

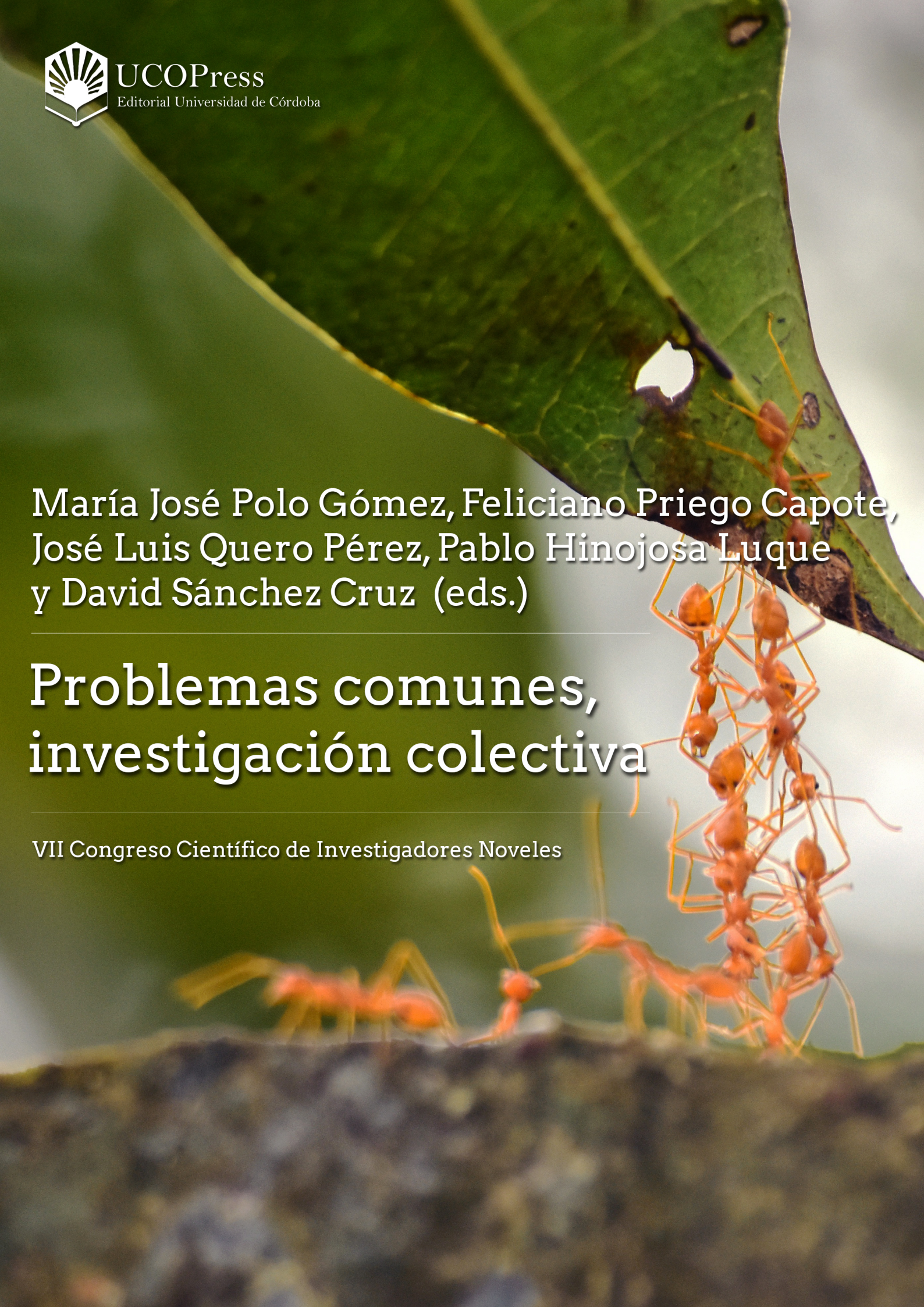


UCOPress
Editorial Universidad de Córdoba

María José Polo Gómez, Feliciano Priego Capote,
José Luis Quero Pérez, Pablo Hinojosa Luque
y David Sánchez Cruz (eds.)

Problemas comunes, investigación colectiva

VII Congreso Científico de Investigadores Noveles



Problemas comunes, investigación colectiva

Edición a cargo de

María José Polo Gómez, Feliciano Priego Capote, José Luis Quero Pérez,

Pablo Hinojosa Luque y David Sánchez Cruz

Problemas comunes, investigación colectiva. Editado por María José Polo Gómez, Feliciano Priego Capote, José Luis Quero Pérez, Pablo Hinojosa Luque y David Sánchez Cruz. – Córdoba: UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba, 2023.

ISBN: 978-84-9927-764-6

Edita: UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba

UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba
Campus Universitario de Rabanales
Ctra. Naciona IV, km. 396
14071 – Córdoba, España

Con la colaboración de la Unidad de Cultura Científica e Innovación
Comité editorial: José Vicente Die Ramón, Pablo Hinojosa Luque, Elena Lázaro Real,
María José Polo Gómez, Feliciano Priego Capote, José Luis Quero Pérez y David Sánchez
Cruz

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

ISBN: 978-84-9927-764-6

© UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba
© Los autores © Los editores

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de este libro podrá ser reproducida, traducida, almacenada en ningún sistema de recuperación ni transmitida en forma alguna sin el permiso escrito del editor.

Tabla de contenidos

Ciencias de la salud

Capítulo 1. Caracterización del sistema endocrino de la somatostatina en esteatosis hepática metabólica y hepatocarcinoma	6
Capítulo 2. Relación entre las pruebas funcionales respiratorias y desaturación al esfuerzo en las neumopatías intersticiales difusas y diferencias según perfil clínico	10
Capítulo 3. Influencia del microambiente del tejido adiposo sobre el fenotipo de los macrófagos: obesidad y resistencia a insulina	14
Capítulo 4. Estudio sobre los establecimientos de restauración turística de Córdoba capital post-covid	18

Ciencias exactas y naturales

Capítulo 5. Aplicación de técnicas metaómicas para la biorremediación de suelos contaminados por cianuro	24
Capítulo 6. Desarrollo de sustratos planos para el tratamiento de muestra acoplado a espectroscopia Raman amplificada en superficie	28
Capítulo 7. Influencia del secado en la extracción de compuestos bioactivos de aceituna, alperujo y hojas de olivo	31
Capítulo 8. Estudio de la aplicación de cepas autóctonas de <i>Debaryomyces hansenii</i> como agentes de control biológico ante hongos micotoxigénicos en productos cárnicos	35
Capítulo 9. Análisis de expresión de varios genes que codifican nucleotidasas en situaciones de movilización de nutrientes en judía	39
Capítulo 10. Disfunción endotelial y respuesta inflamatoria en la COVID-19. Papel de las proteínas accesorias de SARS-CoV-2	43
Capítulo 11. Estudio microbiológico y genético de diferentes cepas de <i>Listeria monocytogenes</i> en estado planctónico y de biofilm de forma previa y posterior a la transferencia a jamón cocido y a la digestión simulada in vitro	47

Ciencias sociales, económicas y jurídicas

Capítulo 12. Mecanismos de protección del asegurado frente la letra pequeña de las pólizas	52
Capítulo 13. El derecho a un tribunal establecido por ley y el procedimiento de nombramiento judicial: nuevos desarrollos a través de la jurisprudencia del TEDH y del TJUE	55

Humanidades

Capítulo 14. Influencia de variables psicosociales en la defensa directa e indirecta en acoso escolar	63
Capítulo 15. Catastro de Ensenada y medio rural: un balance historiográfico y nuevas aportaciones para la localidad de Montilla	68
Capítulo 16. IBModel: hacia un modelo de bilingüismo integrado	71
Capítulo 17. Metonimia conceptual en morfología inglesa: identificación y análisis	76
Capítulo 18. Estudio del impacto de la técnica en la forma fílmica de películas de mitología fantástica. Caso de estudio: <i>La comunidad del anillo</i> (Peter Jackson, 2001)	79
Capítulo 19. Élités sociales en el reino de Córdoba durante la Época Moderna: los Fernández Tejeiro de Cabra	84

Ingeniería y tecnología

Capítulo 20. Evaluación de la tecnología NIRS para la autenticación de la pureza genética de carne de cerdo etiquetada como "100% raza autóctona ibérico"	88
Capítulo 21. Subproductos agroindustriales como fuente de fósforo: Efecto residual sobre el cultivo de girasol	92
Capítulo 22. Identificación de proxémica en imágenes usando pose 2D y 3D	96
Capítulo 23. Evaluación de variedades de almendro por su resistencia frente a la antracnosis causada por <i>Colletotrichum</i> spp.	100

Ciencias de la salud

Capítulo 1. Caracterización del sistema endocrino de la somatostatina en esteatosis hepática metabólica y hepatocarcinoma

Antonio García Estrada, Natalia Hermán Sánchez, Juan Luis López Cánovas, Prudencio Sáez Martínez, José Córdoba Chacón, André Sarmento Cabral, Manuel Rodríguez Perálvarez, Raúl M. Luque, Manuel D. Gahete

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias.

Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología.

Dirección: Campus Universitario de Rabanales, Edificio Severo Ochoa (C6), 3ª planta.

Ctra. N-IVa, km. 396. E-mail: b72gaesa@uco.es (Antonio García Estrada)

Resumen

El cáncer de hígado es el sexto tipo de cáncer en incidencia del mundo y el tercero en mortalidad. El más frecuente de ellos es el hepatocarcinoma, que puede originarse, entre otros, en un contexto de esteatosis hepática metabólica. La incidencia del hepatocarcinoma de origen metabólico está aumentando rápidamente, por lo que es necesario determinar los mecanismos celulares y moleculares subyacentes. Así, en el desarrollo de esta Beca de Colaboración se estudió el posible papel del sistema endocrino de la somatostatina, previamente relacionado con la agresividad y el tratamiento de otras patologías endocrino-tumorales, en esteatosis hepática metabólica y hepatocarcinoma. Para ello, se determinó su expresión en muestras humanas (cohortes propias y externas), animales (ratones C57BL/6J) y celulares (HepG2, Hep3B y SNU-387). Además, se evaluó el efecto de péptidos naturales y sintéticos de este sistema sobre la proliferación de líneas celulares. Los modelos humanos y animales revelaron una pérdida de la expresión del sistema de la somatostatina en la progresión del hepatocarcinoma de origen metabólico, mientras que en las líneas celulares se observaron efectos antiproliferativos para algunos de los péptidos. En conjunto, nuestros resultados permiten proponer el sistema de la somatostatina como fuente de biomarcadores y opciones terapéuticas en hepatopatías.

Fundamento y presentación de resultados

Según el Observatorio Global del Cáncer de la Organización Mundial de la Salud, el cáncer de hígado fue el sexto tipo de cáncer con mayor incidencia del mundo, afectando a 900.000 personas en 2020. En el mismo año, ha ascendido del cuarto al tercer tipo de cáncer con mayor mortalidad a nivel global, constituyendo la principal causa de fallecimiento de 830.000 personas (92% de los pacientes) [1]. En España, las estadísticas son similares: el Observatorio de la Asociación Española Contra el Cáncer reporta para el cáncer de hígado una incidencia de 6.800 personas y la muerte de 5.200 en 2022. Se prevé que la incidencia de esta patología aumente en los próximos años, superándose el millón de pacientes en 2025 y, antes del 2030, el millón de fallecimientos mundiales

anuales [1]. Su pronóstico es muy desfavorable, ya que sólo un 18% de los pacientes sobrevive transcurridos 5 años desde el diagnóstico [2].

El cáncer de hígado más frecuente es el carcinoma hepatocelular (CHC) o hepatocarcinoma, que consiste en el desarrollo de un tumor maligno a partir de hepatocitos y supone un 80% de los casos [1]. El CHC muestra una gran heterogeneidad intra- e intertumoral, que reduce la eficacia de los tratamientos actuales [inmunoterapia (atezolizumab y bevacizumab) e inhibidores de receptores tirosina quinasa (sorafenib, lenvatinib)]. Entre las principales causas de la heterogeneidad del CHC, se encuentra su diversidad etiológica. En efecto, el CHC presenta cuatro etiologías principales: la infección crónica con el virus de la hepatitis B (VHB) o C (VHC), el alcoholismo y la esteatosis hepática metabólica (EHMet) [3]. Mientras que las etiologías víricas están en retroceso gracias al avance de la vacunación en países subdesarrollados, la incidencia del CHC de origen metabólico está experimentando un rápido aumento debido al auge del sedentarismo, las dietas hipercalóricas y, en definitiva, la obesidad [3,4]. Por ello, es necesario explorar los mecanismos celulares y moleculares del CHC, especialmente de etiología metabólica, para mejorar su diagnóstico, pronóstico y tratamiento.

A este respecto, el sistema de la somatostatina (SST) constituye una fuente de biomarcadores y opciones terapéuticas en diversas patologías tumorales, sobre todo en aquellas de naturaleza endocrina, como adenomas hipofisarios (somatotropinomas, tirotropinomas, enfermedad de Cushing) y tumores neuroendocrinos, donde forma parte de la primera línea de actuación. La SST es un péptido producido por el hipotálamo, el tiroides, el páncreas y la mucosa gastrointestinal, que ejerce señalización paracrina sobre sus tejidos diana controlando su secreción hormonal, metabolismo, crecimiento y proliferación celular a través de su unión a cualquiera de sus 5 receptores (SSTR1-5). El sistema de la SST también cuenta con otro péptido, la cortistatina (CORT), un análogo natural de la SST que también actúa a través de SSTR1-5 [5].

El proyecto de la presente Beca de Colaboración en Departamentos Universitarios partió de la hipótesis de que el sistema endocrino de la SST se encuentra alterado en CHC y su enfermedad predecesora, la EHMet. Para responder a esta hipótesis, el objetivo principal de este proyecto fue determinar la posible alteración del sistema de la SST en CHC y EHMet, para así encontrar biomarcadores de diagnóstico y pronóstico y dianas terapéuticas que mejoren la asistencia clínica de los pacientes que sufren estas hepatopatías. Por ello, se propusieron como objetivos específicos determinar la expresión de los componentes del sistema de la SST en distintos modelos biológicos complementarios entre sí (muestras de pacientes, modelos murinos y líneas celulares) y analizar el papel funcional y la posible relevancia traslacional de los componentes que se observasen alterados.

Con este propósito, se analizó la expresión de la SST, la CORT y los receptores SSTR1-5 en 2 cohortes retrospectivas propias de enfermedad hepática crónica y CHC [cohorte en parafina: tejido tumoral vs. adyacente ($n = 93$); cohorte en RNA later: tejido tumoral vs. adyacente ($n = 58$), cirrótico ($n = 39$) y sano procedente de autopsia ($n = 5$)], 6 cohortes *in silico* de CHC [Mas (VHC-CHC, $n = 107$), Pinyol (EHMet-CHC, $n = 141$), Roessler 2 (VHC-CHC, $n = 247$), TCGA-LIHC ($n = 369$), Wurmbach (VHC-CHC, $n = 65$), Zhou-CPTAC (VHB-CHC, $n = 165$)] y 7 cohortes *in silico* de EHMet [Ahrens ($n = 73$), Arendt ($n = 63$),

Hoang ($n = 78$), Horvath ($n = 109$), Lake ($n = 45$), Suppli ($n = 57$), Xanthakos ($n = 67$)]. También se emplearon modelos murinos (C57BL/6J) que recapitulan la progresión de la EHMet a CHC a través de la modificación genética (deficientes en el gen de la leptina, *ob/ob*) o de la modulación de la dieta [alta en grasa (HFD); deficiente en metionina y colina (MCD); alta en grasa, colesterol y fructosa (HFHCHFD); deficiente en colina y alta en grasa (CDAHFD)], así como líneas celulares humanas de hepatoblastoma (HepG2) y CHC (Hep3B, SNU-387). En estas últimas, también se evaluó el impacto sobre la proliferación celular de la aplicación de péptidos naturales (SST, CORT) y sintéticos del sistema SST [BIM-23926 (agonista de SSTR1), octreótido, lanreótido (agonistas de SSTR2) y pasireótido (agonista de SSTR5)] a una concentración de 10^{-7} M mediante el ensayo de reducción de resazurina medido tras 0, 24, 48 y 72 horas de exposición al tratamiento.

En las cohortes propias, se observó el descenso de la expresión de *CORT*, *SSTR2* y *SSTR5* en tejido tumoral, mientras que en las cohortes *in silico* de CHC se confirmaron estas alteraciones y se identificaron otras nuevas (*SST*, *SSTR1*, *SSTR3* y *SSTR5*). El estudio del sistema de la SST en las cohortes de EHMet y en los modelos murinos de EHMet-CHC reveló que esta pérdida de su expresión se produce en estadios intermedios del desarrollo del CHC de origen metabólico, siendo detectable en los pacientes con EHMet inicial y avanzada (esteatohepatitis) y en los ratones sometidos a las dietas HFHCHFD y CDAHFD, por lo que podría constituir un biomarcador clínicamente relevante de agresividad tumoral y resistencia al tratamiento con análogos sintéticos de la SST.

Al analizar la expresión del sistema de la SST en líneas celulares de cáncer hepático, esta se detectó principalmente en Hep3B, sugiriéndola como línea ideal para su estudio (en número de copias de ARN mensajero para cada gen, $SSTR2 > SSTR5 > CORT > SSTR1$). HepG2 solamente expresó *SSTR5* y SNU-387, *CORT*, careciendo del resto de componentes. De esta manera, se observaron efectos antiproliferativos significativos con la administración de pasireótido en HepG2, BIM-23926 en Hep3B, el octreótido en ambas líneas y la SST en SNU-387. La aplicación de CORT y lanreótido en las líneas celulares no se tradujo en una alteración significativa de su tasa de proliferación.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que existe una alteración profunda del sistema endocrino de la SST en modelos humanos, animales y celulares de la progresión EHMet-CHC, con potencial para ser explotada como fuente de biomarcadores de diagnóstico y pronóstico, dianas terapéuticas y tratamientos en beneficio de los pacientes de estas hepatopatías.

Bibliografía

- [1] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray. *CA Cancer J. Clin.* 71 (2021) 209-224.
- [2] A. Villanueva. *N. Engl. J. Med.* 380 (2019) 1450-1462.
- [3] J. M. Llovet, R. K. Kelley, A. Villanueva, A. G. Singal, E. Pikarsky, S. Roayaie, R. Lencioni, K. Koike, J. Zucman-Rossi, R. S. Finn. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 7 (2021) 6.
- [4] D. Q. Huang, A. G. Singal, Y. Kono, D. J. H. Tan, H. B. El-Serag, R. Loomba. *Cell Metab.* 34 (2022) 969-977.

[5] T. Günther, G. Tulipano, P. Dournaud, C. Bousquet, Z. Csaba, H.-J. Kreienkamp, A. Lupp, M. Korbonits, J. P. Castaño, H.-J. Wester, M. Culler, S. Melmed, S. Schulz. *Pharmacol. Rev.* 70 (2018) 763-835.

Capítulo 2. Relación entre las pruebas funcionales respiratorias y desaturación al esfuerzo en las neumopatías intersticiales difusas y diferencias según perfil clínico

Laura Membrillo Ruiz

*Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina y Enfermería.
Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas*

E-mail: h62merul@uco.es

Resumen

El objetivo principal del trabajo fue evaluar si variables relacionadas con el funcionalismo pulmonar se correlacionaban con la desaturación al esfuerzo en pacientes con neumopatía intersticial difusa (NID). Se planteó un estudio observacional y transversal que incluyó pacientes diagnosticados de NID, de entre 30 y 75 años clínicamente estables. Se midieron variables clínicas, radiológicas, de funcionalismo pulmonar y de la prueba de esfuerzo. La muestra se dividió en dos grupos según perfil clínico (NID idiopática e inmunológica). Se encontraron escasas diferencias entre ambos grupos, destacando que la proporción de mujeres fue mayor en el grupo de NID inmunológica. La difusión de monóxido de carbono (DLCO) mostró una amplia correlación con las variables medidas en la prueba de esfuerzo. La mitad de los pacientes mostró una desaturación significativa al esfuerzo. En el modelo de regresión lineal múltiple las variables con mayor influencia en la saturación media durante la prueba fueron DLCO e índice de masa corporal. Nuestros resultados mostraron que un porcentaje elevado de pacientes con NID tuvieron una desaturación significativa durante la prueba de esfuerzo y, además, esta desaturación podría estar explicada por la DLCO y el índice de masa corporal hasta en un tercio de los casos.

Fundamento y presentación de resultados

Las neumopatías intersticiales difusas (NID) son un grupo de afecciones que tienen en común una afectación del parénquima pulmonar con patrón restrictivo en la ventilación, con menor distensibilidad y la consiguiente mayor resistencia a la entrada de aire, debido a la formación de tejido fibroso [1]. La entidad clínica más frecuente es la fibrosis pulmonar idiopática (FPI), asociada a mayor mortalidad y presenta heterogeneidad clínica [2]. No obstante, en el proceso diagnóstico hay que descartar una causa subyacente de NID como ocurre en las enfermedades autoinmunes sistémicas, en las que no es infrecuente que se presente un patrón de neumopatía intersticial usual similar al de la FPI durante la evolución.

La desaturación al esfuerzo, sobre todo superior a 4% [3], en la prueba de la marcha durante 6 minutos (PM6M) es un conocido predictor de mala evolución de la enfermedad [4,5]. Además, las mediciones del funcionalismo pulmonar pueden aportar conocimiento sobre el papel que tienen en la aparición de disnea, capacidad de ejercicio y potencial desaturación al esfuerzo. Aunque existen estudios para determinar posibles

predictores de desaturación al esfuerzo en las NID [6], no logran unanimidad en las conclusiones. Por consiguiente, es oportuno analizar variables antropométricas, disnea basal y explorar nuevos parámetros de funcionalismo pulmonar. En esta línea, se incluyen variables novedosas en la PM6M, escasamente estudiadas en los pacientes con NID y que pueden aportar información clínicamente relevante. Además, la investigación se ha desarrollado en enfermos estables sin insuficiencia respiratoria y, por tanto, en una fase relativamente precoz de la enfermedad en la que es interesante conocer si pruebas que se realizan rutinariamente pudieran ayudar a predecir la disnea, capacidad y desaturación al esfuerzo y determinar si existe un factor diferencial entre la NID idiopática respecto a la disnea, capacidad y desaturación durante el esfuerzo respecto a NID con perfil inmunológico.

Resultados

Se incluyeron en el estudio finalmente 42 pacientes de los cuales el 59% fueron mujeres. La edad media de la muestra fue de 65 (7,3) años [media (desviación típica)]. La media del índice de masa corporal (IMC) mostraba sobrepeso con una media de 29,4 (4,8) kg/m². Casi la totalidad de la muestra tenía síntomas respiratorios, sin embargo, más de la mitad mostraron un grado 1 de disnea en la escala de Borg. Hubo un predominio de NID idiopática, constituyendo casi un 62% de la muestra. Aproximadamente el 70% no tenía comorbilidad asociada y solo un 4,8% eran fumadores activos.

La media de la saturación de oxígeno (SpO₂) inicial fue de 96 (1,2) % y la final de 89,9 (14,6) %. No se observó gran afectación de los volúmenes, aunque sí que hay una disminución evidente de la capacidad de difusión, cuya media está por debajo de 60%, constituyendo una disminución moderada de la capacidad de difusión. Más de la mitad de los pacientes desaturaron al esfuerzo, entendiendo esta desaturación como una caída mayor o igual del 4% y llegada a una cifra igual o menor al 90%. De ellos, un 48% saturaron por debajo de 88%.

Al comparar ambos grupos (inmunológica *vs* idiopática) hubo escasas diferencias, a excepción de tres variables. El porcentaje de mujeres fue significativamente mayor en la NID inmunológica que en la idiopática ($p=0,024$), lo cual podría estar explicado por la mayor prevalencia de mujeres con enfermedades autoinmunes sistémicas. La capacidad pulmonar total (TLC, por sus siglas en inglés) fue mayor en el grupo de NID inmunológicas ($p=0,048$), resultado que tiene sentido ya que, en la NID idiopática, cuya entidad más frecuente es la FPI, en la que la afectación de los volúmenes es mayor que en las enfermedades sistémicas. Por último, en la PM6M el índice "IMC \times distancia" fue mayor en la NID idiopática ($p=0,024$). Este índice ha demostrado reflejar la capacidad de esfuerzo con mayor precisión que la distancia aislada, de hecho, esta por sí sola no tuvo diferencias significativas. No obstante, hay que tener en cuenta que en las enfermedades autoinmunes hay un importante componente inflamatorio sistémico subyacente [7,8] y normalmente un tratamiento crónico con corticoides e inmunosupresores, factores que pueden determinar una menor capacidad de trabajo muscular. Los resultados más relevantes de las comparaciones en ambos grupos se representan en la Tabla 1.

Tabla 1. Significación estadística basada en: prueba t-student o U de Mann Whitney y Ji-cuadrado. IMC: índice de masa corporal; TLC: Total Lung Capacity; DLCO: diffusing capacity of the lung for carbon monoxide DT: Desviación típica.

Variables	NID idiopática	NID inmunológica	P
Edad (años), Media (DT)	66 (6)	62,9 (8,9)	0,181
Mujer, n° (%)	12 (46,2)	13 (81,3)	0,024
IMC (kg/m ²), Media (DT)	30,3 (4,6)	28 (5)	0,155
SpO ₂ media (%)	91,7 (3)	93,6 (3,4)	0,068
SpO ₂ minuto 2 (%)	91,9 (3,2)	94,1 (2,6)	0,088
Disnea (Börg) (puntos), Media (DT)	4,5 (0-8)	6 (2-7)	0,515
Distancia recorrida (m)	485,6 (76,8)	459,6 (72,3)	0,283
IMC x distancia	14641,7 (2854,4)	12693,7 (2163,2)	0,024
TLC (%)	79,9 (18,7)	92 (23,6)	0,048
DLCO (%)	53,2 (16,8)	63,5 (22,3)	0,097

Mediante análisis univariante se demostró la correlación lineal positiva en la PM6M de la difusión de monóxido de carbono (DLCO) con la SpO₂ final ($r=0,317$; $p=0,041$), al segundo ($r=0,482$; $p=0,001$) y al cuarto minuto ($r=0,453$; $p=0,003$) y con el índice “SpO₂ media x distancia” ($r=0,427$; $p=0,005$). Esto se puede traducir en que un menor valor en la difusión de monóxido de carbono se correlaciona con valores inferiores de SpO₂ durante la prueba de esfuerzo.

Por otro lado, las correlaciones negativas fueron con T90 ($r=0,425$; $p=0,004$) y con la diferencia entre la saturación basal y mínima ($r=0,358$; $p=0,02$). Esto quiere decir que, un mayor tiempo de saturación en 90% y una mayor caída de la saturación de oxígeno respecto a la inicial, se van a correlacionar con menores valores DLCO.

Para estudiar aquellas variables del funcionalismo pulmonar que pudieran influir en la desaturación al esfuerzo, se construyó un modelo de regresión lineal múltiple tomando como variable dependiente la SpO₂ media durante la prueba y variables antropométricas (IMC) y funcionales (FVC, TLC y DLCO) como variables que pudiesen estar relacionadas con el grado de SpO₂ durante la PM6M, quedando finalmente como variables explicativas del modelo final el IMC ($p=0,024$) y la DLCO ($p<0,001$). Estas dos variables podrían explicar casi un tercio de la variabilidad de la saturación media durante la PM6M ($F=10,78$; R^2 ajustado= $0,322$; $p<0,001$). En un análisis retrospectivo de pacientes diagnosticados de enfermedad intersticial y/o restrictiva se observó que DLCO tenía un valor predictivo positivo pobre para predecir la desaturación de oxígeno, no obstante, en nuestro modelo multivariante es la variable con más peso. En adultos sanos se ha

observado que una saturación basal reducida está asociada con la obesidad, además, un mayor peso corporal puede reducir la distancia recorrida en una PM6M.

