

Antonio J. Sarsa Rubio (Eds)

**Excelencia investigadora
para los desafíos del futuro**

V Congreso Científico de
Investigadores Noveles



UCOPress

Editorial Universidad de Córdoba

Excelencia investigadora para los desafíos del futuro

Edición a cargo de
Antonio J. Sarsa Rubio

UCOPress
Editorial Universidad de Córdoba

Excelencia investigadora para los desafíos del futuro. Editado por Antonio J. Sarsa Rubio. – Córdoba: UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba, 2021.

ISBN: 978-84-9927-614-4

Edita: UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba.

UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba

Campus Universitario de Rabanales

Ctra. Nacional IV, km. 396

14071 – Córdoba, España

Con la colaboración de la Unidad de Cultura Científica y de la Innovación

Comité editorial: Pedro Ruiz Pérez, Eduardo Collantes Estévez, María Ángeles Alonso Moraga, Aurora Galván Cejudo, Manuel Izquierdo Carrasco y Vidal Barrón López de Torre

<http://www.uco.es/ucopress>

ucopress@uco.es

ISBN: 978-84-9927-614-4

© UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba

© Los autores

© Los editores



Esta publicación se encuentra bajo una licencia internacional Creative Commons BY-NC-SA 4.0. Puede copiar, distribuir, adaptar y crear obras derivadas de este contenido, siempre y cuando le atribuya la autoría original y no utilice esta obra con fines comerciales. Las obras derivadas también deben estar bajo una licencia similar.

Prólogo

El comienzo de algo nuevo viene acompañado de sensaciones de ilusión, esperanza e incertidumbre. Cuanto más cuando nos encontramos con un grupo de jóvenes universitarios a punto de finalizar sus grados y másteres que se inician en el mundo de la investigación. Las diferentes fases de una carrera profesional están jalonadas por hitos que marcan transiciones entre las diferentes etapas, que simbolizan pasos adelante, como así pretenden representar estas páginas donde se recogen las primeras contribuciones a la Ciencia de un elegido grupo de estudiantes de la Universidad de Córdoba.

El conocimiento, su desarrollo y aplicaciones están cada vez más presentes en la sociedad, que va cambiando cada vez más rápidamente, adaptándose a la llegada de nuevos avances tecnológicos. En un mundo de personas cada vez más especializadas, pero a la vez más interconectadas, es necesario avanzar en todos los ámbitos del saber. En este paradigma, la misión de la Universidad no es únicamente recoger, transmitir y generar el conocimiento, sino también enseñar a las nuevas generaciones como se avanza en las fronteras del saber y como se aplican los resultados a paliar los problemas actuales o a generar nuevas oportunidades de desarrollo.

A investigar se aprende investigando, por lo que es necesario que nuestros jóvenes más brillantes y motivados entren en contacto con los grupos de investigación de la universidad y vayan asimilando las dosis de trabajo sistemático, rigor, originalidad, utilidad y belleza inherentes a la actividad científica. La Universidad de Córdoba cuenta con grupos de investigación de primer nivel internacional y con estudiantes con grandes capacidades e interés por el mundo de la ciencia, que es necesario conectar. Es competencia de las instituciones universitarias el facilitar la interacción entre ambos haciendo uso de las herramientas de las que dispone en su Plan Propio de Investigación, fomentando la integración temporal de alumnos en grupos de investigación y

organizando un congreso en el que aquellos puedan presentar y debatir sus primeros resultados científicos y, cómo no, verlos publicados.

Los trabajos de este volumen pertenecen a las diferentes ramas del saber, todas ellas cultivadas de manera excelente en nuestra institución, presentan el denominador común de la ilusión por el trabajo bien hecho y la consecución de resultados de interés para la comunidad científica y la sociedad.

La investigación es una de las señas de identidad de la Universidad de Córdoba y por ello es nuestra misión mantener el nivel de calidad alcanzado y, a ser posible, mejorarlo. En este contexto se sitúa esta iniciativa que pretende generar buena tierra para que el talento de nuestros estudiantes, como las semillas de mostaza, pueda crecer y desarrollarse dando buenos frutos. Los diferentes trabajos que, tanto en la presente como en pasadas ediciones se han presentado, nos inspiran la confianza de que así será.

Córdoba, mayo de 2021

Antonio J. Sarsa Rubio

Coordinador de Investigación

Índice

Ciencias Exactas y Naturales

- Capítulo 1. Aditivos para el tratamiento de la corrosión en el hormigón basados en Hidrotalcitas 7
- Capítulo 2. Preparación de modelos biomiméticos tipo hidrogenasa sobre materiales basados en grafeno 11
- Capítulo 3. Palillos de madera recubiertos de nylon-6 acoplados a espectrometría de masas, una alternativa para la determinación de drogas de abuso en saliva 15
- Capítulo 4. Utilización de biocápsulas deshidratadas para su uso en fermentación alcohólica 18
- Capítulo 5. Estudio de la homeostasis del cobre en *Fusarium oxysporum* 22
- Capítulo 6. Nanopartículas de óxidos de Sn preparadas por descomposición térmica de complejos de Sn con el ligando oleato: síntesis, caracterización y aplicación como electrodo en baterías Li-ion 26
- Capítulo 7. Estudio de metaanálisis sobre el efecto antimicrobiano de la aplicación de aceites esenciales en alimentos 30

Humanidades

- Capítulo 8. La restauración historicista en la ciudad de Córdoba 34
- Capítulo 9. “El documental creativo. Principales teorías, sus autores y aportes” 39
- Capítulo 10. El Pantheon del Sol: Reconstrucción digital de los emblemas del catafalco toledano de Luis I (1724) 43

Ingeniería y tecnología

- Capítulo 11. Efecto de la raza no patogénica de *Fusarium oxysporum* (Fo12) sobre la nutrición férrica en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) y de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) 49
- Capítulo 12. Control del movimiento de un heliostato de un solo eje 54

Salud

- Capítulo 13. Aplicación del análisis del volatiloма al diagnóstico de la infección por micobacterias en ganadería 58
- Capítulo 14. Estudio seroepidemiológico de paratuberculosis en ovino y caprino en Andalucía 63
- Capítulo 15. Estudio de alteraciones en mecanismos de regulación de la expresión génica en Adenocarcinoma Ductal de Páncreas 67
- Capítulo 16. Modificaciones ultraestructurales y metabólicas en riñón de ratones de edad avanzada que sobreexpresan citocromo b5 reductasa 3 70

Ciencias Exactas y Naturales

Capítulo 1. Aditivos para el tratamiento de la corrosión en el hormigón basados en Hidrotalcitas

David Caballero Armenteros

*Universidad de Córdoba. Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química.
Facultad /Escuela de Ciencias.*

E-mail: davidcaballerou@gmail.com

Resumen

Este trabajo se ha ocupado de estudiar el comportamiento de los hidróxidos dobles laminares como aditivos funcionales a emplear en materiales de base cemento, sustentado en el enorme impacto socioeconómico que produce el deterioro de estos materiales debido a procesos corrosivos. De este modo, se ha optimizado la respuesta de estos compuestos laminares ante la corrosión inducida por cloruros mediante diversas vías.

Primero, escogiendo el tamaño de partícula y la dosis más adecuada, debido a que una sobredosificación puede tener efectos negativos. Posteriormente, se ha elegido inhibidor a incorporar en HDL, tanto por su influencia sobre las propiedades del hormigón como por su eficacia a la hora de inhibir la corrosión.

Una vez establecidos todos los parámetros de interés, se ha propuesto una ruta de síntesis para alcanzar el producto deseado, además de distintos métodos para caracterizarlo (DRX y FT-IR). Por último, se ha evaluado la eficacia del HDL propuesto para combatir la corrosión mediante ensayos tales como medidas electroquímicas o la estimación del coeficiente de difusión de los cloruros en la matriz cementosa.

Fundamento y presentación de resultados

Este estudio se fundamenta en una propiedad de interés que presentan las hidrotalcitas, que consiste en la capacidad de intercambio aniónico. Esta característica se basa principalmente en la estructura de dichos compuestos, formada por láminas que contienen cationes divalentes y trivalentes (magnesio y aluminio, por ejemplo). El aluminio, presente en las láminas mediante sustituciones isomórficas del catión divalente origina una carga positiva neta, que será compensada por aniones en el espacio interlaminar, también ocupado por moléculas de agua. Su propiedad de intercambio aniónico implica que, si estos compuestos laminares se introducen en un medio que presente aniones cloruro (responsables de la corrosión inducida por cloruros), estos pueden intercambiarse por los que ya estaban presentes en la hidrotalcita, quedando así retenidos y retardando la corrosión [1,2].

La corrosión inducida por cloruros se da lugar cuando dichos aniones se acumulan en la interfase acero-hormigón a una concentración determinada. Por debajo de dicha concentración el proceso corrosivo sencillamente no ocurre. Por tanto, capturando los cloruros en las hidrotalcitas se puede retardar la aparición de la corrosión. Otro aspecto de interés radica en que estos compuestos laminares se pueden modificar para

incorporar en su estructura inhibidores de corrosión (como p-AB), que serían liberados cuando la hidrotalcita capturara los aniones cloruro, mitigando aún más dichos efectos corrosivos [1].

Por tanto, este trabajo ha consistido en sintetizar una hidrotalcita, caracterizarla, y comprobar que es eficaz en estos tratamientos anticorrosivos que se presentan en las barras de acero embebidas en el hormigón. Para la síntesis se empleó el método de coprecipitación, con el que se obtiene la hidrotalcita de carbonato (Mg_2Al-CO_3). Posteriormente se calcina el compuesto con lo que pierde su estructura laminar y los aniones interlaminares. Finalmente, se rehidrata en presencia del anión inhibidor de corrosión de interés, en este caso p-aminobenzoato (pAB). Las condiciones de la síntesis pueden influir en el tamaño de partícula obtenido, siendo este de especial importancia, ya que influye tanto en las propiedades mecánicas del hormigón como en la eficacia contra la corrosión [3, 4].

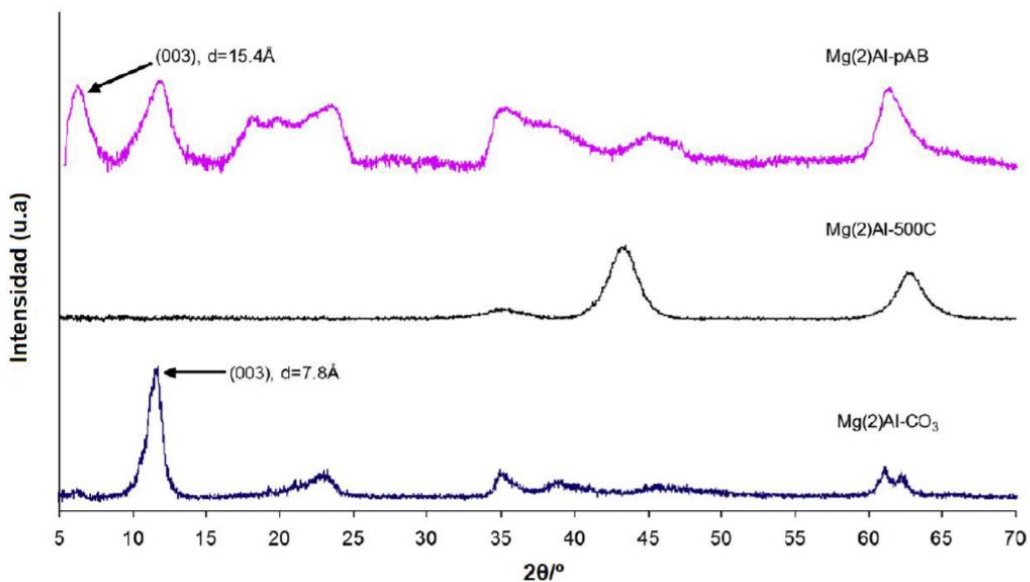


Figura 1. Difractogramas de rayos X de los distintos tipos de hidrotalcitas obtenidas

En la Figura 1 se muestran los difractogramas obtenidos para distintos tipos de hidrotalcitas mediante rayos X, una técnica muy empleada en la caracterización de HDL. El difractograma inferior representa los resultados obtenidos para una hidrotalcita de carbonato, y su pico basal indica la existencia de láminas (con un espaciado interlaminares de 7,8 Å). En el central, el pico basal se pierde debido a la pérdida de su estructura laminar debido a la calcinación. Finalmente, en el superior se puede observar que el pico basal ahora indica un espaciado interlaminares de 15,4 Å, debido a que los aniones aminobenzoato son más voluminosos que los carbonato. La presencia del mismo pico que en el gráfico inferior sugiere que no todo el carbonato se ha desplazado por parte de este nuevo anión [5, 6, 7].

En la Figura 2 se muestran las diferentes isothermas de adsorción a las que se pueden ajustar los datos experimentales del ensayo en disolución. El fundamento consiste en

poner en contacto una cantidad determinada de hidrotalcita con una disolución que contiene aniones cloruros. La hidrotalcita irá captando dichos aniones por su propiedad de intercambio aniónico, por lo que la concentración de cloruros en disolución, medida mediante un electrodo selectivo, decaerá. Dicho ensayo tiene por objetivo comprobar la capacidad de intercambio aniónico de la hidrotalcita entre el inhibidor incorporado en su estructura (p-aminobenzoato) y los aniones que se desean retener debido a su actividad corrosiva (cloruros). Además, permite cuantificar la cantidad máxima de cloruro que puede captar dicha hidrotalcita por unidad de peso [3].

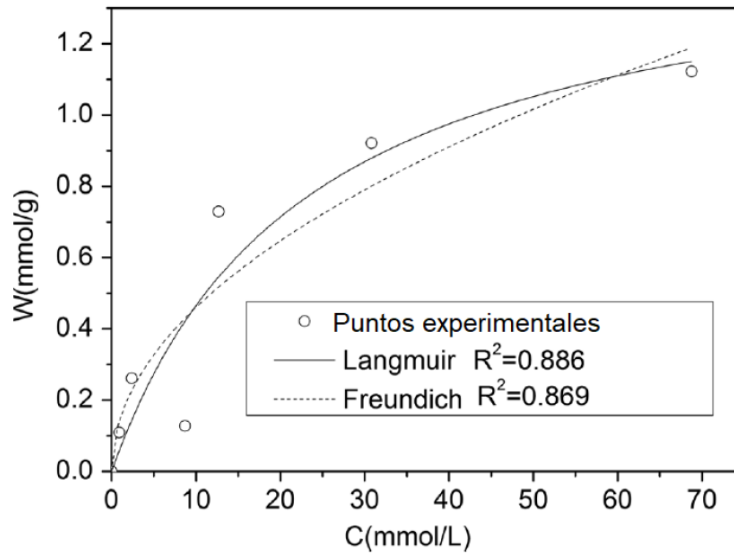


Figura 2. Isoterma de adsorción de los aniones cloruros sobre una hidrotalcita ($Mg_2Al-pAB$)

Finalmente cabe destacar que la adición de estos compuestos modifica las propiedades mecánicas del hormigón. Algunos parámetros que influyen son el tipo de hidrotalcita, el inhibidor escogido, el tamaño de partícula, y especialmente, la dosificación. Por debajo de dosis del 2% en peso no hay efectos negativos en las propiedades del hormigón, e incluso se llegan a apreciar mejoras en ensayos de resistencia a la compresión y la flexión. Por tanto, esta dosis ofrece un excelente compromiso entre propiedades mecánicas y eficacia frente a la corrosión.

Bibliografía

- [1] Mir, Z. M., Bastos, A., Höche, D., y Zheludkevich, M. L. (2020). *Recent Advances on the Application of Layered Double Hydroxides in Concrete — A Review*. Material, 13(6), p. 1426.
- [2] Justnes, H. (1997). *A Review of Chloride Binding in Cementitious Systems*. Nord. Concr. Res. Publ., 21, pp. 1-6.
- [3] Chi, L., Wang, Z., Zhou, Y., Lu, S., y Yao, Y. (2018). *Layered Double Hydroxides Precursor as Chloride Inhibitor: Synthesis, Characterization, Assessment of Chloride Adsorption Performance*. Materials, 11(12), p. 2537.
- [4] Qu, Z. Y., Yu, Q. L., y Brouwers, H. J. H. (2018). *Relationship between the particle size and dosage of LDHs and concrete resistance against chloride ingress*. Cement and Concrete Research, 105, pp. 81–90.

- [5] *The effect of two types of modified Mg-Al hydrotalcites on reinforcement corrosion in cement mortar*. *Cement and Concrete Research*, 100, pp. 186–202.
- [6] Yang, Z., Fischer, H., Cerezo, J., Mol, J. M. C., y Polder, R. (2013). Aminobenzoate modified MgAl hydrotalcites as a novel smart additive of reinforced concrete for anticorrosion applications. *Construction and Building Materials*, 47, pp. 1436–1443.
- [7] Xu, J., Song, Y., Tan, Q., y Jiang, L. (2017). Chloride absorption by nitrate, nitrite and aminobenzoate intercalated layered double hydroxides. *Journal of Materials Science*, 52(10), pp. 5908–5916.

Capítulo 2. Preparación de modelos biomiméticos tipo hidrogenasa sobre materiales basados en grafeno

Dolores Gil Gavilán*, Dolores Esquivel, Francisco J. Romero Salguero

Universidad de Córdoba. Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias.

Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie, 14071 Córdoba, España.

*E-mail: g52gigad@uco.es

Resumen

El grafeno es un material novedoso que presenta propiedades singulares que lo hacen particularmente interesante en diversas aplicaciones como dispositivos eléctricos, sensores y catalizadores, entre otras. Además, para su aplicación en algunas áreas, la estructura grafénica debe ser modificada. El grafeno funcionalizado con un modelo [FeFe]-hidrogenasa podría utilizarse como fotocatalizador para la producción de hidrógeno. Estos sistemas biomiméticos serían de gran interés, pues no necesitarían platino, un metal escaso y caro. El hidrógeno podría reemplazar los combustibles fósiles, siendo un portador de energía que se generaría rompiendo agua fotoquímicamente.

En este trabajo se han sintetizado dos tipos de materiales basados en grafeno, unos de tipo óxido grafítico (GO) y otros denominados puntos cuánticos (*quantum dots*) de grafeno (GQD), ambos funcionalizados con grupos tioles (GOSH y GQDSH, respectivamente). La incorporación de complejos de hierro en estos materiales ha permitido la formación de los respectivos materiales híbridos biomiméticos GOSFe y GQDSFe. Todos los materiales sintetizados han sido caracterizados mediante diversas técnicas, lo que ha permitido proponer sistemas fotocatalíticos basados en el modelo [FeFe]-hidrogenasa para producción de hidrógeno en un futuro.

Fundamento y presentación de resultados

La modificación de la estructura grafénica es de gran relevancia para aplicaciones como catálisis [1]. La funcionalización de estos materiales con grupos tioles es muy interesante ya que mejora las propiedades fisicoquímicas, el área superficial y la interacción covalente con metales, entre otras. Dicha incorporación se consigue de forma controlada y selectiva mediante una reacción de monotiolación utilizando tiourea como reactivo [2].

El enfoque biomimético que utilizan los sitios activos de catalizadores basados en modelos [FeFe]-hidrogenasa en la producción de hidrógeno ha recibido gran atención ya que las enzimas catalizan dicha reacción con altos rendimientos [3].

La caracterización de los materiales basados en GO se estudió mediante Espectroscopía Raman (Figura 1). La relación de intensidades de las bandas D/G reveló un aumento de desorden en la estructura tras la funcionalización con grupos tioles [2]. Sin embargo, los materiales GOSH y GOSFe presentaron semejante desorden estructural.

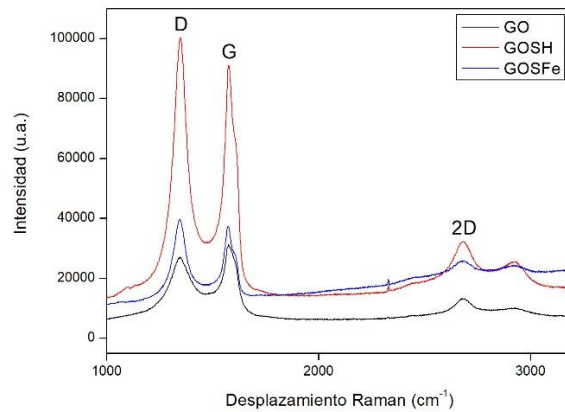


Figura 1. Espectros Raman de GO, GOSH y GOSFe

Mediante XPS se comprobó la presencia de grupos tioles en GOSH tras la reacción de monotiolación (Figura 2) [2]. Además, se confirmó el anclaje de hierro en la estructura obteniéndose una banda centrada a 711 eV en el espectro XPS Fe2p (Figura 3) [3]. La inserción de grupos tioles en la estructura de GOSH se confirmó mediante Análisis Elemental con el que se obtuvo un valor de 4.9 %S. Por otro lado, la cantidad de hierro en el material se cuantificó mediante ICP-MS obteniéndose 0.82 mmol de Fe/g de material.

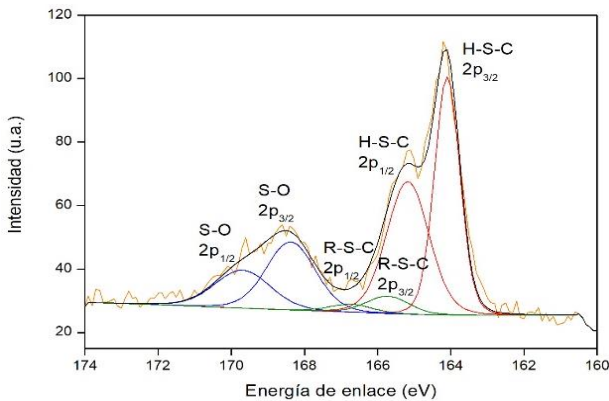


Figura 2. Espectro XPS S2p de GOSH

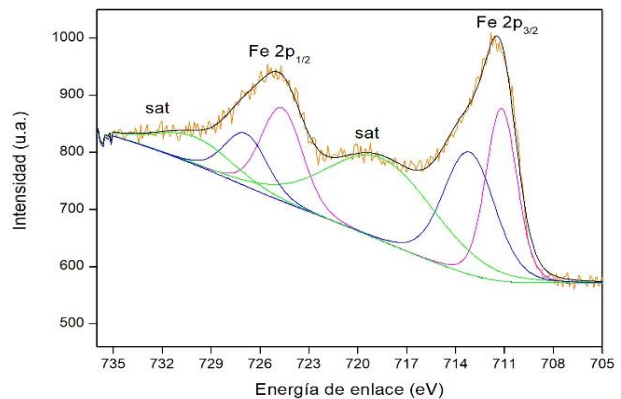


Figura 3. Espectro XPS Fe2p de GOSFe

La caracterización de los materiales basados en GQD se abordó mediante FTIR (Figuras 4 y 5). Los resultados confirmaron la presencia de dobles enlaces en las estructuras, así como la de grupos tioles en GQDSH. También se puso de manifiesto la presencia de grupos ácido carboxílico y grupos hidroxilo. La introducción de grupos tioles en la estructura pareció haber producido la transformación de grupos ácido carboxílico, puesto que se modificó la absorción en la zona de 3000 cm^{-1} y desapareció la vibración de tensión del grupo carbonilo.

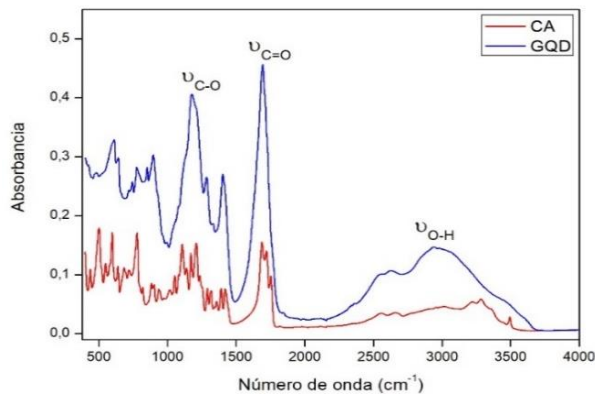


Figura 4. Espectros FTIR de ácido cítrico y G

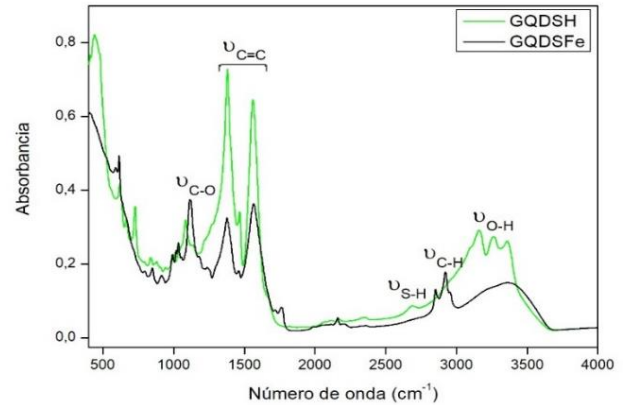


Figura 5. Espectros FTIR de GQDSH y GQDSFe

La presencia de grupos tioles en GQDSH tras la reacción de monotiolación se confirmó mediante XPS (Figura 6) [2], al igual que el anclaje de hierro (Figura 7) [3]. Las medidas de Análisis Elemental e ICP-MS dieron valores de 7.8 %S y 1.59 mmol de Fe/g de material.

