaria del crecimiento vegetativo y la supervivencia, año tras año en algunos casos. Quizá el carácter conservativo de la morfología esporofítica de las briofitas sea más la consecuencia de una presión de selección intensa sobre el papel reproductor que sobre su función vegetativa.

La antigua división Bryophyta no tiene sentido a la luz de los análisis cladísticos y filogenéticos recientes (Izco et al. 1998). Actualmente se suelen proponer tres grupos bien definidos: Antocerotas, Hepáticas y Musgos. La mayoría de los cladogramas sugieren la separación basal de antocerotas, basándose en los siguientes caracteres (Judd et al. 2002): presencia de un único cloroplasto central con pirenoide, meristemos intercalares en esporofito, estomas tanto en gametofito como en esporofito, citología de la emisión de mucílagos, simetría bilateral del esporofito, esporangios con dos líneas de dehiscencia, espermatozoides de simetría bilateral, números cromosómicos bajos y ausencia de apéndices externos como filidios, escamas, papilas...

Los cladogramas también muestran que las hepáticas y los musgos podrían haber evolucionado paralelamente o a partir de un ancestro común, como viene sugerido por: ultraestructura de los gametos masculinos, similitud entre gametangios, capacidad del gametófito para desarrollar filidios en tres filas, gametofitos de configuración triradial, esporofito de simetría radial y no ramificada, anatomía axial similar, protonema filamentosos y ramificado, presencia de muchos cloroplastos por célula, división primaria del cigoto, comúnmente transversal.

Aunque algunos estudios cladísticos sugieren que las briófitas son un grupo monofilético, la mayoría concluyen en su parafilia y en que los musgos aisladamente, o con las hepáticas, comparten un ancestro común con las traqueófitas, siendo los antocerotas el grupo más basal, mientras que los musgos y las hepáticas formarían un grupo hermano de los traqueófitos. En otras

palabras, las briófitas serían un nivel de organización aparte, pero no necesariamente un clado (Fig. 5).

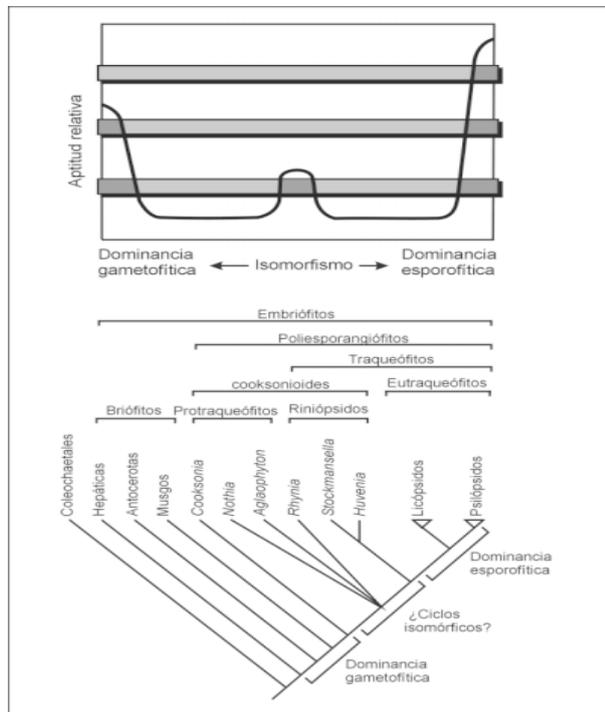


Fig. 5.

ENCUADRE TEMPORAL Y ECOLÓGICO

El registro fósil indica que las plantas terrestres evolucionaron posiblemente cerca del Ordovícico y seguro que no antes del Silúrico (Carrión 2003). Ya en el Ordovícico aparecen paredes de esporopoleína, lo que sugiere la existencia de plantas con células reproductoras con cierta resistencia a la exposición al aire. Así que actualmente hay pocas dudas de que las primeras plantas terrestres evolucionaron durante el Silúrico inicial y de que las plantas vasculares habían ya evolucionado a finales del Silúrico.

Respecto al contexto paleoecológico, se han elaborado diversas hipótesis que hacen intervenir como factores críticos la edafización, creación de ambientes litorales estables, reorganización de placas, glaciaciones y, sobre todo cambios en los niveles de dióxido de carbono.