En definitiva, podemos concluir en que la prevalencia de desaturación al esfuerzo ocurrió en más de la mitad de los pacientes con NID y las variables DLCO e IMC son las que más influyen sobre la saturación media de oxígeno. Además, hubo mayor proporción de mujeres, menor capacidad de trabajo muscular y mayor capacidad pulmonar total en el grupo de NID inmunológica.

Nuestro trabajo presenta algunas limitaciones. La inclusión de pacientes se ha visto afectada por las condiciones derivadas de la pandemia de COVID-19. Hay que subrayar que el proyecto se ha realizado en condiciones de práctica clínica y esta circunstancia ha facilitado que no se haya alcanzado el tamaño muestral previsto. La investigación se ha desarrollado en un Hospital Universitario por lo que los resultados no deben generalizarse a otros escenarios clínicos, aunque una ventaja adicional supone que la metodología es uniforme y disminuye la variabilidad intercentros. No obstante, las diferencias observadas tienen relevancia clínica y permiten lograr unas conclusiones que abren una nueva vía de investigación para futuros estudios. Teniendo en cuenta además que, al tratarse de un estudio transversal, sólo hemos podido demostrar la relación de forma independiente de DLCO e IMC con la desaturación al esfuerzo, se necesitarían completar nuestros resultados con un estudio longitudinal prospectivo, que permitiera demostrar su posible carácter predictor.

Bibliografía

- [1] Bollo de Miguel E, Romero de Tejada JAG, Morales CJ, González FM. Neumonías intersticiales idiopáticas. Arch Bronconeumol. 2011; 47:15–9.
- [2] Antoniou KM, Margaritopoulos GA, Tomassetti S, Bonella F, Costabel U, Poletti V. Interstitial lung disease. Eur Respir Rev. 2014;23(131):40–54
- [3] Wallaert B, Wemeau-Stervinou L, Salleron J, Tillie-Leblond I, Perez T. Do we need exercise tests to detect gas exchange impairment in fibrotic idiopathic interstitial pneumonias? Pulm Med. 2012; 2012:657180.
- [4] Someya F, Mugii N, Hasegawa M, Yahata T, Nakagawa T. Predictors of exercise-induced oxygen desaturation in systemic sclerosis patients with interstitial lung disease. Respir Care. 2014;59(1):75–80.
- [5] Troy LK, Young IH, Lau EMT, Corte TJ. Exercise pathophysiology and the role of oxygen therapy in idiopathic interstitial pneumonia. Respirology. 2016;21(6):1005–14.
- [6] Graney BA, Fischer A. Interstitial pneumonia with autoimmune features. Ann Am Thorac Soc. 2019;16(5):525–33.
- [7] Jee AS, Sheehy R, Hopkins P, Corte TJ, Grainge C, Troy LK, et al. Diagnosis and management of connective tissue disease-associated interstitial lung disease in Australia and New Zealand: A position statement from the Thoracic Society of Australia and New Zealand. Respirology. 2021;26(1):23–51.
- [8] Ng W-F, Miller A, Bowman SJ, Price EJ, Kitas GD, Pease C, et al. Physical activity but not sedentary activity is reduced in primary Sjögren's syndrome. Rheumatol Int. 2017;37(4):623–31

Capítulo 3. Influencia del microambiente del tejido adiposo sobre el fenotipo de los macrófagos: obesidad y resistencia a insulina

Andrea Nieto Calonge

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Ciencias. Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/Universidad de Córdoba/Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

Dirección: Av. Menéndez Pidal s/n. E-mail: b72nicaa@uco.es

Resumen

La obesidad conlleva la infiltración del tejido adiposo por células del sistema inmune, principalmente macrófagos, que perpetúan la inflamación local, y que, además, juegan un papel esencial en la homeostasis tisular. De hecho, los macrófagos en el tejido adiposo obeso presentan un fenotipo M1 pro-inflamatorio, al contrario de los macrófagos residentes, o M2, que predominan en condiciones normales. En este estudio, caracterizamos el fenotipo de los macrófagos THP-1 en respuesta a dos estímulos obesogénicos: la sobrecarga lipídica y la fibrosis, mediante la exposición a ácidos grasos y el uso de un sistema de cultivo 3D, respectivamente [2,6]. Los resultados de expresión génica muestran que el tratamiento con ácido palmítico indujo un perfil-proinflamatorio y pro-fibrótico en los macrófagos THP-1. En el modelo de fibrosis se observó que la exposición a lumican genera un fenotipo de macrófago que expresa marcadores pro-fibróticos, mientras que observamos una hiperactivación de macrófagos en presencia de colágeno-VI. Según nuestros estudios de *docking* molecular, este efecto podría deberse al impedimento estérico que ocurre entre los diferentes componentes de la MEC. En conjunto, estos resultados sugieren que la sobrecarga lipídica y fibrosis provocan un desequilibrio de la población de macrófagos, lo que agravaría la disfunción del tejido adiposo y el desarrollo de enfermedades metabólicas.

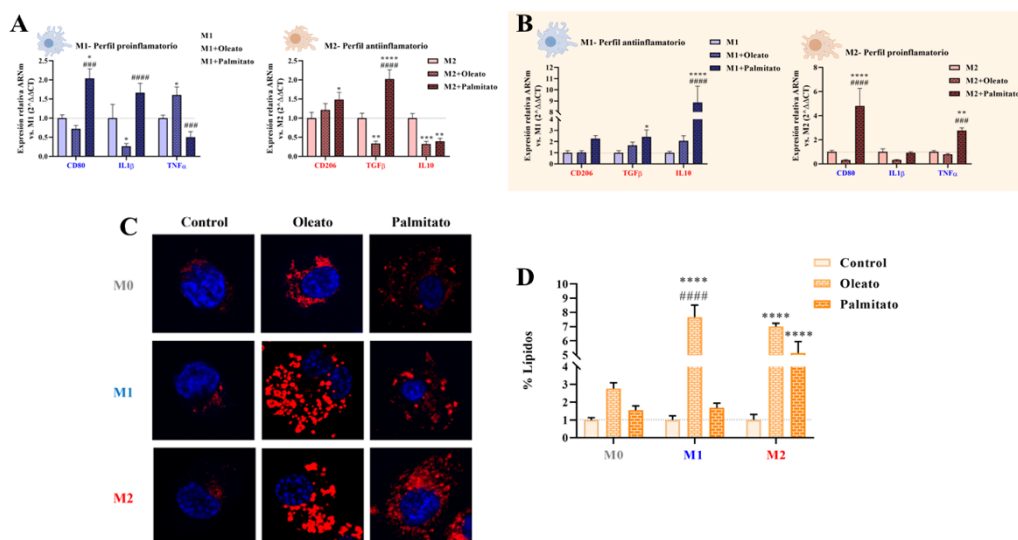
Fundamento y presentación de resultados

Tratamiento con ácidos grasos (palmitato, oleato)

Para evaluar la respuesta de los diferentes tipos de macrófagos THP-1 (M1, M2), previamente polarizados, a una sobrecarga lipídica se utilizaron dos modelos *in vitro*: i) exposición a ácido palmítico (200 μ M, 6 h), un ácido graso saturado cuyos niveles circulantes están elevados en individuos obesos y se ha asociado con una mayor resistencia a insulina, y ii) exposición a ácido oleico (200 μ M, 6 h), un ácido graso monoinsaturado, clave en la dieta mediterránea [4]. En primer lugar, analizamos en el fenotipo M1 la expresión génica de los marcadores característicos de perfil pro-inflamatorio del M1 clásico (CD80, IL1- β y TNF- α), y sobre el fenotipo M2 analizamos los marcadores característicos de perfil anti-inflamatorio del M2 clásico (CD206, TGF- β e IL-10) (**Figura 1A**) [1,5]. Por otro lado, con el objetivo de estudiar si los macrófagos adoptan un programa funcional diferente, se analizó en cada población celular la

expresión génica de los marcadores característicos del fenotipo contrario, es decir, en M1 se midieron los marcadores característicos del M2 clásico, y en M2, los marcadores propios del M1 (**Figura 1B**).

Figura 1. Efecto de la sobrecarga lipídica en la polarización de macrófagos THP-1 tras la exposición con ácido oleico y ácido palmítico a 200 μ M durante 6 horas. (A) Efecto sobre la expresión génica de los marcadores característicos de los macrófagos de fenotipo M1 y M2 * $p < 0.05$ vs. M0, M1 o M2 ** $p < 0.01$ vs. M2 *** $p < 0.001$ vs. M2 **** $p < 0.0001$ vs. M0 o M2 #### $p < 0.001$ vs. M1+Oleato ##### $p < 0,0001$ vs. M0+Oleato o M2+Oleato. (B) Efecto en la polarización de macrófagos sobre los marcadores característicos del fenotipo contrario. * $p < 0.05$ vs. M1 ** $p < 0.01$ vs. M2 *** $p < 0.0001$ vs. M1 o M2 #### $p < 0.001$ vs. M2+Oleato ##### $p < 0,0001$ vs. M1+Oleato o M2+Oleato (C) Estudio de microscopía confocal de macrófagos M0, M1 y M2. Los lípidos neutros se tiñeron con Nile Red (rojo) y los núcleos con DAPI (azul). (D) % de lípidos con respecto al área total celular. *** $p < 0.0001$ vs. control #### $p < 0.0001$ vs. Oleato. N= 3 réplicas/condición; los datos se representan como media \pm SEM.



Nuestros resultados mostraron una hiperactivación de los macrófagos en presencia de palmitato con aumento de marcadores propios de M1 (CD80, IL1- β), y M2 (TFG- β , IL-10). Por el contrario, la exposición a ácido oleico no provocó cambios significativos en la polarización de los macrófagos.

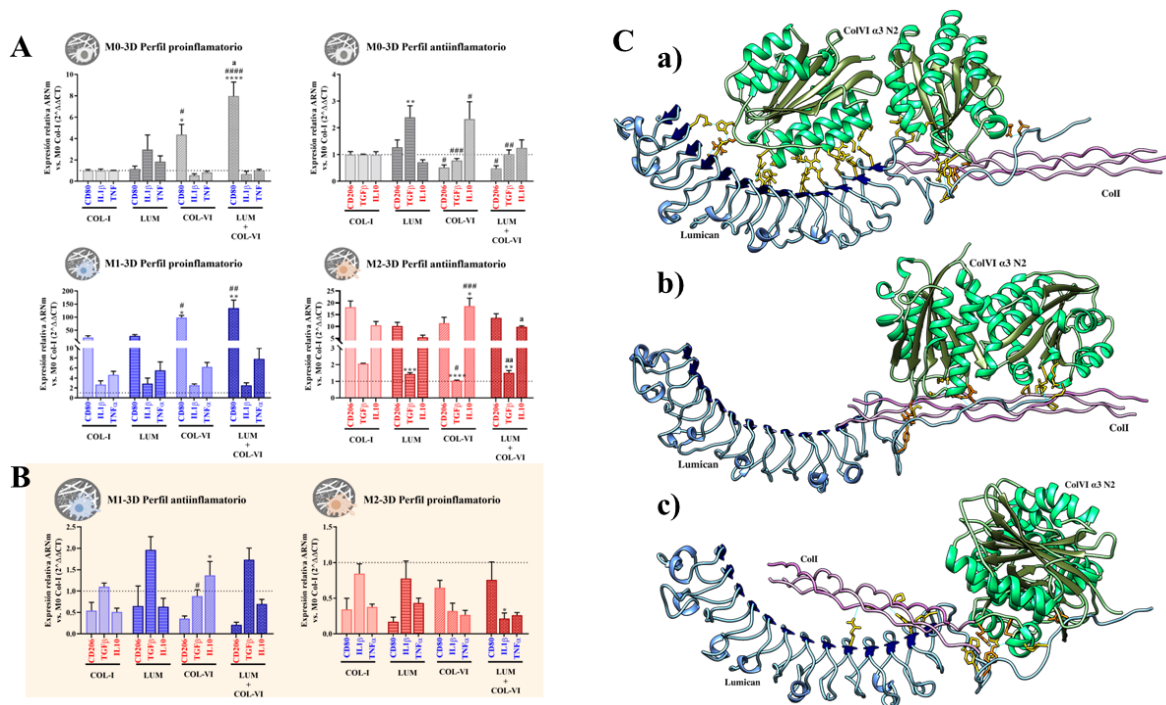
Además de determinar la plasticidad celular por expresión génica, se analizó también el contenido lipídico en los distintos tipos de macrófagos mediante estudios de imagen (**Figuras 1C y 1D**). Los resultados de microscopía confocal mostraron que los 3 fenotipos de macrófagos acumulaban más gotas lipídicas en respuesta a oleato, observándose una mayor acumulación lipídica, en los macrófagos M1. Sin embargo, la acumulación lipídica de los macrófagos M2 fue significativamente mayor tras la exposición a palmitato.

Estudios funcionales de los macrófagos en cultivos 3D.

Por otro lado, con el fin de analizar si los cambios en la composición de la matriz extracelular pueden modular la polarización de los macrófagos del tejido adiposo, a

continuación, analizamos el efecto de una matriz rica en COL-VI y lumican y su influencia sobre los diferentes fenotipos de macrófagos THP-1 [3,4]. Así, se prepararon para cada experimento 4 matrices diferentes: i) Colágeno I (3,6 mg/mL); ii) Colágeno I (3,6 mg/mL) + Lumican (30 ng/mL), iii) Colágeno I (3,6 mg/mL) + Colágeno VI (0,036 mg/mL) y iv) Colágeno I (3,6 mg/mL) + Colágeno VI (0,036 mg/mL) + Lumican (30 ng/mL).

Figura 2. Estudio de componentes de la matriz extracelular en la polarización de macrófagos THP-1 y de sus interacciones proteicas. (A) Efecto de matrices con diferente composición sobre la expresión génica de los marcadores característicos de los macrófagos de fenotipo M1 y M2. Los valores de expresión génica fueron normalizados con los valores de expresión génica de macrófagos M0 en cultivos de Col-I. Las comparaciones han sido realizadas con el mismo gen, pero en las distintas matrices. * $p < 0.05$ vs. Col-I, # vs LUM, a vs COL-VI. (B) Efecto en la polarización de macrófagos sobre los marcadores característicos del fenotipo contrario. * $p < 0.05$ vs. Col-I, # vs. LUM. N= 3 réplicas/condición; los datos se representan como media \pm SEM. (C) Visualización de las estructuras proteicas tras el re-docking proteína-proteína entre lumican (hojas β paralelas en azul oscuro y α hélices en azul claro), el dominio $\alpha 3$ N2 del colágeno VI (dos dímeros con hojas β paralelas centrales en verde oscuro rodeándoles hélices α en verde claro) y colágeno I (morado) (a) LUM-COLVI con COLI (b) COLI-COLVI con LUM (c) LUM-COLI con COLVI. Las proteínas se muestran como representaciones de cintas con los átomos de C en color amarillo destacándose en naranja los aminoácidos esenciales en la interacción.



En cuanto al análisis de expresión génica (Figura 2A y 2B), los resultados mostraron que en presencia de lumican, se produce un aumento significativo de la expresión de TGF- β , induciendo un macrófago con características pro-fibróticas. Por el contrario, en presencia de colágeno VI, se produjo un aumento de la expresión de CD80 e IL-10. Sin embargo, la combinación de ambos componentes provoca respuestas diferentes en genes

diferentes, en algunos casos se observa un efecto sinérgico como es el caso de CD80 en macrófagos M0, sin embargo, en otros genes podemos observar un efecto antagonista (CD206), sugiriendo una posible interacción entre ellos que podría modular el efecto sobre los macrófagos. Por ello, con el fin de profundizar en el efecto de la interacción entre LUM-COLVI-COLI, se ha realizado un estudio *in silico* de interacción entre estos componentes [7]. Tras el modelado de la estructura de lumican se realizó el *docking* molecular simple entre las estructuras proteicas de estudio. Con la finalidad de poder analizar la posible competencia entre las estructuras proteicas seleccionadas, se ha realizado *re-docking* entre los anteriores *docking* simples resultantes con las estructuras individuales (**Figura 2C**). Tras el análisis de los puentes de hidrógeno establecidos entre las diferentes estructuras de estudio, existen ciertos aminoácidos que parecen ser esenciales en la interacción entre estas proteínas como la Arg1715 de COL-VI o Tyr23 y Leu10 de lumican. Además, se visualizan impedimentos estéricos por parte de COL-I, y un fenómeno de competencia entre COL-VI y lumican.

Bibliografía

- [1] Anguita-Ruiz, A., Bustos-Aibar, M., Plaza-Díaz, J., Mendez-Gutierrez, A., Alcalá-Fdez, J., Aguilera, C. M., *et al.* *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (2021), 1–33.
- [2] Cai, Z., Huang, Y., & He, B. . *Cells*, 11 (2022).
- [3] Cinkajzlová, A., Mráz, M., & Haluzík, M. *Journal of Endocrinology*, 252 (2022), R1–R22.
- [4] Guzmán-Ruiz, R., Tercero-Alcázar, C., Rabanal-Ruiz, Y., Díaz-Ruiz, A., El Bekay, R., Rangel-Zuñiga, O. A., *et al.* *FASEB Journal*, 34 (2020), 7520–7539.
- [5] Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K.. *Inflammation Research*, 68 (2019), 915–932.
- [6] Ruggiero, A. D., Key, C. C., Kavanagh, K., & Stefan, N. *Frontiers in Nutrition*. 8 (2021), 1–14.
- [7] Ruiz-Ojeda, F. J., Méndez-Gutiérrez, A., Aguilera, C. M., & Plaza-Díaz, J. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (2019).

Capítulo 4. Estudio sobre los establecimientos de restauración turística de Córdoba capital post-covid

Velasco Ruiz, M. Isabel; Moreno Ortega, Alicia; Moreno Rojas, Rafael

*Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria.
Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos.*

Dirección: Escultor Fernández Márquez, nº4, 1ºD. E-mail: t72verum@uco.es

Resumen

La pandemia por COVID-19 que comenzó en 2019, desembocó en la denominada “nueva normalidad”. Tras el confinamiento, las medidas establecidas para hacer frente al virus resultaron en restricciones de horarios, aforos limitados, etc. que afectaron a todos los comercios, pero sobre todo al sector del turismo y la restauración. Tras el levantamiento completo de las medidas restrictivas en la localidad de Córdoba, se pretende conocer el estado actual en el que se encuentra la restauración orientada al sector turístico. Con este fin, se han seleccionado 65 establecimientos que corresponden a la zona más turística de Córdoba capital, a las que se les aplicó una encuesta específica en noviembre de 2021. Ésta incluía aspectos referentes al tipo de establecimiento, el número de trabajadores, el tipo de clientela, la inversión o las pérdidas económicas tras la pandemia. Los resultados indican que la mayoría son establecimientos de gastronomía tradicional, con una antigüedad superior a 10 años, siendo sus clientes turistas y visitantes. En cuanto a los efectos de la pandemia sobre la clientela y los recursos humanos, los efectos económicos han afectado, sobre todo, en los establecimientos que al menos el 50% de los clientes suelen ser turistas. No obstante, cinco meses después del establecimiento de la denominada “nueva normalidad”, la mitad de los establecimientos había recuperado los niveles prepandémicos.

Fundamento y presentación de resultados

En marzo de 2020, se declara la pandemia y se establece el estado de alarma en España. Ante la incertidumbre sanitaria, el gobierno obligó al cierre del sector hostelero temporalmente, para posteriormente imponer medidas restrictivas de movilidad, aforo y horarios de apertura, a pesar de la baja incidencia de los establecimientos de restauración sobre las tasas de infección, que a finales de 2020 suponía un 1% de brotes y 1,7% de casos acumulados por bares y restaurantes [1]. Todo esto condujo a una pérdida sin precedentes de empleo e ingresos, lo que resultó en millones de desempleados (o ERTES) [2] y pérdidas de miles de millones de euros [3].

Mediante el presente estudio, se contribuye al conocimiento sobre los establecimientos de hostelería de Córdoba capital tras los efectos de la pandemia, dada la importancia de este sector en el ámbito económico cordobés [4]. Su objetivo principal es que sirva de base para mejorar las recomendaciones de los diferentes organismos públicos y privados que estén interesados en promover, divulgar y mejorar la gastronomía de Córdoba y sus establecimientos.

Tras una revisión de la literatura disponible en referencia a la COVID [5] [6] [7] [8], se realizó una encuesta con la herramienta Google Forms (noviembre 2021) a la totalidad de los restaurantes situados en la zona turística de Córdoba, que suman 65 establecimientos, aunque solo se obtuvieron datos de 52 (80%), que estaban abiertos y aceptaron participar. En esta encuesta, se incluían preguntas específicas sobre el efecto de la pandemia sobre los establecimientos, además de preguntas sobre el tipo de establecimiento, número de trabajadores y tipo de clientela (Tabla A1).

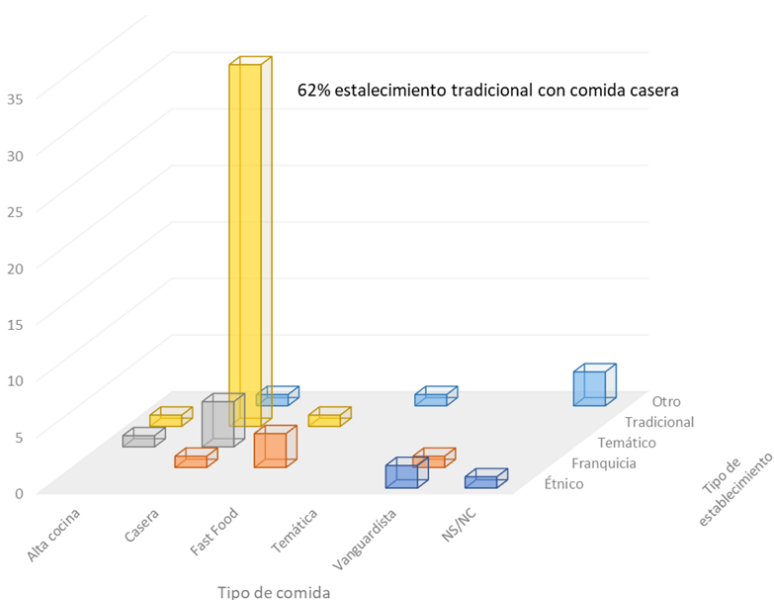
Tras el procesamiento de la encuesta global, se seleccionaron un total de 18 preguntas, que permitían la caracterización de los establecimientos del centro, conocer su estado tras la pandemia de COVID-19 y determinar el impacto que esta había tenido en la hostelería cordobesa dirigida al turismo. Se presentan, a continuación, los resultados generales más relevantes.

Tipo de establecimiento y cocina.

Del total de 52 establecimientos estudiados, casi la mitad (48, 1%) eran restaurantes, y casi un tercio eran tabernas (28,8%), seis (11,5%) cafeterías/confeiterías, y un 3,8% indicó pertenecer a otra categoría. El establecimiento tradicional es el más representado en el centro de Córdoba, con un total de 34 (65,4%).

La figura 1 muestra la relación entre el tipo de establecimiento y el tipo de comida servida. Lo más común son los establecimientos tradicionales que sirven comida casera (62%). Además, independientemente del tipo de establecimiento (tradicional o de otra índole) 38 establecimientos del total encuestados servían comida casera (73,1%).

Figura 1. Tipo de establecimiento y de comida servida



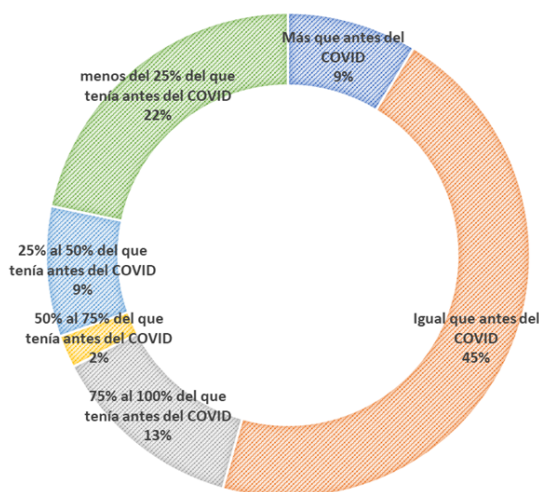
Clientes

Un 45% de los establecimientos consultados indican que >75% de sus clientes son turistas; el 17% que entre el 50-75% de sus clientes; el 23% que entre en 25-50% de sus clientes; y un 13% que <25%. Del total de clientes, el 54% indica que >50% son extranjeros, de los que el 19% indica que >75%. Un 22% no ha sabido indicar si ya ha recuperado el nivel de clientela de antes de la pandemia. Entre los que sí lo han hecho, el 51% indican no haber recuperado la ocupación previa.

Trabajadores

En la figura 2 se muestra el cambio entre el número de trabajadores antes y después de la pandemia. Casi la mitad de los establecimientos (48%) indican que tienen entre 5-10 trabajadores, un 29% con menos de 5 trabajadores y un 23% con más de 10 trabajadores. El 81% de los establecimientos encuestados indican que la mayoría de sus trabajadores son de Córdoba. El 45% de los establecimientos mantenían el nivel de empleo de antes de la pandemia; incluso un 9% más que antes; frente a un 31% que han visto su plantilla reducida a menos de la mitad de la que tenían antes de la pandemia.

Figura 2. Cambio en el número de trabajadores por efectos de la pandemia



Inversión necesaria para afrontar las medidas exigidas por el COVID (€) y pérdidas económicas resultado de la pandemia

El 35% de los establecimientos no han podido estimar la inversión realizada para adecuarse a la normativa. De los que sí han realizado estimación, el 53% ha tenido que invertir menos de 1000€, el 21% entre 1000 y 5000€ y un 26% más de 5000€.

Del total de restaurantes encuestados, se estima una pérdida promedio de unos 130.000€, pudiendo destacar que la mayor proporción de encuestados (el 17%) estiman las pérdidas en 100.000€ y un 15% por encima de esa cantidad. Cabe destacar que la mayoría de las pérdidas en ingresos las estiman aquellos establecimientos que al menos reciben un 75% de clientes procedentes del turismo, y que de éstos el 50% indica que las pérdidas alcanzarían valores del 50-75%.

Conclusión

Los establecimientos de restauración localizados en la zona más turística de la ciudad han sufrido las consecuencias de las medidas tomadas para evitar los contagios durante la pandemia, mayoritariamente en los establecimientos donde al menos el 50% de su clientela son turistas. Un 8% de los establecimientos ha cerrado definitivamente, y otro 8% lo ha hecho de forma temporal y no había abierto a finales de 2021.