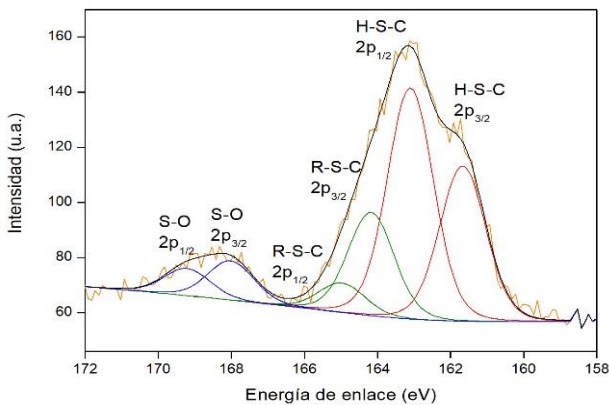


Figura 6. Espectro XPS S2p de GQDSH

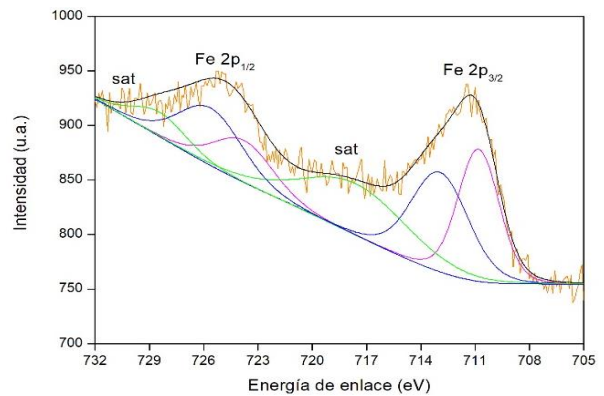


Figura 7. Espectro XPS Fe2p de GQDSFe

El sistema fotocatalítico propuesto se observa en la Figura 8. En presencia de ascorbato y luz solar, el complejo de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ se reduciría a $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^+$. El complejo de Ru reducido con el catalizador (GOSFe o GQDSFe) daría lugar al catalizador de Fe reducido. Por último, el catalizador de Fe reducido en presencia de H^+ generaría H_2 [4].

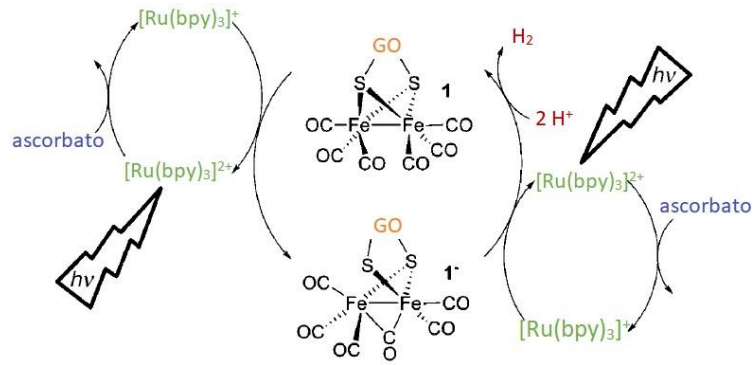


Figura 8. Ciclo catalítico para la reducción fotoquímica de protones

Bibliografía

- [1] L. Feng, Z. Qin, Y. Huang, K. Peng, F. Wang, Y. Yan & Y. Chen. Boron, sulfur, and phosphorusdoped Graphene for environmental applications. *Science of The Total Environment*, 698, 134239-134257, (2020).
- [2] A. Munir, T. U. Haq, A. Qurashi, U. H. Rehman, A. Ul-Hamid, & I. Hussain. Ultrasmall Ni/NiO nanoclusters on thiol-functionalized and exfoliated graphene oxide nanosheets for durable oxygen evolution reaction. *ACS Applied Energy Materials*, 2, 363-371, (2018).
- [3] D. Streich, Y. Astuti, M. Orlandi, L. Schwartz, R. Lomoth, L. Hammarström & S. Ott. High Turnover Photochemical Hydrogen Production Catalyzed by a Model Complex of the FeFe Hydrogenase Active Site. *Chemistry-A European Journal*, 16, 60-63, (2010).
- [4] M. E. Ahmed, S. Dey, B. Mondal & A. Dey. H₂ evolution catalyzed by a FeFe hydrogenase synthetic model covalently attached to graphite surfaces. *Chemical Communications*, 53, 8188-8191, (2017).

Capítulo 3. Palillos de madera recubiertos de nylon-6 acoplados a espectrometría de masas, una alternativa para la determinación de drogas de abuso en saliva

Jaime Millán Santiago, María Teresa García Valverde, Rafael Lucena, Soledad Cárdenas

Universidad de Córdoba. Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias.

Edificio Marie Curie (Anexo), Campus de Rabanales, Córdoba

E-mail: q52misaj@uco.es

Resumen

Durante el desarrollo de este trabajo, se han utilizado palillos de madera recubiertos de nylon-6 para la determinación de diferentes drogas de abuso, concretamente metadona, cocaína y metanfetamina, en muestras de saliva mediante infusión directa acoplada a espectrometría de masas. Se realizó un análisis multivariante para optimizar las variables que afectan significativamente al proceso de extracción, a saber: tiempo de extracción, dilución de la muestra y número de dips. Los valores óptimos obtenidos fueron 45 minutos de extracción, una dilución de la muestra de 1:4 y 2 dips. El método permite el análisis simultáneo de las muestras, proporcionando una frecuencia de análisis de 22 muestras/hora. El método analítico se validó en términos de LOD, LOQ, rango lineal, exactitud y precisión. Se compararon los LODs obtenidos con los valores umbral recogidos en la Normativa Europea DRUID. El método planteado es válido para la detección de casos positivos en tests de drogas.

Fundamento y presentación de resultados

Durante los últimos años, la madera ha cobrado importancia en el ámbito de la microextracción. El formato más utilizado son los palillos de madera debido a su alta porosidad, elevada rigidez, bajo precio y numerosos grupos -OH superficiales que permiten su modificación química. Los palillos de madera se han utilizado en dos modalidades en microextracción: como *fase sorbente* realizando las etapas de acondicionamiento, extracción y elución y como *sustrato* en el que se deposita la muestra para su posterior análisis [1,2].

Los palillos se recubrieron con nylon-6 (3% p/v en ácido fórmico) mediante la técnica dip-coating [3]. El recubrimiento permite introducir interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno entre el sorbente y los analitos, mejorando la limitada capacidad de extracción de los palillos sin recubrir.

El proceso de extracción consistió en el tratamiento de 1,5 mL de saliva a pH 10 en viales de HPLC. Las etapas de extracción, lavado y elución se llevaron a cabo en un agitador orbital de manera simultánea para todas las muestras. Los extractos se analizaron por infusión directa acoplada a espectrometría de masas, permitiendo la eliminación de la etapa de separación cromatográfica.

Se llevó a cabo un análisis multivariante de aquellas variables que presentan una mayor incidencia en el proceso de extracción: tiempo de extracción, dilución de la muestra y número de dips. Para ello, se realizó un diseño Box-Behnken con 15 experimentos por duplicado [4]. En la Tabla 1, aparecen el valor más bajo y el más alto a los que se estudió cada variable, así como los valores óptimos.

Tabla 1. Valores óptimos de extracción

<i>Factor</i>	<i>Valor más bajo</i>	<i>Valor más alto</i>	<i>Valor óptimo</i>
<i>DIPs</i>	<i>1</i>	<i>15</i>	<i>2</i>
<i>Tiempo de extracción</i>	<i>15</i>	<i>45</i>	<i>45</i>
<i>Dilución de la muestra</i>	<i>0</i>	<i>4</i>	<i>4</i>

En la Ilustración 1 aparece el efecto de cada variable para cada analito. Se observó que a medida que el tiempo de extracción aumenta, la extracción queda favorecida. No se consideraron mayores tiempos de extracción para mantener una alta frecuencia de análisis. La dilución de la muestra es imprescindible porque la elevada viscosidad de la saliva dificulta el transporte por difusión de los analitos entre el seno de la disolución y el material sorbente. A medida que aumenta la dilución de la muestra, el rendimiento de extracción fue superior. Para el caso de la metadona y la cocaína, el rendimiento de extracción disminuye a medida que aumenta el número de dips. Sin embargo, a medida que aumenta el número de dips, se favorece la extracción de la metanfetamina.

El método analítico se validó utilizando muestras blanco de saliva fortificadas a la concentración adecuada. El rango dinámico se calculó a ocho niveles de concentración entre el LOQ y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Ilustración 2). Los LODs y LOQs fueron 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente para todos los analitos. El rango dinámico osciló entre los LODs y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$. La precisión se calculó y expresó en términos de desviación estándar relativa (DER) a tres concentraciones diferentes: 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ y 250 $\mu\text{g L}^{-1}$. Las DER oscilaron entre 3,4% y 18,5%. La exactitud, calculada como rendimiento de extracción, fue satisfactoria.

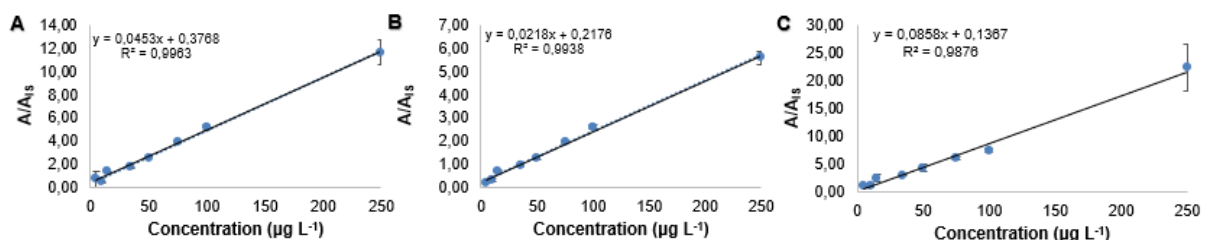


Ilustración 1. Rectas de calibrado de los analitos: (A) Metadona, (B) Cocaína y (C) Metanfetamina

Según la Normativa Europea DRUID [5], los valores umbral para detectar casos positivos en un test de drogas en saliva son $22 \mu\text{g L}^{-1}$; $170 \mu\text{g L}^{-1}$ y $410 \mu\text{g L}^{-1}$ para metadona, cocaína y metanfetamina, respectivamente. Los LODs obtenidos mediante este método, $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$, se compararon con los valores umbral establecidos en la Normativa Europea DRUID. De esta manera, el método propuesto permite detectar casos positivos en tests de drogas.

Bibliografía

- [1] B. Hu, P.K. So, H. Chen, Z.P. Yao, *Electrospray ionization using wooden tips*, *Anal. Chem.* 83 (2011) 8201–8207. doi:10.1021/ac2017713.
- [2] B. Hu, P.-K. So, Y. Yang, J. Deng, Y.-C. Choi, T. Luan, Z.-P. Yao, *Surface-Modified Wooden-Tip Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Enhanced Detection of Analytes in Complex Samples*, *Anal. Chem.* 90 (2018) 1759–1766. doi:10.1021/acs.analchem.7b03675.
- [3] J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdenas, *Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction*, *Microchem. J.* 133 (2017) 90–95. doi:10.1016/j.microc.2017.03.026.
- [4] M.A. Bezerra, R.E. Santelli, E.P. Oliveira, L.S. Villar, L.A. Escaleira, *Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry*, *Talanta* 76 (2008) 965–977. doi:10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- [5] H. Schulze, M. Schumacher, R. Urmeew, J. Alvarez, I.M. Bernhoft, H.G. de Gier, M. Hagenzieker, S. Houwing, A. Knoche, M. Pilgerstorfer, *Driving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines in Europe—findings from the DRUID project*, (2012) 1–58.

Capítulo 4. Utilización de biocápsulas deshidratadas para su uso en fermentación alcohólica

Jorge Rojas López-Menchero¹, Minami Ogawa, Jaime Moreno García, Juan Carlos García Mauricio

Universidad de Córdoba. Departamento de Química agrícola, Edafología y Microbiología.

¹E-mail: jrlmrojas18@gmail.com

Resumen

Las biocápsulas son un novedoso sistema natural de inmovilización de levaduras, consistente en una esfera de inmovilización formada a partir de las hifas de un hongo en crecimiento en un medio específico que propicia la unión de las células de levadura a las hifas. El resultado, son unas esferas consistentes en dos microorganismos distintos que pueden utilizarse para realizar fermentaciones alcohólicas. Debido a los beneficios derivados de su uso en procesos de producción de etanol y de bebidas, y con el fin de facilitar su comercialización para su uso a nivel industrial, se procedió a realizar la deshidratación de las biocápsulas y a estudiar la viabilidad del método de secado, en comparación a su versión en fresco (sin secar) y a la comparación con perlas de alginato (otro de los sistemas de inmovilización celular más utilizado) deshidratadas y en fresco, y con células de levadura libres frescas y secas como control, con el fin de poner de manifiesto los beneficios y desventajas del método de secado sobre las células de levadura en distintos formatos. El secado se realizó en una estufa durante una semana a 40°C, y posteriormente se utilizaron las levaduras en sus distintos formatos para fermentar un medio sintético YPD, encontrando que el método de secado afectó seriamente a las levaduras en cada uno de los métodos.

Fundamento y presentación de resultados

La inmovilización de levaduras es un proceso por el cual se mantiene retenidas las células de levadura en un soporte determinado, manteniendo su actividad metabólica [1]. En este soporte, se encuentra una alta densidad de células, que se sabe que ofrece diversas ventajas en la fermentación como una mayor velocidad de fermentación, una facilidad para retirar del medio las levaduras cuando sea necesario, un menor riesgo de contaminación, una mayor resistencia de las células al etanol [3,4], una reducción en los costes de producción [5]. En la industria se han utilizado células inmovilizadas para la producción de siropes de fructosa o aminoácidos estereoespecíficos, y se ha investigado su uso para la producción de combustibles alternativos a los obtenidos por el petróleo, como el bioetanol, entre otros usos [7].

Es por sus ventajas y su potencial utilización por lo que es necesaria mayor investigación acerca de cómo usar células inmovilizadas, puesto que no es un método muy extendido. Para ello se ha estudiado el uso de las biocápsulas de levadura [6] debido a que es un método natural de inmovilización espontánea que produce ciertas ventajas en la fermentación sobre otros métodos convencionales [2]. Para facilitar la comercialización y el uso, se ha estudiado la viabilidad del proceso de secado en las

biocápsulas. Para ello, se procedió a la deshidratación de las biocápsulas durante 7 días en un horno a 40°C, realizando el mismo proceso en células de levadura libres (sin inmovilizar) y en perlas de alginato, uno de los métodos de inmovilización celular más utilizados, para comparar las fermentaciones realizadas por cada uno de los distintos métodos en formato fresco y seco, obteniendo disminuciones del peso de un 74% en biocápsulas y de un 98% en perlas de alginato al deshidratarse (Fig. 1), manteniendo las células inmovilizadas en la esfera antes de comenzar la fermentación. Para la fermentación se utilizó un medio sintético YPD.

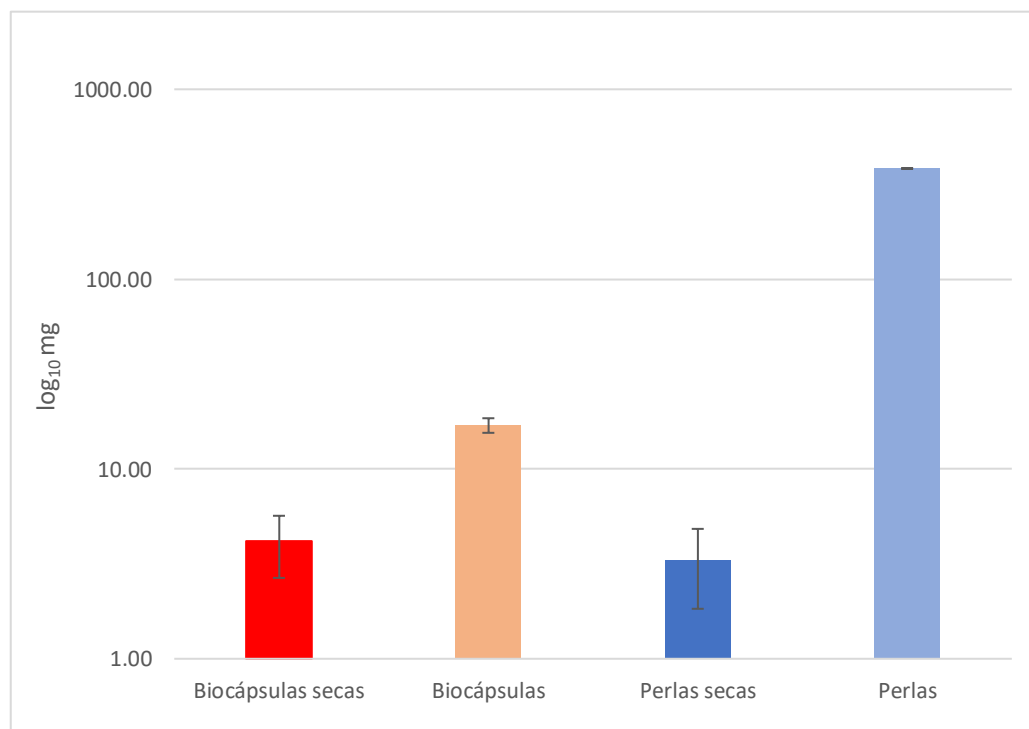


Figura 1: Efecto del secado de las esferas de inmovilización. Pérdida de peso de cada formato después del secado en escala logarítmica

Los resultados obtenidos tras la fermentación sugieren que el método de secado afectó seriamente a la capacidad fermentativa de las levaduras. En la figura 2 puede observarse como el método de secado afectó enormemente al metabolismo de las células de levadura, tanto libres como inmovilizadas, incluyendo a aquellas células libres utilizadas como control, puesto que sus producciones de etanol antes del secado son mucho mayores al compararlas después del secado. La explicación de este hecho es que el secado continuado durante 7 días ha afectado a la viabilidad celular, alterando su metabolismo y por tanto reduciendo la cantidad de etanol que las células han podido producir, lo que descartaría otras posibles hipótesis como baja viabilidad de los métodos de inmovilización o baja productividad de las células.

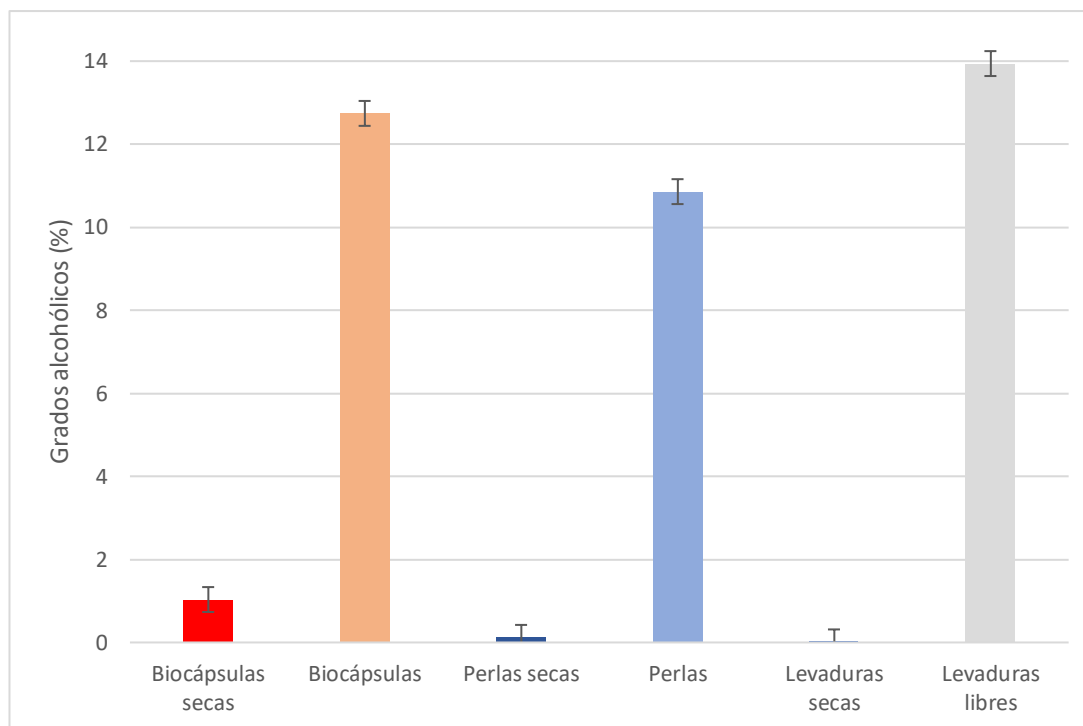


Figura 2: Producción de etanol de cada método

Además, otro efecto indeseado del secado de las levaduras por este método ha sido la aparición de microorganismos contaminantes en todos los formatos deshidratados.

Por ello, de cara a un posible uso a nivel industrial de las biocápsulas, sería deseable buscar otras alternativas a este método de secado con el fin de aumentar la productividad, eliminar la contaminación y facilitar así el manejo industrial, tanto para producción de bioetanol como para producción de bebidas alcohólicas, teniendo como candidato principal para posibles futuras investigaciones, la liofilización celular como método de deshidratación.

Bibliografía

- [1] Karel, S., Libicki, S., Robertson, C. (1985). The immobilization of whole cells: Engineering principles. *Chemical Engineering Science*, 40(8), 1321-1354. doi:10.1016/0009-2509(85)80074-9
- [2] García-Martínez, T., Peinado, R. A., Moreno, J., García-García, I., Mauricio, J. C. (2011). Co-culture of *Penicillium chrysogenum* and *Saccharomyces cerevisiae* leading to the immobilization of yeast. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86(6), 812–817. doi:10.1002/jctb.2593
- [3] Moreno-García, J., García-Martínez, T., Mauricio, J. C., Moreno, J. (2018). *Yeast immobilization systems for alcoholic wine fermentations: actual trends and future perspectives*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–13. doi:10.3389/fmicb.2018.00241
- [4] Norton, S., Watson, K., D'Amore, T. (1995). Ethanol tolerance of immobilized brewers' yeast cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(1), 18–24. doi:10.1007/bf00170616

- [5] Djordjević, V., Willaert, R., Gibson, B., Nedović, V. (2016). *Immobilized Yeast Cells and Secondary Metabolites*. Fungal Metabolites, 1–40. doi:10.1007/978-3-319-19456-1_33-1.
- [6] Univ Cordoba. (2004). *Yeast biocapsules obtained by spontaneous co-immobilization of yeast and filamentous fungus under symbiotic conditions, useful e.g. in industrial production of alcohol by fermentation*. Patent nº WO2004029240-A1. Spain
- [7] Williams, D., Munnecke, D. M. (1981). *The production of ethanol by immobilized yeast cells*. Biotechnology and Bioengineering, 23(8), 1813–1825. doi:10.1002/bit.260230809

Capítulo 5. Estudio de la homeostasis del cobre en *Fusarium oxysporum*

Lidia Gago Bejarano

Universidad de Córdoba. Departamento de Genética, Facultad de Ciencias.