CONCLUSIONES

Los cambios medioambientales que han tenido lugar a lo largo de la historia de la tierra han dirigido la evolución de todos los seres vivos. En un determinado momento de la historia vegetal tuvo lugar el paso evolutivo que permitió la colonización del medio terrestre. Fueron organismos vegetales los que dieron este primer gran paso. En esta evolución tuvieron que existir primero unas adaptaciones para que los individuos pudiesen sobrevivir ante nuevos factores como la desecación y las altas concentraciones de dióxido de carbono y de forma paralela una serie de adaptaciones para que dichos individuos pudieran reproducirse y asegurar así su continuidad. Las primeras están mayormente representadas por la aparición de la cutícula y la esporopoleína, contra la desecación y los estomas para permitir la transpiración. Pero los cambios más trascendentes no fueron solo éstos: la isogamia abrió paso a la oogamia, determinando así el comienzo del desarrollo de las estrategias esencialmente femenina y masculina en el medio terrestre y desarrollando para ello estructuras complejas como el arqueogonio, que en cierto modo predijo el camino a seguir por otras líneas evolutivas bien distintas, como la de los mamíferos. Y otro hecho de enorme importancia fue la introducción en el ciclo de vida de una fase diploide multicelular: el esporofito. Así los individuos se van haciendo cada vez más complejos conforme se ejercen sobre ellos distintas presiones selectivas.

A pesar de que existen diferentes grupos de algas pluricelulares fue a partir de las clorofitas de donde surge el ancestro de las Embriófitas. Desde el comienzo de la historia

de este grupo se toman todos los caminos evolutivos posibles con respecto al desarrollo de su ciclo y esto es visible hoy día en los diferentes subgrupos que existen dentro de las plantas terrestres. Son las briofitas al decantarse por el dominio de la fase gametofítica, los que tienen una dependencia del medio acuático mayor dentro de las plantas terrestres, lo que determina que no puedan alcanzar un crecimiento vertical tal y como lo hacen las traqueófitas. Éstas por el contrario, se hacen más independientes del medio acuático al decantarse por el mayor desarrollo de su esporofito.

Como reflexión personal y basándonos en las condiciones de sequía que se están dando en la última década y en las previsiones existentes que se apoyan en los fenómenos del cambio global se podría llegar a pensar que son las briofitas el grupo de plantas terrestres que mayores riesgos tendrán en regiones como la nuestra, puesto que las condiciones de humedad necesarias para su desarrollo están en peligro en muchas zonas en las que no hace mucho eran frecuentes. Las traqueófitas con el aumento de temperatura y dióxido de carbono en un principio podrían experimentar un mayor desarrollo, pero esto va a ir unido a una pérdida de calidad de sus tejidos debido a un desequilibrio en la concentración de carbono con respecto a los otros nutrientes, este último hecho está descrito por Vitousek (1994), entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

- CARRIÓN, J. (2003). *Evolución Vegetal*.^{1ª} Ed. Murcia, DM. 497 pp.
- CARRIÓN, J & CABEZUDO B. (2003).

FERNÁNDEZ- GONZÁLEZ, F. (1998). *Briófitos*. En: Izco et al. Botánica. Madrid, Mc Graw- Hill, pp. 341- 351

GALLARDO, T. (1998). *Algas*. En: Izco et al. Botánica. Madrid, Mc Graw- Hill, pp. 193-210

JUDD, W., CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A., STEVENS, P. F. & DONOGHUE, M. J. (2002) *The Evolution of Plant Diversity*. En: Judd, W. Plant Systematics USA, Sinaver, pp. 122-152

JUDD, W., CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A., STEVENS, P. F. & DONOGHUE, M. J. (2002) *An overview of Green Plant Phylogeny*. En: Judd, W. Plants Systematics USA, Sinaver, pp. 154-183

KADEREIT, W. (2002). *Sistemática y*

Filogenia. En: Strasburguer, E. Tratado de Botánica. Berlín, Omega. pp. 572-884

STRASBURGUER, E. (2002). *Evolución*. En: Strasburguer, E. Tratado de Botánica Berlín, Omega. pp. 522-569

VAN DEN HOEK, CH., MANN, D.G, & JAHNS, H.M. (1999). *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge, University Press, Cambridge.