Bibliografía

- [1] CCAES (Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias). Secretaría de Estado de Sanidad. Dirección General de Salud Pública. *Gobierno de España* (2020). Actualización nº 255. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19). (https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Actualizacion_255_COVID-19.pdf)
- [2] Impacto del covid-19 sobre las estadísticas del ministerio de trabajo y economía social. Enero 2021. Secretaría de Estado de Empleo y Economía Social. Ministerio de Trabajo y Economía Social. *Gobierno de España*. (https://www.mites.gob.es/ficheros/ministerio/estadisticas/documentos/Nota_impacto_COVID_Enero_2021.pdf)
- [3] Estudio para la Comisión AGRI - Repercusiones preliminares de la pandemia de COVID-19 en la agricultura europea: análisis sectorial de los sistemas alimentarios y su resiliencia. IPOL. Departamento Temático de Políticas Estructurales y de Cohesión. *Parlamento Europeo*. ([https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2021/690864/IPOL_STU\(2021\)690864\(SUM01\)_ES.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/STUD/2021/690864/IPOL_STU(2021)690864(SUM01)_ES.pdf))
- [2] Hernández Rojas, R. y Millán, G. (2016). Observatorio de turismo: una necesidad para la gestión de la gastronomía de Córdoba y provincia. *International Journal of Scientific Management and Tourism*, 2016, Vol. 2 N°4 pp 69-79.
- [3] Bartik, A. W., Bertrand, M., Cullen, Z. B., Glaeser, E. L., Luca, M., & Stanton, C. T. (2020). How are small businesses adjusting to COVID-19? Early evidence from a survey (No. w26989). *National Bureau of Economic Research*.
- [4] Brizek, M. G., Frash, R. E., McLeod, B. M., & Patience, M. O. (2021). Independent restaurant operator perspectives in the wake of the COVID-19 pandemic. *International Journal of Hospitality Management*, 93, 102766.
- [5] Cabiedes, L. y Miret-Pastor, L. (2019) Fuentes estadísticas para analizar el sector de la restauración en España. ISSN 2013-9004 (digital); ISSN 0210-2862. *Papers* 2019, 104/1.
- [6] Gursoy, D., Chi, C. G., & Chi, O. H. (2021). Effects of COVID 19 pandemic on restaurant and hotel customers' sentiments towards dining out, traveling to a destination and staying at hotels. *Journal of Hospitality*, 3(1), 1-17.

Anexo

Tabla A1: Preguntas analizadas de las realizadas en la encuesta de 2021.

N.	Enunciado de la pregunta
1.	Año
2.	Distrito postal
3.	Tipo de establecimiento
4.	Subtipo de establecimiento
5.	Tipo de comida
6.	Tipología de clientes
7.	¿Cuántas personas en total habitualmente trabajan en el establecimiento?
8.	¿Cuántas trabajan habitualmente en cocina?
9.	¿Cuántas sirven las mesas?
10.	¿Cuántas llevan la gestión/mantenimiento?
11.	¿Quién diseña los platos/menús?
12.	¿Con que frecuencia cambia los platos/menús?
13.	¿Con qué frecuencia actualiza precios?
14.	Ofrece al cliente productos fuera de carta
15.	¿Cuánto tiempo lleva el negocio abierto?
16.	¿Qué porcentaje de los clientes son turistas?
17.	¿Qué porcentaje de los clientes son extranjeros?
18.	Fidelidad de los clientes
19.	¿Proporción de trabajadores de Córdoba?
20.	¿Realiza formación de los trabajadores?

Ciencias exactas y naturales

Capítulo 5. Aplicación de técnicas metaómicas para la biorremediación de suelos contaminados por cianuro

Diego Becerra Mora

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Ciencias. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.

Dirección: Edificio Severo Ochoa, Campus Universitario de Rabanales, Carretera Madrid-Córdoba, Km 396. E-mail: bb1momoi@uco.es

Resumen

Los residuos mineros que se vierten al medioambiente suelen presentar una alta concentración de compuestos cianurados y metales pesados, contaminando suelos, lodos y corrientes de agua. Esta contaminación puede afectar al microbioma de las zonas afectadas, suponiendo un riesgo medioambiental de especial relevancia. Por ello, la identificación y caracterización de microorganismos extremófilos capaces de habitar en zonas contaminadas por la industria minera es un paso fundamental para el desarrollo de técnicas de biorremediación, ya sea in situ o en biorreactores, que permitan la detoxificación y el saneamiento de suelos y lodos de estas zonas. A lo largo de este proyecto se han examinado distintas muestras de lodos procedentes de la cuenca minera de Riotinto (Huelva, España) con el fin de analizar las comunidades microbianas que habitan en estos ambientes. Para ello, se ha determinado la composición de cianuro y metales pesados de las muestras. Además, se ha extraído ADN genómico directamente de los lodos, para llevar a cabo un posterior análisis taxonómico, y se ha optimizado un método para la extracción de proteínas de este tipo de muestras.

Fundamento y presentación de resultados

Los residuos mineros suelen presentar elevadas concentraciones de compuestos cianurados y metales pesados [1]. El cianuro es un compuesto altamente tóxico debido a su elevada afinidad por los metales, de forma que es capaz de inactivar ciertas metaloproteínas celulares como la citocromo c oxidasa [2]. Por otro lado, los metales pesados son elementos que resultan tóxicos a altas concentraciones y que pueden afectar a algunos orgánulos y componentes celulares [3]. Por este motivo, la contaminación por residuos mineros supone un problema para el medioambiente. Para este trabajo, se han tomado muestras de lodos procedentes de dos zonas distintas de la cuenca minera de Riotinto: la balsa de Gossan, (réplicas G1, G2 y G3), y una zona control (réplicas C1, C2, C3).

Por un lado, las distintas réplicas de lodos se enviaron al SCAI de la Universidad de Córdoba para determinar su composición en metales, metaloides y otros bioelementos mediante ICP-MS. El contenido de Fe fue muy alto en las muestras procedentes de la balsa de Gossan, mientras que, particularmente, el contenido en Cu, aun siendo bastante elevado en ambas zonas de muestreo, fue superior en las muestras tomadas de la zona control. Además, también se detectó una alta concentración de metales como el Al, Mn

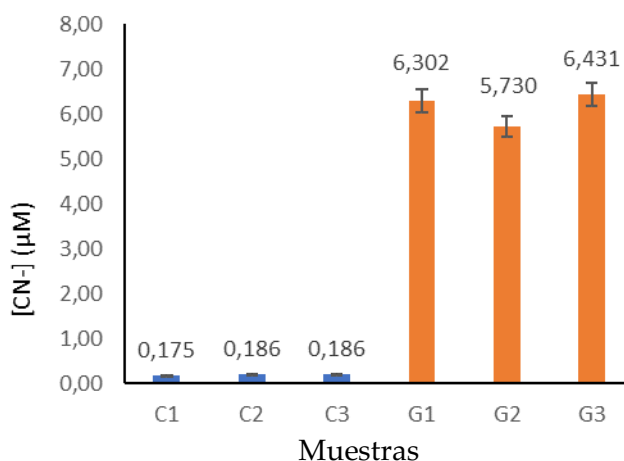
y Zn tanto en la balsa de Gossan como en la zona control con respecto a la concentración de referencia propuesto por la EPA.

Tabla 1. Abundancia relativa de bioelementos.

Elemento	Concentración (µg/L)		
	Gossan	Control	Referencia
Al	17064,68	18323,97	50-200
Mn	7314,08	7531,51	300-1000
Fe	28985,34	401,30	300-700
Ni	109,66	404,13	100-1000
Cu	2667,48	59621,33	1000-1300
Zn	15407,99	13966,96	700-5000
Ag	4,20	9,27	≤50
Cd	59,13	45,41	5-40
Pb	6,36	69,76	≤10

Por otro lado, se determinó por triplicado la concentración de cianuro en las distintas réplicas de lodos mediante el método de piridina barbitúrico [4]. Como resultado, se detectaron elevadas concentraciones de cianuro en las réplicas tomadas de la balsa de Gossan, a diferencia de las réplicas de la zona control, en las que prácticamente no se detectó.

Figura 1. Concentración de cianuro detectada en las distintas muestras de lodos.



A continuación, como paso previo al análisis taxonómico, se aisló ADN total de las muestras de lodos y se amplificó mediante PCR un fragmento del gen que codifica el ARNr 16S. Con los productos de PCR se llevó a cabo una electroforesis en gel de agarosa y para todas las muestras se obtuvo una banda de amplificación de 250 pb, coincidiendo con el tamaño esperado del fragmento del gen. Este resultado confirma por tanto la presencia de microorganismos en las distintas muestras de lodos y que la extracción del ADN se llevó a cabo de manera exitosa.

Las muestras de ADN extraído se enviaron al SCAI de la UCO para llevar a cabo un análisis taxonómico a nivel de familia, género y especie. Para condensar los datos obtenidos en estos análisis y poder comparar las comunidades microbianas de las distintas zonas de muestreo, se llevó a cabo un análisis de ordenación NMDS y un análisis de similitudes ANOSIM.

Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa para el gen del ARNr 16S con los productos de PCR de las muestras.

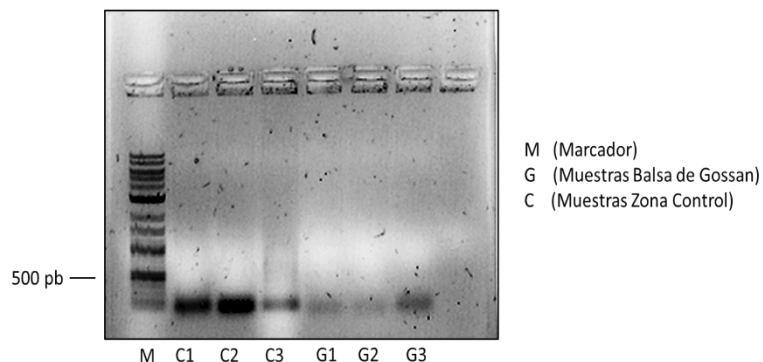
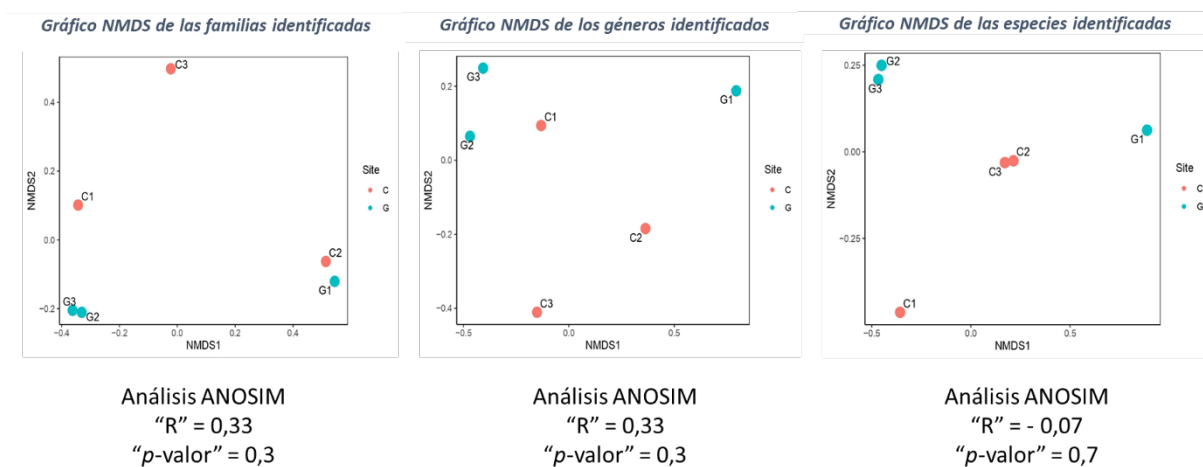


Figura 3. Análisis NMDS y ANOSIM a nivel de familias, géneros y especies identificadas en las distintas muestras.

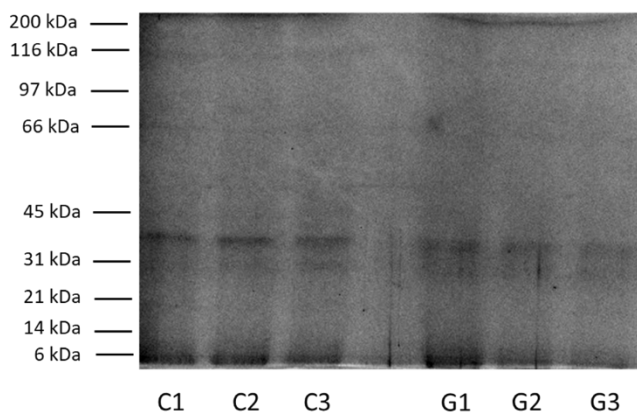


Atendiendo las gráficas NMDS no se observan diferencias significativas entre las comunidades de las distintas zonas de muestreo ni a nivel de familia, género ni especie, pues no se aprecian agrupaciones destacables entre las muestras de la misma zona. Además, teniendo en cuenta el análisis ANOSIM, no se obtienen valores de R significativos para ninguno de los casos. Estos resultados pueden relacionarse con los resultados obtenidos en el análisis de metales y bioelementos de los lodos, ya que tampoco se apreciaron grandes diferencias en la composición de los lodos entre las distintas zonas de muestreo. Sin embargo, contrastaría con los resultados obtenidos del análisis del cianuro libre, pues se detectó una notable concentración de cianuro en las réplicas de Gossan que no se detectó en las réplicas de la zona control y que en principio podría suponer una causa que diferencie el microbioma de ambas zonas debido a la

toxicidad de este compuesto. Así pues, la falta de diferencias significativas entre las comunidades microbianas de las distintas zonas de muestreo puede deberse a que la tecnología Ion Torrent, que se emplea para la secuenciación genómica previa a la asignación taxonómica, realiza un filtrado y solo conserva las secuencias identificadas que encuentran coincidencias en su base de datos. Una posible solución que se puede proporcionar es aumentar el número de réplicas en ambas zonas de muestreo.

Por último, para la extracción de proteínas de las muestras de lodos se optó por seguir el método descrito por Herruzo-Ruiz (2021) [5]. Tras la extracción, se realizó una electroforesis SDS-PAGE y se observaron bandas de proteínas para todas las muestras de lodos. El aislamiento y purificación de proteínas de este tipo de entornos contaminados es un paso clave para poder llevar a cabo un futuro análisis metaproteómico de los microorganismos que habitan en estas zonas.

Figura 4. Electroforesis SDS-PAGE de extractos de proteínas procedentes de las distintas muestras de lodos.



Bibliografía

- [1] Baxter, J., & Cummings, S. P. (2006). The current and future applications of microorganisms in the bioremediation of cyanide contamination. *Antonie van Leeuwenhoek*, 90(1), p. 1-17.
- [2] Luque-Almagro, V. M., Cabello, P., Sáez, L. P., Olaya-Abril, A., Moreno-Vivián, C., & Roldán, M. D. (2018). Exploring anaerobic environments for cyanide and cyanoderivatives microbial degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(3), p. 1067-1074.
- [3] Voica, D. M., Bartha, L., Banciu, H. L., & Oren, A. (2016). Heavy metal resistance in halophilic Bacteria and Archaea. *FEMS Microbiology Letters*, 363(14), fnw146.
- [4] Bartzatt, R. (2002). Determination of barbituric acid, utilizing a rapid and simple colorimetric assay. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29(5), 909-915.
- [5] Herruzo-Ruiz, A. M., Fuentes-Almagro, C. A., Jiménez-Pastor, J. M., Pérez-Rosa, V. M., Blasco, J., Michán, C., & Alhama, J. (2021). Metaproteomic evaluation of bacterial microbial community structure and activity for the environmental assessment of soils: Overcoming protein extraction pitfalls. *Environmental Microbiology*, 23(8), p. 4706-4725.

Capítulo 6. Desarrollo de sustratos planos para el tratamiento de muestra acoplado a espectroscopia Raman amplificada en superficie

Lucía Carrillo Sánchez

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

Dirección: Anexo C3 Marie Curie, Campus Universitario de Rabanales.

E-mail: q72casal@uco.es

Resumen

La espectroscopia Raman amplificada en superficie (SERS) permite la amplificación de las señales Raman utilizando superficies metálicas nanoestructuradas, proporcionando mayor sensibilidad y permitiendo observar compuestos a bajas concentraciones que no pueden detectarse por espectroscopia Raman convencional. En este trabajo, se ha llevado a cabo el acoplamiento de la técnica de microextracción en película delgada (TFME) para el aislamiento y preconcentración de violeta cristal junto con SERS para su posterior determinación. Los sustratos de cobre con nanoestructuras de plata se sintetizaron por inmersión de una lámina de cobre en una disolución de nitrato de plata, mediante el desplazamiento galvánico entre el cobre y el ion plata. Estos sustratos se han caracterizado mediante microscopía electrónica de barrido, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X y fluorescencia de rayos X. Además, se han estudiado las variables que afectan a la síntesis y extracción, así como la capacidad de extracción. La técnica de microextracción combinada con SERS permite la determinación del analito en el rango de concentraciones de 0,5-2,5 mg·L⁻¹. Los límites de detección y cuantificación han sido 0,15 y 0,49 mg·L⁻¹, respectivamente. Por último, la precisión de las medidas, expresada en términos de desviación estándar relativa, se encuentra en el rango de 9-19%.

Fundamento y presentación de resultados

La espectroscopia Raman amplificada en superficie permite amplificar las señales Raman por el efecto plasmónico provocado por superficies metálicas nanoestructuradas [1]. Intervienen dos mecanismos: el mecanismo electromagnético, basado en la excitación resonante de plasmones superficiales localizados que consiste en las oscilaciones de los electrones presentes en las interfases de estos sustratos, provocando el confinamiento de la luz en regiones denominadas "puntos calientes" (*hot spots*). Por otra parte, el mecanismo químico se basa en las interacciones químicas entre la molécula de interés y las nanoestructuras presentes en los sustratos [2].

El tipo de sustrato SERS determina la mejora de la señal Raman, ya que juega un papel fundamental la estructura (tamaño, forma, composición) del material utilizado. Una posible desventaja es que los sustratos no sean completamente homogéneos y reproducibles [3]. En este trabajo, se ha utilizado plata como nanomaterial y como método de síntesis la reacción de desplazamiento galvánico, que consiste en la obtención

de las nanoestructuras a partir de su sal metálica por reacción redox con el soporte metálico [4]. Se ha usado una disolución de nitrato de plata y una lámina de cobre como soporte, obteniendo los denominados sustratos de Ag-Cu por inmersión.

Estos sustratos se han empleado tanto como fase sorbente en microextracción en película delgada como sustrato SERS, de tal manera que permiten la extracción y determinación con sensibilidad mejorada del colorante violeta cristal. Se trata de un colorante catiónico sintético perteneciente al grupo de trifenilmetano, utilizado en la industria textil, alimentaria y del papel y que presenta grave impacto ambiental y efectos perjudiciales para la salud humana [5]. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es la síntesis y caracterización de estos sustratos, así como el estudio de las variables que afectan al proceso de síntesis de dichos sustratos y a la extracción del analito mencionado.

Respecto a la síntesis, se ha evaluado el efecto de la concentración de la disolución de AgNO_3 utilizada, obteniéndose nanoestructuras con distintas formas y tamaños, de tal manera que tras la deposición del violeta cristal, se observan variaciones en la intensidad de la señal en función del tipo de nanoestructura generada. También se ha evaluado el efecto del tiempo, que influye en la homogeneidad de los recubrimientos. De nuevo, tras la deposición del violeta cristal, se observan variaciones en las señales SERS en función del tiempo de inmersión para la preparación del sustrato. El análisis multivariante para la optimización de las variables que afectan a la síntesis, en concreto, concentración de nitrato de plata, tiempo y volumen de síntesis, muestra la dependencia entre variables. En este caso, las variables de tiempo y concentración están relacionadas, observando cambios más pronunciados en la superficie de respuesta. Así, las condiciones óptimas de síntesis se han seleccionado con una concentración 15 mM de AgNO_3 , tiempo de 2 min y volumen de 500 μL .

Por otro lado, para hacer posible el acoplamiento de la microextracción con las medidas SERS, se realizaron diversas pruebas. Primeramente, se evaluó la capacidad de extracción de los sustratos sintetizados, observando que esta se ve mejorada cuando la síntesis se lleva a cabo en medio ácido respecto al medio acuoso. A continuación, se realizó una prueba de tratamiento térmico, donde se produce una caída elevada de la señal. También se analizó el efecto del porcentaje de ácido, observando que dicha concentración influye en la extracción y señal del analito, así como una prueba de lavado previo a la extracción, donde se observó una caída de la señal elevada al aumentar el tiempo de lavado. Por lo tanto, estas pruebas determinan que la presencia del ácido juega un papel fundamental en la extracción. El análisis univariante de las variables que afectan al proceso de extracción, concretamente, el tiempo y volumen de extracción, el pH y la fuerza iónica, ha mostrado los valores óptimos de 10 min y 1500 μL , mientras que el ajuste de pH y fuerza iónica no parecen ser necesarios.

Durante la caracterización de los sustratos, la microscopía electrónica de barrido (SEM) ha permitido observar como los sustratos preparados en medio ácido son considerablemente más homogéneos que los sustratos obtenidos en medio acuoso. Además, las nanoestructuras son diferentes en función del porcentaje de ácido y el tiempo de inmersión. Por otra parte, mediante espectroscopia fotoelectrónica de rayos X se han observado bandas a energías de enlace correspondientes a los enlaces C-C, C-O-

C y O-C=O. La concentración en porcentaje atómico de estos dos últimos enlaces en los sustratos en medio ácido respecto a los preparados en medio acuoso es superior, lo que indica la presencia del ácido en la superficie del sustrato. También se observan las bandas características de la plata metálica, confirmando la formación de las nanoestructuras, y la banda correspondiente al cobre metal. Por último, con la fluorescencia de rayos X se observa como el porcentaje en masa del cobre en medio acuoso es mayor, indicando la formación de un recubrimiento menos homogéneo.

Para la obtención de las características analíticas del método, se ha llevado a cabo un calibrado en el rango de 0,1-10 mg·L⁻¹ observando que se ajusta a la isoterma de adsorción de Langmuir, obteniendo un rango lineal entre 0,5-2,5 mg·L⁻¹ con una precisión en términos de desviación estándar relativa entre 9-19% y una sensibilidad en términos del límite de cuantificación de 0,49 mg·L⁻¹.

Como conclusión, ha sido posible la preparación de estos sustratos para su uso en el acoplamiento de la microextracción en película delgada con SERS, así como la mejora de la señal Raman mediante las nanoestructuras de plata. Además, algunos aspectos observados han sido la mejora de la eficiencia de extracción y reproducibilidad de los sustratos SERS trabajando en medio ácido, así como la influencia de la concentración y el tiempo en el proceso de síntesis.

Bibliografía

- [1] De Oliveira Penido C.A.F., Pacheco M.T.T., Lednev I.K., Silveira L. Raman spectroscopy in forensic analysis: Identification of cocaine and other illegal drugs of abuse. *J. Raman Spectrosc.* 2016; 47, p. 28-38.
- [2] Markin A.V., Markina N.E., Popp J., Cialla-May D. Copper nanostructures for chemical analysis using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Trac-Trends Anal. Chem.* 2018; 108, p. 247-259.
- [3] López-Lorente Á.I. Recent developments on gold nanostructures for surface enhanced Raman spectroscopy: Particle shape, substrates and analytical applications. A review. *Anal. Chim. Acta.* 2021; 1168, 338474.
- [4] Hao J., Xu Z., Han M-J., Xu S., Meng X. Surface-enhanced Raman scattering analysis of perchlorate using silver nanofilms deposited on copper foils. *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 2010; 366, p.163-169.
- [5] Singh K.P., Gupta S., Singh A.K., Sinha S. Optimizing adsorption of crystal violet dye from water by magnetic nanocomposite using response surface modeling approach. *J. Hazard. Mater.* 2011; 186, p. 1462-1473.

Capítulo 7. Influencia del secado en la extracción de compuestos bioactivos de aceituna, alperujo y hojas de olivo

Ana Castillo, Carlos Augusto Ledesma, Feliciano Priego

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

Dirección: Campus Rabanales. E-mail: t72calua@uco.es

Resumen

El Aceite de Oliva Virgen Extra (AOVE) es un excelente producto por sus propiedades organolépticas y saludables. Estas últimas se atribuyen a su composición equilibrada, en la que destacan el perfil de ácidos grasos y la fracción fenólica. Dos residuos generados en la producción de AOVE, las hojas y el alperujo, también presentan un alto y variado contenido en compuestos bioactivos tales como fenoles y terpenos [1, 2]. En esta investigación, se ha estudiado la influencia del proceso de secado sobre el contenido en los principales compuestos bioactivos en hojas, alperujo y fruto. Para ello, se han utilizado cuatro procesos de secado diferentes: liofilización, en horno y asistido por microondas o infrarrojo, y se ha trabajado con dos variedades de olivo diferentes: Alfafara y Koroneiki, que destacan por tener un perfil fenólico diferente. Tras los determinados análisis y el estudio de los resultados, se concluye que, en función del fenol que se desee obtener, un secado se presentará como más o menos beneficioso. Por tanto, no existe un secado óptimo para todo tipo de fenoles y triterpenos.

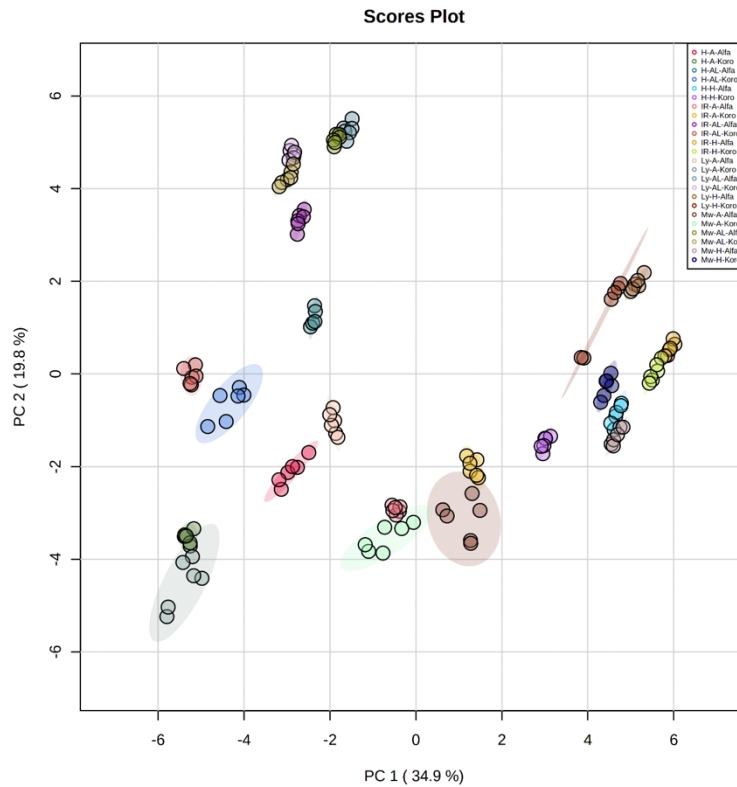
Fundamento y presentación de resultados

En esta investigación se pretende conocer la posible existencia de un tipo de secado óptimo para los compuestos fenólicos en tres matrices diferentes (alperujo, hojas y aceituna), ya que estudios previos únicamente hacen referencia a la caída o no del contenido total de fenoles tras el secado o, bien, tratan de explicar el comportamiento de algunos fenoles mayoritarios en concreto. Por tanto, se considera de interés esta investigación debido a que las referencias previas no detallan el comportamiento de la gran parte de los fenoles ni lo agrupan por familias. Además, no existen estudios donde se compare en una misma investigación como afectan varios tipos de secado a diferentes matrices con relación al contenido fenólico.

En primer lugar, se estudió mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) el factor que ocasionaba la principal fuente de variabilidad. Es decir, se comprobó si la variabilidad era debida al tipo de secado (liofilización, infrarrojo, microondas y horno), matriz tratada (alperujo, hojas y aceitunas) o a la variedad empleada (*Alfafara* y *Koroneiki*).

Así se observó que, la principal fuente de variabilidad era debida al tipo de matriz, ya que, en el PCA, se obtuvieron agrupaciones de las diferentes muestras en función de si se trataba de alperujo, aceituna u hojas (*Figura 1*).