E-mail: b62gabel@uco.es

Resumen

El hongo filamentoso del suelo *Fusarium oxysporum* es un patógeno vegetal que causa marchitez vascular en una gran diversidad de especies vegetales, produciendo importantes pérdidas económicas en los cultivos a nivel mundial. La homeostasis de los iones metálicos, entre los que se encuentra el cobre, se ha demostrado importante, sobre todo en patógenos animales. En el presente trabajo se han analizado los mecanismos de homeostasis del cobre en la cepa *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, un aislado patógeno del tomate, y se ha estudiado de forma experimental el proceso de detoxificación del cobre. Se han identificado dos proteínas importantes en el proceso de detoxificación, correspondientes al factor de transcripción AceA y a la ATPasa de tipo P CrpA, cuya regulación se encuentra controlada por AceA. Los mutantes nulos en el gen *aceA* muestran una disminución significativa de su capacidad para infectar plantas de tomate, pero muestran un crecimiento y una expresión relativa de *crpA* similares a los de la estirpe silvestre. Estos resultados demuestran 1) que AceA es importante para el proceso de infección de plantas, y 2) que la expresión de *crpA*, y por tanto la detoxificación de cobre, es activada por un mecanismo desconocido e independiente a AceA en *F. oxysporum*.

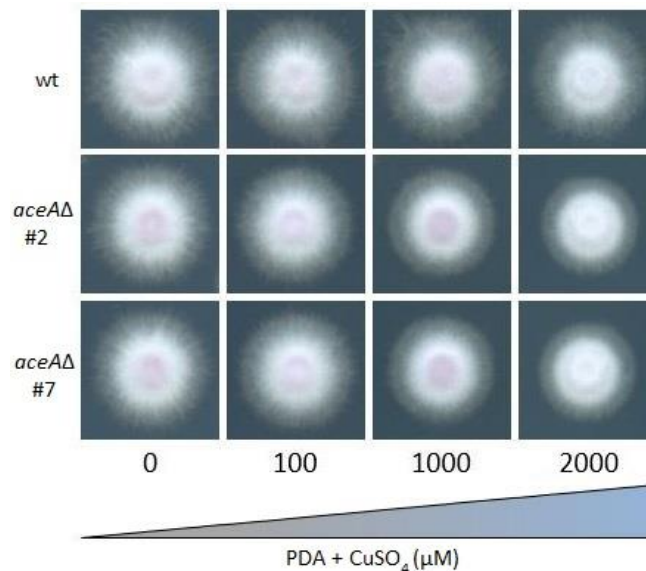
Fundamento y presentación de resultados

En el presente trabajo se ha realizado, en primer lugar, una revisión bibliográfica de los mecanismos de homeostasis del cobre en diversos patógenos vegetales, como *S. cerevisiae* [1], *A. nidulans* [2], *C. albicans* [3] o *A. fumigatus* [4], entre otros. Este análisis ha permitido esclarecer los mecanismos principales de importación y detoxificación de cobre que se encuentran altamente conservados. Los resultados obtenidos mediante análisis *in silico* parecen indicar que en *F. oxysporum* el mecanismo de detoxificación de cobre también estará basado en el factor de transcripción AceA y la ATPasa CrpA. A este respecto, se han realizado una serie de procesos experimentales con el fin de determinar la veracidad de dicha hipótesis.

En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda *in silico* de los genes *aceA* y *crpA* en *F. oxysporum*. A continuación, se procedió a realizar mutantes nulos en ambos genes, para lo cual se construyeron casetes de delección de *aceA* y *crpA*. Los análisis referidos a *crpA* se dieron por finalizados debido a la pandemia global del Covid19. No obstante, hipotetizamos que las cepas mutantes en este gen mostrarían una virulencia disminuida con respecto a la cepa silvestre debido a la función de CrpA en la detoxificación de cobre. Serían necesarios nuevos experimentos que confirmen dicha hipótesis.

En cuanto a *aceA*, una vez obtenidos los mutantes, se realizaron diversas pruebas para genotipar los transformantes y esclarecer si se trataban realmente de mutantes nulos o de transformantes con integraciones ectópicas. Se realizaron tres estrategias: PCR diagnóstica, hibridación Southern y PCR dentro del gen *aceA*. En todas ellas se demostró que las cepas 2, 7 y 8 eran perfectos mutantes nulos mientras que la cepa 6 correspondía a un transformante ectópico.

Una vez obtenidos los mutantes *aceAΔ* se procedió a estudiar el fenotipo de las cepas 2 y 7 en placas con PDA y una concentración de cobre creciente (0-2000 μM). En la *Figura 1* se observa un menor crecimiento de las cepas *aceAΔ*, en comparación con la silvestre, conforme aumenta la concentración de cobre. No obstante, en ningún caso se observa un fenotipo tan severo como el esperado y que ha sido publicado para otros hongos filamentosos [2,4]. Estos datos parecen indicar que, en contraposición al resto de hongos analizados, el factor de transcripción AceA no es el único mecanismo responsable de la detoxificación de cobre en *F. oxysporum*.



*Figura 1. Caracterización fenotípica de las cepas mutantes *aceAΔ* 2 y 7 en medio PDA con una concentración creciente de CuSO_4 (0-2000 μM)*

A continuación, con el fin de corroborar la sobreexpresión de CrpA en condiciones elevadas de cobre, se analizó la expresión del gen *crpA* mediante PCR cuantitativa. Las imágenes obtenidas demuestran una clara participación en la detoxificación de cobre, siguiendo una tendencia que se repite. Se observa que la inducción de la expresión de *crpA* tras la adición de cobre es enorme y muy rápida.

Asimismo, se analizó la expresión de *crpA* en las cepas mutantes *aceAΔ* 2 y 7. En ambos casos no se observan diferencias significativas con respecto a la cepa silvestre, por lo que hipotetizamos que, al contrario de lo que sucede en otros hongos filamentosos [2,4], en *F. oxysporum* debe existir un mecanismo adicional capaz de

inducir la expresión de este gen. A modo de ejemplo, en la *Figura 2* se presentan los resultados obtenidos para la cepa 2.

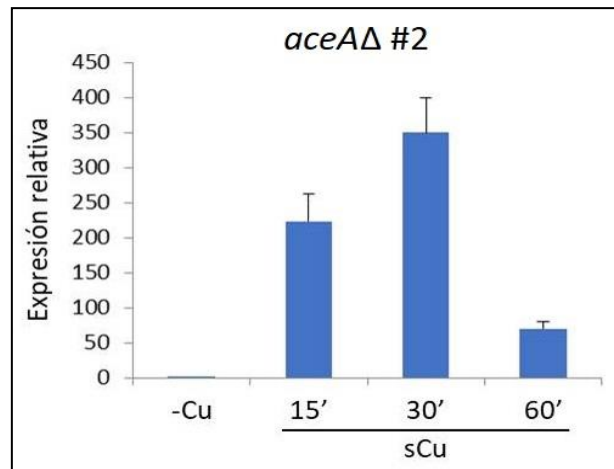


Figura 2. Análisis de la expresión de crpA de F. oxysporum en el mutante aceAΔ 2, en condiciones de ausencia de cobre y 15, 30 y 60 minutos después de la adición del mismo

Finalmente, se realizó un ensayo de infección en plantas de tomate utilizando las cepas mutantes *aceAΔ 2* y *7*, con el objetivo de analizar el comportamiento patotípico de dichos mutantes. En la *Figura 3* se aprecia que la cepa silvestre infecta con éxito las plantas de tomate, mientras que en las cepas mutantes *aceAΔ 2* y *7* se observa una disminución muy significativa en la producción de síntomas de la marchitez vascular y todas las plantas sobrevivieron al ensayo.

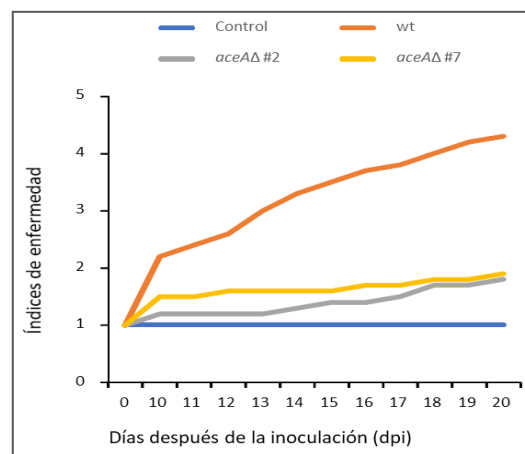


Figura 3. Estudio de infección en plantas de tomate con las cepas indicadas, que representa los índices de enfermedad producidos con respecto a los días transcurridos tras la infección

Conclusiones

1. El factor de transcripción AceA participa en la detoxificación de cobre, aunque no resulta esencial para la misma.
2. En contraposición con los resultados obtenidos en otras especies fúngicas, el factor de transcripción AceA no es el único mecanismo regulador de la transcripción de *crpA* en *F. oxysporum*.
3. La inactivación de AceA es suficiente para producir una reducción elevada de la virulencia del hongo, retrasando la aparición de síntomas y disminuyendo enormemente la mortalidad de las plantas.

Bibliografía

- [1] Antsoategi-Uskola, M., Markina-Iñarrairaegui, A., & Ugalde, U. (2020). New insights into copper homeostasis in filamentous fungi. *International Microbiology*, 23(1), 65–73.
- [2] Antsoategi-Uskola, M., Markina-Iñarrairaegui, A., & Ugalde, U. (2017). Copper Resistance in *Aspergillus nidulans* Relies on the PI-Type ATPase CrpA, Regulated by the Transcription Factor AceA. *Frontiers in Microbiology*, 8, 912.
- [3] Weissman, Ziva, Shemer, R., & Kornitzer, D. (2002). Deletion of the copper transporter CaCCC2 reveals two distinct pathways for iron acquisition in *Candida albicans*. *Molecular Microbiology*, 44(6), 1551-1560.
- [4] Wiemann, P., Perevitsky, A., Lim, F. Y., Shadkchan, Y., Knox, B. P., Landero Figueora, J. A., Choera, T., Niu, M., Steinberger, A. J., Wüthrich, M., Idol, R. A., Klein, B. S., Dinauer, M. C., Huttenlocher, A., Osherov, N., & Keller, N. P. (2017). *Aspergillus fumigatus* Copper Export Machinery and Reactive Oxygen Intermediate Defense Counter Host Copper-Mediated Oxidative Antimicrobial Offense. *Cell Reports*, 19(5), 1008–1021.

Capítulo 6. Nanopartículas de óxidos de Sn preparadas por descomposición térmica de complejos de Sn con el ligando oleato: síntesis, caracterización y aplicación como electrodo en baterías Li-ion

Miguel Coca Arroyo

*Universidad de Córdoba. Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química.
Facultad /Escuela de Ciencias.*

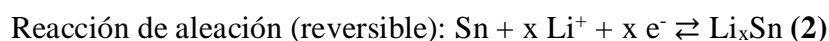
E-mail: miguell.arroyo7@gmail.com

Resumen

El trabajo se ha centrado en la descripción y el estudio de un composite formado por carbón grafitizado y nanopartículas de SnO_x (x = 1, 2) con el fin de examinar sus propiedades electroquímicas en baterías de Li-ion. Se ha estudiado y realizado una ruta de síntesis basada en la obtención de un complejo de oleato de estaño (II) para, en un paso posterior, aplicar una descomposición térmica del producto sólido a alta temperatura y en atmósfera de N₂ junto con ácido oleico y 1-octadeceno. La estructura y textura del material sintetizado se determinará mediante diferentes técnicas de caracterización como rayos X, microscopía electrónica, termogravimetría y medidas de adsorción física de gases, entre otras. En la última etapa del proyecto se abordará el estudio de sus propiedades electroquímicas en baterías Li-ion. Este estudio se realizará tanto en semi-celdas (utilizando Li metal como segundo electrodo de la batería) y celdas completas (utilizando como fuente de Li y segundo electrodo el compuesto LiFePO₄, un compuesto atractivo tanto desde el punto vista electroquímico, económico, y medio ambiental)

Fundamento y presentación de resultados

El uso de nanopartículas metálicas mejora las propiedades de las celdas electroquímicas, ya que son muy reactivas y la cinética de reacción es elevada. Las nanopartículas de Sn o sus óxidos son muy interesantes, ya que el Sn metal puede reaccionar con el Li por vía electroquímica de forma reversible para formar una aleación de composición variable Li_xSn (0 ≤ x ≤ 4.4) [1]. Los óxidos SnO y SnO₂ son fácilmente reducibles, así que pueden usarse como materiales de partida para la preparación del ánodo de la batería. Al partir de SnO₂, las reacciones serían:



La reacción de aleación suministraría una capacidad teórica: 993 mAh/g, muy superior a la del grafito (372 mAh/g), siendo esta propiedad la causa principal de la propuesta de este elemento como alternativa al grafito. Esta reacción posee un gran inconveniente, produce un importante cambio de volumen al formarse la aleación Li-Sn. Estos cambios darían lugar a la ruptura de las partículas con la consiguiente pérdida de capacidad del electrodo, aunque se puede mitigar trabajando con partículas de tamaño nanométrico,

y/o añadiendo un componente que amortigüe las tensiones [2]. Este componente puede ser el C que, además, también reacciona con el Li de manera reversible.

La síntesis del composite C/Sn(O) consiste en la descomposición térmica del complejo de oleato de estaño (II), obtenido mediante la síntesis diseñada por Park et al. [3] y Jana et al. [4] (que ellos usaron obtener nanocristales de Fe_2O_3 , Cr_2O_3 , MnO, Co_3O_4 y NiO).

Se emplearían diversas técnicas de caracterización como son: técnicas de difracción de rayos X (XRD), análisis termogravimétrico (TGA), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y barrido (SEM), y las técnicas de adsorción de gases, (BET) fundamentalmente. Gracias a ellas se conocería la composición final del compuesto sintetizado, y la estructura, morfología, textura y área superficial del composite final C/Sn(O), que se empleará para estudiar las propiedades electroquímicas. Una vez caracterizado el composite C/Sn(O) se prepararía el electrodo y se realizaría el montaje de la celda electroquímica (pila de tipo botón) para estudiar las características electroquímicas del composite. En este trabajo, se realizó un estudio comparativo de los resultados electroquímicos adquiridos en sistemas semejantes al que se pretendía obtener en el procedimiento práctico de esta investigación.

Uno de los artículos analizados ha sido el correspondiente al estudio realizado por Gupta et al. [5]. Sobre este caso basaremos los fundamentos de los resultados esperables en el desarrollo práctico de la investigación.

En la **Ilustración 1 a)** se puede observar el voltagrama cíclico resultante. En el primer barrido catódico se observa un pico a 0.76 V, correspondiente a la reducción del SnO_2 a Sn metal, mediante la reacción de conversión (1), y a la formación de la interfase sólida entre electrolito y electrodo (SEI). Los picos situados a 0.09-0.12 V dan cuenta de la reacción de aleación entre estaño y litio, según la ecuación (2). En la región anódica se pueden observar tres picos: los de valores 0.13 y 0.54 V se corresponden a la extracción de Li^+ de la aleación Li_xSn , mientras que el correspondiente a 1.26 V es debido a la formación de SnO_x en pequeñas cantidades. Conocido el mecanismo de las reacciones que ocurren y el voltaje al que se dan, se procede a examinar las curvas de carga-descarga (**Ilustración 1 b)**. La celda se cicló a 1C en un intervalo de potencial comprendido entre 0.01 y 1.2 V, salvo en el primer ciclo, que se realizó en un intervalo de 3 a 0.01V para procurar la inserción de la mayor cantidad de Li^+ en el carbón, aportando una capacidad inicial de 2500 mAh/g. La gran capacidad de descarga del primer ciclo se justifica por la reducción del SnO_2 y la formación de la capa SEI. En el resto de los ciclos, se trabaja en el intervalo 0.01-1.2V para evitar la formación de los óxidos de Sn.

De esta forma, en la descarga solo se obtiene la capacidad proporcionada por la reacción de aleación (2). Finalmente, la celda entrega unos 722 mAh/g al cabo de 100 ciclos, como puede apreciarse en la medida de ciclado en la **imagen 1 c)**. En el modo de rate capability, **ilustración 1 f)**, se emplean densidades de corriente crecientes de ciclado y la celda muestra una buena estabilidad frente a estas. Así, se confirma que el problema de la expansión de volumen ha sido solventado por la estructura nanométrica del composite y la porosidad del carbón.

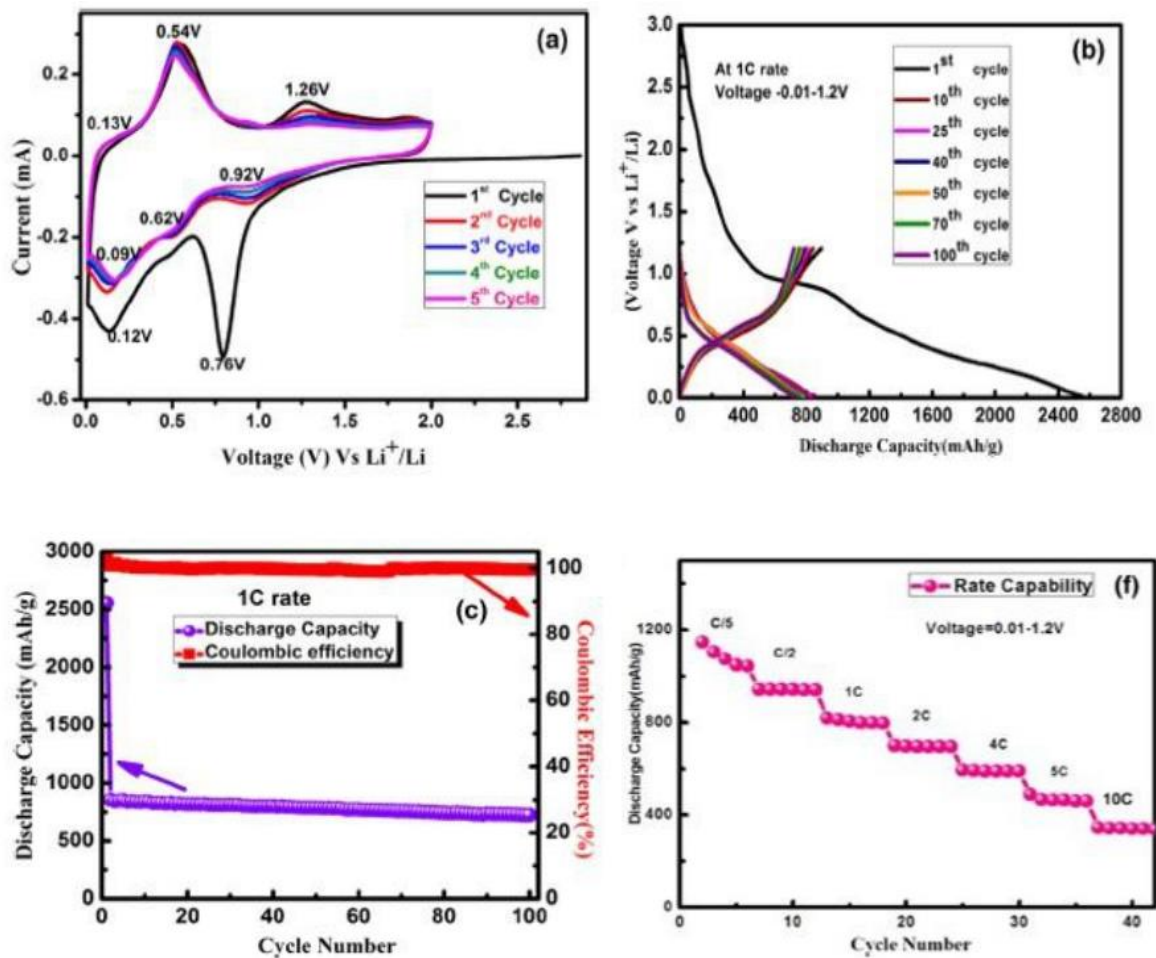


Ilustración 1. Análisis electroquímico realizado en Li-ion del electrodo C/SnO₂ [5] a) Curvas de voltametría cíclica registradas a 0.1 mV/s; b) Curvas de carga-descarga a 1C; c) Ciclado de descarga a 1C durante 100 ciclos; f) Rate capability a diferente

Estos resultados se contrastaron con varios artículos relacionados, como el trabajo de los investigadores Wang y He [6]. Todos ellos llegaron a las mismas conclusiones, el uso de nanopartículas y la estructura de Carbono amortigua la expansión de volumen. Esto permite el uso de Sn en el ánodo, mejorando la capacidad del electrodo, lo que repercute en unas mejores baterías Li-ion.

Bibliografía

- [1] Obrovac, M.N.; Chevrier, V.L. *Alloy Negative Electrodes for Li-Ion Batteries*. Chem. Rev. 2014, 114, 11444–11502.
- [2] Derrien, G.; Hassoun, J.; Panero, S.; Scrosati, B. *Nanostructured Sn-C Composite as an Advanced Anode Material in High-Performance Lithium-Ion Batteries*. Adv. Mater. 2007, 19, 2336-2340.
- [3] Park, J.; An, K.; Hwang, Y.; Park, J.G.; Noh, H.J.; Kim, J.Y.; Hyeon, T. *Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals*. Nat. Mater. 2004, 3, 891-895.

- [4] Jana, N.R.; Chen, Y.; Peng, X. *Size- and shape-controlled magnetic (Cr, Mn, Fe, Co, Ni) oxide nanocrystals via a simple and general approach*. Chem. Mater. 2004, 16, 3931-3935.
- [5] Gupta, A.; Dhakate, S.R.; Gurunathan, P.; Ramesha, K. *High rate capability and cyclic stability of hierarchically porous Tin oxide (IV)-carbon nanofibers as anode in lithium ion batteries*. Appl. Nanosci. 2017, 7, 449-462.
- [6] Wang, J.F.; He, D.N. *In situ growth of heterostructured Sn/SnO nanospheres embedded in crumpled graphene as an anode material for lithium ion batteries*. Dalton Trans., 2018, 47, 15307.

Capítulo 7. Estudio de metaanálisis sobre el efecto antimicrobiano de la aplicación de aceites esenciales en alimentos

Pedro Ruiz Rojas

Universidad de Córdoba. Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Campus Rabanales s/n. Edif. Darwin-anexo.

E-mail: t52rurop@uco.es

Resumen

Hoy en día, los aceites esenciales poseen una amplia utilidad en el campo de la perfumería, aromaterapia y cosmética. Sin embargo, el hecho de que estos extractos hayan sido empleados a lo largo de los años como remedios naturales contra enfermedades despierta cierto interés por estudiar su posible efecto antimicrobiano para su aplicación en alimentos. En el presente estudio, se pretende realizar un estudio de metaanálisis con el objetivo de evaluar el efecto que producen una serie de variables relacionadas con el origen, método de extracción y procedimiento analítico in vitro para la determinación de la capacidad antimicrobiana de diversos aceites esenciales. Se estimó el tamaño del efecto para las variables de respuesta diámetro de inhibición y concentración mínima inhibitoria (MIC) de dichos aceites. Los resultados mostraron que, para el diámetro de inhibición, las variables que presentaron un mayor efecto fueron el método de extracción (hidrodestilación asistida con microondas) y el solvente (acetato de etilo, agua, cloroformo y etanol), mientras que los microorganismos que mostraron una mayor susceptibilidad al efecto del aceite esencial fueron *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En cuanto a la MIC, las variables con mayor efecto fueron la parte de la planta (corteza) y el método de extracción (maceración), siendo el microorganismo más sensible *Yersinia enterocolitica*.

Fundamento y presentación de resultados

Motivación del estudio

Los aceites esenciales o esencias, sustancias obtenidas de las plantas aromáticas, han estado muy presentes en distintos sectores industriales por su amplia aplicación en el campo de la perfumería, cosmética y aromaterapia [1]. Además, sus aplicaciones como medicina natural en los últimos años han despertado cierto interés por investigar su posible efecto antimicrobiano en alimentos [2], por lo que, a lo largo de los últimos años, se han desarrollado diversos estudios que persiguen evaluar la capacidad antimicrobiana de algunos aceites esenciales extraídos de vegetales [3, 4, 5, 6]. La actividad antimicrobiana de un aceite esencial se puede medir a través del diámetro de inhibición, basada en la medición del diámetro de un halo formado alrededor de una colonia microbiana en una placa o medio de cultivo. Asimismo, también se puede determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC), que es la concentración mínima necesaria de un aceite esencial para evitar el crecimiento microbiano. Dada la gran cantidad de estudios existentes al respecto, se pueden aplicar métodos estadísticos como el metaanálisis, el cual se basa en el tratamiento de información procedente de estudios

bibliográficos para la evaluación del efecto concreto de una variable objeto de estudio sobre una serie de variables (factores) que explican la magnitud de dicho efecto [7]. En el presente estudio se realizó un ejercicio de metaanálisis para la evaluación del efecto antimicrobiano de aceites esenciales en base al diámetro de inhibición y la MIC a partir de una colección de estudios procedentes de la literatura.