VITOUSEK, P.M. 1994. *Beyond Global Warming: Ecology and Global Change*. Ecology 75: 1861-1876

(<http://tolweb.org/tree>)> [consulta: 28 diciembre de 2006] ISSN

HERBARIO DE PLANTAS VASCULARES

IRENE GUTIÉRREZ DÍEZ

igutierrez@alumnos.uvigo.es

Alumna 1º de Biología, Materia: Botánica II (2006-2007).

Universidade de Vigo. Profesores: Marisa Castro Cerceda, José María Sánchez Fernández,
Castor Muñoz Sobrino.

INTRODUCCIÓN

La realización de un herbario era una actividad voluntaria de la asignatura Botánica II, del 1er curso de la Licenciatura de Biología.

Su elaboración es un proceso largo y laborioso. Primero se ha de salir al campo debidamente equipado. Son fundamentales una navaja, bolsas para transportar el material recogido y cuaderno y lápiz para tomar notas. La preparación para el secado de los ejemplares recolectados no debe demorarse más de un día después de la recogida, si no, se secan y luego resulta difícil estirarlos adecuadamente en los pliegos de papel.

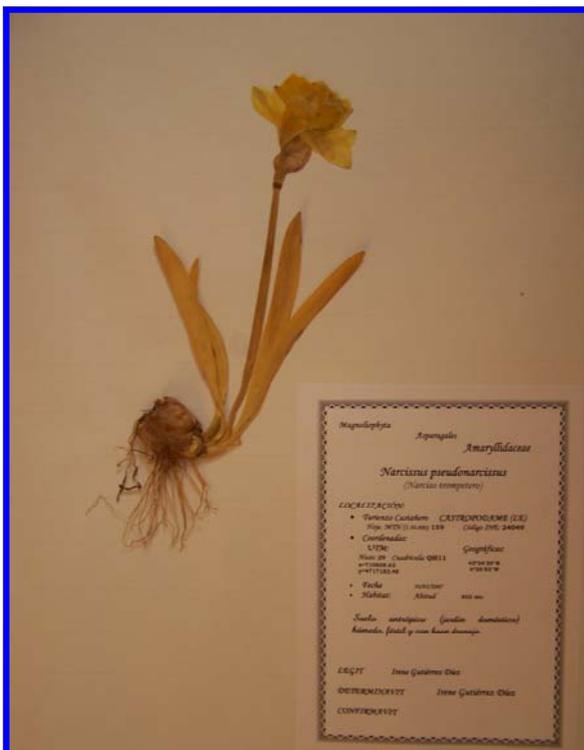
El secado se realizó por presión, puesto que las plantas incluidas en el herbario eran plantas vasculares (cormófitos). Este proceso re-

quiere de un seguimiento diario al menos durante la primera semana (cambiar los papeles húmedos) y depende mucho de la cantidad de agua que presente la planta, tanto por ser carnosa como por ser recolectada en zonas o períodos húmedos.

Una vez que se ha secado por completo, se introducen las plantas en los pliegos definitivos con su correspondiente etiqueta: género y especie, localidad, hábitat, fecha, *legit* (nombre de quien recolecta la planta) y *determinavit* (de quien la identifica).

En este caso cada pliego se acompañó de una breve descripción de la planta y de una fotografía en estado fresco.

A continuación se presenta una pequeña muestra de este herbario:



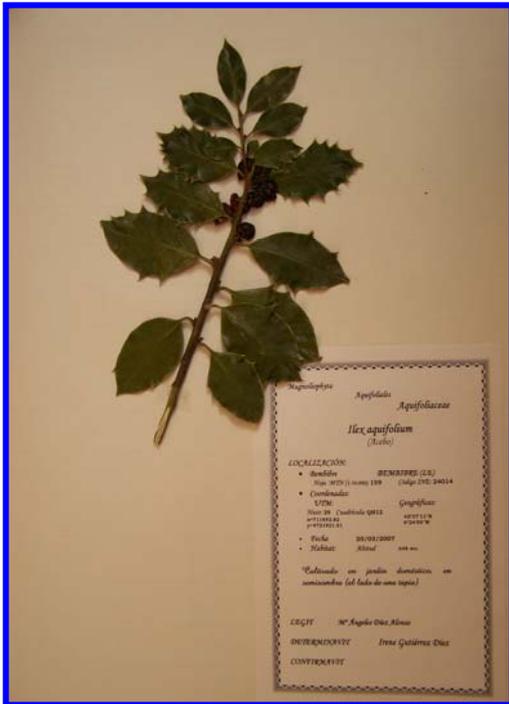
División: *Magnoliophyta*

Orden: *Asparagales*

Familia: *Amaryllidaceae*

Especie: *Narcissus pseudonarcissus* L.