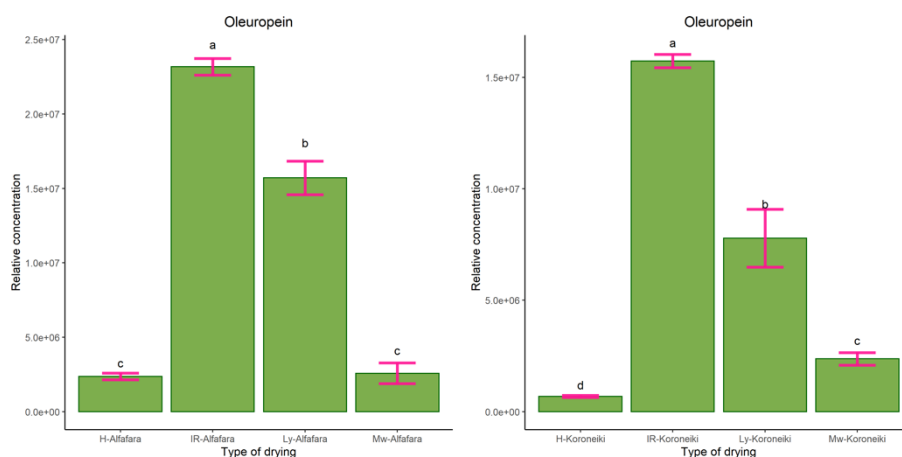
Figura 1. Gráfica de Scores del Análisis de Componentes Principales en 2D



Tras estos resultados, se llevó a cabo una clasificación en función del tipo de matriz, analizando el comportamiento de los diferentes fenoles dentro de cada matriz. En cuanto a la matriz hojas, cabe destacar el comportamiento de la oleuropeína al ser el fenol obtenido en mayor concentración tras el secado de la matriz. Como se observa en la *Figura 2*, el secado que conlleva una mejor conservación de la oleuropeína es el infrarrojo, seguido de la liofilización. Este comportamiento puede ser debido a que la liofilización conlleva una congelación, vacío y deshidratación que provoca la buena conservación del fenol. Por otro lado, la radiación infrarroja se mantiene neutra en cuanto al deterioro del fenol.

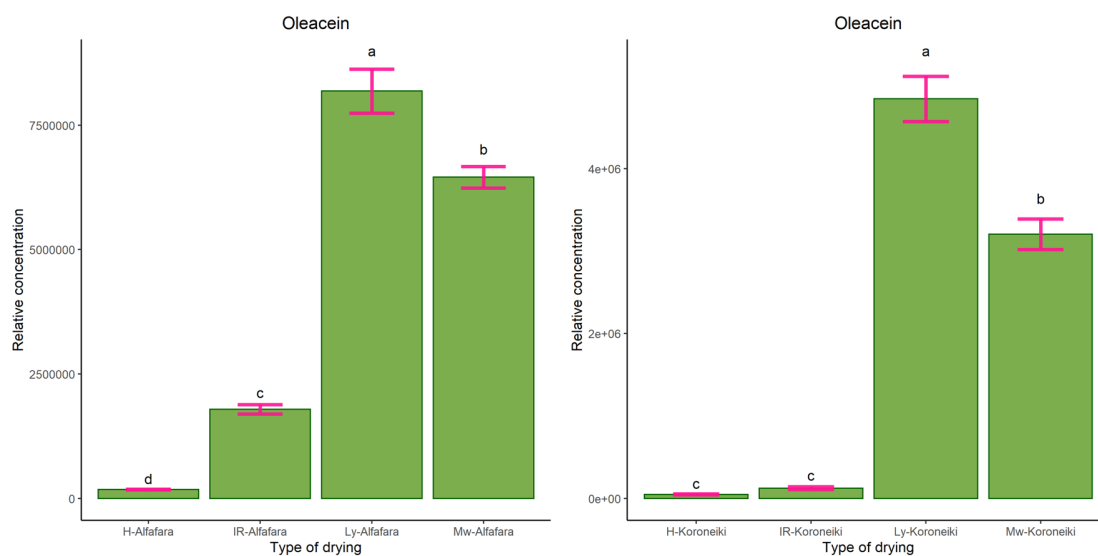
Figura 2. Concentración relativa de la oleuropeína donde tras los diferentes tipos de secado.

Capítulo 7. Influencia del secado en la extracción de compuestos bioactivos de aceituna, alperujo y hojas de olivo



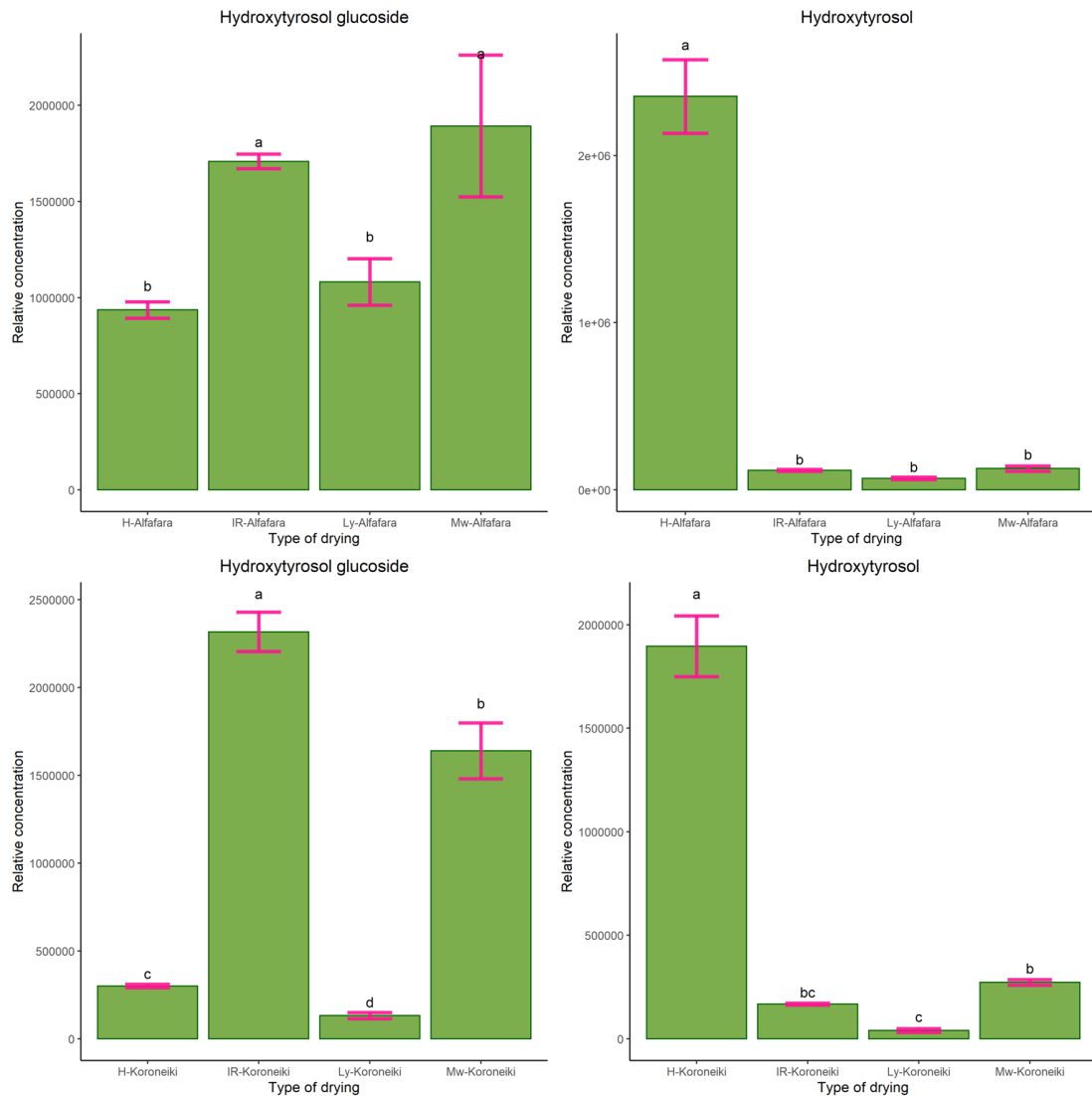
Por otro lado, en cuanto a la matriz de alperujo, cabe destacar la oleaceína como fenol identificado en mayor concentración (*Figura 3*). En este caso, el tipo de secado óptimo para su conservación es la liofilización y el microondas. Respecto al secado por microondas, la alta concentración de oleaceína en la muestra tras su aplicación puede ser debida a que el alperujo presenta un elevado contenido en humedad, lo cual ocasiona un secado lento debido a la convección del aire. Todo ello, conlleva un efecto protector y, por ende, una concentración relativa elevada tras el secado de la matriz.

Figura 3. Concentración relativa de la oleaceína donde tras los diferentes tipos de secado.



Finalmente, en cuanto a la matriz de aceituna, cabe destacar el efecto identificado de degradación del hidroxitirosol glucósido a hidroxitirosol en aquellos secados que, por lo general, dañan más la matriz original debido a las características del secado. Así, se ha observado que, los secados que conllevan temperaturas elevadas (microondas) y/o temperaturas medias y prolongadas (horno) desencadenan la degradación mencionada (*Figura 4*).

Figura 4. Diagramas de barras que reflejan el proceso de degradación de hidroxitirosol glucósido a hidroxitirosol tras los diferentes tipos de secado para ambas variedades en la matriz de aceituna.



Bibliografía

- [1] C. M^a del Mar, M.M., R. Inmaculada, I., M. Moya & C. Eulogio, *Process Biochem*, 97 (2020) 43-56.
- [2] M. Nasir S.A., & B. Joe M., *J Food Agric Environ*, 6(2) (2008) 8-13.

Capítulo 8. Estudio de la aplicación de cepas autóctonas de *Debaryomyces hansenii* como agentes de control biológico ante hongos micotoxigénicos en productos cárnicos

Helena Chacón-Navarrete, Francisco J. Ruiz Castilla, José Ramos

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Química Agrícola, Edafología y Microbiología. Área de Microbiología Agrícola.

Dirección: Campus Universitario de Rabanales, Ctra. Madrid-Cádiz Km. 396, 14071- Córdoba.

E-mail: b62chnah@uco.es

Resumen

Las normativas asociadas a la disminución de conservantes químicos en alimentos afectan de manera directa a la elaboración de productos cárnicos curados. Buscando alternativas más “naturales” con base biotecnológica, en el presente trabajo mostramos un estudio de como la levadura *Debaryomyces hansenii*, se plantea como una opción viable como agente de biocontrol. A partir de una colección de 24 cepas, aisladas de embutidos ibéricos del Valle de los Pedroches, se realizó un *screening* por ensayos de inhibición para determinar qué cepas poseían mayor potencial inhibitorio, ante una batería de hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma* y *Candida*. Tras una serie de ensayos generales, seleccionamos las 4 que mostraron mayor potencial como posibles agentes de biocontrol. Con ellas continuamos el estudio con ensayos de la actividad inhibitoria relativa. Paralelamente, una de las cepas seleccionadas fue inoculada en una batería de lomos Ibéricos, para estudiar su afectación en el producto ante condiciones de reducción de sal o nitritos. Con los datos obtenidos se proponen algunos de los mecanismos implicados en la inhibición, que hongos se ven más afectados, y como la adición de la cepa LRC2 ayuda a mantener la calidad del producto en condiciones de reducción de nitritos.

Fundamento y presentación de resultados

Debaryomyces hansenii es una levadura no convencional muy heterogénea capaz de habitar un amplio espectro de nichos, siendo habitual encontrarla en la superficie de productos curados como quesos y embutidos [1]. Su presencia en estos últimos es un factor fundamental en la generación de olores y sabores característicos de estos elaborados, lo que la hace una alternativa especialmente interesante en la producción de productos cárnicos curados en condiciones más proclives a contaminación, como las que acarrea una reducción de conservantes, tales como los nitritos o la sal. Durante la maduración de estos productos, es habitual la colonización por mohos en su superficie. Generalmente, la presencia de estos tiene un efecto positivo; no obstante, algunos tienen un potencial dañino para el consumidor debido a su capacidad para producir micotoxinas. Estos compuestos tóxicos son producidos de forma natural por el metabolismo secundario de algunos géneros de hongos como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* entre otros [2].

Las cepas empleadas de la levadura *D. hansenii* se tomaron de la colección de levaduras aisladas de embutidos ibéricos de la empresa Navalpedroche, previamente realizada por el grupo del Dr. José Ramos [3]. El estudio se dividió en varios tipos de ensayos. En un primer screening, se acotó el número de cepas a trabajar, siendo las cepas seleccionadas sometidas a biotipado por medio de la técnica MALDI-TOF. A partir de este ensayo se seleccionó la cepa "LRC2" para ser inoculada en una batería de lomos ibéricos en condiciones de reducción de sal o nitritos durante la fase de embuchado. Estos lomos, tras la fase de curación, fueron sometidos a controles biológicos de calidad, así como a catas profesionales con el fin de determinar la influencia del inóculo sobre la calidad del producto final. La selección fue de cuatro cepas además de un control de laboratorio, las cuales se sometieron a un ensayo de inhibición por estrías en diferentes condiciones de concentración de NaCl. Finalmente, se llevaron a cabo dos ensayos de actividad inhibitoria relativa frente a los hongos potencialmente micotóxicos *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* y *Candida albicans* en dos ensayos de inhibición radial por compuestos difusibles y por compuestos volátiles [4,5]. Para hacer los cálculos correspondientes al potencial y actividad inhibitoria se aplicó la fórmula:

$$\text{Potencial inhibitorio (\%)} = [(C - T) / C] \times 100$$

donde C (control) fue la medida máxima correspondiente al tipo de ensayo de hongos potencialmente patógenos en ausencia de *D. hansenii* y T (tratamiento) fue la medida máxima correspondiente al tipo de ensayo de hongos potencialmente patógenos en placas con levadura. Las mediciones se realizaron por medio del software de análisis de imagen Image J y los datos obtenidos se sometieron a tratamiento estadístico por medio de los softwares Microsoft Excel v.16.62 y GraphPad Prism v.7.0. En líneas generales los resultados obtenidos en relación con el biocontrol fueron positivos, aunque muy heterogéneos entre cepas y condiciones. El ensayo de inhibición por estrías mostró clara inhibición en relación con el crecimiento entre placas control y tratadas, así como un gradiente dentro de las placas con levadura, lo que nos lleva a pensar que diversos mecanismos de inhibición están involucrados como competencia por recursos y espacio, así como producción de componentes extracelulares. En los ensayos de inhibición por estrías y radial pudimos observar diferencias significativas entre la acción de las diferentes cepas (Figura 1 y 2) mientras que, en el ensayo de inhibición por compuestos volátiles, las diferencias entre réplicas no mostraron datos significativos relativos al crecimiento micelial, aunque sí que se observó una constante afectación o incluso ausencia de esporulación.

Por otro lado, el resultado de la inoculación de la cepa LRC2 también resultó proclive en cuanto al mantenimiento de las propiedades organolépticas del producto, así como su aceptación por parte del consumidor. En líneas generales, los lomos con menos sal tuvieron menos aceptación debido a problemas de textura, sabor y aroma. Estos problemas se vieron disminuidos en los tratamientos con levadura, incluso presentando una mayor aceptación por los catadores que los tratamientos equivalentes sin ella. De hecho, se logró una reducción efectiva del 20% de los nitratos sin que esto tuviera consecuencias negativas en el panel de catadores. En este estudio podemos hacer dos afirmaciones: que las cepas de *D. hansenii* estudiadas en este trabajo presentan actividad inhibitoria, tanto del crecimiento micelial como de la formación de esporas por la acción

sinérgica de diversos mecanismos, y que la cepa LRC2 de *D. hansenii* parece no afectar de forma negativa a las características sensoriales de los lomos ibéricos del Valle de Los Pedroches, con lo que su inoculación podría permitir reducir la cantidad de nitrito usado como aditivo. Con esto, los resultados obtenidos en este estudio pueden contribuir a la mejora de las características organolépticas de embutidos así como a la mejora de su conservación en condiciones de reducción de conservantes.

Figura 1. Representación de los resultados obtenidos en el ensayo de inhibición por estrías en diferentes microorganismos. Potencial inhibitorio (%) de las diferentes cepas de *D. hansenii* en *A. niger* (A), *P. expansum* (B), *P. verrucosum* (C), y *C. albicans* (D). Las desviaciones estándar presentadas corresponden a los valores de tres réplicas biológicas independientes. Los símbolos mostrados en la figura representan los datos más significativos (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$) para los valores de potencial inhibitorio en cada cepa seleccionada de *D. hansenii* en diferentes concentraciones de NaCl (0,5 M y 1 M) en comparación con el estándar (0 M).

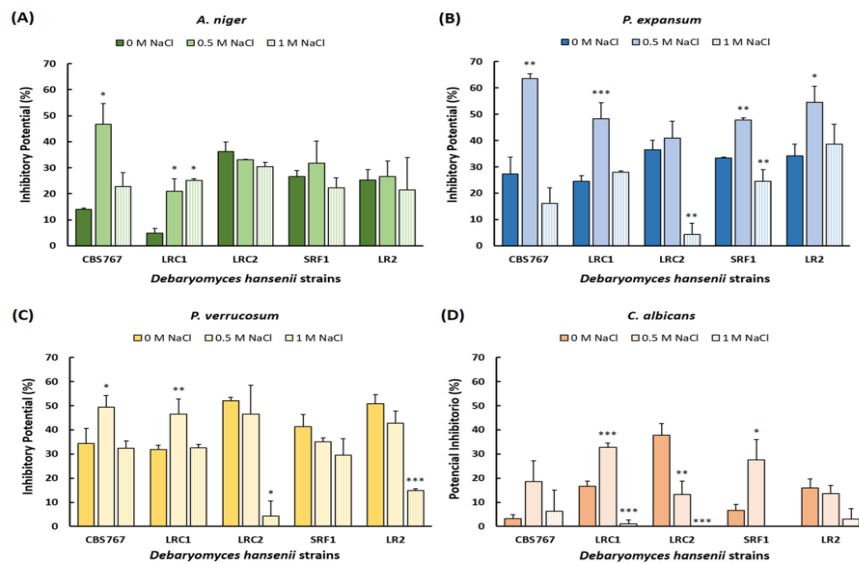
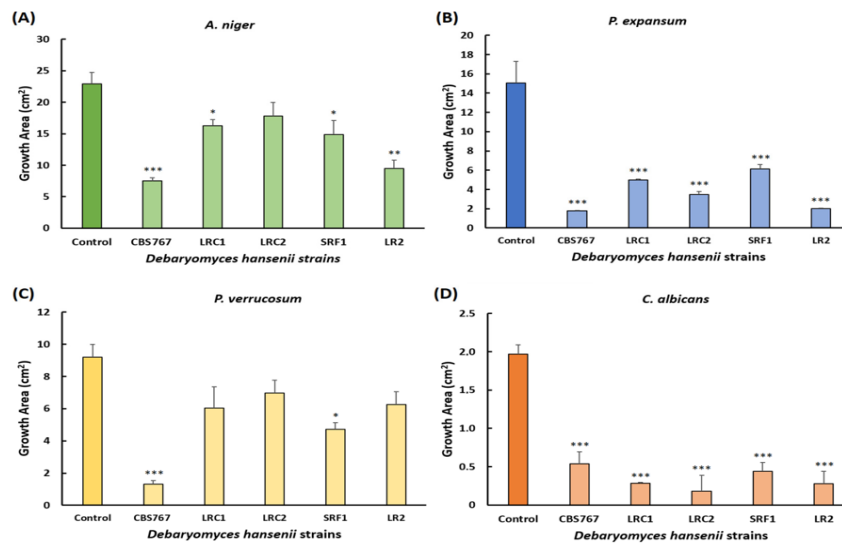


Figura 2. Representación de los resultados obtenidos en el ensayo por inhibición radial de hongos potencialmente patógenos por cepas seleccionadas de *D. hansenii*. Área de crecimiento (cm^2) de los diferentes hongos *A. niger* (A), *P. expansum* (B), *P. verrucosum* (C), y *C. albicans* (D). Las desviaciones estándar presentadas corresponden a los valores de tres réplicas biológicas independientes. Los símbolos mostrados en la figura representan los datos más significativos (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$) para la acción de las diferentes cepas de *D. hansenii* en el crecimiento micelial de los diferentes hongos con respecto a las placas de control.



Bibliografía

- [1] M. Murgia, A. Marongiu, M. Aponte, G. Blaiottai, P. Deiana, N. Mangia, *Food Research International*, Impact of a selected *Debaryomyces hansenii* strain's inoculation on the quality of Sardinian fermented sausages, 121 (2019) 144-150.
- [2] B. Peromingo, F. Núñez, A. Rodríguez, A. Alía, M. Andrade, *International Journal Of Food Microbiology*, Potential of yeasts isolated from dry-cured ham to control ochratoxin A production in meat models, 268 (2018) 73-80.
- [3] J. Ramos, Y. Melero, L. Ramos-Moreno, C. Michán, L. Cabezas, *Journal of microbiology and biotechnology*, *Debaryomyces hansenii* Strains from Valle De Los Pedroches Iberian Dry Meat Products: Isolation, Identification, Characterization, and Selection for Starter Cultures 27(9) (2017) 1576–1585.
- [4] F. Núñez, S.M. Lara, B. Peromingo, J. Delgado, L. Sánchez-Moreno, M.J. Andrade, *Food Microbiology*, Selection and evaluation of *Debaryomyces hansenii* isolates as potential bioprotective agents against toxigenic penicillia in dry-fermented sausages, 46 (2015) 114–120.
- [5] N. Medina-Córdoba, R. López-Aguilar, F. Ascencio, T. Castellanos, A. Campa-Córdoba, C. Angulo, *Biological Control*, Biocontrol activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* against phytopathogenic fungi and its ability to inhibit mycotoxins production in maize grain (*Zea mays* L.) 97 (2016) 70-79

Capítulo 9. Análisis de expresión de varios genes que codifican nucleotidasas en situaciones de movilización de nutrientes en judía

Inés Gutiérrez de Ravé Prieto, Mercedes Díaz Baena, Gregorio Gálvez Valdivieso,
Pedro Piedras

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias.

Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal. Área de Fisiología Vegetal.

Dirección: Edificio Severo Ochoa, 1ª planta, ala oeste.

E-mail: inesguitierrez@gmail.com

Resumen

Las nucleotidasas catalizan el primer paso en el catabolismo de los nucleótidos. Son fosfatasas que utilizan como sustrato nucleótidos y liberan nucleósidos. Estos compuestos son esenciales en muchos procesos fisiológicos y, entre otras moléculas, forman parte de los ácidos nucleicos. Contienen nitrógeno y fósforo en su molécula y, por tanto, podrían actuar como reservorios de nutrientes y tener un papel importante durante los procesos que implican movilización de nutrientes. Un proceso fisiológico relevante y que determina la calidad de las semillas y su contenido en nutrientes, especialmente proteínas, es el llenado de la semilla. En este trabajo se ha analizado la expresión de 11 genes que codifican posibles nucleotidasas en frutos de judía durante la fase de llenado de la semilla, separando las valvas, la cubierta de las semillas y las semillas. Además, se ha determinado la actividad nucleotidasa con varios nucleótidos como sustratos en los mismos tejidos. El gen *PvNTD10* mostró una elevada expresión en valva y se discute una posible función no catalítica. Se ha determinado alta expresión de varios de estos genes en cubierta de semillas, lo que sugiere que este tejido tiene un papel crucial en el metabolismo de nucleótidos. También se ha analizado la expresión de varios de los genes en otras situaciones que implican movilización de nutrientes.

Fundamento y presentación de resultados

La judía (*Phaseolus vulgaris* L.) es la tercera leguminosa más cultivada y la primera para el consumo humano. El contenido en proteína en semilla es elevado y puede establecer simbiosis con bacterias del suelo permitiendo así su cultivo en ausencia de abono nitrogenado. Por tanto, su cultivo tiene grandes implicaciones agronómicas, económicas y ambientales.

Uno de los procesos más importantes para el desarrollo de plantas es la movilización de nutrientes. Unas de las macromoléculas que han recibido menor atención en este proceso son los ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos contienen nitrógeno y fósforo, además de carbono, siendo el ARN la molécula más abundante en las células vegetales. El ARN representa el 85% del total de los ácidos nucleicos, y contiene el 47% del total del fósforo orgánico [1]. Por lo tanto, podrían ejercer un papel relevante como reservorios de nutrientes en la fisiología de la planta, además de desempeñar un papel crucial en los procesos que implican la movilización de dichos nutrientes, como son el desarrollo de la

plántula de judía, la formación del fruto, la senescencia, y la defensa frente algunos tipos de estrés abiótico tales como el estrés salino. Los elementos básicos que constituyen los ácidos nucleicos son los nucleótidos. Los nucleótidos purínicos tienen, además, un papel crucial en el transporte de nitrógeno fijado desde los nódulos a las partes aéreas. En judía, se ha analizado el posible papel de los ácidos nucleicos como reservorios de nutrientes [2,3,4].

La degradación de los nucleótidos empieza por la acción de las nucleotidasas, fosfatasas que liberan el fosfato generando los nucleósidos. En judía se han identificado 11 genes que codifican posibles nucleotidasas, que se nombraron desde *PvNTD1* a *PvNTD11* [5,6,7]. Estas nucleotidasas pertenecen a la subfamilia IIIB de la superfamilia HAD de fosfatasas y se agrupan en la familia PF03767 [7]. En este trabajo, se planteó como objetivo analizar el papel de las nucleotidasas durante la fase de llenado de la semilla en frutos de judía. Para desarrollar este objetivo, se cultivaron plantas de judía en condiciones de fijación de nitrógeno y cuando los frutos de las mismas alcanzaron la fase de llenado de semillas, estos se recogieron, se separaron en valvas y semillas, separando éstas últimas en cubierta de semillas y el interior que denominamos semilla propiamente dicha. Este material se congeló a -80 °C y se utilizó para determinar la actividad nucleotidasa in vitro y la expresión relativa de los 11 genes indicados previamente mediante PCR cuantitativa.

Se analizaron en primer lugar las actividades fosfatasas con nucleótidos como sustratos en extractos crudos obtenidos a partir del material de valvas, cubiertas de semillas y semillas de frutos de judía durante la etapa de llenado de la semilla. Con los tres sustratos ensayados, ADP, GMP e IMP, se detectó actividad en los tres tejidos, aunque con valores distintos para cada uno. La mayor actividad se obtuvo cuando se utilizó ADP como sustrato, y la actividad fue mayor en valvas, a continuación, en cubiertas de semillas y la menor se detectó en semillas. Con los otros sustratos, los valores de actividad fueron casi un orden de magnitud inferiores a los de ADP, aunque la actividad relativa entre los tres tejidos se mantuvo.