Metodología

Se procedió a una recopilación de estudios científicos relacionados con el efecto antimicrobiano de aceites esenciales. De entre ellos, se seleccionaron variables (factores) tales como origen del aceite esencial (planta y parte de planta utilizadas), procedimiento de extracción (método, temperatura y solvente empleados) y procedimiento de inhibición (método, medio y dosis del extracto utilizados) frente diversos microorganismos patógenos y alterantes en alimentos, a continuación, se muestra una tabla resumen (*Tabla 1*) de las variables de entrada y respuesta seleccionadas.

Tabla 1.- Variables empleadas para el metaanálisis

<i>Variables de entrada</i>	<i>Variables de respuesta</i>
<i>StudyID</i>	<i>Diámetro de inhibición</i>
<i>País</i>	<i>MIC</i>
<i>Planta</i>	<i>Observaciones</i>
<i>Parte de planta</i>	
<i>Método de extracción</i>	
<i>Temperatura de extracción</i>	
<i>Solvente</i>	
<i>Bacteria</i>	
<i>Método de inhibición</i>	
<i>Medio de inhibición</i>	
<i>Dosis aplicada</i>	
<i>Volumen de extracto</i>	
<i>Nivel de inóculo</i>	

Posteriormente, se procedió a realizar una serie de modelos de metaanálisis para estimar el efecto de cada una de las variables sobre el diámetro de inhibición y la MIC.

Principales resultados y conclusiones

Los resultados generados mostraron que, en el caso del diámetro de inhibición, los factores que mayor efecto produjeron resultaron ser el método de extracción del aceite esencial (siendo el más efectivo de todos ellos, la hidrodestilación asistida con microondas) y el solvente empleado para la extracción del aceite esencial (siendo el agua, el más efectivo de todos), con un valor promedio de 13,4 y 12,06 mm respectivamente, mientras que los microorganismos más susceptibles a la acción de los aceites esenciales fueron *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (16,4 y 14,08 mm). En el caso de la MIC, los factores con mayor efecto fueron la parte de planta empleada para obtener el extracto (siendo la corteza del vegetal la parte más efectiva) (1,21 ppm) y el método de extracción empleado (siendo la maceración el más efectivo) (0,86 ppm), mientras que el microorganismo más susceptible resultó ser *Yersinia enterocolitica* (0,08 ppm). Los resultados del presente estudio constituyen un punto de partida para la mejora del diseño de futuros estudios en relación con la identificación de las variables más significativas sobre el efecto antimicrobiano de aceites esenciales.

Bibliografía

- [1] Luengo MTL. *Los Aceites Esenciales*. Elsevier. 2004; 23(7): p. 88-91.
- [2] Alea JAP. *Aceites Esenciales: Química, Bioquímica, Producción y Usos*: Editorial Universitaria; 2015.
- [3] Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*. 1999; 86(6).
- [4] Lis-Balchin M, Decanos S. Bioactivity of selected plant essential oils against listeria monocytogenes. *Journal of applied microbiology*. 2003; 82(6).
- [5] Hili P, Evans CS, Veness RG. Antimicrobial action of essential oils: The effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in applied microbiology*. 1997; 24(4); 269-275.
- [6] Dogruyol H, Mol S, Cosansu S. Increased thermal sensitivity of *Listeria monocytogenes* in sous-vide salmon by oregano essential oil and citric acid. *Food microbiology*. 2020; 90.
- [7] Martínez FM, Sánchez Meca J. *El metaanálisis en el ámbito de las Ciencias de la Salud: una metodología imprescindible para la eficiente acumulación del conocimiento*. *Fisioterapia*. 2009; 31(3);107-114.

Humanidades

Capítulo 8. La restauración historicista en la ciudad de Córdoba

Guillermo L. López Merino

Universidad de Córdoba. Facultad de Filosofía y Letras. Departamento de Historia del Arte, Arqueología y Música.

E-mail: d92lomeg@uco.es

Resumen

El proyecto que presentamos ha pretendido abordar un aspecto aún sin tratar, como es la transformación de la ciudad a través de la restauración historicista de su Patrimonio, realizando un inventario y catalogación de las intervenciones que hayan podido afectarles, además de la sistematización de toda la información recopilada mediante el uso de nuevas tecnologías, a fin de convertirla en recurso didáctico de utilidad pública. A través del sistema de información geográfica SIGEAC, desarrollado por el Grupo de Investigación Sísifo (UCO), se ha volcado toda la información recopilada para hacerla accesible a toda la ciudadanía, permitiendo su consulta de manera sencilla y directa. Este trabajo destaca tanto por su carácter interdisciplinar (filosofía, restauración, arqueología, gestión del patrimonio, legislación, historia del arte, museología, didáctica...), como por su vocación internacional y la posibilidad de extrapolar el modelo a cualquier ciudad histórica.

Fundamento y presentación de resultados

La ciudad de Córdoba ha sabido atraer las miradas de un sinnúmero de visitantes y turistas gracias a la riqueza histórico-artística que atesora. Sin embargo, su imagen monumental es fruto de numerosas intervenciones restauradoras acometidas durante décadas. La historia de la restauración arquitectónica de la ciudad comienza en el siglo XIX, cuando Patricio Furriel restaura el Mihrab de la Mezquita (*fig. 1*), siguiendo criterios conservacionistas adelantados a su tiempo [1]. Posteriormente, a principios del siglo XX, el arquitecto Ricardo Velázquez Bosco interviene en el mismo edificio en cubiertas y portadas exteriores (*fig. 2*), actuando siempre bajo criterios estilísticos herencia del siglo pasado [2]. La “Unidad de Estilo” no es exclusiva de este edificio, como se aprecia en la restauración de la Puerta del Puente acometida en 1928 (*fig. 3*), cuando se repite en su cara norte el diseño original de la cara sur [3].

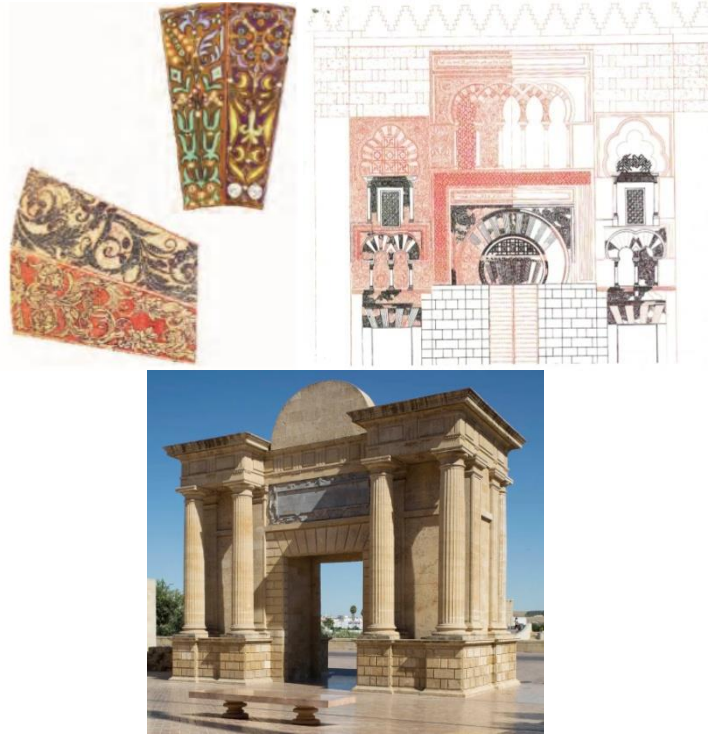


Figura 1: Restauración de Patricio Furriel. Figura 2: Intervención de Velázquez Bosco en la Mezquita. Figura 3: Fachada norte de la Puerta del Puente

Los mismos preceptos historicistas fueron empleados durante la alcaldía de Antonio Cruz Conde (1951-1962), que promovió una serie de actuaciones encaminadas a potenciar la imagen costumbrista de Córdoba. Aun cuando la Carta de Venecia de 1931 había ya desterrado las metodologías más benévolas con el “falso histórico”, durante estos años se realizaron restauraciones que falsearon la autenticidad de los principales monumentos y rincones de la ciudad. Entre ellos sobresalen las intervenciones en el templo romano (*fig. 4*), el Alcázar de los Reyes Cristianos, el Salón Rico de *Madinat al-Zahra* o los lienzos de muralla de la Puerta de almodóvar y la Puerta de Sevilla (*fig. 5*) [4].



Figura 4: Templo Romano restaurado por Félix Hernández. Figura 5: Puerta de Sevilla antes de su restauración

La llegada de la democracia trajo consigo un nuevo marco legal que hizo propios los criterios restauradores internacionales a favor de la conservación y la mínima intervención. Sin embargo, en Córdoba continuaron cometiéndose excesos restauradores anacrónicos. Estas actuaciones tuvieron de nuevo como protagonistas los principales monumentos de la ciudad, como la Mezquita (sustitución de las antiguas cubiertas dieciochescas) (fig. 6) o *Madinat al-Zahra* (construcción del Gran Pórtico Oriental) (fig. 7) [5].

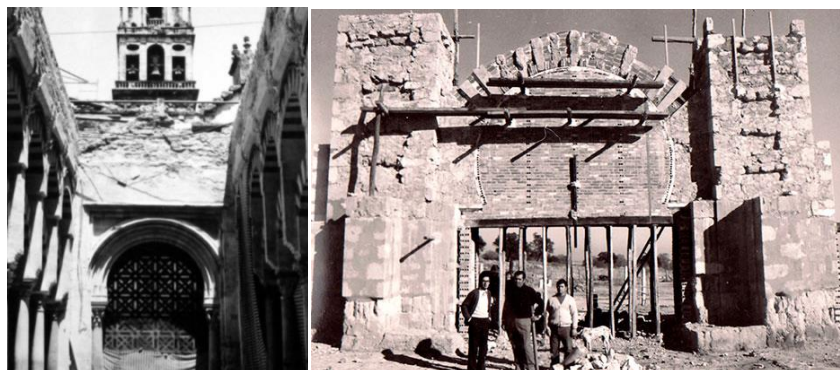


Figura 6: Eliminación de las bóvedas encamionadas de la mezquita fundacional. Figura 7: Restauración del Pórtico Oriental de Madinat al-Zahra

En el cambio de siglo se intentan rectificar los errores pasados, debido a los remordimientos ocasionados por la destrucción del yacimiento arqueológico de Cercadillas [6]. Por este motivo se decidieron reconstruir los Mausoleos de Puerta Gallegos [7], a pesar de que las partes originales suponen un mínimo porcentaje de su imagen actual (fig. 8). También se llevó a cabo la restauración del llamado Castillo de la Judería (fig. 9), que retiró los añadidos historicistas de una intervención anterior [8].



Figura 8: Partes originales integradas en los mausoleos de Puerta Gallegos. Figura 9: Estado actual del Castillo de la Judería

En la actualidad, el contexto internacional se encuentra dominado por la Carta de Cracovia del año 2000, que aboga por el conservacionismo y el respeto a todas las fases

constructivas de nuestros monumentos. A pesar de ello, se siguen cometiendo actuaciones historicistas, como la conservación *in loco* del Arrabal de *Saqunda* (fig. 10), cuyos restos fueron desmontados piedra a piedra para trasladarlos a los jardines del Centro de Creación Contemporánea de Córdoba, tratándolos como una mera escenografía o complemento estético [9]. O el “lavado de cara” en el año 2017 de la Puerta de San José de la Mezquita-Catedral (fig. 11), que terminó por destruir las pátinas del paso del tiempo [10].



Figura 10: Restos conservados del arrabal de *Saqunda*. Figura 11: Puerta de San José de la Mezquita

Una vez convencidos de que la imagen histórica de Córdoba ha sido generada, en gran medida, de manera consciente y planificada, ¿sería lícito intervenir para corregir estas actuaciones?. La respuesta es claramente negativa, pues estas forman ya parte del paisaje histórico de la ciudad, y han sido incorporadas definitivamente como una fase constructiva más de nuestros monumentos. La clave de cara al futuro estará en no repetir estos excesos, para ofrecer al visitante el rigor histórico que se merece.

Pero... ¿cómo hemos difundido esta información de manera directa a toda la ciudadanía? Desde el Grupo de Investigación Sísifo, de la Universidad de Córdoba, se viene desarrollando desde hace años una interesante herramienta, el SIGEAC (fig. 12). Se trata de un visor cartográfico en el que se encuentran recogidas la gran mayoría de las intervenciones arqueológicas realizadas en nuestra ciudad, incluyendo datos administrativos, una breve descripción, una relación de evidencias por períodos históricos, fotografías y bibliografía o documentación de interés (fig. 13). Este recurso, al que se puede acceder a través de la página web de Arqueocórdoba, permite realizar búsquedas por localización, períodos históricos o evidencias documentadas, que ayudan a una mejor comprensión de los yacimientos. Entre estos elementos se incluyen la serie de hitos patrimoniales anteriormente comentados, cuya historia restauradora es conveniente difundir como medio para generar conocimiento y conseguir el rigor histórico que merece la ciudad.



Figura 12: SIGEAC. Figura 13: información del lienzo de la Puerta de Sevilla

Bibliografía

- [1] S. Herrero. *De lo original a lo auténtico. La restauración en la Mezquita-Catedral de Córdoba durante el siglo XX*. Córdoba, Cabildo Catedral, 2017.
- [2] M. Nieto. *La Catedral de Córdoba*. Córdoba, Publicaciones de la obra social y cultural de Cajasur, 1998.
- [3] C. Martín. *Córdoba en el siglo XIX: Modernización de una trama histórica*. Córdoba, Ayuntamiento de Córdoba, 1990.
- [4] F.S. Márquez. *La Córdoba de Antonio Cruz Conde: El alcalde que cambió la ciudad*. España, Almuzara, 2007.
- [5] A. Vallejo. *La ciudad califal de Madinat al-Zahra*. España, Almuzara, 2010.
- [6] R. Hidalgo, M^a C Fuertes. El yacimiento de Cercadilla en Córdoba. Un proyecto de conservación complejo. *De la excavación al público: procesos de decisión y creación de nuevos recursos*, 2005, pp. 31-38.
- [7] D. Vaquerizo. *Necrópolis urbanas en Baetica*. Sevilla, Universidad de Sevilla, 2010.
- [8] Consejería de Cultura y Patrimonio Histórico. *Restauración de las Murallas del Alcázar Viejo de Córdoba* [en línea], s.f. Disponible en <https://www.juntadeandalucia.es/organismos/culturaypatrimoniohistorico/areas/bienes-culturales/actuaciones-conservacion/intervenciones/detalle/39804.html?2>
- [9] M. T. Casal, F. Martín, A. J. Canto. El arrabal de Saqunda feluses y materiales aparecidos en las últimas excavaciones arqueológicas. *Actas XIII Congreso Nacional de Numismática "Moneda y arqueología"* 2, 2008, pp. 845-866.
- [10] F. Expósito. La puerta de San José de la Mezquita recupera su esplendor. *Diario Córdoba* [En línea], 2017, 23 de marzo. Disponible en https://www.diariocordoba.com/noticias/cordobalocal/puerta-san-jose-mezquita-recupera-esplendor_1133700.html

Capítulo 9. El documental creativo. Principales teorías, sus autores y aportes

Autora: Joanna Vidal

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Filosofía y Letras. Departamento de Historia del Arte, Arqueología y Música.

E-mail: z82pevij@uco.es / joannavidal85@gmail.com

Resumen

Desde los años noventa del siglo XX y gracias al impulso que ha recibido de la tecnología digital, el cine documental ha experimentado constantes transformaciones en sus prácticas creativas, formas narrativas y estéticas, y la relación que se establece con los espectadores. El género, a quien distingue la hibridez y continuos intercambios con los modos de representación más tradicionales del documental, la ficción y lo experimental, ha tenido un “boom” en salas comerciales, festivales, televisoras y plataformas *online*. La era virtual ha significado un cambio de paradigmas, donde “lo real” cada vez se distancia más de su connotación, llegando incluso hasta zonas tan distantes como la animación. El complejo y diverso panorama del documental contemporáneo atrae el interés de investigadores, profesores y realizadores, a quienes les resulta imposible llegar a un consenso. A través de un recorrido historiográfico actualizado analizaremos las principales teorías y autores que lo definen, partiendo de la premisa de la pluralidad y validez de todas las voces, con énfasis en sus terminologías y consideraciones relevantes. Será una mirada holística y crítica, donde seguiremos el devenir de los estudios teóricos sobre el documental de creación haciéndolos dialogar, interactuar, apropiándose y negándose entre ellos.

Fundamento y presentación de resultados

La hibridez que caracteriza al documental de creación como forma de expresión artística le hace dialogar con otras disciplinas, procedimientos científicos y teorías del pensamiento: artes visuales, poesía, artes escénicas, narrativa, escritura dramática, dirección cinematográfica, psicología, antropología, comunicología, filosofía, psicoanálisis, nuevas tecnologías y metodologías de la investigación científica. Este rasgo convierte el género en un complejísimo y amplio objeto de estudio, cuyos teóricos intervienen para analizarlo desde posiciones múltiples —y aún no consensuadas—, entre las que sobresalen tres líneas principales: los problemas etimológicos del término “documental” y la necesidad de una definición más idónea, dialogismos estético-narrativos entre documental y ficción, y la ética del documentalista.

Relegados a un plano secundario con respecto a la ficción, los estudios sobre documental fueron algo tardíos. La reflexión pionera data de febrero de 1926 cuando, inspirado en el filme *Moana* (1926), de Robert Flaherty, el escocés John Grierson lo reconoce en las páginas de *New York Sun* como el “tratamiento creativo de la realidad”, adoptado del término “documentary”, que se deriva del francés “documentaire” (en Romaguera y Alsina, 1989:139). Durante las décadas siguientes la visión clásica de Grierson influirá en las investigaciones occidentales, hasta que

en los sesenta la irrupción del *cinema verité* y el *direct cinema* cuestiona sus fundamentos. Adscritos a esta línea hegemónica se encuentran autores como Enrique Pulecio (2009), Michael Rabiger (2005) y el paradigmático Bill Nichols (1997, 2003, 2013) con sus seis modalidades de representación (expositiva, poética, observacional, participativa, reflexiva y performativa), las cuales han sido reescritas periódicamente. Aunque ninguno logra crear fronteras muy definidas y son conscientes de ello, sí coinciden en distinguir la función social del documental y, por ende, su valía para transmitir hechos de la realidad a los espectadores. Según Nichols,

Una estructura paradigmática para el documental implicaría la exposición de una cuestión o problema, la presentación de los antecedentes del problema, seguida por un examen de su ámbito o complejidad actual, incluyendo a menudo más de una perspectiva o punto de vista (1997:48).

Diversos estudios históricos y analíticos de la cinematografía —no solo del documental— demuestran que la práctica del género jamás ha seguido un único camino. (Nichols, 1997; Balló, 2010; Catalá, 2010); de ahí que el término “documental” resulte insuficiente para acoger la versatilidad desplegada desde los años noventa en el ámbito del cine factual. Numerosos autores prefieren utilizar la expresión “no-ficción” para referirse al amplio espectro de obras audiovisuales que tienen como referente lo real. Dentro de esta línea se ubica el español Antonio Weinrichter, quien valora que “su mayor riqueza” se debe a que “no ficción=no definición”, ubicándolo en la “extensa Zona no cartografiada entre el documental convencional, la ficción y lo experimental” (2004:11). Esta nueva situación del documental conlleva al distanciamiento de los cánones clásicos que han definido al género desde los sesenta, poniendo en dudas pilares como objetividad, verdad, representación, etc., que antes se asumían sin reparos al hablar del “cine de lo real”. (Catalá y Cerdán, 2007: 6).

En este contexto surge otra terminología, que ha sido menos empleada que sus precedentes, aunque a partir del siglo XXI, con la creación del Máster en Teoría y Práctica del Documental Creativo de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), se pondrá en boga en el contexto iberoamericano: documental creativo.

La definición surgió en Francia en 1986 en medio de debates entre cineastas independientes que intentaban diferenciar sus obras de los documentales producidos por las televisoras para ganar una subvención. El hecho de que partiera de realizadores y no de teóricos provocó que el término naciera con el subrayado de lo artístico, elemento que las academias han calificado como “pretencioso” (Guzmán, 2002:11).

El cineasta Patricio Guzmán resalta las categorías por las que se interesa esta definición: tono y enfoque personal en el tratamiento del material histórico. Estamos ante una búsqueda de los valores estéticos, autónomos de formas informativas, expositivas y con carga ideológica. Es decir, la mirada del autor es la columna vertebral que sostiene el discurso y la estética de la obra cinematográfica y audiovisual. “Da prueba de un espíritu de innovación en su concepción, su realización y su escritura. Se distingue del reportaje por la maduración del tema tratado y por la reflexión compleja y el sello fuerte de la personalidad del autor”. (Guzmán, 2002: 12).

Al documental creativo—también llamado “de autor”— se vincula una trilogía semántica a partir de su instrumentalidad y funcionalidad: los rasgos estilísticos del formato, los recursos narrativos que emplea en su desarrollo y la trascendencia del rol

del realizador o director como creador. La primera línea se preocupa por el diálogo que se establece entre la obra y su público a través de aspectos como la dramaturgia, la identidad, la síntesis y el simulacro. La segunda focaliza los préstamos entre ficción y realidad. La última se refiere a la subjetividad del artista y la influencia que ejerce como “filtro” del mundo representado. De esta manera, el documental creativo prefiere la verosimilitud a la verdad, el personaje a la persona, y potencia la escritura dramatizada y previa al rodaje, el subtexto, la estructura y ejes narrativos. En palabras de la profesora Ávalos, esto significa que "el documental de creación utiliza el lenguaje audiovisual de un modo tan libre como si fuera una ficción. Ofrece una posibilidad infinita de manipular el espacio y el tiempo" (en Bruna, 2012). Por su parte, Michael Chanan subraya el punto de vista del cineasta en el proceso creativo y el protagonismo que adquieren en la contemporaneidad las formas subjetivas de representación: "(...) Sea como fuere, menospreciar el documental con el argumento de que vende una falsa objetividad carece de base hoy en día, justo en la época en que el género ha emprendido un giro hacia el terreno de lo particular y lo personal" (Chanan, 2007: 72).

Atendiendo a las características aquí expuestas, se percibe un heterodoxo campo que va desde las formas más tradicionales de representación del documental, como es el documental observacional, hasta las más contemporáneas, como el docudrama, el falso documental, el cine ensayo, *dogumentary*, *found footage*, la etnografía experimental, las escrituras del “yo”, el desmontaje documental. De igual modo, las fórmulas mixtas parecen no reconocer límites, los estudios teóricos llegan tarde y son insuficientes para analizarlas.

Los autores reconocen que la tecnología ha sido un factor sumamente determinante en las formas de representación del documental, lo que ha conllevado el desarrollo de sus formas narrativas. Si antes existía preocupación por los cambios de formatos que permitieron que cámaras y otros equipos más ligeros transformaran las prácticas creativas, desde la primera década del siglo XXI el empuje de lo digital es innegable. Esto supone que la investigación sobre las producciones de no ficción basadas en el código binario necesita un marco interdisciplinar que pueda abarcar su complejidad, sin olvidar los cambios en las dinámicas productivas, las formas narrativas, las nuevas relaciones del usuario con la obra y el creador o los recientes circuitos de distribución y exhibición. De este modo, el documental se convierte en una práctica multisensorial en la que cada vez el espectador adquiere mayor protagonismo.

El documental de creación es vital para una interpretación y entendimiento de la praxis artística contemporánea. A través de este recorrido historiográfico, actualizado por sus principales teorías, determinamos que se caracteriza por su condición híbrida, donde coexiste una constante interrelación entre ficción, documental y cine experimental. Aunque los principales pensadores del género durante varias décadas fueron anglosajones, desde finales del siglo XX y durante el XXI se aprecia el liderazgo de los teóricos hispanos, tanto en el contexto iberoamericano como a nivel mundial. Profesores como Antonio Weinrichter, Josep M. Català, Josexo Cerdán, Carmen Ávalos y Jordi Balló, entre otros, se encuentran entre los referentes investigativos más actualizados y agudos sobre las prácticas documentales de hoy. Esta tendencia responde al auge de dicha narrativa en la región gracias al incentivo de instituciones españolas como el máster en Teoría y Práctica del Documental Creativo de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Festival Internacional de Documental Punto de Vista y la iniciativa

D-Generación en el Festival Internacional de Cine de Las Palmas, donde programas de formación, debates y muestras auspician el pensamiento crítico en torno a estos filmes.