Este "narciso trompetero" fue recogido en Turienzo Castañero (León) en jardín, húmedo, fértil y con buen drenaje.



División: *Magnoliophyta*

Orden: *Aquifoliales*

Familia: *Aquifoliaceae*

Especie: *Ilex aquifolium* L.

Rama de acebo recolectada por M^a Ángeles Díez Alonso en Bembibre (León), en jardín, en zona semisombria, al lado de una tapia



División: *Magnoliophyta*

Orden: *Fagales*

Familia: *Betulaceae*

Especie: *Corylus avellana* L.

Ejemplar cultivado, en Turienzo Castañero, León, en terreno profundo y fresco. El "avellano" del que procede esta rama se encuentra aislado de otros de su especie.



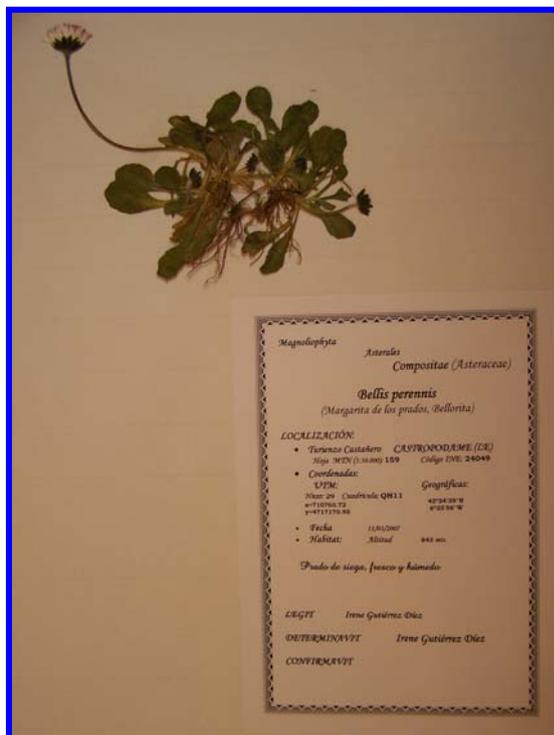
División: *Pteridophyta*

Orden: *Polypodiales*

Familia: *Blechnaceae*

Especie: *Blechnum spicant* (L.) Roth.

Este helecho fue recolectado en Turienzo Castañero (León), en sotobosque sombrío, bastante húmedo, en una zona que eventualmente se encharca.



División: *Magnoliophyta*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae (Compositae)*

Especie: *Bellis perennis* L.

Igualmente, en Turienzo Castañero (León), esta "margarita de los prados" o "bellorita" fue recogida en un prado de siega, regado con frecuencia y situado en un lugar bastante fresco.



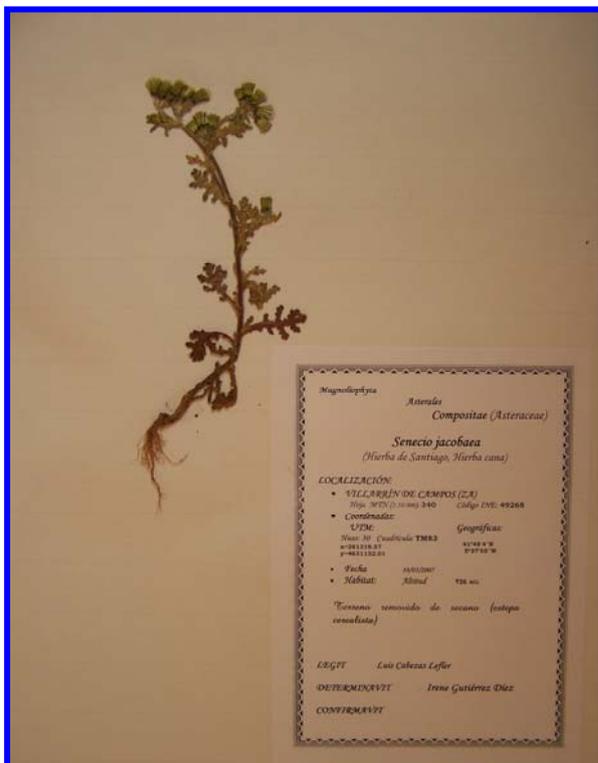
División: *Magnoliophyta*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae (Compositae)*

Especie: *Coleostephus myconis* (L.) Reich.