También se ha analizado la expresión de los 11 genes identificados previamente dentro de la familia HAD de judía [7] mediante qRT-PCR en los mismos tejidos de frutos en los que se determinó la actividad fosfatasa durante el llenado de las semillas. El nivel de expresión más elevado fue para el gen *PvNTD10* en valva. Esto podría deberse fundamentalmente a que la valva contribuye a la nutrición de las semillas durante el desarrollo de estas mediante la movilización de nitrógeno, fósforo y carbono. No obstante, a pesar de que la expresión de *PvNTD10* se encontrara muy por encima de la expresión detectada en el resto de los tejidos y de la expresión de los otros genes en cualquiera de las tres partes analizadas del fruto, la actividad nucleotidasa determinada en valvas fue del mismo orden que en la cubierta. Esto se podría explicar con el hecho de que *PvNTD10* corresponde con la proteína de reserva de vainas (PSP) identificada previamente [8] y, por tanto, su función podría ser distinta a la de catálisis enzimática. Además, al analizar la secuencia aminoacídica deducida de *PvNTD10*, se ha detectado la ausencia de un residuo de aspartato en el dominio I que si está conservado en las otras diez secuencias [7], lo que podría ser responsable de la ausencia de actividad enzimática. La proteína deducida de *PvNTD10* mostró cerca de un 70% de identidad con una

proteína de reserva de soja (VSP, *vegetative storage protein*), proteína en la que también está ausente el aspartato del dominio I. La mutación del residuo de serina a aspartato en este dominio resultó en un incremento de 20 veces en la actividad fosfatasa de la proteína de soja [9], lo que apoya la hipótesis de que la falta de este aspartato es la responsable de que la proteína codificada por *PvNTD10* tenga muy baja o nula actividad fosfatasa. En cubierta de semilla se obtuvo expresión de *PvNTD1*, *PvNTD2*, *PvNTD6*, *PvNTD7* y *PvNTD9*. El gen *PvNTD9* fue el que presentó mayor expresión en la cubierta e interior, mientras que su expresión fue nula en valva, sugiriendo cierta especificidad. En la semilla, el gen *PvNTD9* mostró el mayor nivel de expresión, lo que sugiere que es específico también de dicha parte del fruto. De los resultados de actividad enzimática y de los valores de expresión relativa se concluye que la cubierta de semilla tiene un elevado metabolismo de nucleótidos.

A continuación, se analizó el efecto de la fertilización con nitrato en la expresión de los genes *PvNTD1*, *2*, *9*, *10* y *11* en valvas y cubiertas de semillas de frutos durante la fase de llenado de la semilla. Para este objetivo, se cultivaron plantas de judía con nitrato como fuente de nitrógeno en lugar de en condiciones de fijación de nitrógeno atmosférico. Solo se observó un ligero incremento para la expresión de *PvNTD10* en las cubiertas de las semillas cultivadas en condiciones de fertilización con nitrato con respecto a los frutos obtenidos de plantas en condiciones de fijación de nitrógeno molecular.

Puesto que el gen *PvNTD9* mostró expresión específica en semilla, se ha determinado el efecto del estrés salino durante el desarrollo de plantas de judía en la expresión de este gen en frutos. Para ello, las plantas de judía se regaron con un cloruro sódico durante todo su desarrollo. Se observó un incremento en la expresión de *PvNTD9* en el interior de las semillas de frutos de las plantas sometidas a estrés salino.

Por último, se ha realizado un estudio de la expresión de los genes *PvNTD9*, *10* y *11* en otras condiciones de movilización de nutrientes como la senescencia foliar, y en cotiledones durante la germinación y senescencia. Estos 3 genes se encuentran muy próximos en el árbol filogenético de los 11 genes [7] y los genes *PvNTD9* y *10* han mostrado expresión específica en distintas partes de frutos. La expresión de estos 3 genes fue muy baja en hojas y no se afectó con el proceso de senescencia. En cotiledones durante la fase de movilización de los nutrientes se observó un incremento en la expresión de los 3 genes.

En este trabajo se puede concluir que en las tres partes de frutos de judía en la fase de llenado hay una actividad nucleotidasa significativa y que ésta se corresponde con actividad diferencial de genes de la familia HAD. De todos los resultados, se concluye igualmente que el gen *PvNTD9* podría tener un papel relevante tanto en la formación de la semilla como en la germinación de la misma y que sería un gen candidato para realizar un estudio más detallado.

Bibliografía

[1] Veneklaas, E. J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P. M., Lovelock, C. E., Plaxton, W. C., y Raven, J. A. (2012). Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. *New phytologist*, 195(2), 306-320.

- [2] Lambert, R., Cabello-Díaz, J. M., Quiles, F. A., y Piedras, P. (2016). Identification of nucleases related to nutrient mobilization in senescing cotyledons from French bean. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(11), 1-13.
- [3] Lambert, R., Quiles, F. A., Gálvez-Valdivieso, G., y Piedras, P. (2017). Nucleases activities during French bean leaf aging and dark-induced senescence. *Journal of Plant Physiology*, 218, 235-242.
- [4] Diaz-Baena, M., Delgado-García, E., Pineda, M., Galvez-Valdivieso, G., y Piedras, P. (2021). S-Like Ribonuclease T2 genes are induced during mobilisation of nutrients in cotyledons from common bean. *Agronomy*, 11(3), 490.
- [5] Cabello-Díaz, J.M., Gálvez-Valdivieso, G., Caballo, C., Lambert, R., Quiles, F.A., Pineda, M., y Piedras, P. (2015). Identification and characterization of a gene encoding for a nucleotidase from *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant Physiology*, 185, 44-51.
- [6] Galvez-Valdivieso, G., Delgado-García, E., Diaz-Baena, M., Montaña, O., Quiles, F. A., Pineda, M., y Piedras, P. (2020). Biochemical and molecular characterization of PvNTD2, a nucleotidase highly expressed in nodules from *Phaseolus vulgaris*. *Plants*, 9(2), 171.
- [7] Galvez-Valdivieso, G., Garmendia-Calvo, M., Pineda, M., y Piedras, P. (2021). Methyl jasmonate elicitation of common bean seedlings induces nucleotidase activity and the expression of several nucleotidase genes in radicles. *Biologia plantarum*, 65, 246-254.
- [8] Zhong, P. Y., Tanaka, T., Yamauchi, D., Y Minamikawa, T. (1997). A 28-Kilodalton Pod Storage Protein of French Bean Plants (Purification, Characterization, and Primary Structure). *Plant physiology*, 113(2), 479-485.
- [9] Leelapon, O., Sarath, G., y Staswick, P. E. (2004). A single amino acid substitution in soybean VSP α increases its acid phosphatase activity nearly 20-fold. *Planta*, 219(6), 1071-1079.

Capítulo 10. Disfunción endotelial y respuesta inflamatoria en la COVID-19. Papel de las proteínas accesorias de SARS-CoV-2

Romero-Guillén, Antonio; García-García, Tránsito; Zaldívar-López, Sara; Garrido-Pavón,
Juan José

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

Dirección: Campus de Rabanales, Ed. Gregor Mendel, 1ª Pl. Córdoba, 14071.

E-mail: b72rogua@uco.es

Resumen

Se ha descrito el desarrollo de complicaciones trombóticas en pacientes de COVID-19 que contribuirían al incremento de la mortalidad. Las coagulopatías de la COVID-19 podrían ser inducidas directamente por el virus al infectar el endotelio o bien indirectamente a través de la respuesta inflamatoria iniciada en el epitelio alveolar. Es por lo que en este estudio se ha analizado el papel de las proteínas accesorias de SARS-CoV-2 con mayor capacidad proinflamatoria en la inducción de la disfunción endotelial. El efecto directo de estas proteínas se estudió analizando la expresión de marcadores endoteliales y a través de ensayos de angiogénesis en células endoteliales transducidas. También se examinó el efecto del epitelio alveolar en la iniciación de la coagulación intraalveolar y cómo las proteínas accesorias intervienen en el proceso. Los resultados muestran (1) que ORF3d, ORF7b y ORF9c estarían directamente implicadas en la disfunción endotelial al promover la sobreexpresión de los genes *F3*, *SERPINB2* y *PLAT* en células HUVEC, (2) que ORF3d, ORF8 y ORF9c son capaces de inducir alteraciones angiogénicas al expresarse, y (3) que en células HUVEC estimuladas indirectamente con A549 transducidas, ORF8 contribuiría en la creación de un ambiente procoagulante y antifibrinolítico en el compartimento alveolar.

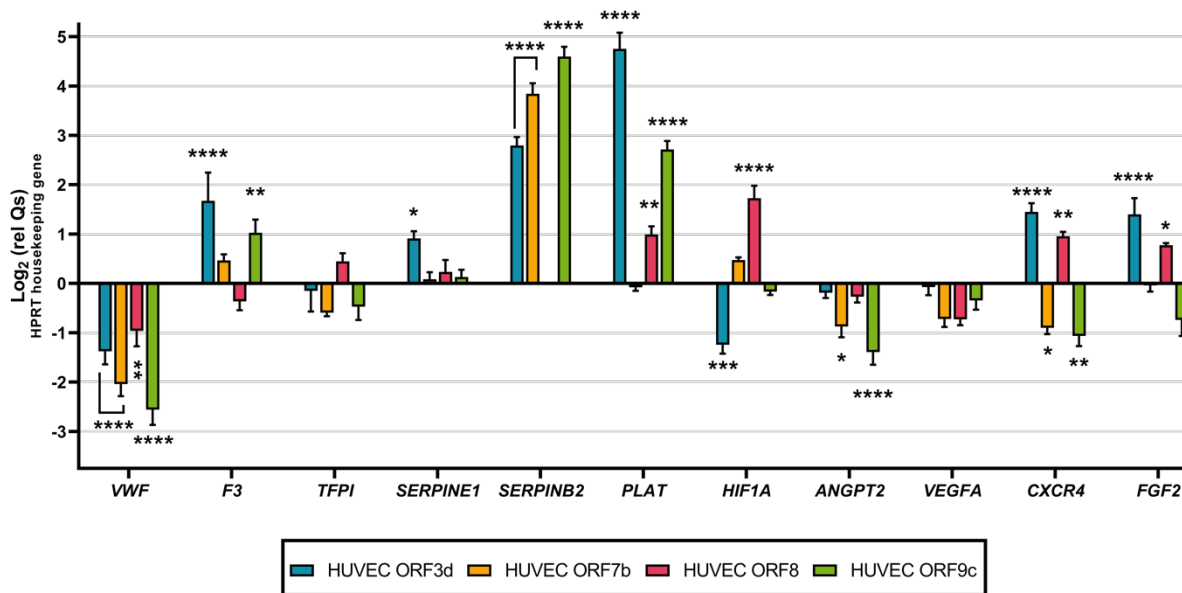
Fundamento y presentación de resultados

Una de las principales características de la COVID-19 es la desregulación inflamatoria en pacientes, la cual podría ser también un factor desencadenante de las coagulopatías descritas en pacientes. Por este motivo, se seleccionaron en este estudio aquellas proteínas accesorias de SARS-CoV-2 cuya expresión resulta en una mayor respuesta proinflamatoria. Para ello, se cuantificaron las interleuquinas (IL) IL-6, IL-8 e IL-11 mediante la prueba ELISA, las cuales se han detectado a elevados niveles en el suero de pacientes, en el sobrenadante de células de epitelio pulmonar A549 transducidas por el CIB-Margarita Salas para expresar constitutivamente las proteínas accesorias de SARS-CoV-2 [1, 2]. Los resultados de este cribado inicial muestran que las proteínas accesorias ORF3d, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9b y ORF9c inducen un estado proinflamatorio significativo.

Por medio de transducción lentiviral, se crearon líneas *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* (HUVEC) que expresan constitutivamente las proteínas accesorias ORF3d, ORF7b, ORF8 y ORF9c, para así poder examinar la implicación directa de estas proteínas en las coagulopatías al expresarse en el endotelio. Se estudió por medio de RT-qPCR la expresión de marcadores

de coagulación y disfunción endotelial, y los resultados del análisis transcripcional se recogen en la *Figura 1*.

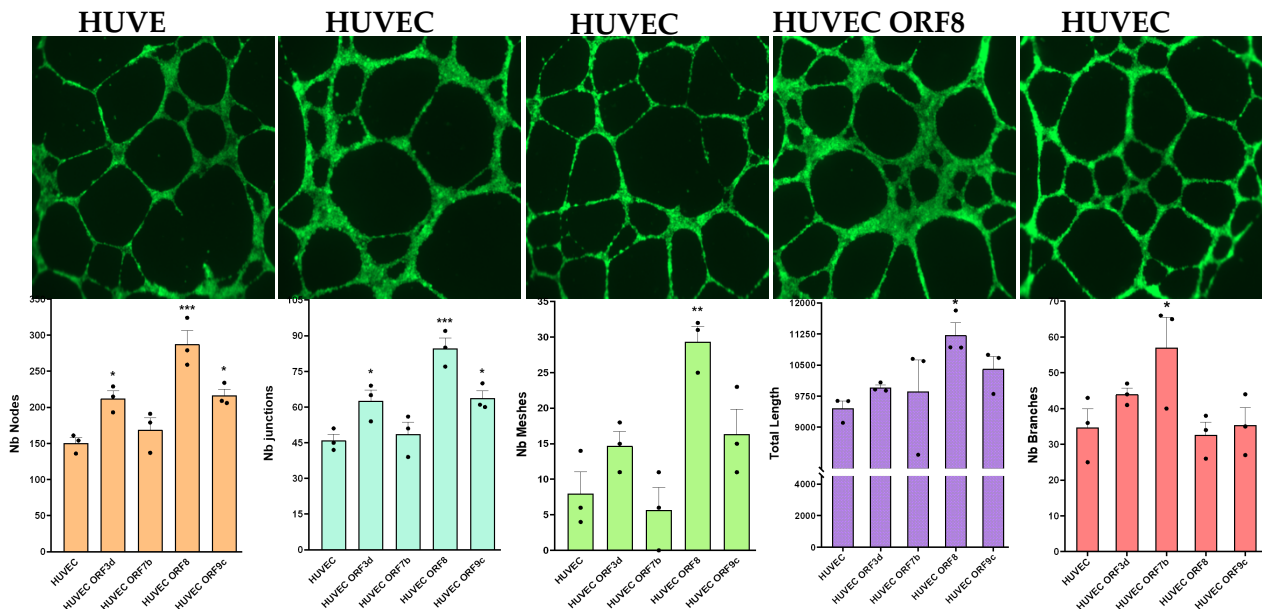
*Figura 1. Expresión de marcadores de coagulación y de disfunción endotelial en células HUVEC transducidas con ORF3d, ORF7b, ORF8 y ORF9c. Para cada condición n=3. Las diferencias estadísticamente significativas se han calculado respecto a células HUVEC no transducidas mediante two-way ANOVA Sidak's post-hoc y se indican como: *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 y ****, p<0,0001.*



Entre los resultados más destacables se encuentran la posible inducción de alteraciones en el sistema fibrinolítico por ORF3d, ORF7b y ORF9c al sobreexpresarse tanto el gen *PLAT* como *SERPINB2*, este último gen codifica PAI-2, un inhibidor de la fibrinólisis, por lo que en las células HUVEC que expresan ORF3d, ORF7b y ORF9c predominaría un estado hipofibrinolítico [3-5]. A su vez, las proteínas ORF3d y ORF9c inducen la sobreexpresión del gen *F3*, el cual codifica el factor tisular, por lo que podrían promover un estado protrombótico a través de la vía extrínseca. ORF8 también sería capaz de inducir un estado hipóxico al inducir la sobreexpresión del gen *HIF1A*, al igual que ORF3d y ORF8 estarían relacionadas con la promoción de un estado proangiogénico al sobreexpresar *CXCR4* y *FGF2* [6,7].

En base a la expresión de los genes asociados con angiogénesis, se planteó en las líneas celulares HUVEC transducidas con ORF3d, ORF7b, ORF8 y ORF9c un ensayo de formación de tubos para estudiar la capacidad angiogénica de estas líneas y, posteriormente, se analizaron las imágenes adquiridas con el programa ImageJ y el paquete Angiogenesis Analyzer. Los resultados de este ensayo se muestran en la *Figura 2*.

Figura 2. Efecto angiogénico de las proteínas accesorias ORF3d, ORF7b, ORF8 y ORF9c en células HUVEC. Para cada condición n=3. Las diferencias estadísticamente significativas se han calculado respecto a células HUVEC no transducidas mediante one-way ANOVA Dunnet's post-hoc y se indican como: *, p<0,05; **, p< 0,01; ***, p<0,001.



A partir de las imágenes adquiridas y los parámetros medidos se observó que las líneas transducidas con ORF3d, ORF8 y ORF9c tienen una capacidad angiogénica significativamente mayor respecto a las líneas HUVEC no transducidas, mientras que ORF7b posee un efecto contrario e inhibitorio. Estos resultados se complementan en gran medida con el análisis transcripcional (Figura 1), ya que ORF3d y ORF8 inducen una formación de tubos característica y engrosada, y ambas proteínas accesorias también inducen la sobreexpresión significativa de *CXCR4* y *FGF2*, mientras que ORF7b induce la subexpresión de *ANGPT2* y *CXCR4* lo que daría lugar a una inhibición de la formación de vasos como la observada en la Figura 2. Por último, ORF9c presenta un perfil de expresión similar al de ORF7b, sin embargo, esta proteína es capaz de inducir un efecto proangiogénico significativo, indicando un mecanismo de acción diferente.

Para determinar el papel de ORF3d, ORF7b, ORF8 y ORF9c en la activación indirecta de la respuesta endotelial se llevaron a cabo ensayos de estimulación, en los que se estimularon células HUVEC no transducidas con células A549 transducidas con estas proteínas accesorias, bien a través del uso de medios condicionados de estas líneas transducidas o bien a través del co-cultivo de la línea endotelial con las diferentes líneas A549 transducidas con un sistema Transwell., en el se siembran las células epiteliales en la membrana del inserto, mientras que las células endoteliales se siembran en el pocillo de la placa. Los resultados RT-qPCR de estos ensayos reflejaron que especialmente ORF8 es capaz de inducir la activación endotelial de forma indirecta, activando la cascada de coagulación a través de las vías extrínseca e intrínseca al sobreexpresarse en HUVEC estimuladas los genes *F3* y *VWF* respectivamente. Además, la cuantificación de citoquinas inflamatorias en los sobrenadantes de los co-cultivos Transwell permitieron evidenciar la sobreexpresión de IL-8 en las líneas HUVEC co-cultivadas con células A549 que expresan ORF7b, ORF8 y ORF9c, lo que podría relacionar estas proteínas

accesorias con las neutrofilias descritas en pacientes de COVID-19 y que consecuentemente agravarían la respuesta proinflamatoria y el daño vascular.

Por lo tanto, este estudio pondría en contexto el posible papel de las proteínas accesorias ORF3d, ORF7b, ORF8 y ORF9c de SARS-CoV-2 en la disfunción endotelial descrita en pacientes de COVID-19 y cómo podrían estar relacionadas con fenómenos patológicos como la desregulación del sistema fibrinolítico o la activación de la cascada de coagulación. Además, estos resultados sientan las bases para el desarrollo de mejores estrategias terapéuticas frente a la disfunción endotelial descrita en pacientes de COVID-19

Bibliografía

- [1] Li L, Li J, Gao M, *et al.* Interleukin-8 as a Biomarker for Disease Prognosis of Coronavirus Disease-2019 Patients. *Frontiers in Immunology*. 2021;11. doi:10.3389/fimmu.2020.602395
- [2] del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, *et al.* An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*. 2020;26(10):1636-1643. doi:10.1038/s41591-020-1051-9
- [3] Zuo Y, Warnock M, Harbaugh A, *et al.* Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19 patients. *Scientific Reports*. 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-020-80010-z
- [4] Arjmand S, Hosseinkhan N. Identification of potential coagulation pathway abnormalities in SARS-Cov-2 infection; insights from bioinformatics analysis. *bioRxiv*. Published online 2020. doi:10.1101/2020.12.07.414631
- [5] Cater JH, Mañucat-Tan NB, Georgiou DK, *et al.* A Novel Role for Plasminogen Activator Inhibitor Type-2 as a Hypochlorite-Resistant Serine Protease Inhibitor and Holdase Chaperone. *Cells*. 2022;11(7). doi:10.3390/cells11071152
- [6] Dimova, I., Karthik, S., Makanya, A, *et al.* SDF-1/CXCR4 signalling is involved in blood vessel growth and remodelling by intussusception. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6), 3916–3926. doi: <https://doi.org/10.1111/jcmm.14269>
- [7] Jia, T., Jacquet, T., Dalonneau, F. *et al.* FGF-2 promotes angiogenesis through a SRSF1/SRSF3/SRPK1-dependent axis that controls VEGFR1 splicing in endothelial cells. *BMC Biol*, 2021, 19, 173. doi: <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01103-3>

Capítulo 11. Estudio microbiológico y genético de diferentes cepas de *Listeria monocytogenes* en estado planctónico y de biofilm de forma previa y posterior a la transferencia a jamón cocido y a la digestión simulada *in vitro*

Serrano-Heredia, S., Sánchez Martín, J., Valero Díaz, A. y Carrasco Jiménez, E.

*Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria.
Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos.*

*Dirección: Campus Rabanales s/n. Edificio Charles Darwin. Anexo. Crta. Madrid-Cádiz Km. 396-A
14014. Universidad de Córdoba (España). E-mail: t52sehes@uco.es*

Resumen

Listeria monocytogenes es un patógeno transmitido por los alimentos que puede causar una infección grave en humanos conocida como listeriosis, considerada en 2020 como la quinta zoonosis más comúnmente notificada en humanos en la U.E. con un 13,0% de mortalidad. Los alimentos implicados en los brotes son variados destacando el pescado, carnes rojas, los productos listos para el consumo y los quesos. Esto puede deberse a que *Listeria monocytogenes* presenta una alta capacidad de supervivencia en temperaturas de refrigeración y frente a diferentes condiciones de estrés. Las cepas de *Listeria monocytogenes* estudiadas fueron la L1.C5, la L1.96 y la L1.38, con las que se preparó el estado de biofilm de 5 días a 25 ° C en cupones de acero inoxidable de 5 cm x 5 cm, que se lavaron dos veces para poder cuantificar las células de biofilm adheridas, y posteriormente, realizar una transferencia por contacto. Este mismo proceso se realizó conservando el jamón cocido transferido de células de biofilm y el inoculado con 10 µL de células planctónicas durante 7 días a 7 ° C y también, sin realizar una conservación previa a la simulación de una digestión gastrointestinal *in vitro*. Como muestran los resultados obtenidos, a pesar de que las células de biofilm han presentado un crecimiento inferior que las planctónicas, éste ha sido suficiente para transferir células al jamón cocido, e incluso llegar a ocasionar un brote de listeriosis, pues son varias las muestras analizadas donde tras la digestión *in vitro* han permanecido viables células de biofilm de *Listeria monocytogenes*. Próximos trabajos de análisis genético mediante PCR cuantitativa en tiempo real determinarán la presencia de los genes de virulencia en los diferentes estadios estudiados.

Fundamento y presentación de resultados

Listeria monocytogenes es un patógeno transmitido por los alimentos que puede causar una infección grave en humanos conocida como listeriosis. Según los datos proporcionados por el Informe de Zoonosis de la Unión Europea (U.E.), en 2020, se consideró la quinta zoonosis más comúnmente notificada en humanos en la U.E., presentando un 13,0% de mortalidad. Entre los alimentos implicados en los brotes, cabe destacar el pescado y sus derivados, otras carnes rojas o mixtas y sus derivados, los productos listos para el consumo y los quesos. Si bien, aunque todas las personas son susceptibles a la enfermedad, es importante resaltar el caso de

las mujeres embarazadas, donde el feto puede verse gravemente afectado, el grupo de edad de más de 64 años y las personas con un sistema inmunitario debilitado [1].

Debido a que los brotes de listeriosis son un problema real en la actualidad, se ha decidido realizar este estudio de investigación, cuyos resultados podrán ser útiles como una herramienta de microbiología predictiva en las Industrias Alimentarias al conocer cómo sería el crecimiento de *Listeria monocytogenes* bajo diferentes situaciones de estrés, con el fin de poder controlar sus cadenas de producción y producir alimentos seguros para el consumo en cumplimiento del Reglamento 2073/2005.

Por ello, es conveniente conocer que *Listeria monocytogenes* presenta una alta capacidad de supervivencia frente a diversos estreses ambientales y, además, es capaz de crecer en temperaturas de refrigeración. Ambas condiciones se han considerado en el presente trabajo.

En este estudio se han utilizado tres cepas de *Listeria monocytogenes* diferentes, (L1.C5, L1.96 y L1.38), conservadas al 20% de glicerol a -80 °C. Para poder trabajar con ellas, tanto en estado planctónico como de biofilm, es necesario reactivarlas en caldo de Triptona Soja (TSB) (Condalab, España) y realizar un ajuste de inóculo con el objetivo de partir de una concentración de 10^4 .

En primer lugar, fue necesario preparar el estado de biofilm para las tres cepas de *Listeria monocytogenes*. Para ello, se introdujeron nueve cupones de acero inoxidable de 5 cm x 5 cm para cada una de las cepas y 3 cupones control en placas de Petri utilizando pinzas estériles y a cada placa se le añadió 25 ml de una solución Triptona Soja – Tampón Fosfato Salino (PBS) 1:1000 (Condalab, España). A continuación, se inocularon con 250 microlitros del inóculo correspondiente y se dejaron incubar durante 5 días a 25 °C. Se realizó un control de inóculo mediante siembra en superficie en placas de Agar Soja Tripticaseína (TSA) (Condalab, España), para conocer con exactitud la concentración del inóculo de partida. Una vez transcurridos los 5 días, se procedió a realizar dos lavados de los cupones mediante la adición de 25 ml de tampón PBS y se dejaron secar al aire.

A continuación, se procedió a cuantificar las células adheridas en 3 cupones de cada una de las cepas. Para ello, sobre el cupón seco, se añadieron 15 ml de agua de peptona al 1% y se sonicaron las placas durante dos minutos con el objetivo de arrastrar el biofilm formado en el cupón de acero inoxidable. Para confirmar la presencia de biofilm, se realizó una siembra en TSA.

Por otro lado, con un sacabocados se cortaron 12 unidades de lonchas de jamón cocido con 4,5 cm de diámetro, que se dejaron caer de golpe y sin arrastrar durante 90 segundos de contacto sobre cada uno de los cupones lavados y secos de las correspondientes cepas y controles. Una vez transcurridos 90 segundos, se procedió a envasar al vacío las 12 lonchas transferidas de biofilm, que se conservaron durante 7 días a 7 °C. Posteriormente, también se inocularon 9 lonchas de jamón cocido con 10 microlitros de células planctónicas con una concentración de 10^4 , que igualmente se conservaron a 7 °C durante 7 días, y de las que se realizó su correspondiente control de inóculo utilizando placas de TSA.

Cinco días previos al transcurso de los 7 días de almacenamiento a 7 °C, se prepararon otros 12 cupones siguiendo el protocolo descrito anteriormente, creando tres cupones con células de biofilm para cada una de las cepas y tres controles blancos, los cuales se dejaron incubar igualmente durante 5 días a 25 °C, además de realizar el correspondiente control de inóculo. Tras los 5 días de incubación, se procedió en primer lugar, a realizar nuevamente el lavado por duplicado con 25 ml de PBS y posteriormente, la transferencia a 12 lonchas de jamón cocido del biofilm existente en los cupones mediante un contacto de 90 segundos. También se inocularon otras 9 lonchas de jamón cocido con 10 microlitros de células planctónicas con una concentración de 10^4 .