Durante la búsqueda bibliográfica desarrollada para la presente investigación, en los textos más reciente se aprecia la tendencia a usar indistintamente los términos “no ficción”, “documental creativo” o “documental de autor”; aunque ya ha existido un desplazamiento conceptual desde las posturas más tradicionales, también se sigue aplicando el término originario de “documental”.

Bibliografía

- [1] J. Balló, in: C. Torreiro (ed.), *Realidad y creación en el cine de no-ficción. El documental catalán contemporáneo, 1995-2010*, Cátedra: Signo e imagen, Madrid, 2010, s/p.
- [2] C. Ávalos, in: R. Bruna (ed.) *Documental creativo: la tenue frontera entre ficción y realidad*. Universidad de Chile/Instituto de Comunicación e Imagen, Santiago de Chile, 2012, s/p.
- [3] J.M. Catalá, in: A. Weinrichter (ed.). *Doc. Documentalismo en el siglo XXI, Festival Internacional de Cine de Donostia-San Sebastián*, Donostia, 2010, p. 33-52.
- [4] J.M. Catalá; J. Cerdán, Después de lo real: pensar las formas del documental, hoy. Archivos de la filmoteca: *Revista de estudios históricos sobre la imagen*, nº 57-58, vol. 1 de 2007, Valencia, p. 6-25.
- [5] Guzmán, *La explosión del documental, in: Una memoria obstinada: en torno al documental*, Universidad del Valle/Escuela de Comunicación Social, Medellín, 2014, p. 9-16.
- [6] Nichols, *Introducción al documental*, UNAM, México DF, 2013, p. 10-204.
- [7] Nichols, *El documental performativo*, Postverité, Murcia, 2003, p. 197-221.
- [8] Nichols, *La representación de la realidad. Cuestiones y conceptos sobre el documental*, Paidós, Barcelona, 1997, p. 13-372.
- [9] J. Romaguera, H. Alsina, *Textos y manifiestos del cine*, Cátedra, Madrid, 1989, p. 139-147.
- [10] Weinrichter, *Desvíos de lo real. El cine de no ficción*, T&B editores, Madrid, 2004, p.5-142.

pesar de que estos últimos fueron pensados para ser expuestos los dos días que duró el evento, imposibilitando así que hayan llegado a nuestra actualidad como perfectas demostraciones de la arquitectura efímera barroca, en esta investigación se ha profundizado en su estudio simbólico y reconstrucción digital con el fin de que estos tipos de manifestaciones artísticas se puedan comprender desde una perspectiva interdisciplinaria y sean accesibles a un mayor número de destinatarios.

La complejidad del trabajo ha consistido en la traducción de los epicedios latinos que acompañaron a los emblemas, así como la selección de otros coetáneos recogidos en el libro *Emblemas españoles ilustrados* de Vistarini y Cull [4]. Esta última publicación es una recopilación de emblemas barrocos que ha servido para realizar la reconstrucción digital aproximada de cómo pudieron ser aquellos que se exhibieron en el túmulo de Luis I, ya que los diseños de los originales o bien no fueron incluidos en la relación de sucesos, o bien se han perdido. Por lo tanto, gracias a la lectura de las descripciones de los emblemas presentes en la relación de sucesos y a la consecuente selección de diversas iconografías aparecidas en la publicación citada anteriormente, se han podido recomponer, de manera aproximada, los cuatro que se insertaron en cada uno de los frentes del túmulo. Éstos últimos orientados hacia las puertas de la catedral como se señala en la imagen (Fig. 1). Cada uno de los emblemas iba acompañado de su correspondiente epicedio latino y letra castellana, complementando así el significado último de la representación iconográfica.

El primero de los emblemas miraba a la parte oriental: se dispuso “careado con las rejas de la Capilla Mayor un jeroglífico con dos brazos, que el uno empuñando en la mano Cayado Pastoral, expresaba el de la Santa Iglesia: el otro con bastón, mostraba ser el de la Ciudad: estos, uno sobre el otro cruzaba, teniendo en medio una calavera coronada, por debajo de ella el Brazo Secular, con este mote: *Lava eius sub capite meo*; por encima el Eclesiástico, con este: *Et Dexter a illius amplexabitur me* y sobre los dos este mote latino de el Poeta Claudiano: *Concordes Aquila manus, Et non dissociabile corpus*” [5] (Fig. 2). Iba acompañado de su epicedio latino: “*Provida consuluit cunctis Urbs Regiarebus Effet ut ingressus: latior ipsa dies: Ast ubi: lethalis Atropos tot funera miscet Reddit in egressu tristior ipsa dies*”[6] y su décima castellana: “Tanto estrechan suaves lazos/De la iglesia, y la Ciudad,/ Que en dos cuerpos la amistad,/ Distingue solo dos Brazos,/ Cumplió la muerte los plazos/ De Luis, su Prenda querida;/ Y si en aquella venida,/ De uno, y otro celebrada,/ Rieron juntos su entrada,/ Juntos lloran su salida” [7]. Tras un análisis del epicedio y la letra castellana, podemos deducir cómo se enfatiza la idea de que el nacimiento y la muerte del monarca estuvieron muy cerca, ya que no solo murió joven, sino también su reinado fue breve, pues solo duró 229 días.



Fig. 2: Reconstrucción del emblema del frontis oriental del Panteón del Sol



Fig. 3: Reconstrucción del emblema del frontis occidental del Panteón del Sol

Además, estas composiciones dejan entrever el vínculo entre poder eclesiástico y civil, los cuales estaban tan unidos, que bien podrían haber formado un único gobierno. Por ello, si ambos estamentos aplaudieron el nacimiento y llegada del monarca, ambos se entristecieron con su partida.

El siguiente emblema se ubicó en el frente que miraba a la parte occidental (Fig. 3), en el que “se pintó una calavera coronada entre un círculo de ojos vertiendo lágrimas, que, unidas al suelo, venían a formar un río, con este mote del Poeta Claudiano *de Raptu Proserpina. Lumen, it in flumen y este de Jeremias Magna est velut Mare contitrio tua*” [8]. En cuanto a su epicedio latino fue: “*Lumen it in lachrymas, cum Rex se obnubilat absens. Num tagus? at lumen Flumen ab imbre fluit*” [9] y su letra castellana: “Toledo gran lluvia atrajo/ De una nube obscurecida/ Y da su vista llovida/Mas agua que lleva el Tajo/En caudalosa avenida/Son sus lágrimas tesoro/Por Luis Primero el verterlas/y así el Tajo al recogerlas,/Quiere siendo de Oro/Ser también Rio de Perlas” [10]. En la parte occidental se manifiesta, por lo tanto, un tópico literario denominado *Vita-Flumen*. De esta forma, se produce una analogía entre el dolor y las lágrimas -asemejados con el paso de un día soleado a un día oscuro y tormentoso- vertidas por un pueblo exhausto ante el drama de la existencia humana. Ambos acaban desembocando en el mar y, por ende, sucumbiendo a la muerte.

El tercer emblema (Fig. 4) se encontraba “en la fachada, que por el medio día se dilata hasta la puerta que llaman de los Leones” [11] Allí se pintó el escudo de armas de Toledo: “Debajo de la Corona, que sostienen las cabezas de las águilas, una calavera, y pasados los cuellos de las águilas, y la calavera con una sola flecha: encima este Mote de el Poeta Stacio: *Uno omnes enecat ictu*. Los reyes de Armas, que están al pie, pasados cada uno con su flecha: y en medio de los dos este Mote de el Libro de los Reyes: *Omnes morimur*”[12]. El epicedio latino rezaba así: “*Iam, mors, est aliquid, toti dare funera Mundo?/ Quem ferias iterùm, iam tibi nulluserit*” [13] y su letra castellana rezaba: “¿A tres de un golpe? Ah! ¡Qué herida!/A Luis? A Toledo? Al Mundo?/No ay que repetir segundo/ Que ya no queda más vida”[14]. Este emblema, que debe ser el principal, al situarse en el frente de mayor carga simbólica del túmulo, pone de relieve el tópico literario *Omnia mors aequat*. De esta forma, la muerte, al igualar a todos los miembros de la sociedad sin distinción de estatus, hace que el fallecimiento del monarca pueda ser sentido como una defunción colectiva, máxime cuando los súbditos son conscientes de que, en cualquier momento, a ellos también les puede llegar su hora.



Fig.4: Reconstrucción del emblema del frontis del Panteón del Sol situado ante la Puerta de los Leones

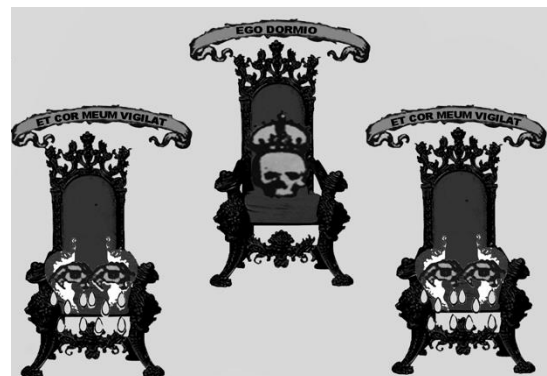


Fig. 5: Reconstrucción del emblema del frontis del Panteón del Sol situado en el lado Septentrional

En el cuarto y último jeroglífico del túmulo (Fig. 5), que se situaba en el frontis Septentrional, “se delineó la Sala Capitular, o Ayuntamiento de Toledo: en la Silla de en medio, presidiendo una calavera coronada, simbólica de la del Rey: sobre los demás asientos, en cada uno un corazón, partidos en él dos ojos llorando; sobre la calavera este Mote de los Cánticos: *Ego dormio*, Sobre los corazones: *Et cor meum vigilat*” [15]. Su epicedio latino fue el siguiente: “*Vivit amor, Ludovice, tuus, dat vivida, et absens/ Corda mihi, prasens, qualia dona daret?*” [16] y su octava castellana: “No hay Jaspes, no hay Pirámides, no hay Chias,/Vayetas, Urnas, Machinas de el Folo,/Que a explicar lleguen las tristezas mías,/En quanto llora el uno, y otro Polo./Desmayado el Pincel, sus valentías/Murieron con el Rey; y puede solo/ A lágrimas, a sustos, a oblaciones,/Sala Capitular de Corazones”[17]. Como puede evidenciarse, el frontis septentrional estaba claramente destinado a ensalzar la figura del monarca, al entrever que, tras su muerte, cualquier emoción era inconcebible, ya que el soberano se constituía como el motor capaz de mover los corazones de sus vasallos. Así, el autor explica que no encuentra ya manifestación con la que poder mostrar su duelo, pues ninguna hace justicia a su sentimiento.

A modo de conclusión general, tras haber expuesto cada uno de los fragmentos literarios y llevado a cabo la reconstrucción de los emblemas, nos gustaría hacer hincapié en cómo es necesario analizar cada una de las iconografías de los emblemas con sus correspondientes fragmentos literarios. Máxime cuando todas tienen un elemento común: legitimar la monarquía tras la defunción del rey. Sin lugar a dudas, la reconstrucción digital no solo facilitará la realización del modelado en tres dimensiones del catafalco -complementando así la interpretación final del programa iconográfico de las exequias dedicadas a Luis I en Toledo-, sino también hará más accesibles los resultados obtenidos de esta investigación.

Bibliografía

- [1] A. Bonet Correa, “La arquitectura efímera del Barroco en España”, Norba: *Revista de arte*, Extremadura, Universidad de Extremadura, nº13, 1993, pp. 29-30.
- [2] P. Revenga Domínguez, “*Ceremonia, Fasto y Realeza: Las relaciones de fiestas toledanas del s. XVIII*”. Abrente: Boletín de la Real Academia Gallega de Bellas Artes de Nuestra Señora del Rosario, nº 38-39, 2006-2007, pp. 233-256 y P. Revenga Domínguez, El pintor madrileño José de Paz Ribera y el túmulo de Luis I en la Catedral de Toledo. En Congreso Nacional de Madrid en el contexto de lo hispánico desde la época de los descubrimientos, Madrid, 1994, Tomo I, pp. 573-584.
- [3] J.A. López de Cotilla, Pantheon de el sol, machina sepulchral, demostración luctuosa que la imperial Toledo executò llorosa, construyò liberal y ofrecio amante à las memorias, sepultadas nunca, de el joven principe nuestro señor y rey Don Luis Fernando, de los señores reyes Don Phelipe Quinto y Doña Maria Luisa Gabriela Emmmanuel de Saboya parto deseado y fruto conseguido, pero ya anohecida luz, difunto sol ... los dias 16 y 17 de este mes de noviembre de 1724 ... y las traslada la obediente pluma de un jesuita capellan mas honrado de tan alta ciudad, Toledo, imprenta de Pedro Marqués, 1724.
- [4] A. Bernat Vistarini y J. Cull, *Emblemas españoles ilustrados*, Madrid, Akal, 1999.
- [5] Las manos concordadas en el águila y el cuerpo no se separan (Traducción propia).
- [6] La ciudad previsora deliberó en conjunto a los soberanos/ para que el comienzo fuera: el mismo día más amplio: pero allí: la mortífera Átropos turba tantos funerales que/ el mismo día otorgó en su partida demasiada tristeza (Traducción propia). Es decir,

en el mismo día en que la ciudad hubo depositado las esperanzas en un soberano, justo ese mismo día fue la parca a llevarse al monarca llenando a todos de tristeza.

[7] J. A. López de Cotilla, *Pantheon de el Sol...*, fol. 19.

[8] La luz se extiende por el río. Tu quebranto es grande como el mar (Traducción propia).

[9] La luz fluye entre las lágrimas, con el rey ausente se oscurece. ¿A caso será el Tajo? Y más aún, la luz del río se desliza entre la lluvia (Traducción propia).

[10] J. A. López de Cotilla,, *Pantheon de el Sol...*, fol. 20.

[11] J. A. López de Cotilla,, *Pantheon de el Sol...*, fol. 21.

[12] De un disparo mata a todos. Todos morimos (Traducción propia).

[13] ¿Ya está la muerte en el mundo dando sepultura a alguien cualquiera? A quien hieras de nuevo, en ese momento nadie es para ti (Traducción propia).

[14] J. A. López de Cotilla, *Pantheon de el Sol...*, fol. 20.

[15] Yo duermo y mi corazón vigila (Traducción propia).

[16] Vive el amor, Luis, el tuyo da energía, y ausente el corazón para mí, ¿Qué regalo diese?
(Traducción propia).

[17] J. A. López de Cotilla, *Pantheon de el Sol...*, fol. 20.

Ingeniería y tecnología

Capítulo 11. Efecto de la raza no patogénica de *Fusarium oxysporum* (Fo12) sobre la nutrición férrica en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) y de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Sevillano Caño, Jesús; Lucena León, Carlos; Romera Ruiz, Francisco Javier; Alcántara Vara, Esteban.

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes. Departamento de Agronomía. Edificio C4. Campus de Rabanales.

E-mail: o42secaj@uco.es

Resumen

El manejo de comunidades microbianas, presentes de manera natural en los suelos de cultivo, constituye una alternativa sostenible al uso abusivo de fertilizantes químicos que ha caracterizado a la agricultura moderna de cara a incrementar la producción de alimentos a nivel mundial. El objetivo ha sido evaluar la implicación de la cepa no patogénica Fo12 de *Fusarium oxysporum* en la nutrición férrica de plantas de pepino y tomate. Se realizaron 4 experimentos utilizando sistema de cultivo hidropónico y macetas con suelo calizo. Se evaluó el efecto de la inoculación con dicha cepa sobre la inducción de diferentes mecanismos de respuesta que las plantas dicotiledóneas activan frente a deficiencia de Fe como son la acidificación del medio, la actividad reductasa de Fe⁺³ y la proliferación de pelillos radicales. Además, se evaluó el grado de clorosis, la concentración de elementos minerales en hoja, el crecimiento y la floración. En medio hidropónico, la inoculación produjo la acidificación del medio en pepino y tomate, y mayor proliferación de pelillos radicales, en pepino. En tomate cultivado en suelo calizo, la inoculación produjo aumento de la concentración de Fe en hoja, disminución de la clorosis, mayor incremento en altura y adelanto de la floración.

Fundamento y presentación de resultados

La FAO (2009) [1] señala que para satisfacer las necesidades alimentarias de la población en 2050 será necesario un incremento del 70% de la producción agrícola a nivel mundial. La productividad de los cultivos depende en gran medida de la disponibilidad de nutrientes en el suelo, principalmente del nitrógeno (N), del fósforo (P) y del hierro (Fe). Tradicionalmente, la agricultura ha tratado de dar respuesta a estas y otras deficiencias nutricionales mediante el uso de fertilizantes sintéticos, aunque se ha demostrado que generan problemas ambientales severos y entrañan un riesgo para los seres humanos [2]. Una alternativa más sostenible a este modelo es la constituida por el manejo de la rizosfera y de los microorganismos que habitan en ella. Recientemente, se ha aislado una cepa no patogénica de *Fusarium oxysporum* (Fo12) que ha demostrado ser eficaz como agente de control biológico (BCA) contra *Verticillium dahliae* y como emisor de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) promotores del crecimiento vegetal [3]. En este estudio, se evaluó la implicación de Fo12 en la inducción de determinados mecanismos de respuesta que las plantas dicotiledóneas activan frente a condiciones de deficiencia de Fe. Estos mecanismos de respuestas son, entre otros, la capacidad de acidificar el medio de cultivo, la proliferación de pelillos radicales en la zona subapical de la raíz y la capacidad de reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺ que es la única forma en la que las

plantas dicotiledóneas pueden asimilarlo. Adicionalmente, por su relación con la nutrición férrica, se evaluó el crecimiento, la floración, la clorosis y el contenido de Fe foliar.

Se obtuvieron valores de capacidad reductora sorprendentemente bajos (<60 nmoles de Fe^{2+}/g PF raíz·h) muy por debajo a los descritos por García et al. (2014) en circunstancias de crecimiento parecidas [4] (≈ 1000 nmoles de Fe^{2+}/g PF raíz·h). Además, no se observó una inducción de la capacidad reductora en las plantas inoculadas, con valores incluso más bajos que en las no inoculadas, siendo esto contrario a lo observado por Ipek et al. (2017) [5] (datos no mostrados).

Por otro lado, en los experimentos realizados en medio hidropónico, se observó que las plantas de pepino inoculadas con Fo12, a partir del segundo día, y tomate, desde el inicio de las determinaciones, acidificaron más el medio que las plantas no inoculadas (Figura 1). Esto coincide con lo descrito por Ipek et al. (2017) [5].

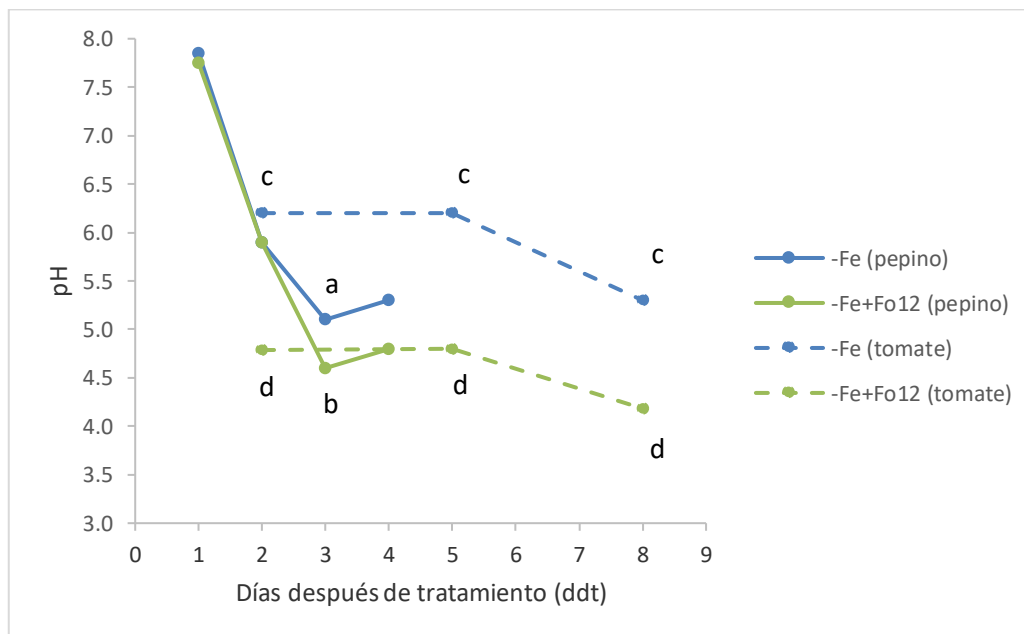


Figura 1. Evolución del pH de la solución nutritiva en plantas de pepino (línea continua) y tomate (línea discontinua) crecidas en cultivo hidropónico durante el periodo de tratamiento (4 y 8 días). Tratamientos: -Fe (azul) y -Fe+Fo12 (verde). La inoculación con la cepa no patógena del hongo *Fusarium oxysporum* (Fo12) se realizó el mismo día en que se aplicó el tratamiento de deficiencia de Fe. Letras diferentes indican existencia de diferencias significativas entre tratamientos de una misma especie para un mismo día ($p < 0.05$)

De la misma manera, se observó una mayor proliferación de pelillos radicales en plantas de pepino cultivadas en medio hidropónico e inoculadas con Fo12, tanto en presencia como en ausencia de Fe en el medio (Figura 2). Delaporte (2018) [6] informó de una

mayor proliferación de estas estructuras en individuos de fresón (*Fragaria ananassa*) inoculados con otros microorganismos.

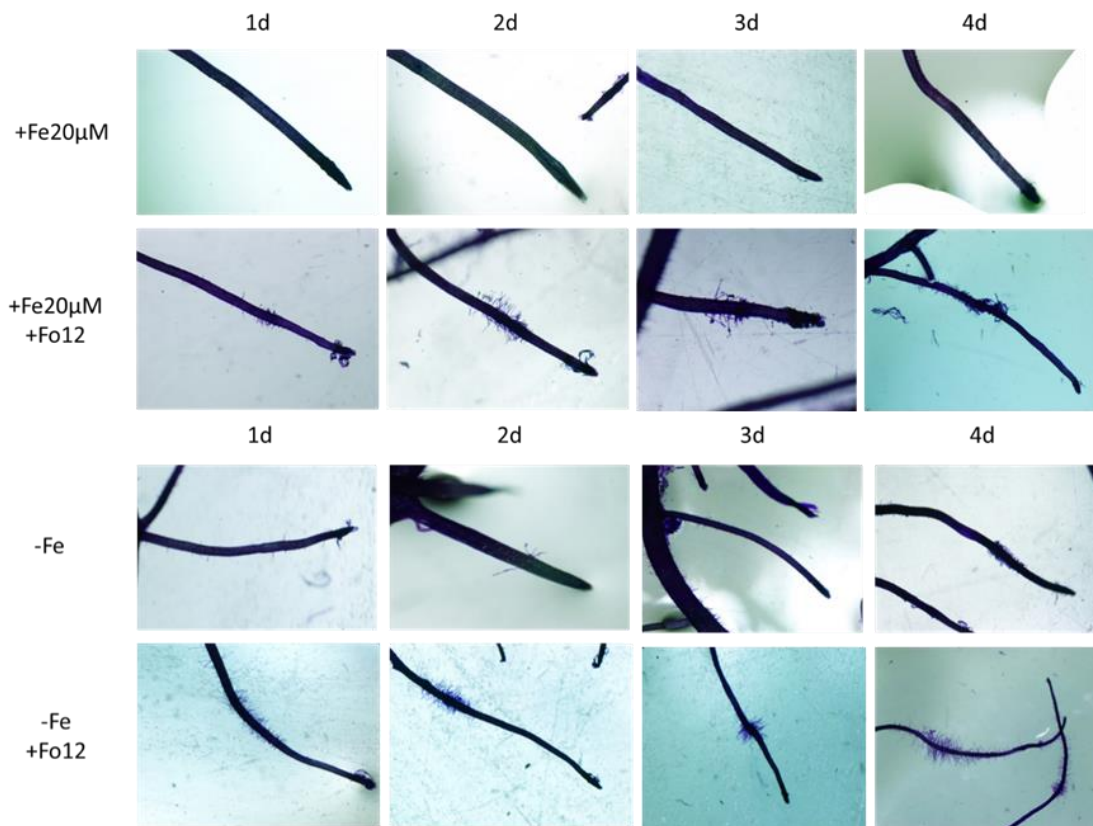


Figura 2. Proliferación de pelillos radiculares en plantas de pepino crecidas en cultivo hidropónico durante el periodo de tratamiento (4 días). Tratamientos: +Fe, +Fe+Fo12, -Fe y -Fe+Fo12. La inoculación con la cepa no patógena del hongo *Fusarium oxysporum* (Fo12) se realizó el mismo día en que se aplicó el tratamiento de deficiencia de Fe. Las determinaciones se realizaron 1, 2, 3 y 4 días después de tratamiento (ddt)

La inoculación con Fo12 en plantas de tomate tuvo un efecto diferencial según el medio de cultivo. En medio hidropónico, las plantas inoculadas mostraron mayor clorosis (menor índice SPAD) y retrasaron la floración mientras que, en suelo calizo, la inoculación redujo la clorosis (mayor índice SPAD) y adelantó la floración (datos no mostrados). Esta misma tendencia fue observada al evaluar el contenido de Fe foliar (Tabla 1).