La "giralda", "pampullo" o "herba brava", fue recogida a las orillas del embalse de Zamáns (Vigo, Pontevedra), junto a un pequeño prado, en zona húmeda, poco soleada.



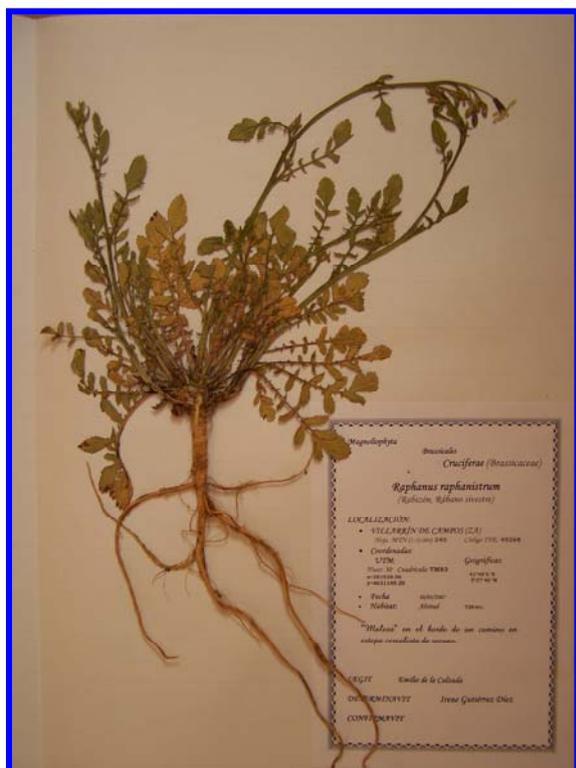
División: *Magnoliophyta*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae (Compositae)*

Especie: *Senecio jacobaea* L.

Esta "hierba de Santiago" o "hierba cana" fue recogida por Luis Cabezas Lefler, en Villarrín de Campos (Zamora), en terreno removido de secano (estepa cerealifera).



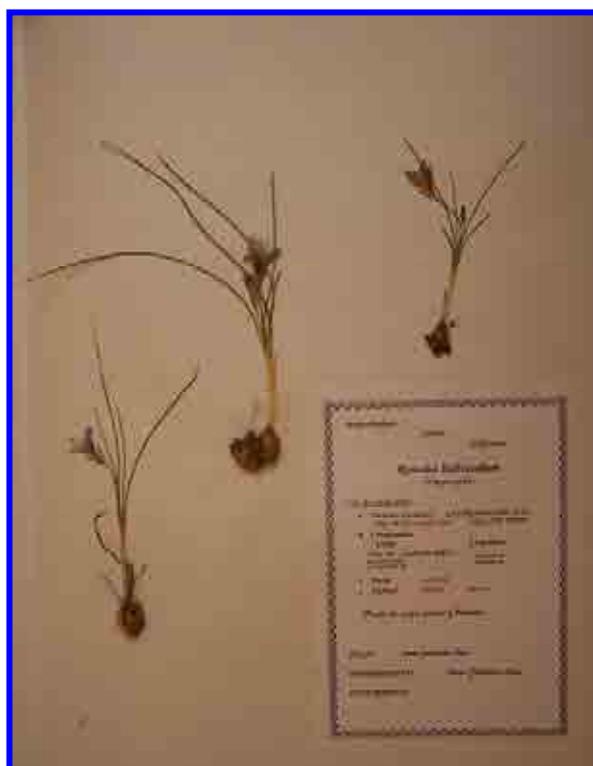
División: *Magnoliophyta*

Orden: *Brassicales*

Familia: *Brassicaceae (Cruciferae)*

Especie: *Raphanus raphanistrum* L.

Recogido por Emilio de la Calzada Lorenzo, este "rabizón" o "rábano silvestre", en Villarrín de Campos (Zamora), se encontraba entre la maleza, en borde de camino, al lado de una estepa cerealifera de secano.



División: *Magnoliophyta*

Orden: *Liliales*

Familia: *Liliaceae*

Especie: *Romulea bulbocodium* S. et M.