A partir de las diferentes muestras de jamón cocido transferidas con las células de biofilm y las células planctónicas, y las mismas almacenadas durante 7 días a 7°C, se procede a realizar el proceso de digestión simulada *in vitro*. Para ello, se parte de un total de 38 tubos falcons, con su respectiva loncha de jamón cocido transferida en su interior a la que se han añadido 18 ml de agua miliQ. En primer lugar, se realiza una digestión simulada en boca. Para ello, se ajusta el pH inicial entre 5,6 y 6,9 utilizando NaOH 0,1 M. Todos los ajustes de pH se harán en los dos falcons blancos, uno con loncha transferida previamente a la digestión y otro con loncha almacenada durante 7 días a 7 °C, para poder aplicar un tratamiento similar a todas las muestras y evitar la contaminación cruzada entre las mismas. A continuación, se añadieron 0,6 ml de solución α -amilasa (100 U / mL) y se incubaron los falcons durante 1 minuto a 37 °C y 180 rpm. Posteriormente, se simuló la digestión en el estómago, ajustando el pH a 3 utilizando HCl 1 M. Una vez ajustado el pH, se añadieron en todas las muestras pepsina a una concentración de $25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a razón de 0,05 mL por mL de muestra, simulando de esta forma el jugo gástrico y se incubó la mezcla durante 1 hora a 37 °C y 130 rpm. Finalmente, se procedió a realizar la digestión intestinal simulada, para lo que se volvió a subir el pH hasta 6, empleando NaHCO_3 1 M. Una vez ajustado el pH, se añadieron 0,25 mL por mL de muestra de jugo intestinal, el cual había sido previamente elaborado disolviendo $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de pancreatina y $12 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sales biliares y se incubó durante 2 horas a 37 °C y 45 rpm. Posteriormente a la digestión, se realizó una siembra en Agar Cromogénico para *Listeria* Según Ottaviani y Agosti (Condalab, España).

Por otro lado, para realizar el análisis genético, se partió de 10 cupones de acero inoxidable de 5 cm x 5 cm para cada cepa, los cuales se introdujeron en una placa de Petri donde se añadió 25 ml de TSB estéril, se inocularon con una concentración de 10^4 y se dejaron incubar durante 5 días a 25 °C. Para obtener las células planctónicas necesarias para posteriormente realizar el análisis genético, se tomaron 4 ml del medio TSB con el cupón incubado sin tocar las paredes o el fondo, se centrifugó durante 10 minutos, a 4 °C y 4000 G, y se descartó el sobrenadante, obteniendo así un pellet de bacterias en estado planctónico. Sin embargo, para obtener el pellet de bacterias en estado de biofilm, lo que se hizo fue preparar una placa de concentración para cada una de las cepas donde se añadieron 15 ml de PBS y un cupón lavado y seco, que se sonicó durante 2 minutos. Una vez realizado el sonicado, se rasparon ambas caras del cupón con asas de Digralsky durante 1 minuto, y se cambió el cupón por otro cupón nuevo lavado y seco. Se repitió el mismo procedimiento al menos con 10 cupones de cada cepa para poder obtener suficiente pellet de bacterias una vez se centrifugasen los 15 ml de PBS de cada placa de concentración durante 10 minutos, a 4 °C y 4000 G. Una vez obtenidos los pellets de

bacterias, se procedió a realizar una extracción de ARN y un estudio de la presencia de los diferentes genes de virulencia que pueden estar presentes las cepas de *Listeria monocytogenes*.

Este ensayo experimental se encuentra en fase inicial, pero los resultados preliminares se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Recuentos microbiológicos de *Listeria monocytogenes*

Cepa	L1.C5	L1.96	L1.38
Control de inóculo (UFC / mL)	2.03×10^4	2.02×10^4	1.54×10^4
Células de biofilm adheridas (UFC / cm ²)	2.19×10^5	8.22×10^4	9.61×10^4
Células de biofilm transferidas (UFC / g)	1.29×10^4	1.02×10^4	3.24×10^4
Células planctónicas transferidas (UFC / mL)	1.2×10^{10}	1.5×10^{10}	5.54×10^{10}
Células de biofilm transferidas tras la digestión (UFC / mL)	1.00×10^2	1.55×10^3	1.00×10^2

Como muestra la Tabla 1, las tres cepas forman un biofilm consistente el cual se ha cuantificado mediante las células adheridas. Además, en tan solo 4 casos de los 27 estudiados, se han obtenido células de *Listeria monocytogenes* tras la digestión gastrointestinal simulada. Esto indica que el patógeno es capaz de sobrevivir a condiciones de estrés como pH 3, y como consecuencia, podría ocasionar brotes de listeriosis en humanos si se consumen alimentos contaminados con *Listeria monocytogenes*.

Bibliografía

[1] *The European Union One Health 2020 Zoonoses Report* (2020).

Ciencias sociales, económicas y jurídicas

Capítulo 12. Mecanismos de protección del asegurado frente la letra pequeña de las pólizas

Ana Miranda Anguita

Universidad de Córdoba. Facultad de Derecho y Ciencias Económicas y Empresariales. Departamento de Derecho Público y Económico (Área de Derecho Mercantil)

Dirección: c/ Carbonell y Morand 18, B-1º. 14001.

E-mail: anamirandaanguita@gmail.com

Resumen

El trabajo realizado se ha centrado principalmente en la protección del asegurado (o tomador) frente a la letra pequeña que las compañías aseguradoras suelen utilizar en las pólizas de los contratos de seguro. En efecto, a través del empleo de letra pequeña e ilegible, las compañías aseguradoras pueden limitar o restringir las condiciones que aparecen destacadas en la póliza en relación con los elementos esenciales (o parte económica) del contrato de seguro u otros derechos del asegurado. Este estudio analiza los mecanismos legales que en nuestro ordenamiento confieren protección al asegurado (o tomador) ante esta mala práctica empresarial. Dichos mecanismos se encuentran especialmente en el artículo 3 de la Ley de Contrato de Seguro de 1980, en los artículos 80 y siguientes del Texto Refundido de Consumidores de 2007 (si el asegurado actúa en condición consumidora -contratos B2C-) y en la Ley de Condiciones Generales de la Contratación de 1998 (cuando el asegurado actúa como empresario o profesional -contratos B2B-). El análisis realizado ha permitido diferenciar dos regímenes jurídicos diferentes, uno aplicable a las cláusulas que no tienen la consideración de limitativas de los derechos de los asegurados y otro aplicable a las que sí poseen dicha consideración.

Fundamento y presentación de resultados

La letra pequeña puede definirse como aquella que es impresa en un tamaño tan reducido que resulta ilegible. Su uso está ampliamente difundido en el sector asegurador. De hecho, suele utilizarse en la contratación celebrada a través de condiciones generales y cláusulas predispuestas, y, como es sabido, el contrato de seguro ha sido uno de los primeros tipos contractuales en cuya celebración se recurrió primeramente a esta técnica de contratación. Esto explica que la Ley de Contrato de Seguro (LCS) haya sido la primera norma que se ha ocupado de regular en nuestro ordenamiento el fenómeno de las condiciones generales. Y además que dicha Ley haya tenido, desde su promulgación, entre sus principales finalidades, la de conferir adecuada protección a los asegurados como parte débil de la relación contractual.

El análisis de los mecanismos legales de protección del asegurado frente a la letra pequeña de las pólizas permite diferenciar dos tipos de cláusulas distintas insertas en contratos de seguro:

1º) Por un lado, están todas aquellas estipulaciones que no tienen la consideración de *cláusulas limitativas de los derechos de los asegurados*. A dichas cláusulas nuestro

ordenamiento les impone la exigencia de la perceptibilidad como requisito de transparencia formal o, si se prefiere, de inclusión o de incorporación (art. 3 LCS, arts. 80 y ss. TRLGDCU y art. 7 LCGC). Esto supone que estas estipulaciones solo se consideran incorporadas al contrato si son redactadas de forma que puedan ser físicamente leídas en atención al tamaño de los caracteres tipográficos utilizados, así como a su forma de presentación [1]. En concreto, ha de entenderse que cumplen esta exigencia formal las cláusulas que no incumplen alguna de las siguientes reglas, que son aplicables a los adherentes tanto si actúan como consumidores o como empresarios y/o profesionales: a) *Tamaño de la letra y espacio entre líneas*: La letra usada en la redacción de la cláusula no puede tener un tamaño inferior, como mínimo, a 2,5 milímetros y el espacio entre líneas no puede ser inferior a los 1.15 milímetros (art. 80 TRLGDCU). b) *Contraste con el fondo*: Ha de existir un acusado contraste con el fondo, pues un contraste débil hace ilegible el clausulado negocial (art. 80 TRLGDCU). c) *Tipo de letra*: El tipo de letra utilizado por el predisponente ha de ser de fácil lectura. d) *Ubicación de la cláusula*: La colocación de la estipulación en un lugar recóndito de la póliza o del documento complementario hace muy dificultosa su lectura por el asegurado [2]. Efectivamente, si la cláusula incumple alguna de estas reglas no supera el control de transparencia formal (o control de inclusión o de incorporación), lo que comporta su ineficacia y nulidad [3].

2º) Por otro lado, están las *cláusulas limitativas de los derechos de los asegurados* que comprenden dos tipos distintos de cláusulas: las que limitan los derechos del asegurado en relación con los elementos esenciales o la parte económica del contrato (principalmente el riesgo) y las que reducen derechos del asegurado resultantes de la ley o del contrato y no relativos a los referidos elementos esenciales o entramado económico del negocio [4]. Para que este tipo de cláusulas se incorporen al contrato se exige el cumplimiento de dos requisitos: a) que sean resaltadas o destacadas de modo especial por el asegurador, y b) que sean específicamente aceptadas por escrito por el asegurado (art. 3 LCS). De estas dos exigencias, la que conecta directamente con la problemática de la letra pequeña es la primera. En relación con ella se admite que el especial resalto de este tipo de estipulaciones puede tener lugar de varias formas, consistiendo una de ellas precisamente en la utilización de caracteres tipográficos diferentes o de mayor tamaño que el resto del clausulado. Pero, además, se admiten también otras vías de especial resalto tales como, por ejemplo, el uso de cursiva, negrita, subrayado u otro color diferente; o la reserva de una parte del documento contractual para las cláusulas limitativas; o la inclusión de dichas cláusulas en recuadros, etc. Sólo de este modo estas estipulaciones se entienden incorporadas al contrato (siempre que, además, sean especialmente aceptadas por el asegurado mediante su firma, que ha de ser individual para cada una de las cláusulas limitativas existentes, en caso de que sean varias) [5].

Además, junto al control de transparencia formal (o control de inclusión o de incorporación en terminología más clásica), esta normativa establece también un control de transparencia material que trata de garantizar que en el momento de contratar el adherente tenga un efectivo conocimiento del objeto principal o parte económica del contrato (principalmente el riesgo cubierto y la prima a pagar), ya que solo de este modo cabría hablar de un consentimiento

auténticamente libre, formado y emitido con plena libertad de saber [6]. En relación con este otro control surge una cuestión interesante relativa a si a las cláusulas redactadas en letra pequeña que incumplen la exigencia de la perceptibilidad (por ser ilegibles) y se refieren a los elementos esenciales o parte económica del contrato (riesgo cubierto y prima a pagar) se les ha de aplicar también el control de transparencia material. A nuestro juicio, dicha cuestión ha de ser respondida negativamente, pues el control de transparencia material se aplica una vez que es superado el control de transparencia formal. Por tanto, las condiciones generales o particulares redactadas en letra pequeña e ilegible o las limitativas que incumplen las exigencias del especial resalto y/o la doble firma, han de reputarse nulas por incumplir la exigencia de la perceptibilidad, sin necesidad de analizar si superan o no el control de transparencia material. Así lo corrobora la jurisprudencia de nuestro Tribunal Supremo, según la cual el “segundo control de transparencia” (esto es, el de transparencia en sentido material) se aplica una vez que es superado el control de transparencia formal (o control de inclusión o de incorporación), que actúa como un *prius* lógico de inclusión de las cláusulas en el contrato (SSTS 241/2013, de 9 de mayo de 2013, 367/3016, de 3 de marzo de 2016 y 57/2017, de 30 de enero de 2017, entre otras) [7].

Bibliografía

- [1] Pagador López, J., Título II. Condiciones generales y cláusulas abusivas”, en AA.VV. (dirs. Rebollo Puig e Izquierdo Carrasco), *La defensa de los consumidores y usuarios. Comentario sistemático del TRLGDCU*, Ed. Iustel, Madrid, 2011, p. 1307 y ss.
- [2] Funallet, J.M., “¿Qué es la letra pequeña en los seguros? Cláusulas que delimitan el riesgo y cláusulas que limitan los derechos de los asegurados”, disponible en <https://www.claimcenter.com>; Miranda Anguita, A., “Remedios del regulador frente a la ilegibilidad de las cláusulas predispuestas en los contratos bancarios y financieros”, *Revista de Derecho del Sistema Financiero*, núm. 3, 2022, p. 201 y ss.
- [3] Giménez Salinas, “Control de transparencia y contrato de seguro”, disponible en <https://gimenez-salinas.es>; GÓMEZ SANTOS, M., “La protección del asegurado como consumidor”, en Centro de Estudios de Consumo, disponible en www.uclm.es/centro/cesco
- [4] Miranda Serrano, L.M., “Cláusulas limitativas y sorprendentes en contratos de seguro: protección de las expectativas y el consentimiento de los asegurados”, *Revista Crítica de Derecho Inmobiliario*, núm. 761, 2017, p. 1151 y ss.; idem, “Transparencia en la contratación de seguros: condiciones generales y particulares”, en *Revista Española de Seguros*, núm. 171-172, diciembre de 2017, pp. 287 y ss.
- [5] Miranda Serrano, “La necesaria distinción entre los controles de transparencia formal y material de las cláusulas limitativas de los derechos de los asegurados”, *Revista española de seguros: Publicación doctrinal de Derecho y Economía de los seguros privados*, núm. 189-190, 2022, p. 191 y ss.
- [6] Arias, S., “Diferencia entre control de incorporación y control de transparencia de las condiciones generales de la contratación”, disponible en <https://www.iberley.es>, pp. 1 y ss.; Miranda Serrano, L.M., “El control de transparencia de condiciones generales y cláusulas predispuestas en la contratación bancaria”, *InDret*, núm. 2, 2018, p. 1 y ss.
- [7] Una información más completa sobre lo expuesto puede verse en Miranda Anguita, A., “Mecanismos legales de protección del asegurado frente a la letra pequeña de las pólizas”, *Revista Española de Seguros*, núm. 189-190, 2022, p. 389 y ss.

Capítulo 13. El derecho a un tribunal establecido por ley y el procedimiento de nombramiento judicial: nuevos desarrollos a través de la jurisprudencia del TEDH y del TJUE

María Valle Camacho

*Universidad de Córdoba. Facultad de Derecho y Ciencias Económicas y Empresariales.
Departamento de Derecho Público y Económico.*

Dirección: Plaza de Puerta Nueva, s/n. E-mail: d62vacam@uco.es

Resumen

Esta comunicación analiza el deterioro del Estado de Derecho en Polonia desde las elecciones celebradas en 2015, en las que el Partido ultraconservador Ley y Justicia consiguió la mayoría parlamentaria y accedió al Gobierno. Desde entonces, esta posición le ha permitido llevar a cabo una serie de modificaciones en la ley que han acabado afectando a la independencia judicial en el país. Entre otros factores, la modificación de la composición del Tribunal Constitucional y el Tribunal Supremo o la politización del Consejo Nacional del Poder Judicial, órgano constitucional encargado de los nombramientos judiciales, han contribuido al deterioro del Estado de Derecho en Polonia. Ante esta situación, se produce una reacción en forma de diálogo entre el TJUE y el TEDH, de forma que ambos Tribunales se aluden mutuamente a través de sus sentencias y desarrollan el concepto del derecho a un tribunal establecido por ley. Así, ambos establecen que las irregularidades producidas en el procedimiento de nombramiento de los jueces pueden provocar el menoscabo de la independencia judicial, que es precisamente lo que ocurre en Polonia. De esta manera, tanto el TJUE como el TEDH, a través de sus sentencias, lidian con el restablecimiento del Estado de Derecho en el país.

Fundamento y presentación de resultados

El contenido del derecho a un juicio justo comprende tres aspectos independientes pero muy relacionados entre sí: el derecho a un tribunal establecido por ley y las garantías de su independencia y su imparcialidad. Sin embargo, lo cierto es que ni la doctrina ni la jurisprudencia internacionales han prestado la misma atención a la primera de aquellas facetas que a las otras dos. Solo recientemente, a raíz de la crisis del Estado de Derecho que sufren varios Estados miembros de la Unión Europea, Polonia entre ellos, el concepto de “tribunal establecido por ley” se ha colocado en el centro de la discusión judicial que se está produciendo entre el Tribunal de Justicia de la Unión Europea (TJUE) y el Tribunal Europeo de Derechos Humanos (TEDH). De esta forma, ambos tribunales, a través de sus sentencias, intentan revertir los deterioros del Estado de Derecho en Europa.

El TEDH en su sentencia *Ástráðsson* fue capaz de desarrollar un test para verificar si efectivamente se estaban produciendo violaciones del derecho a un tribunal establecido por ley en un Estado miembro. Se produce de esta forma el inicio de una saga de sentencias en las

que el TEDH y el TJUE se apoyan mutuamente para perfilar y completar el significado del derecho a un tribunal establecido por ley. A través de la interacción entre ambos tribunales, comienza a desarrollarse entonces un contenido más amplio del derecho a un tribunal establecido por ley, muy especialmente por la relación entre este derecho y los procedimientos de nombramientos judiciales. A su vez, los dos Tribunales conforman una defensa conjunta ante los ataques sobre el poder judicial en toda Europa, con la mirada puesta especialmente en Polonia.

El desarrollo ahora del contenido del derecho a un tribunal establecido por ley, además de urgente por la situación de regresión del Estado de Derecho que atraviesa Europa, resulta de especial transcendencia. Inexcusablemente, el derecho a un tribunal establecido por ley constituye una importante salvaguardia del Estado de Derecho, al prevenir injerencias desproporcionadas de los poderes ejecutivo y legislativo sobre el judicial, constituyendo así la base para el equilibrio entre los poderes del Estado. De esta forma, la reciente importancia dada al requisito del tribunal establecido por ley es un paso adelante en la protección del Estado de Derecho y de las democracias liberales en Europa, por lo que el desarrollo jurisprudencial que en estos momentos se está produciendo no puede hacer más que contribuir a asegurar dicho amparo.

Esta comunicación recopila ese intercambio judicial entre los altos tribunales europeos de forma que el concepto del derecho a un tribunal establecido por ley quede sistematizado y explicitado. Igualmente, se ha llevado a cabo una explicación de los valores que se enmarcan dentro del Estado de Derecho, entre los que se encuentra el derecho a un tribunal compuesto conforme a la ley, ya que son los que garantizan la estabilidad de un Estado democrático regido por la ley. Solo de esta forma la protección de los derechos y libertades individuales puede quedar garantizada.

Introducción

Tanto el artículo 6.1 del Convenio Europeo de Derechos Humanos (en adelante, el Convenio) como el artículo 47.2 de la Carta de Derechos Fundamentales de la Unión Europea (en lo sucesivo, la Carta) recogen el derecho a la tutela judicial efectiva, uno de los componentes del Estado de Derecho. De igual forma, ambos preceptos establecen lo que la doctrina ha bautizado como “la Santísima Trinidad” para la protección de este derecho: un tribunal debe estar establecido por la ley, y tiene que ser independiente e imparcial [8].

El desarrollo del concepto del derecho a un tribunal establecido por ley ha sido tradicionalmente desplazado por la jurisprudencia en favor del estudio de los requisitos de independencia e imparcialidad. No obstante, este derecho ha sido colocado en el centro de atención gracias a recientes sentencias tanto del Tribunal Europeo de Derechos Humanos (en adelante, TEDH) como del Tribunal de Justicia de la Unión Europea (en lo sucesivo, TJUE). De esta forma, ambos tribunales han desarrollado el concepto y el alcance del derecho a un tribunal establecido por ley, introduciendo el procedimiento de nombramiento de los jueces dentro de su ámbito de aplicación [8].

Antes de pasar a analizar dicho desarrollo, presentaremos el caso de Polonia, donde diferentes modificaciones en la legislación han acabado por afectar al Estado de Derecho en el país. Este

caso ha sido uno de los principales motivos para que la jurisprudencia recupere el estudio del concepto de un tribunal establecido por ley, dada la preocupante situación del Estado de Derecho que atraviesa este y otros países de Europa [8].

La crisis constitucional polaca y las modificaciones legales en la jurisdicción ordinaria

Para entender el origen del declive del Estado de Derecho en Polonia, es importante conocer que desde el año 2015 el país ha experimentado una transformación política profunda, impulsada por las elecciones celebradas en octubre de ese mismo año. En ellas, resultó ganador el partido ultraconservador Ley y Justicia. Este partido no solo consiguió acceder al Gobierno sino obtener además la mayoría en ambas cámaras legislativas, esto es, el Senado y el *Sejm*, la Cámara Baja del Parlamento polaco [4].

1. La crisis en la composición del Tribunal Constitucional polaco

Durante ese mismo año 2015 en el que terminaría el mandato de la VII legislatura del *Sejm* tras las elecciones de octubre se llevaron a cabo una serie de trabajos para modificar la Ley del Tribunal Constitucional. En este mismo periodo acabaría el mandato de cinco jueces de dicho Tribunal, asunto que dominaría la fase final del procedimiento legislativo de la nueva Ley. En este momento, se presentó una alternativa de regulación del procedimiento de selección de los jueces del Tribunal Constitucional que sustituirían a aquellos cuyo mandato terminaría durante el año 2015. Para estos jueces se planteaba introducir la posibilidad de que la VII legislatura del *Sejm* pudiera proponer candidatos para el Tribunal Constitucional dentro de los treinta días siguientes a la entrada en vigor de la nueva ley reguladora [4].

El *Sejm* de la VII legislatura hizo uso de su facultad y en octubre de 2015 nombró a cinco jueces para formar parte del Tribunal Constitucional. De ellos, tres ocuparían puestos que quedarían vacantes durante esa misma legislatura, mientras que los otros dos no quedarían desocupados hasta diciembre de 2015. Es decir, durante el mandato del posterior *Sejm* elegido tras las elecciones de otoño.

Tras las mismas, el *Sejm* en su nueva composición volvió a modificar la Ley del Tribunal Constitucional, introduciendo la posibilidad de anular los cinco nombramientos llevados a cabo por la anterior legislatura y designar a otros cinco nuevos jueces. El Tribunal Constitucional, dadas las circunstancias, declaró que la anterior legislatura del *Sejm* sí estaba facultada para nombrar a los tres jueces que ocuparían las vacantes que se produjesen durante su mandato (los denominados “jueces de octubre”), pero no para el nombramiento de los otros dos jueces cuyos puestos quedarían vacantes durante la posterior legislatura del *Sejm*. El Tribunal Constitucional invalidó asimismo los cinco nombramientos del nuevo *Sejm* al establecer que tres de los puestos que se pretendían ocupar ya habían sido nombrados legalmente por la anterior legislatura en octubre [4].

En consecuencia, existe (y persiste) una suerte de superposición de nombramientos judiciales en los que tres de ellos, a los que denominaremos los “jueces de diciembre”, no pueden considerarse legales al estar ocupando unas posiciones que ya estaban establecidas legítimamente para los jueces nombrados por la anterior legislatura. Pese a todo, el presidente de la República de Polonia tomó juramento a los tres “jueces de diciembre”, que pudieron

comenzar a ejercer sus funciones jurisdiccionales dentro del Tribunal Constitucional, pese a no estar nombrados de forma válida.

2. *Las reformas sobre el KRS y el Tribunal Supremo polacos. La posición del TJUE*

Paralelamente, a partir de 2017 se han aprobado en Polonia distintas leyes que han menoscabado la independencia judicial de los jueces del Tribunal Supremo. Además, otras leyes han buscado la modificación de la organización del Consejo Nacional del Poder Judicial de Polonia (en adelante, KRS por sus siglas en polaco) [4].

La Constitución de la República de Polonia proclama la independencia judicial y encarga velar por la misma a un órgano específico, el KRS. Este organismo tiene una incidencia directa sobre la independencia de los jueces, ya que es el encargado, entre otras funciones, de la propuesta de sus nombramientos, ascensos, traslados o procedimientos disciplinarios.

Con la anterior ley reguladora del KRS, su composición cumplía con los requisitos de independencia de este órgano, ya que quince de sus veinticinco miembros eran elegidos entre jueces y por jueces. Sin embargo, la nueva Ley del KRS aprobada en 2017 modificó la forma de elección de sus miembros, al permitir que los quince miembros judiciales fueran ahora nombrados por el Sejm. A esto se añade que la nueva Ley establecía la conclusión anticipada de los mandatos de los entonces jueces-miembros del KRS. Lo que se consiguió con esta medida fue aumentar de forma inmediata la influencia del poder legislativo sobre el KRS, afectando a su independencia y contribuyendo a la politización de este órgano. En consecuencia, desde su reforma en el año 2017, el KRS no puede ser considerado un órgano que proporcione las suficientes garantías de independencia respecto al resto de los poderes públicos.

Esta nueva regulación hay que ponerla en relación con otra ley del mismo año 2017, que modificó la organización del Tribunal Supremo polaco creando, en particular, dos nuevas salas: la Sala Disciplinaria y la Sala de Control Extraordinario y Asuntos Públicos. Ambas estaban compuestas por nuevos miembros nombrados por el presidente de la República a propuesta del KRS en su nueva composición no independiente.

Respecto a estas modificaciones legales, el TJUE se pronunció en numerosas sentencias, siendo la primera de ellas A.K. y otros. En ella, el Tribunal argumentó sobre cómo el cambio en la composición y en la forma de designación de los miembros del KRS podía denotar una falta de independencia de este órgano, que a su vez afectaba a la independencia de aquellos paneles de jueces nombrados a propuesta del nuevo KRS. De esta forma, el TJUE estableció la importancia de la legalidad del procedimiento de nombramiento de los jueces para cumplir con el derecho a un juez establecido por la ley.

La respuesta del TEDH ante el caso polaco

1. *Antecedentes: la STEDH Guðmundur Andri Ástráðsson v. Iceland*

Recientemente, la STEDH Guðmundur Andri Ástráðsson v. Iceland ha ampliado el contenido del derecho a un tribunal establecido por ley, incluyendo dentro del mismo el procedimiento de nombramiento de los jueces que forman parte de este. Anteriormente, el TJUE ya se había pronunciado en términos muy parecidos acerca de cómo las deficiencias en el procedimiento

de nombramiento de los jueces pueden acabar afectando al derecho de un tribunal establecido por ley en sus sentencias FV y Reexamen Simpson.

Para entender la sentencia *Ástráðsson*, es importante en primer lugar conocer la reforma que se produjo en el sistema judicial islandés. Estos cambios añadieron un nuevo Tribunal de Apelación entre los tribunales de distrito y el Tribunal Supremo islandés. Este nuevo Tribunal de Apelación debía estar compuesto por quince jueces nombrados por el ministro de Justicia sobre la base de una lista propuesta por un Comité de Evaluación. Asimismo, el ministro de Justicia podía desviarse de esta lista si obtenía la aprobación del Parlamento islandés. Esto fue, precisamente, lo que ocurrió, dado que la ministra de Justicia seleccionó para la lista de los quince candidatos al Tribunal de Apelación a cuatro jueces no seleccionados por el Comité de Evaluación en su lista original. Dos de los cuatro candidatos que formaban parte de la lista original del Comité pero que finalmente no fueron nombrados recurrieron el procedimiento de nombramiento que se había llevado a cabo. El Tribunal Supremo islandés reconoció entonces que este había sido deficiente y que la ministra no había fundamentado suficientemente su decisión de sustituir a cuatro de los candidatos originales.