Otros estudios han indicado distintos efectos sobre estos parámetros ejercidos por la inoculación con diversos microorganismos. Elkoca et al. (2010) [7] observaron menos clorosis en plantas de judía inoculadas (*Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* y *Rhizobium leguminosarum*) y ningún efecto sobre la floración. Sin embargo, Dursun et al. (2019) [8], empleando estos mismos microorganismos, obtuvieron una floración más intensa. Finalmente, autores como Ipek et al. (2017) [5], Delaporte et al. (2018) [6] y

Dursun et al. (2019) [8] informaron de mayores concentraciones de Fe en plantas inoculadas con distintas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).

Estos efectos diferenciales observados hacen que la confirmación de los resultados requiera de experimentación adicional.

Tabla 1. Contenido de Fe (mg kg^{-1} dw) en hoja de plantas de tomate crecidas en medio hidropónico y suelo calizo bajo distintos tratamientos

Medio de cultivo	Tratamiento	Contenido de Fe (mg kg^{-1} dw)	
		Media	Error Estándar
Hidropónico	+Fe	75.76	8.15
	-Fe	46.84	6.00
	-Fe+Bicarbonato	35.72 ^a	3.40
	+Fe+Fo12	80.20	3.94
	-Fe+Fo12	43.79	7.16
	-Fe+Bicarbonato+Fo12	27.37 ^a	1.98
Suelo calizo	-Fe	62.53	6.22
	-Fe+Bicarbonato	47.49 ^b	2.60
	-Fe+Fo12	71.53	12.80
	-Fe+Bicarbonato+Fo12	128.87 ^b	27.16

a y b indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Bibliografía

- [1] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), *Cómo alimentar al mundo en 2050*, 2009, Foro de Expertos de Alto Nivel, Roma, Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/synthesis_papers/Cómo_alimentar_al_mundo_en_2050.pdf
- [2] Organización Mundial de la Salud (OMS), *Residuos de plaguicidas en los alimentos*, 2018, Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>
- [3] A. Mulero-Aparicio, T. Cernava, D. Turrà, A. Schaefer, A. Di Pietro, F. J. López-Escudero, G. Berg, *The Role of Volatile Organic Compounds and Rhizosphere Competence in Mode of Action of the Non-pathogenic Fusarium oxysporum FO12 Toward Verticillium Wilt*, 2019, *Frontiers in Microbiology*, 10.
- [4] M. J. García, M. J. García-Mateo, C. Lucena, F. J. Romera, C. L. Rojas, E. Alcántara, R. Pérez-Vicente, *Hypoxia and bicarbonate could limit the expression of iron acquisition genes in Strategy I plants by affecting ethylene synthesis and signaling in different ways*, 2014, *Physiologia Plantarum* 150, p. 95–106.

- [5] M. İpek, S. Aras, Ş. Arıkan, A. Eşitken, L. Pırlak, M. F. Dönmez, M. Turan, *Root plant growth promoting rhizobacteria inoculations increase ferric chelate reductase (FC-R) activity and Fe nutrition in pear under calcareous soil conditions*, 2017, *Scientia Horticulturae* 219, p. 144–151.
- [6] P. A. G. Delaporte, *Contribución de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la nutrición de hierro y fósforo de plantas de frutilla (*Fragaria ananassa* Duch.)*, 2018.
- [7] E. Elkoca, M. Turan, M. F. Donmez, *Effects of single, dual and triple inoculations with bacillus subtilis, bacillus megaterium and rhizobium leguminosarum bv. phaseoli on nodulation, nutrient uptake, yield and yield parameters of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Elkoca-05')*, 2010, *Journal of Plant Nutrition* 33:14, p. 2104-2119.
- [8] A. Dursun, E. Yildirim, M. Turan, M. Ekinçi, R. Kul, F. P. Karagoz, *Determination of the Effects of Bacterial Fertilizer on Yield and Growth Parameters of Tomato*, 2019, *Journal of Agricultural Science and Technology* 21:5, p. 1227-1234.

Capítulo 12. Control del movimiento de un heliostato de un solo eje

Victoria Arenas Ramos

Universidad de Córdoba. Escuela Politécnica Superior. Departamento de Ingeniería Eléctrica.

Dirección: C//Asín Palacios nº 25. E-mail: victoriaar42@gmail.com

Resumen

Dentro del marco de la Beca semillero ofrecida se ha desarrollado un sistema de control en lazo abierto basado en el SoC ESP32, el cual se encargará de orientar de manera precisa un prototipo del heliostato diseñado por el grupo de Investigación para las energías renovables de la Universidad de Córdoba. Este innovador modelo cuenta con un único grado de libertad, y por tanto con un único actuador para un seguimiento solar a dos ejes. Se desarrolla en consecuencia el control del movimiento para dicho actuador, un sistema de retroalimentación a través de un final de carrera y un sensor óptico, y una comunicación Bluetooth que permitirá la corrección de errores y el estudio del sistema externamente. El uso que se le pretende dar a dicho heliostato es urbano, siendo su principal aplicación la desviación de luz solar y su orientación hacia una ventana o apertura de forma que se ilumine el interior de un inmueble. Para todo ello se ha partido de un prototipo de pequeño tamaño (de unos 30x30 cm), y de la información disponible realizada previamente por dicho grupo de investigación.

Fundamento y presentación de resultados

Hoy en día expresiones como eficiencia o ahorro energético son términos que escuchamos a diario. Una reducción del gasto energético en una vivienda o en cualquier tipo de edificio no solo se traduce en la posibilidad de un ahorro económico, sino que reduce el impacto medioambiental y, por tanto, también sus efectos secundarios, como puede ser el cambio climático. Con el objetivo de incrementar la sostenibilidad energética se ha promovido en los últimos años la instalación de pequeños heliostatos en edificios de forma que orienten la luz natural exterior hacia el interior del inmueble.

Un heliostato es un dispositivo que incluye un espejo, por lo general un espejo plano, cuyo fin es reflejar la luz solar hacia un objetivo predeterminado. Se utilizan normalmente en aplicaciones orientadas a la utilización de la radiación solar directa como fuente de iluminación natural, aunque también se proponen como elementos de sistemas de concentración para aplicaciones térmicas y fotovoltaicas. La mayor parte de los desarrollos tecnológicos publicados sobre heliostatos hacen referencia a heliostatos de grandes dimensiones y con grandes distancias entre el reflector y el foco. Sin embargo, en el desarrollo de esta beca se ha trabajado con un modelo particular de heliostato, desarrollado por el grupo de investigación para las energías renovables de la Universidad de Córdoba [1,2], el cual tiene la particularidad de contar con un solo motor, que proporciona un solo grado de libertad, pero a partir del cual a través de un eje roscado se consiguen los movimientos en acimut y en elevación necesarios. La precisión en el apuntamiento que se consigue, si bien está limitada por las características mecánicas del modelo, es más que suficiente para la aplicación requeridas, ya que la distancia reflector-foco es por lo general considerablemente menor en usos urbanos.

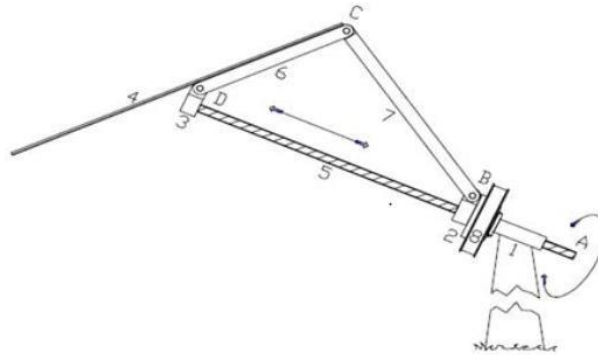
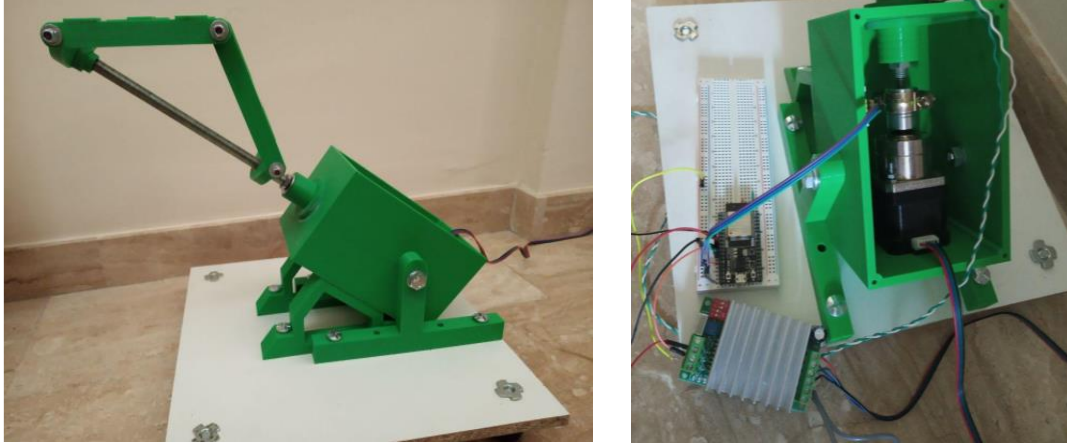


Figura 1. Esquema teórico del heliostato de un solo eje

Durante el desarrollo de esta beca se ha diseñado el control del movimiento de un heliostato de forma capaz de seguir los requerimientos de precisión para su finalidad. Partiendo de un prototipo construido con una impresora 3D- el cual aparece en la figura 2a- se han seguido los siguientes pasos para su diseño:

- Estudio y selección de los componentes electrónicos necesarios para el sistema de control. Se ha elegido como microcontrolador un módulo ESP32, así como un actuador acorde con las dimensiones y características mecánicas del prototipo.
- Estudio sobre diferentes técnicas de apuntamiento solar no polar. Finalmente, debido a las características del prototipo, se ha realizado un seguimiento solar a dos ejes, acimut y elevación, a través de un sistema de control en lazo abierto basado en coordenadas calculadas [3].
- Estudio e implementación de un sensor final de carrera y un optointerruptor para llevar a cabo una realimentación o corrección de la posición necesaria en un sistema de lazo abierto.
- Diseño de una comunicación con el exterior en forma de conexión Bluetooth de baja energía (BLE) la cual permite seguir el estudio de este dispositivo y comprobar su correcto funcionamiento de forma externa.
- Se han montado todos los componentes anteriormente nombrados y se han realizado pruebas que comprueban su funcionamiento.

En la figura 2b se muestra el prototipo utilizado ya con el sistema de control integrado en el diseño.



Figuras 2a y 2b. Modelo inicial (a); modelo con el sistema de control integrado (b)

Bibliografía

- [1] Torres Roldán, M. Tesis Doctoral (2015). *Diseño de un helióstato polar innovador y simplificado para la integración en edificios y entornos urbanos.*
- [2] Osuna Mérida, M. *Desarrollo e implantación del alumbrado en espacios académicos mediante combinación de heliostatos y un sistema de iluminación artificial con una regulación automática*
- [3] Lee, C., Chou, P., Chiang, C. & Lin, C., 2009. *Sun tracking systems: a review.* Sensors, 9

Salud

Capítulo 13. Aplicación del análisis del volatiloma al diagnóstico de la infección por micobacterias en ganadería

Pablo Rodríguez-Hernández¹, Vicente Rodríguez-Estévez¹, Lourdes Arce², Jaime Gómez-Laguna³

¹ Universidad de Córdoba. Department of Animal Production, International Agrifood Campus of Excellence (ceiA3). Campus de Rabanales.

² Universidad de Córdoba. Department of Analytical Chemistry, Institute of Fine Chemistry and Nanochemistry, International Agrifood Campus of Excellence (ceiA3). Marie Curie Annex Building, Campus de Rabanales.

³ Universidad de Córdoba. Department of Anatomy and Comparative Pathology and Toxicology, International Agrifood Campus of Excellence (ceiA3). Campus de Rabanales.

E-mail: paablorh@gmail.com

Resumen

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) son metabolitos de bajo peso molecular que componen el volatiloma, cuyo análisis ha sido ampliamente utilizado en diferentes áreas. Este innovador enfoque ha surgido en el campo de la investigación como una alternativa diagnóstica a diferentes enfermedades en medicina humana y veterinaria con problemas de sensibilidad analítica y diagnóstica. Tal es el caso de la infección causada por las micobacterias responsables de la tuberculosis y la paratuberculosis en el ganado. La baja sensibilidad de las técnicas diagnósticas actuales (principalmente basadas en cultivo, PCR y ensayos inmunológicos) frente a *Mycobacterium bovis* (o complejo *Mycobacterium tuberculosis*) y *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, así como otros inconvenientes como la baja carga bacteriana en las muestras, el tedioso y laborioso proceso que el cultivo microbiológico supone, la inhibición asociada con diferentes variables o la eliminación intermitente de las micobacterias, ponen de manifiesto la importancia de evaluar nuevas técnicas que arrojen diferentes opciones al paradigma del diagnóstico de la infección por estas micobacterias. En este sentido, el análisis del volatiloma se presenta como una opción de potencial interés ya que cumple ampliamente los requerimientos exigidos para el diagnóstico de los procesos causados por micobacterias. El objetivo de la presente revisión es recopilar la información relativa al diagnóstico de la tuberculosis y la paratuberculosis en ganado mediante el análisis de COVs utilizando diferentes matrices biológicas. Así, en este trabajo se discuten las técnicas analíticas utilizadas para la evaluación de COVs poniendo el punto de mira en las ventajas e inconvenientes que ofrecen en comparación con las herramientas diagnósticas de rutina. Además, se destacan las diferencias descritas en la bibliografía entre los estudios *in vivo* e *in vitro*, las infecciones naturales y experimentales y entre el uso de volátiles concretos (análisis dirigido) y patrones de COVs completos (análisis no dirigido). Esta revisión resume como diferentes técnicas analíticas podrían ser útiles en el problemático diagnóstico de la tuberculosis y la paratuberculosis en ganado, y plantea desafíos para estudios futuros.

Fundamento y presentación de resultados

El análisis de compuestos orgánicos volátiles (COVs) o volatiloma es un área emergente en medicina humana y veterinaria (Purkhart et al., 2011), que permite un diagnóstico no invasivo, rápido y económico como también una identificación de nuevos biomarcadores como alternativa a las técnicas de diagnóstico actuales. Los COVs se definen como una subcategoría de sustancias de pequeño peso molecular dentro de los metabolitos caracterizadas por un bajo punto de ebullición y por una gran presión de vapor (Ebert et al., 2017). Son producidos en el ambiente permitiendo una medición directa en fase gas y ofreciendo un manejo mínimo de las muestras, un monitoreo no invasivo y un muestreo más sencillo comparado con otros metabolitos, los cuales tienen que ser extraídos desde las muestras biológicas (Singh et al., 2018).

La infección por micobacterias de crecimiento lento como *Mycobacterium bovis* o *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), es una de las principales enfermedades del ganado que se beneficiarían del desarrollo de técnicas diagnósticas más rápidas y sensibles. Teniendo en cuenta las necesidades específicas de estas micobacterias, así como también otros factores asociados a la respuesta inmune del hospedador después de la infección, el diagnóstico de estas infecciones se convierte en un desafío, especialmente en el sector ganadero. El diagnóstico de la infección por micobacterias actualmente se basa en metodologías tediosas, caras, laboriosas y lentas (Ratiu et al., 2017). Así, el análisis de COVs ha sido propuesto como una alternativa para el diagnóstico de estas infecciones.

A pesar de que este nuevo enfoque es considerado como una gran posibilidad con un futuro prometedor, actualmente permanece en una etapa de desarrollo inicial. Hay escasos trabajos in vivo disponibles que utilicen el análisis de volatiloma como una herramienta diagnóstica para la infección por micobacterias en animales. Ante este panorama, la presente revisión recoge la literatura disponible centrada en la evaluación de metodologías y procedimientos utilizados para el diagnóstico de la infección por micobacterias en ganado a partir del volatiloma, haciendo hincapié en la infección por *Mycobacterium bovis* and MAP, con el objetivo de definir líneas de investigación de interés a implementar en el futuro.

El análisis de COVs como alternativa diagnóstica para enfermedades causadas por micobacterias ha sido evaluado tanto in vivo como in vitro. Comparado con los ensayos in vivo, el gran número de estudios in vitro, que básicamente consisten en el cultivo de la bacteria, revela el inicial grado de desarrollo en el que se encuentra esta área de investigación. La literatura revisada en el presente estudio pone de manifiesto algunas desventajas relacionadas con estos estudios in vitro. En primer lugar, aunque los experimentos in vitro son capaces de detectar cambios de COVs relacionados con las diferentes fases del crecimiento bacteriano, siguen siendo necesarios largos periodos de tiempo de cultivo para identificarlos, lo cual es una de las principales desventajas relacionadas a las metodologías actuales de diagnóstico. También es importante subrayar la baja correlación existente entre resultados obtenidos de cultivos bacterianos comparados con aquellos COVs producidos a partir de otras muestras biológicas estudiadas en ensayos in vivo (Ratiu et al., 2020); y los diferentes perfiles de COVs obtenidos dependiendo del sustrato donde la micobacteria crece, resultando a menudo en hallazgos poco coherentes (Dang et al., 2013). La efectividad del enfoque in vivo está fundamentada en los resultados de varios estudios, donde COVs de muestras

biológicas se han empleado para diferenciar entre animales infectados con diferentes especies de micobacterias de aquellos animales no infectados.

Otra variable a tener en cuenta para la evaluación del volatiloма como una alternativa para el diagnóstico de estas infecciones en animales es el tipo de infección: natural o experimental. Aunque las infecciones experimentales son lógicamente la opción más común y fácil para este tipo de aproximación, los experimentos que estudian animales naturalmente infectados son de gran importancia. Los ensayos a partir de infecciones naturales son necesarios para validar los resultados obtenidos de cualquier herramienta diagnóstica nueva, como es el análisis de volatiloма. A lo largo de la presente revisión solo se encontró un artículo que incluyese el análisis de COVs a partir de ambos tipos de infecciones (Fend et al., 2005). Los autores encontraron que las diferencias entre animales negativos y positivos a la infección eran más pronunciadas en el grupo de infección natural que en el de infección experimental. Este hallazgo pone de manifiesto la importancia de llevar a cabo en el futuro estudios en condiciones de campo para compararlos con aquellos obtenidos a partir de animales infectados experimentalmente, así como para validar los resultados de estos últimos.

Entre las diferentes especies utilizadas para el diagnóstico de la infección por micobacterias a través del análisis de COVs, las especies ganaderas son las más frecuentes. Notablemente, la fauna silvestre también se ha empleado para llevar a cabo el diagnóstico desde esta nueva perspectiva, en concreto en ciervos y tejones, con el objetivo de desarrollar un mejor sistema de vigilancia epidemiológica en estas especies. Entre los animales de laboratorio, además del ratón, los primates se han utilizado para estudiar especies de micobacterias que a menudo afectan a las personas. Sin embargo, hay falta de estudios en otras especies de interés, como el cerdo, una especie modelo con un interés creciente para la investigación biomédica; o el jabalí, notable por su frecuente interferencia en los programas de control de la tuberculosis bovina en diferentes países europeos. La presente revisión subraya el punto inicial donde esta metodología se encuentra y la necesidad de futuros estudios e investigación.

Tres muestras biológicas diferentes han sido evaluadas como fuente de información en el diagnóstico de la infección por micobacterias en animales a través del volatiloма. Aunque hay hallazgos interesantes y útiles, todavía hay una falta de homogeneidad entre las condiciones de estudio. Esto a menudo da lugar a resultados incomparables e inconsistentes. Por ejemplo, a pesar de estudiar el mismo patógeno (MAP) y usar las mismas muestras biológicas (aliento y heces) y especie animal (cabras), se encontraron conclusiones contradictorias en la literatura: mientras que unos autores afirmaban que las diferencias en el perfil de COVs eran menos pronunciadas en aliento que en heces (Kasbohm et al., 2017); sin embargo, otros autores sugerían que la evaluación del volatiloма a partir de aliento era mejor comparado con el obtenido a partir de heces (Purkhart et al., 2011). De hecho, los investigadores normalmente reconocen que las hipótesis de sus estudios deberían ser confirmadas por ensayos futuros, considerando sus hallazgos como puntos de partida (Purkhart et al., 2011; Kasbohm et al., 2017). Por tanto, no se pueden establecer comparaciones o conclusiones definitivas con la información disponible, siendo recomendable llevar a cabo estudios donde las matrices biológicas sean empleadas de forma simultánea con las mismas condiciones metodológicas.

En la presente revisión, diferentes técnicas analíticas han sido evaluadas para presentar el uso del volatiloma como una alternativa diagnóstica en las infecciones por micobacterias en animales: diferentes modalidades de cromatografía de gases sumadas a espectrometría de masas, varios modelos de nariz electrónica, así como la espectrometría de movilidad diferencial, siendo las dos primeras opciones las más frecuentes. En este sentido, tal y como otros autores han indicado previamente, los diversos métodos de recolección de COVs y los sistemas analíticos empleados han contribuido probablemente a la variabilidad de los resultados (Ellis et al., 2014). Teniendo en cuenta este contexto, cada método analítico ofrece tanto ventajas como limitaciones, siendo comparados a lo largo del presente trabajo.

El diagnóstico de una infección a partir del análisis de COVs puede llevarse a cabo identificando sustancias específicas relacionadas con el proceso patológico o mediante la detección de alteraciones significativas en el perfil completo de COVs. Aunque la mayoría de las investigaciones han intentado identificar biomarcadores concretos (análisis dirigido) que indiquen la presencia de la infección, también hay estudios que emplean el perfil completo de COVs (análisis no dirigido) para discriminar con éxito entre animales infectados y no infectados (Ellis et al., 2017).

En resumen, el número de ensayos in vivo que estudian la implementación del análisis del volatiloma para el diagnóstico de la infección por micobacterias en investigación animal es considerado escaso. Aunque actualmente existe una importante tendencia que evidencia el potencial de COVs generados en este tipo de infecciones como una herramienta diagnóstica, todavía se encuentra en una fase inicial y presenta algunas dificultades. La falta de estandarización y las diferencias en la metodología actual, así como el uso de diferentes matrices biológicas son los principales inconvenientes, a menudo resultando en resultados inconsistentes e incomparables. El elevado número de grupos de investigación que han estudiado este nuevo enfoque en todo el mundo ha contribuido a la falta de estandarización, pues normalmente se emplean diferentes protocolos, factor que hace más complicado reproducir los resultados. Se necesitan más estudios con mayor cantidad de detalle utilizando diferentes muestras biológicas, así como condiciones metodológicas constantes para superar las desventajas descritas. Esto abrirá nuevas posibilidades en el cuestionado diagnóstico de la infección por micobacterias en ganadería.

Bibliografía

- [1] Purkhart, R., Köhler, H., Liebler-Tenorio, E., Meyer, M., Becher, G., Kikowatz, A., & Reinhold, P. (2011). Chronic intestinal Mycobacteria infection: Discrimination via VOC analysis in exhaled breath and headspace of feces using differential ion mobility spectrometry. *Journal of Breath Research*, 5(2). <https://doi.org/10.1088/1752-7155/5/2/027103>. PMID: 21512209.
- [2] Ebert, B., Halbfeld, C., & M. Blank, L. (2016). *Exploration and Exploitation of the Yeast Volatilome*. *CurrentMetabolomics*, 5(2). <https://doi.org/10.2174/2213235x04666160818151119>
- [3] Singh, K. D., Del Miguel, G. V., Gugg, M. T., Ibañez, A. J., Zenobi, R., Kohler, M., Frey, U., & Sinues, P. M. L. (2018). Translating secondary electrospray ionization-high-resolution mass spectrometry to the clinical environment. *Journal of BreathResearch*, 12(2). <https://doi.org/10.1088/1752-7163/aa9ee3>. PMID: 29411710.