Conocida como "pimpirigallo", fue recogida en un prado de siega, regado con frecuencia y situado en lugar bastante fresco, en Turienzo Castañero (León)



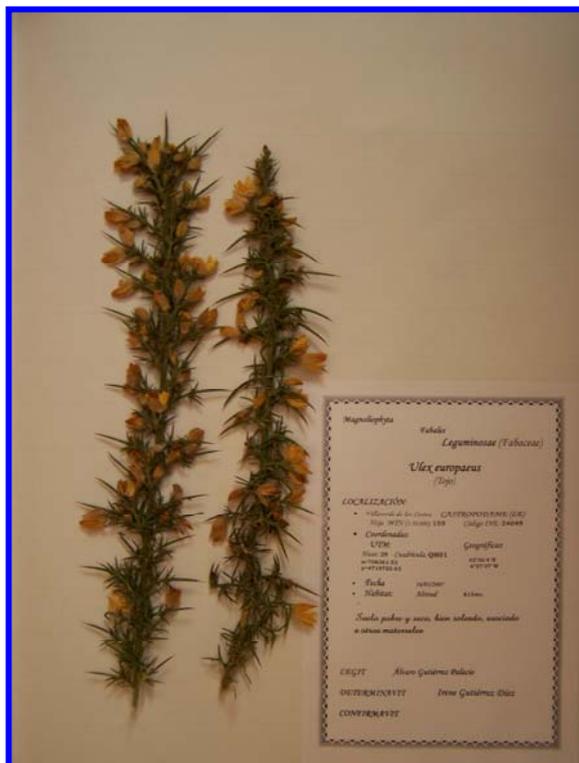
División: *Magnoliophyta*

Orden: *Fabales*

Familia: *Fabaceae (Leguminosae)*

Especie: *Acacia dealbata* Link.

Esta rama de “mimosa” fue recogida de un ejemplar que se encontraba en un erial de secano, bastante soleado, en Turienzo Castañero (León).



División: *Magnoliophyta*

Orden: *Fabales*

Familia: *Fabaceae (Leguminosae)*

Especie: *Ulex europaeus* L.

Este “tojo” fue recogido por Álvaro Gutiérrez Palacio, en Villaverde de los Cestos (León), en terreno bien soleado, de suelo pobre y asociado a otros matorrales.

Pese a lo laborioso de la elaboración, hacer el herbario me resultó una actividad plenamente gratificante, dado que me ha puesto en contacto directo con la naturaleza, me ha ofrecido la posibilidad de recorrer las montañas bercianas y algunos parajes cercanos a nuestra universidad, con calma y tranquilidad, y además, me ha obligado a observar las diferentes plantas que podía encontrarme en cada una de las zonas.

En la recogida de las plantas me han ayudado diversas personas (mis padres, mis profesores de Bachillerato...), por lo que, para reconocer su tarea y su colaboración, he seleccionado una de las plantas que recogieron cada uno de ellos para mostrarlas en este artículo. Además, he elegido al menos una planta de cada zona en la que realicé la recogida, predominando las de la región del Bierzo puesto que es mi lugar de origen y dónde he realizado la mayor parte de las recolecciones.

ALGUNAS REFERENCIAS RELACIONADAS

ACEDO, C. 2004-2007. *El herbario digital* (Botánica en la web) in <http://www3.unileon.es/personal/wwdbvcac/index.htm>. Universidad de León

ARBO, M.M. y GONZÁLEZ, A. M. 2002. *Morfología de plantas vasculares* (Programa 2002) in <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema1/1-1clasifi.htm>. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina

CASTROVIEJO, S. (dir.). 2005. *Anthos* in <http://www.anthos.es/v21/index.php?page=intro>. Real Jardín Botánico de Madrid (CSIC) y Ministerio de Medio Ambiente. Madrid

CNICE. 2007. *El reino vegetal. Claves para su comprensión* in <http://w3.cnice.mec.es/eos/MaterialesEducativos/primaria/conocimiento/reinovegetal/>. Ministerio de Educación y Ciencia. Madrid

CASTROVIEJO, S. (coord.). 2007. *Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares* in <http://www.rjb.csic.es/floraiberica/index.php>. Real Jardín Botánico de Madrid (CSIC).