Teniendo estas circunstancias en cuenta, estamos en disposición de entender el caso *Ástráðsson*. En Islandia, el señor *Ástráðsson* recurrió su condena por un delito contra la seguridad vial, recurso que fue desestimado por el nuevo Tribunal de Apelación. Recurrió entonces esta decisión ante el Tribunal Supremo islandés, alegando, principalmente, que una de las juezas que componían el Tribunal de Apelación fue nombrada ilegalmente, debido a las irregularidades producidas durante su elección en los términos que hemos expuesto arriba. Sin embargo, el Tribunal Supremo islandés inadmitió el recurso del señor *Ástráðsson*, por lo que decidió elevar su caso al TEDH. La pregunta planteada al Tribunal fue si la participación de esta jueza en el Tribunal de Apelación había privado al demandante de su derecho a ser juzgado por un tribunal establecido por ley, debido a las irregularidades producidas durante su nombramiento.

Tras un análisis sobre el concepto de “tribunal establecido por ley”, el TEDH concluye afirmando que el procedimiento de nombramiento de los jueces constituye un elemento inherente de dicho concepto y que, por lo tanto, aquellas irregularidades que se produzcan durante este procedimiento pueden producir una violación del derecho a un tribunal establecido por ley.

Sin embargo, para el TEDH no todas las irregularidades que se produzcan en un procedimiento de nombramiento judicial, sin importar su dimensión o su complejidad, tienen el efecto de privar automáticamente al demandante de su derecho a un tribunal establecido por ley. Por ello, establece en este mismo caso un test de tres pasos (el test *Ástráðsson*) que, si se cumplen de forma cumulativa, permite concluir que ha existido una infracción en el procedimiento de nombramiento judicial de una entidad suficiente como para reputarse una violación del derecho a un tribunal establecido por ley en el sentido del artículo 6.1 del Convenio.

El test *Ástráðsson* puede resumirse en los siguientes pasos. En primer lugar, debe analizarse si se ha producido una violación manifiesta del derecho nacional aplicable. En segundo lugar,

debe apreciarse si la entidad de dicha violación es de tal gravedad que ignora las normas más fundamentales del procedimiento de nombramiento judicial. En tercer y último lugar, debe comprobarse la existencia de una revisión judicial efectiva llevada a cabo por los tribunales nacionales relativa a las consecuencias legales de apreciar dicha violación [6]. Cuando la Gran Sala del TEDH aplica estos tres pasos al caso *Ástráðsson*, concluye que se ha producido una violación del derecho a un tribunal establecido por ley en el sentido del artículo 6.1 del Convenio, debido a la participación de un juez cuyo procedimiento de nombramiento se vio afectado por graves irregularidades.

2. *Aplicación de la línea jurisprudencial iniciada con Ástráðsson al caso de Polonia*

Como hemos podido comprobar, la STEDH *Ástráðsson* inaugura una línea jurisprudencial según la cual el cumplimiento de las reglas nacionales relativas al procedimiento de nombramiento de los jueces se vincula directamente con el respeto al derecho a un juez establecido por ley. Desde entonces, este razonamiento le ha permitido al TEDH combatir las deficiencias en el Estado de Derecho que se producen en Polonia.

El inicio de esta saga de sentencias es la STEDH *Xero Flor*, de 7 de mayo de 2021. En ella, la empresa demandante alegó que había sufrido una violación de su derecho a un juez establecido por ley, ya que en la composición del Tribunal Constitucional polaco que había examinado su caso participaba uno de los “jueces de diciembre” nombrado ilegalmente. Efectivamente, el Tribunal consideró correcto lo alegado por la empresa demandante y sobre la base del test *Ástráðsson* determinó que le fue denegado su derecho a un tribunal establecido por ley en el sentido del artículo 6.1 del Convenio.

Posteriormente, en su sentencia *Reczkowicz*, el TEDH debía pronunciarse sobre si el nuevo modelo de elección de los jueces-miembro del KRS en los términos expuestos más arriba afectaba negativamente a la legalidad del procedimiento de nombramiento de los jueces de la nueva Sala Disciplinaria del Tribunal Supremo polaco. Para analizar si posibles irregularidades en dicho procedimiento conllevaban una violación del derecho a un tribunal establecido por ley, el TEDH volvió a valerse del test *Ástráðsson*. En conclusión, el Tribunal estableció que efectivamente existió una violación manifiesta de la ley nacional aplicable que afectó a las normas fundamentales del procedimiento de nombramiento de los jueces de la Sala Disciplinaria dada la participación del nuevo KRS no independiente en el mismo. Esta misma conclusión la alcanzaría también el Tribunal en el asunto *Dolińska-Ficek and Ozimek* respecto a la nueva Sala de Control Extraordinario y Asuntos Públicos del Tribunal Supremo polaco y en el caso *Advance Pharma*. Este último respecto a la participación del nuevo KRS en el procedimiento de nombramiento de los jueces que formaban parte de la Sala de lo Civil del Tribunal Supremo polaco que examinó el caso de la empresa demandante.

Conclusiones

Como hemos podido comprobar, tanto las sentencias del TJUE como del TEDH han dejado claro que el contenido del derecho a un juez establecido por ley es más amplio y no solo requiere de la conformidad con la ley nacional aplicable relativa a las funciones y la composición del propio tribunal, sino también con aquellos preceptos legales que determinan su composición. Más concretamente, su adecuada composición requiere cumplir con las exigencias marcadas por la ley para el procedimiento de nombramiento de los jueces. Por

tanto, este debe entenderse incluido también dentro del contenido del derecho a un tribunal establecido por ley en el sentido del artículo 6.1 del Convenio [6].

Se demuestra así cómo ambos Tribunales actúan conjuntamente como defensores frente a los ataques al poder judicial que se producen en Europa. Ello es posible gracias a que ha quedado asentado que el procedimiento de nombramiento de los jueces forma parte del derecho a un tribunal establecido por ley, y dicho derecho está cubierto tanto por el Convenio como por el Derecho de la Unión [10].

No obstante, esta influencia entre ambos Tribunales puede no resultar muy sorprendente, ya que el artículo 52.3 de la Carta contiene el principio de “homogeneidad” de la misma con el Convenio. De esta forma, dado que el artículo 47.2 de la Carta se corresponde con el artículo 6.1 del Convenio, su sentido y su alcance debe ser similar a lo establecido por el TEDH. Sin embargo, como resultado de esta interacción, podemos observar el nacimiento de una comprensión compartida sobre el requisito de que un tribunal esté establecido por ley [8].

Bibliografía

- [1] A. von Bogdandy y M. Ioannidis, La deficiencia sistémica en el Estado de Derecho. Qué es, qué se ha hecho y qué se puede hacer, *Revista de Estudios Políticos* 165 (2014), p. 19-64.
- [2] A. Chimiularz-Grochal y J. Sułkowski, La (in)dependencia del poder judicial en Polonia. Sobre la subordinación de los jueces al poder político, *Teoría y Realidad Constitucional* 47 (2021), p. 297-322.
- [3] V. Faggiani, La “Rule of Law backsliding” como categoría interpretativa del declive del constitucionalismo en la UE, *Revista Española de Derecho Europeo* 71 (2019), p. 57-100.
- [4] A. Krzywoń, La crisis constitucional en Polonia (2015-2017): cómo cuestionar el sistema del equilibrio constitucional en dos años, *Teoría y Realidad Constitucional* 41 (2018), p. 359-379.
- [5] M. Leloup, The appointment of judges and the right to a tribunal established by law: the ECJ tightens its grip on issues of domestic judicial organization, *Common Market Law Review* 57 (2020), p. 1139-1161.
- [6] N. Magaldi, Nombramiento de jueces y derecho a un tribunal establecido por la ley. El Tribunal Constitucional polaco ante el Tribunal Europeo de Derechos Humanos, *Revista General de Derecho Europeo* 57 (2022), p. 465-493.
- [7] L. Pech, P. Wachowiec y D. Mazur, Poland’s Rule of Law breakdown: a five-year assessment of EU’s (in)action, *Hague Journal on the Rule of Law* 13 (2021), p. 1-43.
- [8] C. Rizcallah y V. Davio, The requirement that tribunals to be established by law: a valuable principle safeguarding the Rule of Law and the separation of powers in a context of trust, *European Constitutional Law Review* 17 (2022), p. 1-26.
- [9] W. Sadurski, Polish Constitutional Tribunal under PiS: from an activist Court, to a paralysed tribunal, to a governmental enabler, *Hague Journal on the Rule of Law* 11 (2019), p. 63-84.
- [10] R. Spano, El Estado de Derecho como estrella polar de la Convención Europea de Derechos Humanos: el Tribunal de Estrasburgo y la independencia del poder judicial, *Revista de Derecho Político* 112 (2021), p. 265-296.

Humanidades

Capítulo 14. Influencia de variables psicosociales en la defensa directa e indirecta en acoso escolar

Rocío Álvarez Cantador

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias de la Educación. Departamento de Psicología.

Dirección: Calle San Alberto Magno, s/n, 14071 Córdoba

E-mail: m62alcar@uco.es

Resumen

La defensa de las víctimas de acoso escolar es un comportamiento crucial para poner fin a esta dinámica. Se trata de un comportamiento heterogéneo que abarca intervenciones directas -dirigidas a la situación de acoso- e indirectas -orientadas hacia la víctima-. Son escasos los estudios longitudinales que identifican los posibles precursores atendiendo a los diferentes tipos de defensa. El principal objetivo de este estudio longitudinal fue examinar la posible relación entre la desconexión moral y el comportamiento de defensa directa e indirecta, así como explorar el rol moderador de la popularidad percibida, la competencia social y el ajuste normativo. Los participantes fueron 1437 escolares de entre 10 y 17 años (46% chicas) de centros educativos de la provincia de Córdoba que fueron encuestados en dos tiempos en un intervalo de seis meses. Los modelos de regresión múltiple mostraron que la popularidad percibida -de manera positiva- y la desconexión moral -de manera negativa- predijeron la defensa directa. La desconexión moral se relacionó de forma negativa con la defensa indirecta. Los análisis de moderación mostraron que la defensa directa fue predicha de manera negativa por la desconexión moral solo para los grupos con elevada competencia social. Para la defensa indirecta, la desconexión moral fue un predictor negativo significativo, sobre todo en grupos con altos niveles de ajuste normativo. El presente estudio permite orientar los programas que fomentan la defensa de las víctimas de acoso escolar, al hallar diferencias en la relación entre desconexión moral y defensa directa e indirecta, así como variables moderadoras sobre esta relación.

Fundamento y presentación de resultados

El fenómeno de bullying es reconocido como un problema de salud mundial (Arseneault, 2018) por los estragos en la salud mental que supone para los implicados y principalmente para las víctimas (Hysing et al., 2021). Investigaciones previas reconocen el importante papel que juegan los defensores de las víctimas sobre el cese o agravamiento de la intimidación (Lambe & Craig, 2020). Para comprender mejor este tipo de comportamientos de ayuda, y teniendo en cuenta el rol social que juegan, se ha encontrado que los defensores son aceptados por los iguales y cuentan con altos niveles de popularidad dentro de la red de iguales (Caravita et al., 2009; Lambe et al., 2019; Pouwels et al., 2016). Recientes hallazgos meta-analíticos (Ma et al., 2019) y revisiones sistemáticas (Lambe et al., 2019) han recopilado estudios sobre características individuales y relacionales presentes en los defensores y encuentran que son mayormente chicas, presentan altos niveles de empatía, baja desconexión moral, son más

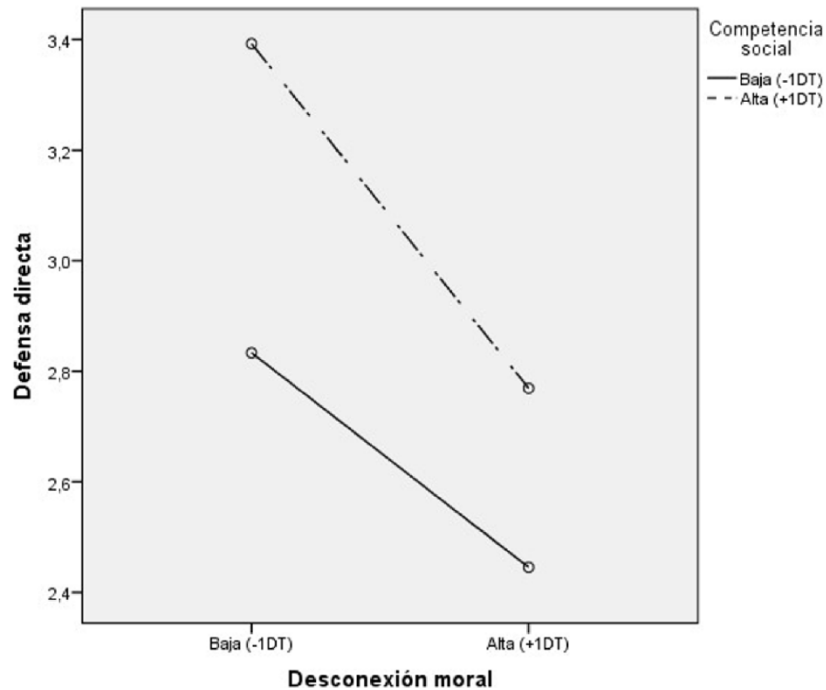
populares y socialmente aceptados por sus pares, presentan elevada autoeficacia y se perciben apoyados por sus iguales, y profesores. Sin embargo, los hallazgos meta-analíticos han encontrado una gran heterogeneidad en las características y motivaciones de los defensores (Ma et al., 2019), subrayando la necesidad de distinguir las intervenciones directas -dirigidas a la situación de acoso- de las indirectas -orientadas hacia el apoyo a la víctima- (Lambe & Craig, 2020).

Explorar las posibles variables que permiten comprender por qué algunos escolares desarrollan un tipo u otro de defensa supondrá un avance importante para orientar los programas de prevención del acoso escolar en los que se promueve la implicación de los observadores para que pasen de ser meros observadores, a intervenir, directa o indirectamente, para defender a la víctima. En esta dirección, el estudio longitudinal ha recogido datos en dos tiempos de 1437 escolares de 1º y 2º de ESO de la provincia de Córdoba a lo largo de seis meses y se han realizado análisis de regresión lineal por pasos, y posteriores follow-up y simple slope para examinar posibles variables del tiempo 1 -desconexión moral, popularidad percibida, competencia social y ajuste normativo- que predicen la defensa directa e indirecta en el tiempo 2, así como explorar qué variables asumen un rol de moderadoras sobre esta relación.

Los resultados en los análisis de regresión lineal mostraron que la popularidad percibida -de manera positiva- y la desconexión moral -de manera negativa- predijeron la defensa directa, mientras que para la defensa indirecta fue la desconexión moral -de manera negativa- la única variable predictora. En cuanto variables que moderan las anteriores predicciones, para la defensa directa, fue la interacción entre competencia social y desconexión moral la única fórmula que resultó significativa ($B = -.12$; $p < .001$), mientras que para la defensa indirecta, el ajuste normativo fue la única variable moderadora resultante para el modelo de regresión ($B = -.07$; $p .05$).

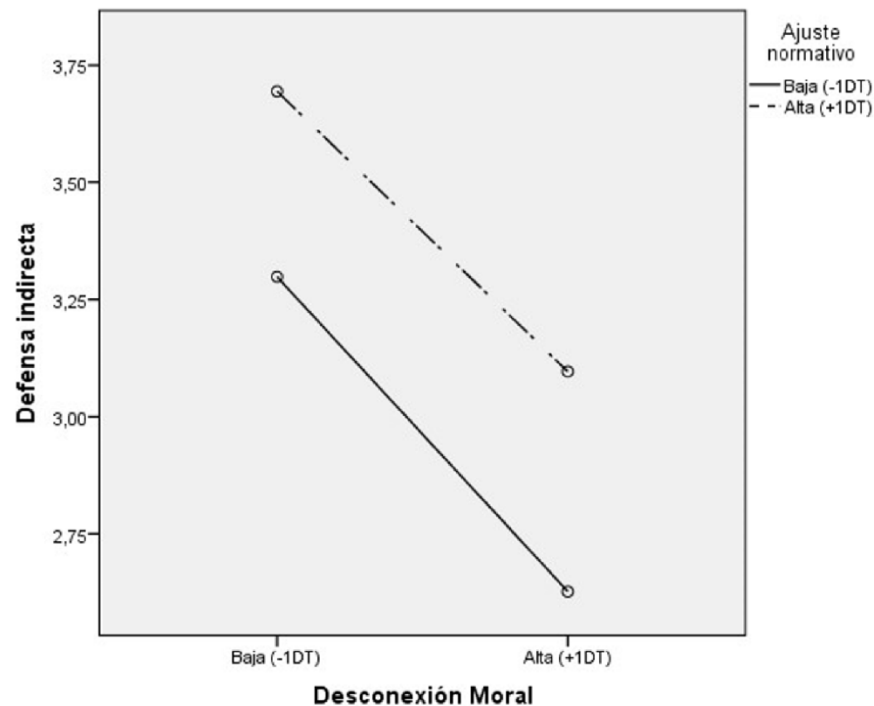
A propósito de interpretar los resultados de moderación de la competencia social resultantes en el modelo de regresión de la defensa directa, posteriores análisis simple slope mostraron que esta asociación negativa fue significativa en el grupo con altos niveles de competencia social ($B = -.20$; $p < .001$), pero no en el grupo con bajos niveles ($B = -.05$; $p > .05$). Los análisis follow-up mostraron que el efecto de la desconexión moral sobre la defensa directa fue significativamente mayor para grupos con niveles bajos de desconexión moral ($B = .20$; $p < .001$), en comparación con altos niveles ($B = .14$; $p < .05$) -ver figura 1-.

Figura 1. Moderación de la competencia social en los efectos de la desconexión moral sobre defensa directa



En el caso de la interacción resultante para la defensa indirecta, el análisis simple slope mostró que esta asociación fue significativa en grupos con altos ($B = -.27$; $p < .001$), y bajos ($B = -.22$; $p < .001$) niveles de ajuste normativo, siendo mayor en grupos con niveles altos. Los resultados del análisis follow-up mostraron que la moderación del ajuste normativo en la defensa indirecta fue significativa en los grupos con altos ($B = .18$; $p < .002$), y bajos ($B = .19$; $p < .005$) niveles de desconexión moral, siendo mayor en este último grupo -ver figura 2-.

Figura 2. Moderación del ajuste normativo en los efectos de la desconexión moral sobre defensa indirecta



Bibliografía

- [1] Arseneault, L. (2018). Annual Research Review: The persistent and pervasive impact of being bullied in childhood and adolescence: implications for policy and practice. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 59(4), 405–421. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12841>
- [2] Caravita, S. C. S., Di Blasio, P., & Salmivalli, C. (2009). Unique and interactive effects of empathy and social status on involvement in bullying. *Social Development*, 18(1), 140–163. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9507.2008.00465.x>
- [3] Hysing, M., Askeland, K. G., La Greca, A. M., Solberg, M. E., Breivik, K., & Sivertsen, B. (2021). Bullying Involvement in Adolescence: Implications for Sleep, Mental Health, and Academic Outcomes. *Journal of Interpersonal Violence*, 36(17–18), NP8992–NP9014. <https://doi.org/10.1177/0886260519853409>
- [4] Lambe, L. J., Cioppa, V. Della, Hong, I. K., & Craig, W. M. (2019). Standing up to bullying: A social ecological review of peer defending in offline and online contexts. *Aggression and Violent Behavior*, 45(2017), 51–74. <https://doi.org/10.1016/j.avb.2018.05.007>
- [5] Lambe, L. J., & Craig, W. M. (2020). Peer defending as a multidimensional behavior: Development and validation of the Defending Behaviors Scale. *Journal of School Psychology*, 78(September 2019), 38–53. <https://doi.org/10.1016/j.jsp.2019.12.001>
- [6] Ma, T. L., Meter, D. J., Chen, W. T., & Lee, Y. (2019). Defending behavior of peer victimization in school and cyber context during childhood and adolescence: A meta-analytic review of individual and peer-relational characteristics. *Psychological Bulletin*, 145(9), 891–928. <https://doi.org/10.1037/bul0000205>

[7] Pouwels, J. L., Lansu, T. A. M., & Cillessen, A. H. N. (2016). Participant roles of bullying in adolescence: Status characteristics, social behavior, and assignment criteria. *Aggressive Behavior*, 42(3), 239–253. <https://doi.org/10.1002/ab.21614>

Capítulo 15. Catastro de Ensenada y medio rural: un balance historiográfico y nuevas aportaciones para la localidad de Montilla

Antonio Carrasco González

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Filosofía y Letras. Departamento de Historia.

E-mail: hi1gonas@uco.es

Resumen

En este proyecto se ha planteado una investigación completa de un caso bien significativo del medio rural cordobés como es Montilla, a través de la documentación del Catastro de Ensenada generada para dicha localidad en los libros de Respuestas Generales, y en los libros de Familias de Seglares y libros de Familias Eclesiásticas, denominados libros “de lo personal”. Ello permitirá conocer el proceso de gestación y producción de aquella magna encuesta ilustrada, avanzar en la fijación de la fiabilidad de la fuente y establecer padrones completos de comportamiento para toda la población.

También se ha llevado a cabo la realización de un estudio exhaustivo en relación con el estado de la cuestión, yendo de lo general a lo particular; una introducción en la que se trata el problema fiscal presente en Castilla durante toda la etapa moderna; y una breve evolución histórica del municipio de Montilla hasta llegar al año 1752. Con la presentación de esta indagación se hace una aportación al conocimiento modernista por atender una faceta inédita hasta estas fechas y tan amplia para cualquier municipio del Reino de Córdoba.

Fundamento y presentación de resultados

Este trabajo, realizado a lo largo de todo el curso académico 2021/22, pasó por varias fases en su proceso de elaboración, basándose sobre todo en fuentes de carácter primario provenientes de diferentes archivos, al ser una aportación totalmente novedosa en su ámbito.

Comenzando con una investigación general acerca del concepto de Catastro de Ensenada, así como todo el contexto histórico que rodeó a la situación en la que se generó esta operación catastral, que tenía como objetivo principal el establecimiento de una profunda reforma fiscal para toda la zona de Castilla, el siguiente paso fue el análisis bibliográfico de todas las investigaciones realizadas para el Reino de Córdoba y la localidad de Montilla, algo que se ve reflejado en el extenso apartado dedicado al Estado de la Cuestión.

Los resultados derivados de este punto indican que la producción de obras a nivel nacional relacionadas con las investigaciones realizadas para el Catastro de Ensenada son muchas y muy variadas, pero queda mucho trabajo por realizar en el interior de la provincia de Córdoba, donde la mayoría de los estudios, a excepción de los realizados en los últimos años por Dña. Soledad Gómez Navarro, están referidos al estudio de las Respuestas Generales, dejando de lado el estudio exhaustivo realizado en el resto de las fuentes catastrales, como son los Libros de Familias y de Haciendas referidos a seglares y eclesiásticos. En la misma situación se

encuentra la localidad de Montilla, donde únicamente se han realizado tres obras que han investigado la cuestión, dos de ellas pertenecientes a la década de 1980 en forma de artículos de investigación de no más de 40 páginas, y la restante realizada en el año 2006, dedicada al estudio exhaustivo de las Respuestas Generales (obra realizada por la historiadora Matilde Bugella Altamirano).

Hasta este momento, no se había llevado a cabo un estudio exhaustivo del resto de documentación catastral para la localidad de Montilla, objetivo fundamental de este Trabajo Fin de Máster. Sin embargo, por falta de tiempo, al estar realizado únicamente durante un curso académico, solamente se ha podido llevar a cabo el estudio de los Libros de Familias, tanto para seculares (investigado en el Archivo Histórico Provincial de Córdoba), como de Eclesiásticos (investigado en el Archivo Histórico Municipal de Montilla), constituyendo la transcripción de estas fuentes de origen primario el siguiente paso en la metodología llevada a cabo para la elaboración del trabajo. No obstante, a pesar de haber sido analizado con anterioridad en la obra de Bugella Altamirano, también se da un novedoso análisis de las Respuestas Generales del Catastro de Ensenada de Montilla, que se ve acompañado por un cuerpo estadístico que detalla con precisión cada punto analizado.

Tras su posterior análisis, en el trabajo se plasman los resultados que muestran una síntesis de la situación política, social, económica, demográfica y cultural de Montilla a mediados del siglo XVIII. A modo de síntesis, se deriva que Montilla era un municipio dependiente del sector primario, en el que trabajaba el 64,06% de la población que posee profesión y son mayores de 18 años. Sobre todo, el oficio más relevante era el de jornalero, ocupando el 58,37% de todos los oficios de la economía montillana. Esta situación es similar a la que se vivía en todos los pueblos de la campiña cordobesa, incluso a pesar de la mayor preponderancia de los sectores secundario y terciario en el interior de municipios como Lucena o Cabra, donde el sector primario rebasaba la mitad de la población activa.

En relación con la estructura demográfica y familiar, Montilla posee un total de 11.016 habitantes seculares para el año 1752, separados en 2.853 hogares de seculares; por su parte, dentro de los 77 hogares eclesiásticos citados, vivían un total de 253 personas. Con respecto a las familias seculares, hay una mayoría clara de cabezas de familia que aparecen casados, mientras que el siguiente escalón lo ocupan personas en estado de viudedad, reflejando la tremenda importancia que tenía la institución familiar en la época, quedando prácticamente al margen de la sociedad las personas en estado de soltería, sobre todo en el caso de las mujeres, las cuales quienes dependían económicamente en su mayoría de un varón, ya fuera del padre o algún familiar cercano, o del marido. De sobra es conocida la situación de la mujer en esta época, aunque tanto las del tercer estado como las de mayor nivel social solían trabajar en distintos oficios, como recoge el Catastro de Ensenada, si bien, en caso de que así sea, obviamente simultaneando con su lugar como ama de casa al cuidado del hogar y de los hijos; en caso de quedar sin sustento económico masculino, acababan cayendo en desgracia casi con total seguridad.

También se hace evidente la diferente capacidad económica entre las personas cabeza de familia que iban acompañadas mediante el apelativo “don o doña”, de las personas que no lo

llevaban, a pesar de que no siempre pertenecen a la hidalguía local. Esta situación se refleja en la existencia de sirvientes o de un mayor número de personas viviendo en estos hogares.

Todo lo indicado, junto a otros muchos más aspectos que se pueden observar en la elaboración completa, es lo que se obtiene del examen detenido de los libros de “lo personal”; deducciones que, sin duda, se enriquecerán con el análisis de los Libros de Hacienda de Seglares y Eclesiásticos, o libros de “lo real”, objetivo que se realizará en el momento que este trabajo adquiera forma de tesis doctoral en un futuro que, esperamos, no quede muy lejos.

Bibliografía

- [1] Aranda Doncel, J. (1988). “El clero secular en Montilla a mediados del siglo XVIII”, *Noticias históricas de Montilla. II Ciclo de Conferencias sobre Historia de Montilla*, Montilla: Ayuntamiento de Montilla, pp. 191-217.
- [2] Bugella Altamirano, M. (2006). *Montilla según las Respuestas Generales del catastro de Ensenada*, Montilla, Asociación de Estudios de Ciencias Sociales y Humanidades.
- [3] Camarero Bullón, C., et al. (2002). *El Catastro de Ensenada: magna averiguación fiscal para alivio de sus vasallos y mejor conocimiento de los reinos: 1749-1756*, Madrid: Ministerio de Hacienda, Centro de Publicaciones y Documentación.
- [4] Cosano Moyano, J. (1982). “La economía montillana a mediados del siglo XVIII”, *Montilla, aportaciones para su historia. I Ciclo de Conferencias sobre Historia de Montilla*, Montilla: Ayuntamiento de Montilla, pp. 89-119.
- [5] Gómez Navarro, M^a S. (2013). “Familia, profesión y estado social. La villa de Palma del Río (Córdoba), a mediados del Setecientos”, *Anuario Jurídico y Económico Escurialense*, 46, pp. 555-584.
- [6] Morte Molina, J. (1888). *Montilla, apuntes históricos de esta ciudad*. Montilla: imprenta de M. de Sola Torices.