- [4] Ratiu, I. A., Ligor, T., Bocos-Bintintan, V., & Buszewski, B. (2017). *Mass spectrometric techniques for the analysis of volatile organic compounds emitted from bacteria*. *Bioanalysis*, 9(14), 1069–1092. <https://doi.org/10.4155/bio-2017-0051>. PMID: 28737423.
- [5] Ratiu, I. A., Bocos-Bintintan, V., Monedeiro, F., Milanowski, M., Ligor, T., & Buszewski, B. (2020). An Optimistic Vision of Future: Diagnosis of Bacterial Infections by Sensing Their Associated Volatile Organic Compounds. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 50(6), 501–512. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1663147>. PMID: 31514505.
- [6] Dang, N. A., Janssen, H. G., & Kolk, A. H. J. (2013). Rapid diagnosis of TB using GC-MS and chemometrics. *Bioanalysis*, 5(24), 3079–3097. <https://doi.org/10.4155/bio.13.288>. PMID: 24320132.
- [7] Fend, R., Geddes, R., Lesellier, S., Vordermeier, H. M., Corner, L. A. L., Gormley, E., Costello, E., Hewinson, R. G., Marlin, D. J., Woodman, A. C., & Chambers, M. A. (2005). Use of an electronic nose to diagnose *Mycobacterium bovis* infection in badgers and cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4), 1745–1751. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1745-1751.2005>. PMID: 15814995.
- [8] Kasbohm, E., Fischer, S., Küntzel, A., Oertel, P., Bergmann, A., Trefz, P., Miekisch, W., Schubert, J. K., Reinhold, P., Ziller, M., Fröhlich, A., Liebscher, V., & Köhler, H. (2017). Strategies for the identification of disease-related patterns of volatile organic compounds: Prediction of paratuberculosis in an animal model using random forests. *Journal of Breath Research*, 11(4). <https://doi.org/10.1088/1752-7163/aa83bb>. PMID: 28768897.
- [9] Ellis, C. K., Stahl, R. S., Nol, P., Waters, W. R., Palmer, M. V., Rhyan, J. C., VerCauteren, K. C., McCollum, M., & Salman, M. D. (2014). A pilot study exploring the use of breath analysis to differentiate healthy cattle from cattle experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *PLoS ONE*, 9(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089280>. PMID: 24586655.
- [10] Ellis, C. K., Rice, S., Maurer, D., Stahl, R., Waters, W. R., Palmer, M. V., Nol, P., Rhyan, J. C., VerCauteren, K. C., & Koziel, J. A. (2017). Use of fecal volatile organic compound analysis to discriminate between non-vaccinated and BCG—Vaccinated cattle prior to and after *Mycobacterium bovis* challenge. *PLoS ONE*, 12(7), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179914>. PMID: 28686691.

Capítulo 14. Estudio seroepidemiológico de paratuberculosis en ovino y caprino en Andalucía

Jiménez-Martín, D.^{1*}, Cano-Terriza, D.¹, Risalde, MA.², Isla J.³, Castro-Scholten, S.¹, Gortázar C.⁴, García-Bocanegra, I.¹.

1. Universidad de Córdoba. Grupo de Investigación en Sanidad Animal y Zoonosis (GISAZ). Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria.
2. Universidad de Córdoba. Departamento de Anatomía y Anatomía Patología Comparada y Toxicología. Facultad de Veterinaria.
3. Universidad de Castilla y la Mancha. Sabiotec Spin-Off.
4. Universidad de Castilla y La Mancha. Grupo de Sanidad y Biotecnología, Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (SaBio-IREC, UCLM-CSIC-JCCM).

*E-mail: debora.djm@gmail.com

Resumen

La paratuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica, de distribución mundial, causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) que afecta principalmente a rumiantes domésticos y silvestres. Además de ser una enfermedad de gran relevancia en Sanidad Animal y tener un importante impacto en la economía de las explotaciones de pequeños rumiantes, se ha sugerido el potencial zoonótico de MAP y su posible implicación en la Salud Pública. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) determinar la seroprevalencia de paratuberculosis y 2) realizar un análisis espacial y de factores de riesgo asociados con la infección por MAP, en ovino y caprino en Andalucía. Durante el periodo 2015-2017, se tomaron un total de 4.134 muestras de suero (2.266 de ovino y 1.868 de caprino) procedentes de 153 explotaciones de Andalucía y se analizaron empleando un ELISA indirecto *in-house*. Se detectaron anticuerpos frente a MAP en el 8,1% (183/2.266; IC95%: 7,0 – 9,2%) de las ovejas y el 19,4% (363/1.868; IC95%: 17,6 – 21,2%) de las cabras. La prevalencia de explotación fue del 66,3% (55/83; IC95%: 56,1 – 76,4%) y del 90,0% (63/70; IC95%: 83,0 – 97,0%) en ovino y caprino, respectivamente. En el análisis espacial se detectaron tres clústeres estadísticamente significativos ($p < 0,05$). Asimismo, los principales factores de riesgo asociados con la infección por MAP en pequeños rumiantes fueron: la especie (caprino), la ausencia de vallado perimetral y la presencia de rumiantes silvestres. Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian una amplia diseminación de MAP en explotaciones ovinas y caprinas en Andalucía, lo cual pone de manifiesto la necesidad de establecer medidas adecuadas para el control de esta enfermedad.

Fundamento y presentación de resultados

La transmisión de MAP es difícil de controlar, y ningún país puede considerarse sin riesgo de introducción de la enfermedad. Por lo tanto, los programas de vigilancia y control en las principales especies domésticas susceptibles son una herramienta fundamental incluso en países libres de MAP [1].

En Europa se han realizado diversos estudios para determinar la seroprevalencia MAP en caprino y ovino. Sin embargo, los estudios seroepidemiológicos llevados a cabo en España para determinar su distribución en pequeños rumiantes son limitados, siendo la mayoría anteriores al año 2000 o realizados en áreas geográficamente limitadas [2,3,4,5]. Además, dado que la paratuberculosis no se encuentra sometida a programas de erradicación en España, actualmente no se dispone de información actualizada sobre la prevalencia y distribución de MAP en ovino y caprino, lo que refuerza la necesidad de realizar estudios de vigilancia serológica en esta enfermedad en nuestro país.

Por ello, los **objetivos** del presente estudio son:

1. Determinar la seroprevalencia de MAP en el ganado ovino y caprino de Andalucía.
2. Realizar un análisis espacial para identificar áreas de mayor circulación de MAP en explotaciones de pequeños rumiantes en esta región.
3. Identificar los principales factores de riesgo asociados a la infección por este patógeno en explotaciones ovinas y caprinas.

Los **resultados** obtenidos en el presente estudio fueron los siguientes:

Se detectaron anticuerpos frente a MAP en 545 (13,2%; IC95%: 12,2 – 14,2%) de los 4.134 animales analizados. La seroprevalencia individual obtenida fue del 8,1% (183/2.266; IC95%: 7,0 – 9,2%) en el ovino y del 19,4% (363/1.868; IC95%: 17,6 – 21,2%) en el caprino. A nivel de explotación, el 77,1% (118/153; IC95%: 70,5 – 83,8%) de los rebaños resultaron seropositivos. Se encontró al menos un animal seropositivo en 55 de las 83 (66,3%; IC95%: 56,1 – 76,4%) explotaciones de ovino y en 63 de 70 (90,0%; IC95%: 83,0 – 97,0%) explotaciones de caprino analizadas. La prevalencia media dentro de las granjas de ovejas positivas fue del 11,7% (oscilando entre el 3,3% y el 71,0%) y del 20,7% (3,3%-86,7%) en el caso de las explotaciones de cabras. Se observó una seropositividad significativamente mayor en el caprino en comparación con el ovino, tanto a nivel individual ($p < 0,001$) como de explotación ($p < 0,001$). Asimismo, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre provincias, los valores de seroprevalencia más bajos se encontraron en las provincias de Granada (5,1%) y Huelva (7,3%), mientras que los más altos se localizaron en Cádiz (23,3%) y Almería (17,1%) (Tabla S1). Además, se detectó seropositividad en 86 (87,8%) de los 98 municipios analizados.

El modelo de Bernoulli identificó tres clústeres estadísticamente significativos en el área de estudio ($p < 0,05$) (Figura 2). Un primer clúster, que presentó un radio de 4,7 km, se localizó en la Sierra de Grazalema (Cádiz) e incluyó cuatro explotaciones (RR = 3,6; $p < 0,001$). Un segundo clúster, con un radio de 59,4 km, se ubicó en la zona central de Andalucía, entre las provincias de Córdoba y Sevilla, incorporando 23 explotaciones (RR = 2,1; $p < 0,001$). Finalmente, un tercer clúster, con 34,7 km de

radio, se situó en la zona este de Almería, incluyendo seis explotaciones ($RR = 2,0$; $p = 0,005$).

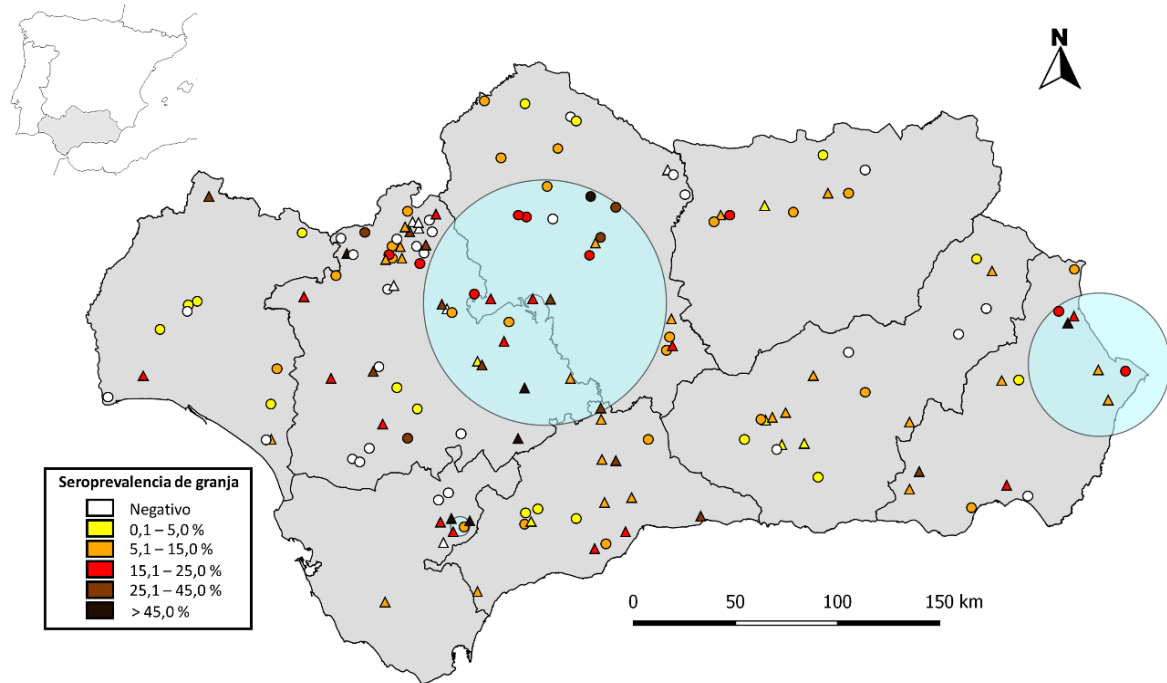


Figura 2. Prevalencia de granja frente a MAP en explotaciones de pequeños rumiantes (círculos: ovino; triángulos: caprino) en Andalucía. Las circunferencias en azul muestran los clústeres espaciales significativos ($p < 0,05$)

Se realizó un análisis bivalente, incluyendo todas las variables independientes obtenidas en el cuestionario epidemiológico. Tras la exclusión de las variables que presentaron colinealidad, un total de 19 variables que mostraron asociación ($p < 0,10$) con la seropositividad frente a MAP fueron incluidas en un modelo multivariante GEE. Finalmente, el modelo identificó como factores de riesgo potencialmente asociados a la infección por MAP en pequeños rumiantes en Andalucía: la especie, la ausencia de vallado perimetral y la presencia de rumiantes silvestres (Tabla 1). Se observó una seropositividad significativamente superior en el caprino (19,4%; 363/1.868) en comparación con el ovino (8,1%; 183/2.266). Así mismo, la prevalencia de anticuerpos frente a MAP incrementó significativamente en aquellas explotaciones sin vallado perimetral (21,7%; 112/515) con respecto a las granjas que sí lo presentaban (13,2%; 386/2.933). La seroprevalencia también fue significativamente mayor en animales procedentes de explotaciones con presencia de rumiantes silvestres (15,7%; 180/1.145) en comparación con aquellas en las que estas especies estaban ausentes (12,4%; 363/2.929).

Tabla 1. Resultados del modelo GEE. Factores de riesgo potencialmente asociados a la seropositividad de MAP en pequeños rumiantes de Andalucía

<i>Variable</i>	<i>Categoría</i>	<i>P</i>	<i>OR (IC95%)</i>
<i>Especie</i>	Caprino Ovino	<0,001 ^a	3,4 (2,1-5,6) _a
<i>Vallado perimetral</i>	No Sí	0,002 ^a	2,6 (1,4-4,9) _a
<i>Presencia de rumiantes silvestres</i>	Sí No	0,009 ^a	2,1 (1,2-3,7) _a

^a Categoría de referencia

Bibliografía

- [1] R. Whittington, K. Donat, M.F. Weber, D. Kelton, S.S Nielsen, S. Eisenberg, ... & A. Santi.. *BMC Vet. Res.*, 15 (2019) 198.
- [2] Mainar-Jaime, R.C., & Vázquez-Boland, J.A. *Prev. Vet. Med.*, 34 (1998) 317-327.
- [3] Reviriego, F.J., Moreno, M.A., & Domínguez, L. (2000). *Prev. Vet. Med.*, 43 (2000) 43-51.
- [4] R.A Astorga-Márquez, A. Carvajal, A. Maldonado, S.V Gordon, R. Salas, F. Gómez-Guillamón, ... & J. Santiago-Moreno. *Eur. J. Wildl. Res.*, 60 (2014) 387-390.
- [5] B. Barrero-Domínguez, I. Luque, B. Huerta, J. Gomez-Laguna, Á. Galán-Relaño, L. Gómez-Gascón, ... & R.J Astorga. *Vet. Rec.*, 185(2019), 600-600.

Capítulo 15. Estudio de alteraciones en mecanismos de regulación de la expresión génica en Adenocarcinoma Ductal de Páncreas

Moreno-Montilla MT, Ibáñez-Costa A, Castaño JP

*Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología Celular,
Fisiología e Inmunología.*

E-mail: b52momom@uco.es

Resumen

El adenocarcinoma ductal de páncreas (ADP) es uno de los cánceres más letales y agresivos. Desafortunadamente, no existen marcadores de diagnóstico tempranos, así como dianas terapéuticas efectivas para esta enfermedad. En este contexto, una característica común de todas las patologías tumorales es la expresión aberrante de variantes de splicing con potencial oncogénico. Esto puede deberse a cambios en la maquinaria responsable del proceso de splicing, por tanto, la identificación de componentes de esta maquinaria alterados podría ser clave en el desarrollo de nuevos biomarcadores y/o dianas terapéuticas. Así, los objetivos de este trabajo fueron: 1) Evaluar las alteraciones presentes en factores de splicing desregulados en ADP; 2) analizar su relación con parámetros clínicos de interés; 3) determinar su impacto funcional en líneas celulares. Los resultados obtenidos mostraron la existencia de una profunda desregulación de la maquinaria de splicing en ADP, relacionada con la supervivencia de los pacientes. La sobreexpresión de estos factores provocó una clara disminución de la agresividad celular. Así, la desregulación del proceso de splicing podría ser clave en el desarrollo del ADP, así, su estudio es crucial para identificar nuevos biomarcadores y dianas terapéuticas que mejoren la calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: Adenocarcinoma ductal de páncreas; splicing; factor de splicing.

Fundamento y presentación de resultados

Introducción

El adenocarcinoma ductal de páncreas (ADP) presenta una de las tasas de mortalidad más altas del mundo, debido principalmente a su diagnóstico en estadios avanzados y a la falta de respuesta al tratamiento [1]. Por lo tanto, los principales objetivos para combatir este cáncer se enfocan hacia una detección más temprana y el desarrollo de nuevas terapias más efectivas. En este contexto, la alteración del proceso de splicing alternativo ha surgido como una nueva vía de estudio ya que la aparición de isoformas de splicing aberrantes se ha encontrado asociada al desarrollo y/o progresión de numerosos tipos de cáncer [2-5]. En base a todo lo anterior, la hipótesis de partida de este trabajo es que durante el desarrollo y la progresión del ADP, ciertos componentes de la maquinaria de splicing sufren una desregulación que podría ocasionar la producción de variantes de splicing aberrantes con potencial oncogénico. Partiendo de

esta hipótesis, se plantea el objetivo de identificar estas alteraciones presentes en la maquinaria de splicing en ADP, así como sus posibles consecuencias funcionales.

Metodología

Para afrontar el objetivo propuesto se partió de los resultados obtenidos en un array de microfluídica en el que se midió la maquinaria de splicing (72 componentes) en muestras de ADP y tejido adyacente no tumoral procedentes de pacientes (n = 76). Se estudió esta desregulación, así como su capacidad discriminadora para distinguir entre muestras tumorales y no tumorales. En base a estos resultados se seleccionó un conjunto reducido de factores y se estudiaron asociaciones y correlaciones entre la desregulación hallada y parámetros clínicos de interés, como es la supervivencia de los pacientes. Finalmente, algunos de ellos, fueron seleccionados para profundizar en su papel en el desarrollo y/o progresión del ADP. Así, se realizaron diferentes ensayos funcionales (proliferación, migración, formación de tumorosferas, colonias, etc.) para identificar el efecto de la sobreexpresión de estos dos genes (que fue validada por RT-qPCR y Western Blot) sobre características de agresividad en líneas celulares de ADP (Capan-2 y BxPC-3).

Resultados

En estudios previos del grupo de investigación, se halló una profunda desregulación en la maquinaria de splicing en muestras de pacientes con ADP. En base a distintos criterios, fueron finalmente seleccionados aquellos que permitían discriminar muy bien entre tejido tumoral y adyacente, estando menos expresados en tejido tumoral. Analizamos su relación con parámetros clínicos y observamos que una menor expresión de estos factores a nivel de ARN mensajero se asociaba a menor tasa de supervivencia de los pacientes; además, descubrimos que existía una relación en cuanto a su expresión y la presencia de mutaciones en los genes *KRAS* y *TP53*, los dos genes principalmente mutados en ADP. Estas asociaciones clínicas dieron pie a realizar ensayos funcionales con estas moléculas, para ello, se sobreexpresaron en dos líneas celulares modelo de ADP, Capan-2 y Bx-PC-3, y se analizó el efecto funcional de esta sobreexpresión. En concreto, se observaron diferencias claras en las células transfectadas con respecto a sus respectivos controles, particularmente en proliferación y migración celular y formación de tumorosferas y colonias. Ambos factores se han encontrado alterados en otros cánceres, como el cáncer de mama [6, 7].

Conclusiones

A pesar de que es necesario completar y profundizar este estudio, a la vista a los resultados obtenidos puede concluirse que la desregulación de estos factores parece estar implicada en el desarrollo del ADP, lo cual les convierte en potenciales biomarcadores y/o dianas terapéuticas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado por el Ministerio de Economía [MINECO; BFU2016-80360-R] y el Ministerio de Ciencia e Innovación [MICINN; PID2019-105201RB-I00].

Bibliografía

- [1] Kamisawa, T. et al. (2016). *Pancreatic cancer*. The Lancet, Vol. 388, pp. 73–85.
- [2] Oltean, S., & Bates, D. O. (2014). *Hallmarks of alternative splicing in cancer*. Oncogene, Vol. 33, pp. 5311–5318.
- [3] López-Cánovas J.L. et al. (2020). *Splicing factor SF3B1 is overexpressed and implicated in the aggressiveness and survival of hepatocellular carcinoma*. Cancer Lett. 496: 72-83.
- [4] Jiménez-Vacas J.M. et al. (2020). *Dysregulation of the splicing machinery is directly associated to aggressiveness of prostate cancer*. EBioMedicine.
- [5] Fuentes-Fayos AC. et al. (2020). *Splicing machinery dysregulation drives glioblastoma development/aggressiveness: oncogenic role of SRSF3*. Brain. 143(11):3273-3293.
- [6] Onyango, D. et al. (2017). *PRPF8 is important for BRCA1-mediated homologous recombination*. Oncotarget, 8(55), 93319–93337.
- [7] Martínez-Arribas, F. et al. (2006). *Positive correlation between the expression of X-chromosome RBM genes and the proapoptotic Bax gene in human breast cancer*. Journal of Cellular Biochemistry, 97(6), 1275–1282.

Capítulo 16. Modificaciones ultraestructurales y metabólicas en riñón de ratones de edad avanzada que sobreexpresan citocromo b5 reductasa 3

Miguel Pérez Rodríguez¹, José A. González Reyes¹ y José M. Villalba Montoro¹.

¹ *Universidad de Córdoba. Instituto de Estudios de Posgrado. Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Campus Universitario Rabanales, Edificio Severo Ochoa, planta 3ª. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3).*

E-mail: b42perom@uco.es

Resumen

El estudio de los mecanismos implicados en el envejecimiento es uno de los objetivos de numerosas investigaciones por el mundo. Especialmente, aquellas que se realizan sobre modelos mamíferos cobran especial relevancia por su posible traslación a humanos. Así, se han desarrollado intervenciones en roedores que ayudan a conocer a fondo el proceso de envejecimiento. Entre ellas, las intervenciones genéticas son de gran utilidad para tal fin. Recientemente, se ha demostrado que la sobreexpresión de la enzima CYB5R3 previene la aparición de tumores, mejora funciones fisiológicas y promueve un envejecimiento más saludable.

En el presente estudio, se han analizado modificaciones ultraestructurales y funcionales en riñón en ratones de edad avanzada transgénicos que sobreexpresan CYB5R3 en comparación con ratones control no modificados de la misma edad. Así, se han estudiado posibles modificaciones en diversos componentes de la barrera de filtración glomerular y de los túbulos contorneados proximales, así como en los patrones de expresión de proteínas relacionadas con la autofagia y dinámica mitocondrial. También, para analizar el efecto del envejecimiento, se han realizado estudios de expresión proteica incluyendo animales jóvenes, para así comparar su perfil de expresión con el de los animales de edad avanzada. Nuestros resultados apoyan la existencia de cambios beneficiosos en varios aspectos de la fisiología y estructura renal por sobreexpresión de CYB5R3 en ratones de edad avanzada.

Fundamento y presentación de resultados

El envejecimiento es un proceso dependiente del tiempo caracterizado por una pérdida progresiva de la funcionalidad de un organismo. Este proceso degenerativo, aunque no considerado en sí mismo una enfermedad, provoca que el organismo sea más susceptible al estrés, a desarrollar enfermedades y a la muerte. Dada su complejidad, son muchas las teorías que han surgido alrededor del envejecimiento con el objetivo de explicar sus causas, contabilizando hasta 300 diferentes. De entre todas las teorías, la “teoría de los radicales libres mitocondriales del envejecimiento” es una de las teorías más aceptadas, y en ella se destaca a los radicales libres y se identifica a la mitocondria

como el principal centro productor de esos mediadores del envejecimiento y, por tanto, como orgánulo clave en dicho proceso.

Dada la importancia de este proceso, son muchas las investigaciones que han buscar paliar, retrasar, o incluso, revertir el proceso de envejecimiento. Así, han surgido un gran número de intervenciones que persiguen dichos objetivos. Entre ellas, la restricción calórica es la intervención no genética ni farmacológica que de manera más consistente retrasa los procesos asociados al envejecimiento y extiende la longevidad.

Como intervención que busca conseguir efectos miméticos a la restricción calórica, la sobreexpresión de la NADH deshidrogenasa citocromo b5 reductasa 3 (CYB5R3) ha demostrado también aumentar la esperanza de vida en ratones, así como modular muchos de los factores relativos al proceso de envejecimiento, asignando a su capacidad de aumentar la ratio NAD⁺/NADH y a la activación de las sirtuinas, su mecanismo de acción.