DÍAZ GONZÁLEZ, T.E. y FERNÁNDEZ-CARVAJAL ÁLVAREZ, M.C. 2007. *Herbario virtual del alumno* in <http://www.uniovi.es/bos/Asignaturas/Herbario20Virtual/Herbario20Virtual.htm> Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Universidad de Oviedo.

GEOTECA. 2007. *Mapa Topográfico Nacional 1:50.000* in http://www.uam.es/docencia/geoteca/MTN/MTN50mil_GEOteca-.pdf. Universidad Autónoma de Madrid.

GOOGLE EARTH. 2007. *Buscador cartográfico*. Europa Technologies. Mountain View (California)

LORENZO FERNÁNDEZ, S. 2000. *A vida nos ríos galegos* in <http://centros.edu.xunta.es/iesasagoas/slorenf/vidario0.htm>. IES As Lagoas. Ourense.

MENÉNDEZ VALDERREY, J.L., OLIVERO PÉREZ, J., FERNÁNDEZ, R.R., RUBIO, E., LORENZO CORCHÓN, A. 2004-2007. *Asturnatura.com. Naturaleza Cantábrica* in <http://www.asturnatura.com/index.php>.

MORALES, J. 2002-2007. *Infojardín (Fichas de Plantas)* in <http://articulos.infojardin.com/plantas/plantas.htm>.

ÁLBUM FOTOGRÁFICO DE ZOOLOGÍA

**D. ALONSO MUÑOZ; T. BALLESTEROS OTERO; L. CERDEIRA TORRES; S. FERNÁNDEZ
FILGUEIRA; B. LAGOA COSTA; M. MACEIRA CAMPOS; C. NAVAS REINA; L. PATIÑO
ÁLVAREZ; G. RODRÍGUEZ FONTÁN & U. VILLANUEVA GONZÁLEZ.**

stamoscrazy@hotmail.com, tballesteros@alumnos.uvigo.es, lucerdeira@alumnos.uvigo.es, sabas30@hotmail.com, b-
lagoa-c28@hotmail.com, mmaceira@alumnos.uvigo.es, cnavas@alumnos.uvigo.es, luciapatino17@hotmail.com,
gurodriguez@alumnos.uvigo.es, uvillanueva@alumnos.uvigo.es.

Alumnos 1º de Biología, Materia: Zooloxía (2007-2008).

Universidade de Vigo. Profesoras: Fuencisla Mariño Callejo, Mª Jesús Iglesias Briones

INTRODUCCIÓN

Desde el curso académico 2006-2007 se les viene solicitando a los alumnos que cursan 1º de Biología un álbum fotográfico como actividad obligatoria dentro de la guía docente de la asignatura de Zoología. La idea de partida de esta actividad surgió para completar la formación adquirida durante las clases prácticas y como alternativa a la tradicional colección que suponía, en muchas ocasiones, una recolección indiscriminada de material con el consiguiente efecto negativo para el medio ambiente. En la actualidad la disponibilidad de sistemas de adquisición de imágenes digitales es enorme y al alcance de todos los estudiantes por lo que no supone un esfuerzo económico para ellos. Pero, además, este tipo de

actividades promueve que el alumno entre en contacto directo con el medio natural, los sectores productivos, los museos y zoológicos y se favorezca el desarrollo de su capacidad de observación. De todos los álbumes presentados por los alumnos, se han seleccionado algunas fotografías donde se incluye, en cada una de ellas, una pequeña ficha con los distintos taxones a los que pertenece la especie, el lugar de recolección y el nombre del autor.



Mejillón

Filo: *Mollusca*

Orden: *Mytiloida*

Clase: *Bivalvia*

Familia: *Mytilidae*

Subclase: *Lamellibranchia*

Género: *Mytilus*

Superorden: *Filibranchia*

Especie: *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819

Foto realizada en un supermercado

Autor: Daniel Alonso Muñoz



Delfín mular

Filo: *Chordata*

Orden: *Cetacea*

Subfilo: *Vertebrata*

Suborden: *Odontoceti*

Clase: *Mammalia*

Familia: *Delphinidae*

Subclase: *Theria*

Género: *Tursiops*

Infraclasse: *Eutheria*

Especie: *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)

Foto realizada en el Oceanográfico de Valencia

Autora: Tania Ballesteros Otero



Quilópodo

Filo: *Arthropoda*

Subfilo: *Myriapoda*

Clase: *Chilopoda*

Foto realizada en el Campus de Vigo

Autora: Lúa Cerdeira Torres



Lamprea

Filo: *Chordata*

Familia: *Petromyzontidae*

Subfilo: *Vertebrata*

Género: *Petromyzon*

Clase: *Cephalaspidomorpha*

Especie: *Petromyzon marinus* Linnaeus, 1758

Orden: *Petromyzontiformes*

Foto realizada en el Acuario de La Coruña

Autor: Sabas Fernández Filgueira



Percebe

Filo: *Arthropoda*

Superorden: *Thoracica*

Subfilo: *Crustacea*

Orden: *Pedunculata*

Clase: *Maxillopoda*

Familia: *Scalpellidae*

Subclase: *Thecostraca*

Género: *Pollicipes*

Infraclase: *Cirripedia*

Especie: *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1789)

Foto realizada en la lonja de Cangas do Morrazo

Autor: Borja Lagoa Costa



Calamar

Filo: *Mollusca*

Familia: *Loliginidae*

Clase: *Cephalopoda*

Género: *Loligo* Lamarck, 1798

Subclase: *Coleoidea*

Especie: *Loligo sp.*

Orden: *Teuthoidea*

Foto realizada en un supermercado

Autora: Melodie Maceira Campos



Zapatero

Filo: *Arthropoda*

Orden: *Hemiptera*

Subfilo: *Hexapoda*

Suborden: *Heteroptera*

Clase: *Insecta*

Infraorden: *Gerromorpha*

Subclase: *Pterygota*

Superfamilia: *Gerroidea*

Infraclase: *Neoptera*

Familia: *Gerridae*

Foto realizada en el campo

Autora: Guadalupe Rodríguez Fontán



Caracol

Filo: *Mollusca*

Familia: *Helicidae*

Clase: *Gastropoda*

Género: *Helix*

Subclase: *Pulmonata*

Especie: *Helix aspersa* Muller, 1774

Orden: *Stylommatophora*

Foto realizada en una finca en Tomiño

Autora: Lucía Patiño Álvarez



Ciervo volante

Filo: *Arthropoda*

Orden: *Coleoptera*

Subfilo: *Hexapoda*

Familia: *Lucanidae*

Clase: *Insecta*

Género: *Lucanus*

Subclase: *Pterygota*

Especie: *Lucanus cervus*

Infraclase: *Neoptera*

Foto realizada en Nerga

Autor: Uxía Villanueva González

Lince



Filo: *Chordata*

Orden: *Carnivora*

Subfilo: *Vertebrata*

Familia: *Felidae*

Clase: *Mammalia*

Género: *Lynx*

Subclase: *Theria*

Especie: *Lynx lynx* (Linnaeus, 1758)

Infraclase: *Eutheria*

Foto realizada en el Zoo de Vigo

Autora: Cristina Navas Reina

REBIO

Gnathostomosis: Una enfermedad parasitaria. N. Carballo Fernández, G. Pousada Fernández & T. Troncoso Sobrino -----	11
Genética del envejecimiento. G. Pousada Fernández; M. P. Selas Canga & T. Troncoso Sobrino -----	19
Combinaciones de células de timo y médula: sinergia en la producción de anticuerpos. G. Pousada Fernández; N. Carballo Fernández & O. Mariño Crespo -----	27
Detección de GMOs en alimentos. E. González Fernández; I. Blanco García; L. Andrey López; B. García Fraga; O. Sánchez Conde & T. Vila Vila-----	35
As algas como bioindicadores de contaminación. V. Asensio Fandiño & M. C. Fernández Lago -----	41
Estudio das comunidades de macroinvertebrados bentónicos dos ecosistemas fluviais galegos cunha zona léntica no seu cauce. P. González Porto & M. C. Fernández Lago -----	49
Micropropagación vegetal. L. Martínez Núñez & J. Gago Mariño -----	59
Relaciones filogenéticas entre algas y plantas vasculares. J. M. Sánchez Robles & L. Torres Muros -----	67
Herbario de plantas vasculares. Irene Gutiérrez Díez-----	77
Álbum fotográfico de zoología. D. Alonso Muñoz; T. Ballesteros Otero; L. Cerdeira Torres; S. Fernández Filgueira; B. Lagoa Costa; M. Maceira Campos; C. Navas Reina; L. Patiño Álvarez; G. Rodríguez Fontán & U. Villanueva González. -----	85