En este contexto, los objetivos de la investigación planteada en el marco de esta beca de iniciación a la investigación pretendían el estudio de cambios ultraestructurales y bioquímicos en ratones de edad avanzada que sobreexpresaban CYB5R3. Además, también se plantearon estudios comparativos con animales jóvenes, para analizar el efecto del paso del tiempo y del envejecimiento.

Los estudios se realizaron a nivel de riñón, órgano que, debido a su papel como regulador de la homeostasis y órgano encargado de la eliminación de sustancias de desecho, es considerado como órgano de gran interés en el estudio del proceso de envejecimiento. En este órganos son varios los procesos y marcadores que son de interés para el estudio del proceso de envejecimiento: El glomérulo y la barrera de filtración glomerular, por ser la estructura encargada de filtrar la sangre; los túbulos contorneados proximales, por su papel en la reabsorción de nutrientes y el intercambio de compuestos que ahí se llevan a cabo; también sus mitocondrias, por ser los encargados de proveerles de la energía necesaria para llevar a cabo dichos procesos; y, finalmente, la autofagia y la apoptosis, por ser procesos claves en el mantenimiento celular, por medio del reciclaje de sus componentes y el recambio celular. Por tanto, se estudiaron marcadores relacionados con la masa mitocondrial y la autofagia, así como otros relacionados con la apoptosis y la regulación de la autofagia; se estudiaron posibles cambios ultraestructurales de las poblaciones mitocondriales y las figuras de autofagia de los túbulos contorneados proximales; y, finalmente, se analizaron posibles variaciones en marcadores reconocidos de envejecimiento renal (grosor de los procesos podocitarios y de la lámina basal glomerular). Así, los análisis planimétricos ultraestructurales se llevaron a cabo mediante microscopía electrónica de transmisión y los estudios bioquímicos sobre marcadores de interés se llevaron a cabo mediante Western-Blot.

Presentación de los resultados

El estudio de las figuras de autofagia se centró en determinar el número de figuras y el área de éstas en relación con área celular total (figura 1). Dicho análisis se realizó diferenciando si se trataba de eventos tempranos de autofagia, tardíos o totales. Por otro lado, el análisis planimétrico de las poblaciones mitocondriales de los TCPs consistió en la determinación del área y la circularidad de estos orgánulos (figura 2). Con respecto al análisis de las estructuras glomerulares se centró en el grosor de la membrana basal

glomerular y en la anchura de los procesos podocitarios en la zona de contacto con la lámina basal glomerular (figura 3). Además del estudio planimétrico, se llevó a cabo un análisis de expresión de determinadas proteínas relacionadas con procesos de autofagia (figura 4 y figura 5) y masa mitocondrial (figura 7 y 8). Adicionalmente, se determinaron los niveles de expresión de mTOR (figura 5), y Apaf-1 (figura 6), como marcadores de regulación de autofagia y de apoptosis, respectivamente.

Resultados

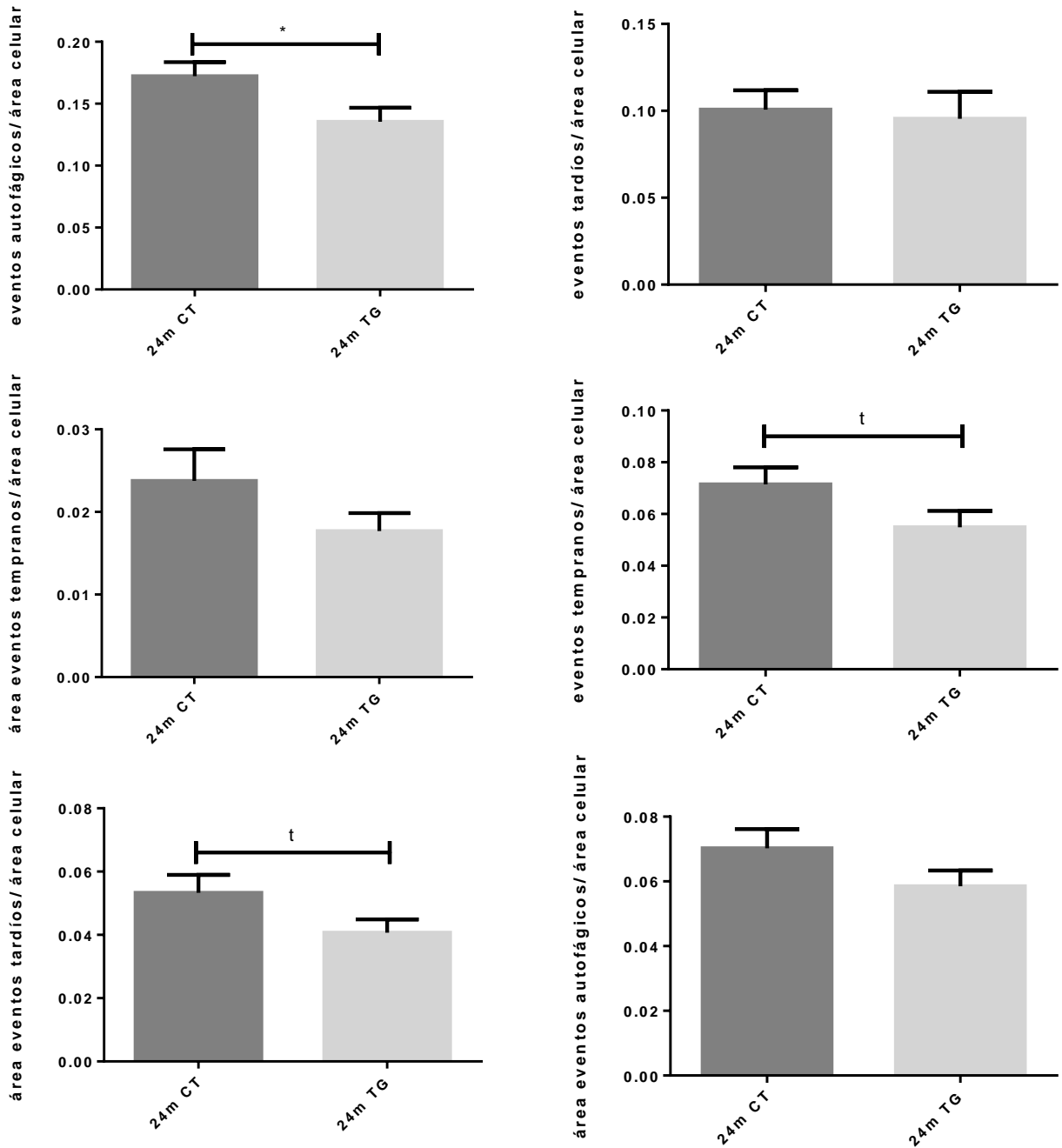


Figura 1. Análisis planimétrico de las figuras de autofagia

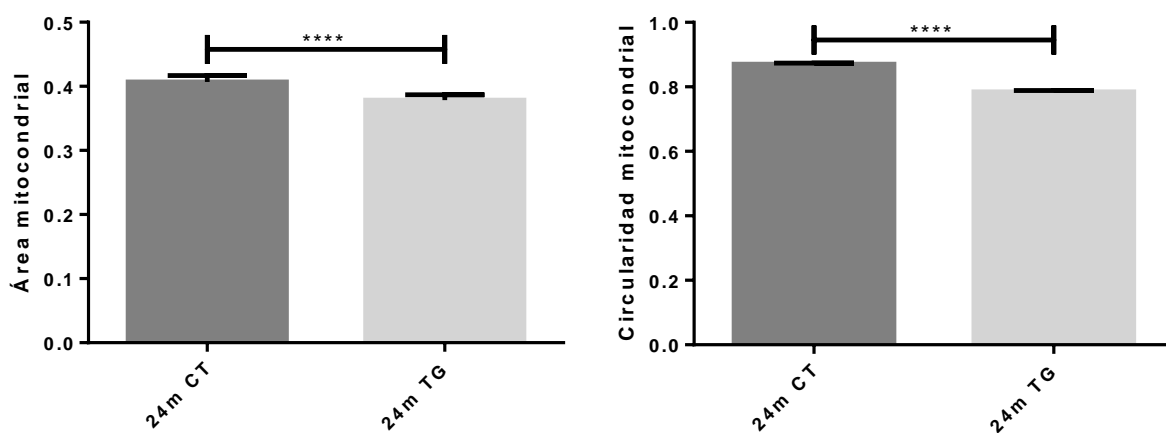


Figura 2. Análisis planimétrico de las mitocondrias de TPC

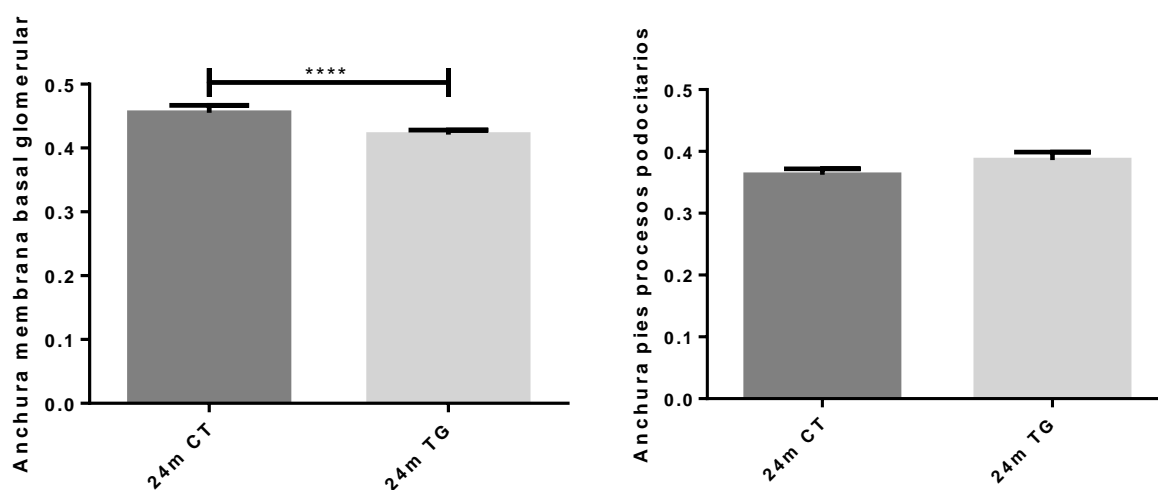


Figura 3. Resultados de análisis planimétrico de las estructuras glomerulares

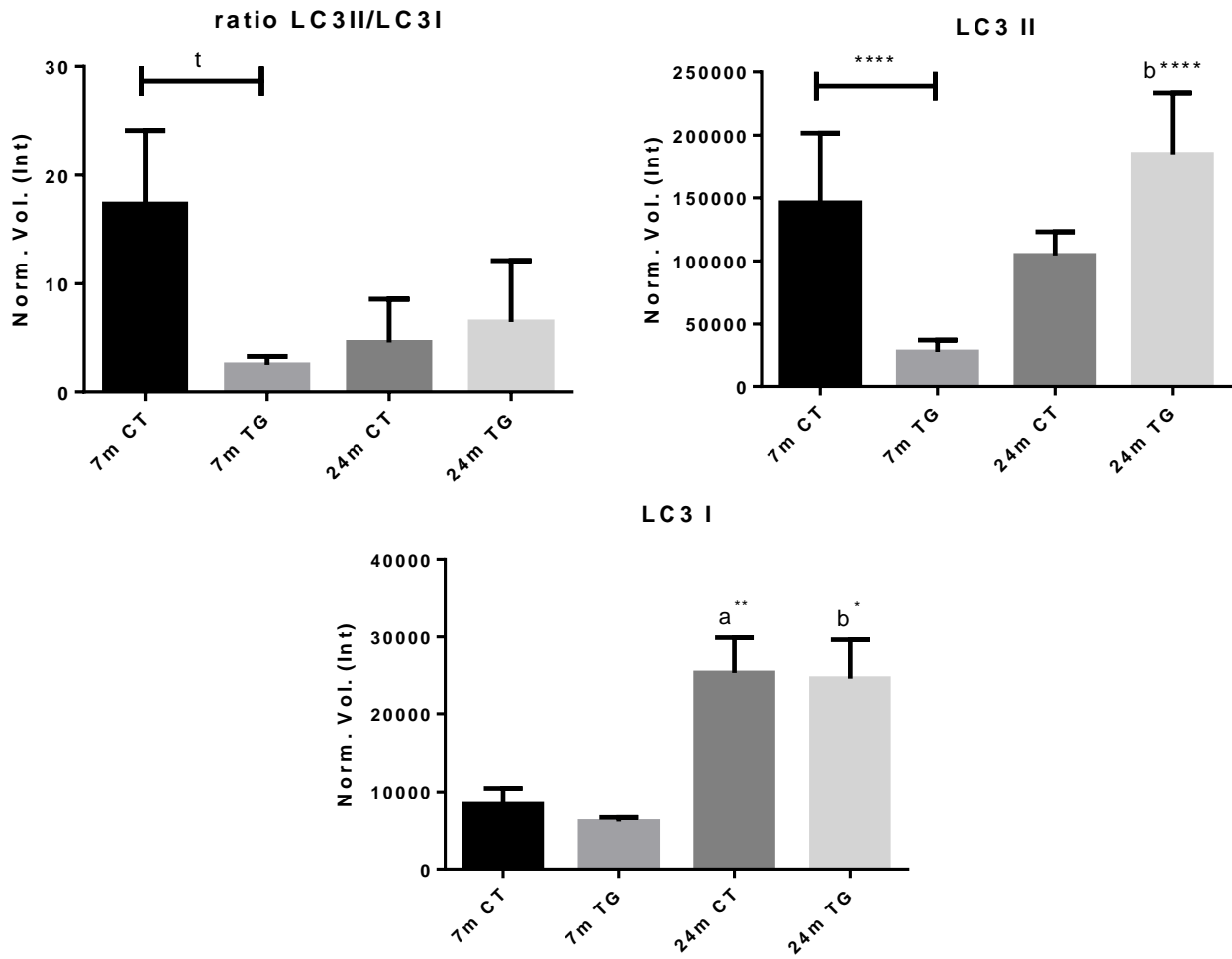


Figura 4. Análisis de LC3

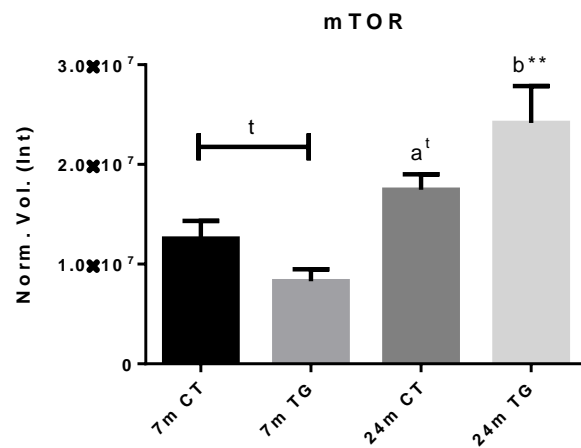


Figura 5. Análisis de mTOR.

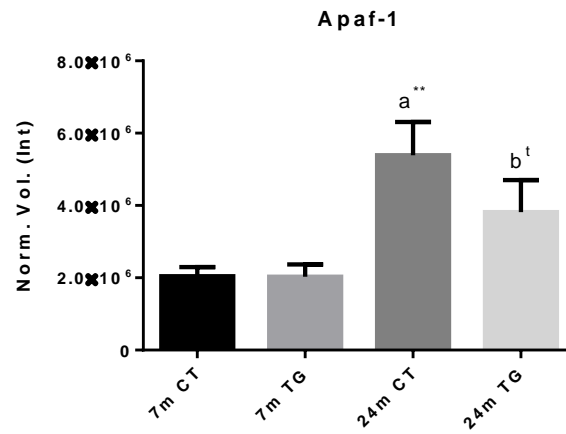
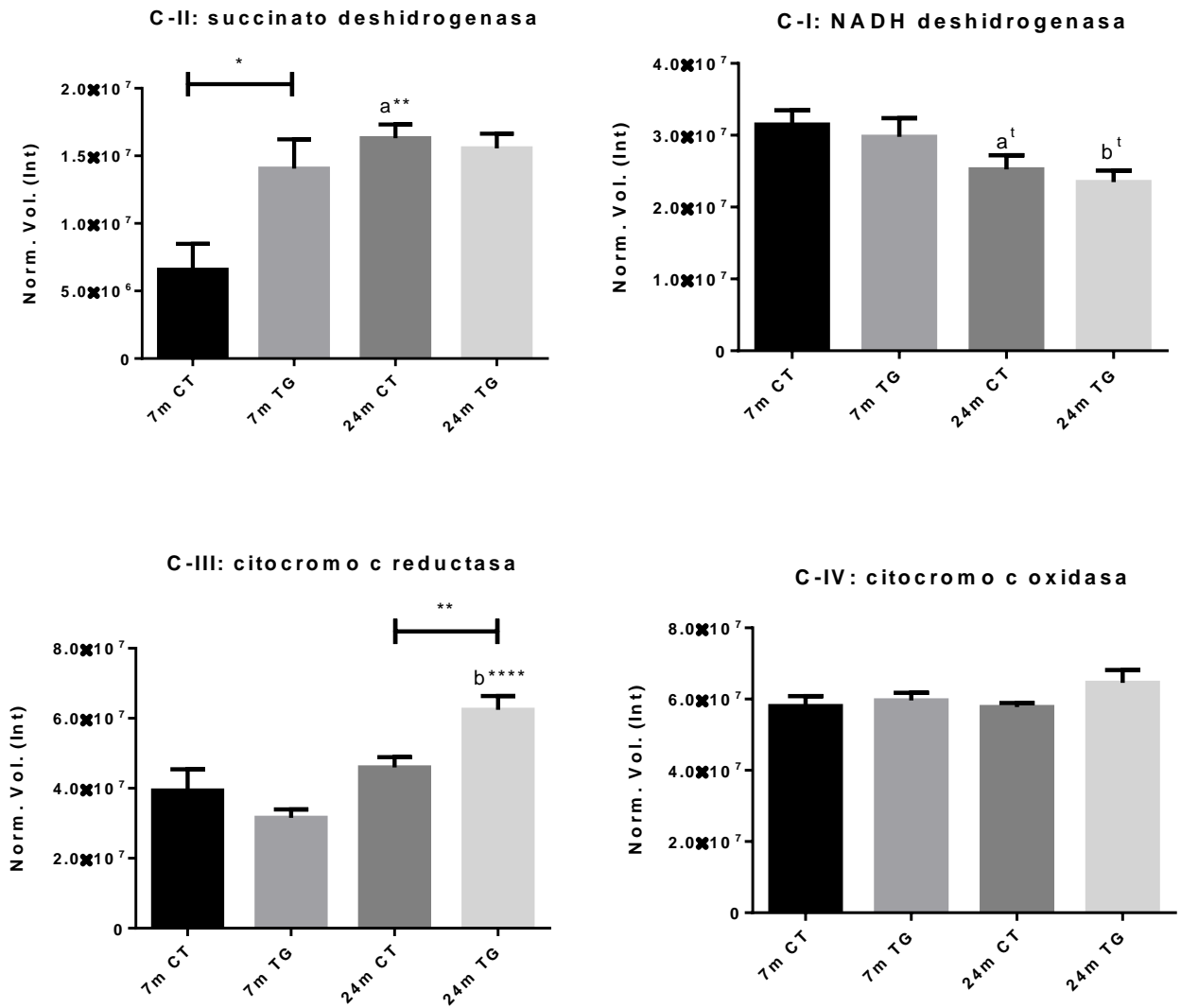


Figura 6. Análisis de Apaf-1



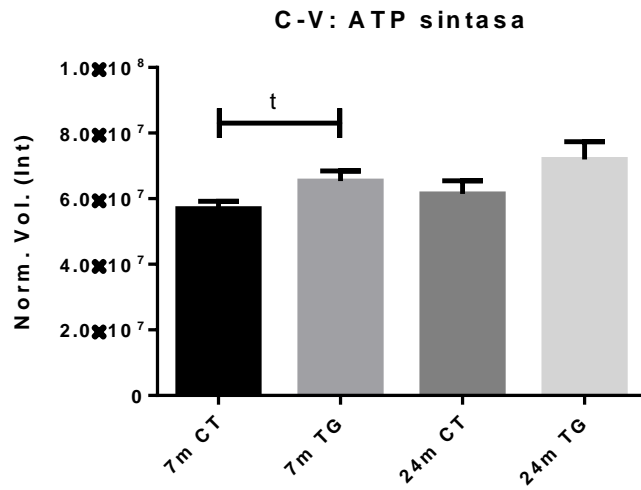


Figura 7. Análisis de los complejos mitocondriales

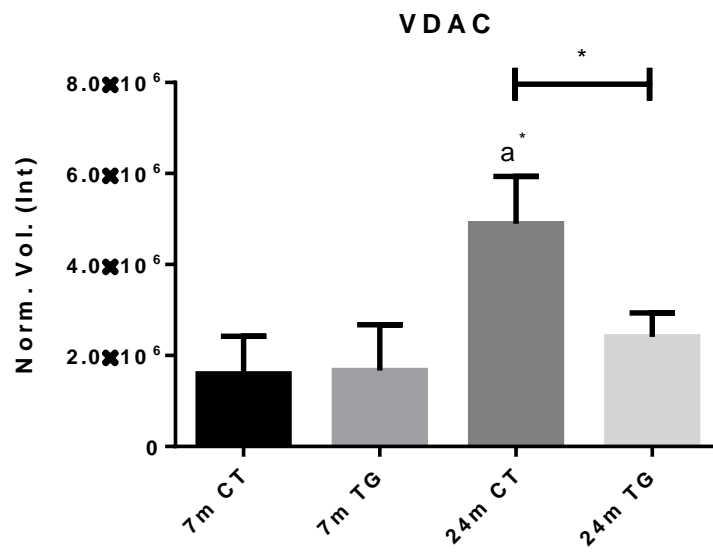


Figura 8. Análisis de VDAC

Conclusiones

1. La sobreexpresión de la enzima CYB5R3 provoca en ratones de edad avanzada una disminución del grosor de la lámina basal glomerular sin que induzca cambios en el grosor de los procesos podocitarios. Este doble efecto es compatible con una mejora en el proceso de ultrafiltrado glomerular.
2. La sobreexpresión de la enzima CYB5R3 provoca una disminución en el tamaño y circularidad mitocondrial, efecto compatible con una mejor disponibilidad de estos orgánulos a su eliminación por autofagia sin que disminuya la masa mitocondrial, como se desprende de los resultados de los marcadores analizados.
3. El estudio planimétrico de las figuras de autofagia muestra una clara tendencia de los ratones transgénicos de edad avanzada a presentar menor número y tamaño de figuras de autofagia, tanto tempranas, tardías, como totales. Estos resultados, junto a los obtenidos acerca del marcador proteico específico analizado, son compatibles con un mejor flujo autofágico en los ratones transgénicos CYB5R3.
4. En su conjunto, los resultados obtenidos indican que la sobreexpresión de CYB5R3 en ratones de edad avanzada provoca una serie de cambios sobre varios aspectos de la fisiología y estructura renal que pueden entenderse como beneficiosos.

Bibliografía

- [1] López-otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., et al. *The Hallmarks of Aging Longevity*. Cell 153, 1194–1217 (2013).
- [2] Miquel, J., Economos, A. C., Fleming, J. et al. *Mitochondrial role in cell aging*. Exp. Gerontol. 15, 575–591 (1980).
- [3] Weinstein, J. R. & Anderson, S. *The aging kidney: physiological changes*. Adv. Chronic Kidney Dis. 17, 302–307 (2010).
- [4] Klionsky, D. J., Abdelmohsen, K., Abe, A. et al. *Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy*. Autophagy 12, 1–222 (2016).
- [5] Martin-Montalvo, A., Sun, Y., Diaz-Ruiz, A. et al. *Cytochrome b5 reductase and the control of lipid metabolism and healthspan*. npj Aging Mech. Dis. 2, 1–12
- [6] Díaz-Troya, S., Pérez-Pérez, M. E., Florencio, F. J. et al. *The role of TOR in autophagy regulation from yeast to plants and mammals*. Autophagy 4, 851–865 (2008).
- [7] Elmore, S. *Apoptosis: a review of programmed cell death*. Toxicol. Pathol. 35, 495–516 (2007).