Capítulo 16. IBModel: hacia un modelo de bilingüismo integrado

Blanca Córdoba Conde

Universidad de Córdoba. Facultad de Filosofía y Letras.

Departamento de Filologías Inglesa y Alemana.

Dirección: Av. Abderramán I, 1, portal 2, bajo B. E-mail: 152cocob@uco.es

Resumen

La importancia del lenguaje académico disciplinar para la adquisición de contenido en las asignaturas de los contextos de aprendizaje integrado de contenidos y lengua extranjera ha quedado ampliamente demostrada. Sin embargo, en la actualidad, son escasos los estudios que se han centrado en observar el nivel competencial del alumnado de educación bilingüe con respecto al inglés académico, ya que tradicionalmente han estado dirigidos a la evaluación del dominio lingüístico general. Por tanto, con este proyecto, se pretende hacer frente a las carencias e inadecuaciones de los modelos de acreditación lingüística actual mediante el análisis de las estrategias lingüísticas que utilizan los/as estudiantes para el aprendizaje. Para ello, se han diseñado dos pruebas específicas atendiendo a cuatro funciones cognitivo-discursivas en relación con dos materias de educación primaria, que permitirán certificar la competencia lingüística académica del alumnado e identificar necesidades formativas. Los resultados indican que, en general, el alumnado muestra ciertas deficiencias en su dominio del lenguaje académico, lo que se traduce en la necesidad de una instrucción más explícita en este sentido, sobre todo en cuanto a los recursos sintáctico-discursivos necesarios para entender y realizar de forma correcta la argumentación y la narración.

Fundamento y presentación de resultados

Las demandas lingüísticas por parte de nuestra sociedad, cada vez más multilingüe y multicultural, han tenido un efecto directo sobre el currículo de las enseñanzas obligatorias en Europa, dando lugar a una variedad de programas educativos que utilizan una lengua extranjera para enseñar contenidos académicos con el fin de aumentar el uso significativo de dicha lengua y la exposición a esta. A mediados de la década de los noventa, el término Aprendizaje Integrado de Contenidos y Lengua Extranjera (AICLE) se acuñó como un concepto general que abarca muchas de dichas estrategias bilingües, ya que se considera que toma un enfoque dual en el que el objetivo no es ni la lengua ni el contenido, sino la fusión de ambos (Coyle *et al.*, 2010). Sin embargo, resulta paradójico que la característica más saliente de AICLE, dicha fusión o integración, se encuentra ausente en la mayoría de estos contextos (Cenoz *et al.*, 2014).

Una de las principales razones, en este sentido, es que existe gran confusión en cuanto al papel de la lengua en la adquisición del conocimiento. Las investigaciones en este ámbito señalan que no se puede separar lengua y contenido en el proceso de aprendizaje ya que, para llevar a cabo las operaciones cognitivas necesarias para la construcción y verbalización del conocimiento, se necesitan tanto recursos lingüísticos como una organización del discurso apropiada según su función (Pérez Cañado, 2020). Así, la unión de cognición, lengua y

contenido se manifiesta en las funciones académicas de lenguaje, también conocidas como funciones cognitivo-discursivas, que recientemente han sido condensadas en siete: clasificar, definir, describir, evaluar, explicar, explorar y reportar. En otras palabras, estas funciones son acciones verbales que representan los procesos cognitivos a través de patrones identificables de naturaleza discursiva, gramatical y léxica (Dalton-Puffer, 2013).

Sin embargo, sigue habiendo gran desconcierto en cuanto a la aplicación de dicha teoría a la práctica, dando lugar a numerosas repercusiones en las enseñanzas de AICLE. En primer lugar, estas han tendido históricamente a centrarse en favorecer bien el aprendizaje del contenido, bien el desarrollo de la lengua, separando de esta manera el uno del otro. En Europa, se ha priorizado, sobre todo, el contenido: en ocasiones se piensa que «integración» se refiere solo al hecho de enseñar contenido curricular en una lengua extranjera (Dalton-Puffer, 2007). Por tanto, las evaluaciones destinadas a observar el progreso del alumnado han sido igualmente divididas, haciendo de la lengua un componente invisible del conocimiento específico de una materia, considerándola simplemente un valor añadido (Llinares *et al.*, 2013). En segundo lugar, y como resultado de esta distinción, las responsabilidades de enseñar de forma explícita la lengua necesaria para interpretar y expresar el contenido de las distintas asignaturas no han sido asumidas ni por los profesores de contenido, ya que desconocen la lengua característica de su disciplina, ni por los profesores de inglés, por el mismo motivo. Por tanto, los objetivos lingüísticos específicos de las materias rara vez se indican claramente en cualquier nivel o contexto, y en aquellos casos en los que se proporciona apoyo lingüístico, este está reservado en gran medida a cuestiones de léxico (Coyle, 2015).

Por último, otra secuela importante de dicha separación es que la capacidad del alumnado para entender y utilizar la lengua en AICLE ha sido equiparada con su competencia lingüística general según estándares del MCERL. A pesar de la importancia de la dimensión general de la lengua, sería peligroso asumir el potencial académico de los/as aprendices atendiendo solo a esta, pues AICLE incluye una dimensión cognitiva que no contemplan los descriptores del MCERL. Dicha dimensión cognitiva está determinada, por un lado, por la edad de los/as estudiantes, puesto que son muy jóvenes, y, por otro lado, por la finalidad con la que se utiliza la lengua en estos contextos, ya que no es solo para comunicarse, sino también para aprender nuevos conocimientos y habilidades (Shaw, 2020). Por ejemplo, la comprensión escrita en el MCERL está relacionada con, efectivamente, la comprensión general del texto, y no con la interpretación, la reformulación o el análisis del mismo, lo cual es fundamental en los contextos educativos para el aprendizaje. Por tanto, las acreditaciones del dominio de inglés general no parecen capturar las competencias académicas necesarias para tener éxito en AICLE (Morton, 2020).

Este representa el contexto en el que se desarrolla el presente estudio. Como se ha sugerido anteriormente, aunque existen numerosas investigaciones que subrayan la importancia del lenguaje académico en AICLE, muy pocas han analizado la competencia de los alumnos en este sentido y cómo esta influye en la adquisición y verbalización de contenido disciplinar. La principal razón ha sido que los participantes de AICLE no han contado con las herramientas necesarias para entender, evaluar y apoyar la dimensión lingüística del aprendizaje. Así, este proyecto aborda las carencias e inadecuaciones de los modelos de acreditación lingüística, ya atiende a las funciones cognitivo-discursivas que utilizan los/as estudiantes para la

adquisición de contenido. El principal objetivo de este estudio de caso es analizar y acreditar la competencia lingüística académica de los/as participantes. Esto permitirá identificar sus fortalezas, debilidades y dificultades lingüísticas con relación al contenido, por lo que se podrán sugerir a los/as docentes actuaciones didácticas que atiendan a las necesidades formativas del alumnado. Los resultados pueden tener implicaciones en un contexto de enseñanza bilingüe más general, ya que proporcionarán un diagnóstico de cómo se están abordando las lenguas académicas disciplinares de las asignaturas, teniendo así posibles implicaciones para la mejora general del proceso de enseñanza-aprendizaje (diseño del currículo, instrumentos de evaluación, etc.).

En cuanto a los objetivos, el principal, como se ha mencionado anteriormente, es evaluar la competencia lingüística académica del alumnado de primaria, es decir, su habilidad para comprender y utilizar los recursos lingüísticos asociados a las funciones cognitivo-discursivas de distintas asignaturas. Los objetivos específicos son los siguientes:

- Estudiar el nivel de desempeño lingüístico del alumnado en cuanto a la descripción y la explicación en Ciencias Naturales, y a la narración y la argumentación en Ciencias Sociales.
- Analizar las estrategias lingüísticas asociadas a dichas funciones cognitivo-discursivas que los/as estudiantes utilizan para efectuar el aprendizaje.
- Determinar si existen diferencias significativas en cuanto al dominio de algunas de estas funciones.
- Determinar si existen diferencias significativas en cuanto al dominio de algunas de las habilidades comunicativas observadas.

Respecto a la metodología, en primer lugar, se elaboraron dos pruebas digitales de carácter específico destinadas a observar los procesos de comprensión y producción oral y escrita y la atención a la forma lingüística. En la primera, se trata la descripción y la explicación en Ciencias Naturales, y en la segunda, la narración y la argumentación en Ciencias Sociales. Acerca del contexto, los participantes son ochenta y cuatro estudiantes de dos colegios concertados de educación primaria en Córdoba. Por último, sobre los instrumentos para el análisis de datos, primero se decidieron las dimensiones para codificar los resultados obtenidos: no satisfactorio (1-2), débil (3-4), satisfactorio (5-6), bueno (7-8), muy bueno (9-10), así como las puntuaciones de cada una de las actividades (un punto por cada destreza y actividad, por lo que los resultados se evaluaron sobre cuatro) y las estrategias sintáctico-discursivas que se iban a observar en las actividades de producción oral y escrita.

Por falta de espacio, no se pueden presentar todos los resultados atendiendo a los objetivos específicos. Se presentan, por tanto, los resultados generales de las pruebas, sobre cuatro, en la siguiente tabla:

Tabla 1. Resultados por pruebas y funciones cognitivo-discursivas

	Ciencias Sociales (narración y argumentación)	Ciencias Naturales (descripción y explicación)
N	84	84
Media	1,72	2,35
Mediana	1,56	2,30
Moda	1,05	2,8
Desviación estándar	0,786	1,01

Si comentamos los resultados brevemente, se puede observar que resultan mucho más favorables en cuanto a las estrategias sintáctico-discursivas asociadas a la descripción y explicación que aquellas asociadas a la argumentación y narración. Respecto a la prueba de Ciencias Sociales, si se atiende a la taxonomía de Bloom acerca de los procesos cognitivos, la capacidad de argumentar requiere mayor demanda cognitiva, es decir, una forma más abstracta y técnica de pensar y, por tanto, de utilizar el lenguaje. Por ende, se necesitará más refuerzo de esta función en los contextos de aprendizaje, ya que, como indican los resultados, el alumnado parece no estar familiarizado con los procesos de pensamiento y los recursos lingüísticos necesarios para elaborar una argumentación con éxito. Sobre la prueba de Ciencias Naturales, aunque los resultados son más positivos, también se pueden identificar necesidades formativas si se analizan las estrategias utilizadas por el alumnado: por ejemplo, a la hora de explicar, encuentran mayor dificultad para expresar consecuencia (*so*) que para expresar finalidad (*to* + infinitivo) o causa (*because*).

La conclusión principal es que la competencia lingüística académica del alumnado muestra ciertas deficiencias, por lo que se hace necesaria una instrucción explícita en este sentido. En cuanto a recomendaciones pedagógicas más específicas, los/as estudiantes necesitan prestar mayor atención, sobre todo, a los recursos lingüísticos para narrar y argumentar, aunque también a ciertas estrategias para describir y explicar. Por último, cabe mencionar que este trabajo forma parte del proyecto internacional Erasmus+ *IBModel: Towards an Integrated Bilingual Model*, que cuenta con varias líneas de investigación. Para más información, puede visitar la página web del mismo: <https://ibmodel.org/>.

Bibliografía

- [1] Cenoz, J., Genesee, F., & Gorter, D. (2014). Critical analysis of CLIL: Taking stock and looking forward. *Applied Linguistics*, 35(3), 243–262. <https://doi.org/10.1093/applin/amt011>
- [2] Coyle, D. (2015). Strengthening integrated learning: Towards a new era for pluriliteracies and intercultural learning. *Latin American Journal of Content and Language Integrated Learning*, 8(2), 84–103. <https://doi.org/10.5294/laclil.2015.8.2.2/84-103>
- [3] Coyle, D., Hood, P., & Marsh, D. (2010). *CLIL: Content and Language Integrated Learning*. Cambridge University Press.

- [4] Dalton-Puffer, C. (2007). *Discourse in Content and Language Integrated Learning (CLIL) Classrooms* (Vol. 20). John Benjamins Publishing Company.
- [5] Dalton-Puffer, C. (2013). A Construct of Cognitive Discourse Functions for Conceptualising Content-Language Integration in CLIL and Multilingual Education. *European Journal of Applied Linguistics*, 1(2), 216–253. <https://doi.org/10.1515/eujal-2013-0011>
- [6] Llinares, A., Morton, T., & Whittaker, R. (2012). *The Roles of Languages in CLIL*. Cambridge University Press.
- [7] Morton, T. (2020). Cognitive Discourse Functions: A Bridge between Content, Literacy and Language for Teaching and Assessment in CLIL. *CLIL. Journal of Innovation and Research in Plurilingual and Pluricultural Education*, 3(1), 7–17. <https://doi.org/10.5565/rev/clil.33>
- [8] Pérez Cañado, M. L. (2020). What's hot and what's not on the current CLIL research agenda: Weeding out the non-issues from the real issues. A response to Bruton (2019). *Applied Linguistics Review*. <https://doi.org/10.1515/applirev-2020-0033>
- [9] Shaw, S. D. (2020). Achieving in Content Through Language: Towards a CEFR Descriptor Scale for Academic Language Proficiency. In D. Leontjev & M. A. deBoer (Eds.), *Assessment and Learning in Content and Language Integrated Learning (CLIL) Classrooms: Approaches and Conceptualisations* (pp. 29–56). Springer.

Capítulo 17. Metonimia conceptual en morfología inglesa: identificación y análisis

Isabel Jiménez Sáez

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Filosofía y Letras.

Departamento de Filologías Inglesa y Alemana.

Dirección: Calle Miguel de Molina, nº 49, 14014, Córdoba. E-mail: l52jisai@uco.es

Resumen

La metonimia conceptual constituye uno de los principales objetos de estudio en lingüística cognitiva, un enfoque contemporáneo que investiga el lenguaje y su relación con la cognición, por su alta intervención en construcciones lingüísticas de diferente complejidad (léxico, morfología, sintaxis, discurso). El presente estudio tiene como objetivo principal la identificación y el análisis de la metonimia conceptual en un corpus compuesto por textos orales y escritos en inglés y español, con el fin de esclarecer la motivación metonímica de las distintas construcciones lingüísticas que utilizan los hablantes de ambas lenguas y desarrollar una base de datos que sirva como herramienta de referencia para la comunidad académica. En concreto, nuestro estudio se centra en el área de morfología inglesa, donde además de identificar y caracterizar detalladamente las metonimias conceptuales subyacentes en los procesos de formación de palabras tales como la derivación, conversión, composición, recorte o *clipping*, acronimia y elipsis; hemos profundizado en el estudio de un tipo de compuestos exocéntricos a menudo considerados marginales, irrelevantes o inexistentes en la literatura de morfología inglesa, los llamados *bahuvrihi*.

Fundamento y presentación de resultados

La metonimia conceptual es una operación cognitiva que interviene en la motivación sintáctico-semántica de distintas construcciones lingüísticas [1, 2]. El presente estudio, llevado a cabo en el seno del proyecto “Investigación sobre metonimia conceptual en áreas seleccionadas de la Gramática, el discurso y la lengua de signos con ayuda de la base de datos de metonimia de la Universidad de Córdoba” (Referencia: PGC2018-101214-B-I00), liderado por el investigador principal Antonio Barcelona y la Co-Investigadora Principal Carmen Portero, tiene como objeto principal la identificación y el análisis de las metonimias conceptuales presentes en un corpus desde el área de la morfología con dos propósitos fundamentales: por un lado, investigar el funcionamiento de la metonimia conceptual en los procesos gramaticales de formación de palabras en Inglés tales como la derivación, conversión, composición, recorte o “clipping”, acronimia y elipsis a través de textos auténticos orales y escritos de distinta naturaleza (descriptivos, narrativos, conversacionales, expositivos o argumentativos) y registro (formal, informal o neutro); y por otro lado, contribuir al desarrollo de la base de datos de metonimia conceptual creada por el citado proyecto para servir de herramienta de referencia para investigadores de la metonimia y/u otros usuarios interesados. Además, en el transcurso de esta investigación, hemos profundizado en el estudio de los compuestos *bahuvrihi*, un tipo de compuestos exocéntricos (i.e. aquellos cuyo referente no es un hipónimo de la cabeza del compuesto), también llamados “compuestos posesivos”, que se

utilizan para hacer referencia a una entidad mediante una propiedad característica que dicha entidad posee, como por ejemplo lo es el propio término sánscrito *bahuvrihi*, que significa literalmente "mucho arroz" y se utiliza para denotar a un hombre rico. Aunque se ha demostrado que la metonimia CHARACTERISTIC PROPERTY (PART) FOR CATEGORY (WHOLE) interviene en el significado de estos compuestos [3], su caracterización semántica requiere mucho más que señalar la implicación general de dicha metonimia, pues es necesario especificar si intervienen solo una o más metonimias u otros procesos cognitivos como la metáfora. Existen dos artículos [3, 4] derivados del citado proyecto de investigación, dedicados a la clasificación semántica e identificación de patrones de compuestos *bahuvrihi* ingleses terminados en *head*. Sin embargo, la gran productividad de este tipo de formaciones en inglés requiere más estudios basados en corpus para dar cuenta de nuevos patrones emergentes en la lengua y respaldar los patrones ya identificados, lo cual constituye el segundo objeto de nuestra investigación.

En cuanto a la metodología, la investigación se desarrolló en distintas fases: 1) identificación de ejemplos de derivación, conversión, composición, recorte o "clipping", acronimia y elipsis que pudieran estar motivados por metonimia en los textos del corpus asignados; 2) análisis y caracterización detallada de las metonimias según la plantilla de análisis realizada por el propio proyecto que se describe en los tres primeros capítulos de [5]; 3) puesta en común, discusión y revisión con los investigadores del área de morfología en las reuniones celebradas al final de cada mes; 4) observación de los resultados y determinación de los patrones metonímicos; 5) incorporación de las metonimias a la base de datos. En lo referente a la investigación de los compuestos *bahuvrihi* distinguimos los siguientes pasos: 1) compilación de ejemplos de compuestos *bahuvrihi* terminados en *head* en diversas fuentes: English Web Corpus 2020 (enTenTen20), *findtheword.info* y *The Racial Slur Database*; 2) clasificación preliminar de los ejemplos encontrados según los patrones semánticos identificados por Portero [4] e identificación de nuevos patrones (si los hubiera); 3) selección de una muestra representativa de compuestos correspondientes a cada patrón identificado en el paso anterior para realizar un análisis semántico y comprobar los patrones identificados por Barcelona [3] basados en la motivación conceptual de la propiedad característica que se proyecta sobre la categoría; 4) conclusiones sobre la correspondencia de los ejemplos con los patrones de Portero [4] y Barcelona [3] y observaciones finales sobre posibles nuevos patrones.

A continuación, exponemos los resultados obtenidos: comenzando por los procesos gramaticales de formación de palabras, nuestro estudio destaca los siguientes patrones:

- **Derivación:** SALIENT ACTION FOR PERSON (e.g. *singer, student, writer*); CHARACTERISTIC PROPERTY FOR CATEGORY (e.g. *teenager*) > BIRTHPLACE FOR CATEGORY (e.g. *American*), BELIEF FOR CATEGORY (e.g. *racist, optimist, jews*).
- **Conversión:** 1) adj. > s.: PROPERTY FOR CATEGORY (e.g. *renewables, white, negro*) > PROPERTY FOR ENTITY FOR IDEOLOGY (e.g. *green*); 2) s. propio > s. común: LOCATION (CITY/COUNTRY) FOR HISTORICAL EVENT (e.g. *Hiroshima, Chernobyl*), CAPITAL FOR GOVERNMENT (e.g. *Washington*); 3) s. > v.: BODY PART FOR ACTION (e.g. *stomach* in "I am going to stomach your claim completely"); 4) v. > n. PERSON FOR ACTION (e.g. *guard*).

- **Composición:** CHARACTERISTIC PROPERTY FOR CATEGORY > CHARACTERISTIC ACTION FOR CATEGORY (e.g. *lawmen*); BODY PART FOR ACTION (e.g. *tongue-suicide*).
- **Clipping/ Acrónimos/ Ellipsis:** SALIENT PART OF FORM FOR FULL FORM (e.g. *Polio, lab, flu, pharma, hon., ICU, TV, radio, Mediterranean*)
- **Otros** (categorizados por su función a nivel discursivo):
 - **Inferencial:** UPPER PART OF A SCALE FOR THE WHOLE SCALE (e.g. *curve*), BODY PART FOR PERSON (e.g. *flesh, head*); SUB-EVENT FOR COMPLEX EVENT (e.g. *Dear diary moment*), STATE FOR LOCATION (*self-isolation*), PERSON/ENTITY FOR SALIENT PROPERTY (e.g. *Mr. Potato Head; shoe* in “You are a shoe!”).
 - **Referencial:** LOCATION FOR LOCATED (e.g. *ICU beds*), LOCATION FOR LOCATED (anaphor) (e.g. *Buckingham palace* in “Buckingham Palace decided to issue a statement They had to think hard about it”.), PLACE FOR INSTITUTION (e.g. *the White House*); INSTITUTION FOR MEMBERS OF THE INSTITUTION (*government institution* and *Roosevelt administration* in “it was ended by the discovery of the Salk vaccine, by a government institution set off by the Roosevelt administration”); DISCOVERER FOR PRODUCT (e.g. *salk vaccine*) OCCUPATION FOR PERSON (e.g. *Minister, Secretary of State*), GENERIC FOR SPECIFIC (e.g. *machine* in “(She stops talking and dials the phone.) Hi, machine cut me off again”).

En lo que respecta a la investigación de los *bahuvrihis*, se han encontrado ejemplos en los corpus consultados que apoyan los patrones propuestos en Barcelona [3] y Portero [4] y además se ha identificado un nuevo patrón que recoge aquellos compuestos (generalmente insultos sobre la etnia, religión o país de origen) del tipo *puckhead* “A name for the Canadians, due to their love of hockey”. Dicho patrón se ha representado con el siguiente esquema: <[X_{Ni} head_N]_{Nj} ↔ [person coming from SEM_i]_j> Condition: N_i = a salient cultural element.

Bibliografía

- [1] Panther, K., Thornburg, L. and Barcelona A. (eds.) (2009) *Metonymy and Metaphor in Grammar*, Amsterdam: John Benjamins Publishing Company.
- [2] Benczes, R. (2006) *Creative Compounding in English. The Semantics of Metaphorical and Metonymical Noun-Noun Combinations*. Human Cognitive Processing 19, John Benjamins
- [3] Barcelona, A. (2008) ‘The interaction of metonymy and metaphor in the meaning and form of ‘bahuvrihi’ compounds’. *Annual Review of Cognitive Linguistics*, 6(1) pp. 208-281
- [4] Portero, C. (2014) ‘A constructional approach to transitional formatives: The use of -head in so-called ‘exocentric’ formations’. *Review of Cognitive Linguistics*, 12(1) pp. 160-192.
- [5] Blanco-Carrión, O., Barcelona, A. and Pannain, R. (eds.) (2018) *Conceptual Metonymy*, Amsterdam: John Benjamins Publishing Company.

Capítulo 18. Estudio del impacto de la técnica en la forma fílmica de películas de mitología fantástica.

Caso de estudio: *La comunidad del anillo* (Peter Jackson, 2001)

Angélica Martínez López y Dr. José Manuel Palomares Muñoz

*Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela Politécnica Superior de Córdoba
Departamento de Ingeniería Electrónica y de Computadores.*

Dirección: Desp. LV6B180. Edif. Leonardo Da Vinci. E-mail: l82maloa@uco.es

Resumen

El presente trabajo pretende mostrar la necesidad que nace por parte del director de recurrir a las formas y aspectos técnicos en el cine que posee un mayor distanciamiento entre la realidad del espectador y el mundo ficcional. Se desea evaluar de manera rigurosa el impacto que los medios técnicos tienen en las formas narrativas de las películas. Es por ello por lo que se ha seleccionado como objeto de estudio *La comunidad del anillo* (2001, Peter Jackson) ya que presenta un mundo no identificable por el espectador siendo así necesaria una “estética convincente” generada por las formas y medios técnicos que vendrían a configurar una serie de códigos que funcionasen en dicho mundo, los cuales podrían ser extrapolados para filmes posteriores, creando así un nuevo lenguaje. Será gracias a la extracción de una serie de personajes y su posterior análisis el medio por el que podamos generar dicha hipótesis, que servirá de base argumentativa para continuar con el estudio de casos.

Fundamento y justificación

Tomamos como punto de partida autores, que tratan de justificar -al igual que se pretende en este estudio-, la cuestión que gira en torno a la ficcionalidad que viene dada desde los planteamientos aristotélicos en base a la literatura. Pese a su naturaleza literaria destacaríamos la figura del profesor Pozuelo el cual subrayó entorno al acto narrativo -producido entre autor, obra y receptor-:

La cuestión de la ficción no es metafísica, no es ontológica, es pragmática, resulta del acuerdo con el lector, pero precisa ese acuerdo de la condición de poeticidad: lo creíble lo es si es estéticamente convincente. Lo maravilloso no es verdadero ni falso, lo fantástico se dirime en la credibilidad de la obra poética. [Pozuelo, 1993: 50]

El autor hace referencia a la “estética” de la obra, es decir, a cómo ha sido configurada, por lo que alude a las formas. Así pues, resulta de gran interés para el estudio del discurso el conocimiento de los medios técnicos y su empleo para así poder enriquecer al fondo y dotarlo de significación y credibilidad.

Por otro lado, el distanciamiento entre la realidad del espectador y el *mundo ficcional* podría ser tomado como punto de partida para elaborar el desarrollo de este pensamiento, ya que la necesidad que surge por parte del director de recurrir a las formas y aspectos técnicos es mayor

que en el caso de la realización de filmes que resultan “reconocibles” para el espectador, es decir, aquellos que generan espacios miméticos. Debido a ello se ha seleccionado el filme *La Comunidad del anillo* perteneciente al imaginario *tolkeniano* de *El señor de los anillos*. En dicha obra entraríamos en un mundo imaginario no identificable por el espectador por lo que, para que este mundo funcione, se necesita de una “estética convincente” la cual es generada a través de las formas y medios técnicos, creando así una serie de códigos que puedan funcionar dentro de dicho mundo y que puedan ser extrapolados para filmes posteriores, es decir, la creación de un nuevo lenguaje cinematográfico tal y como realizó el autor Béla Balázs. Dicho autor presentó un estudio sobre la técnica cinematográfica en intentó hacer comprender al cine como un lenguaje-forma. Cañizares Fernández en su tesis doctoral *El lenguaje del cine: semiología del discurso fílmico* nos presenta que los orígenes de la formación del lenguaje cinematográficos aparecen en la primera mitad del siglo XX en la figura de David Wark Griffith ya que:

Creó el nuevo lenguaje-forma del cine al dividir las escenas en fragmentos, variando la distancia y el ángulo de la cámara de un fragmento a otro y especialmente compaginando su filme no como un enlace de escenas sino como montaje de fragmentos. Después, la necesidad de enriquecer los temas exigió el empleo de nuevas técnicas como el primer plano y el montaje. Lenguaje-forma del cine iba creándose de la dialéctica entre el tema y la técnica. [Cañizares, 2002: 92-93]

Sería por lo anterior por lo que veríamos la constante necesidad desde los inicios del Séptimo Arte de generar unos principios formales que configuren el lenguaje del filme. Remitiendo de nuevo a Balázs el cual definió al cine norteamericano como aquel que empleaba la verdadera forma del cine. Suponiendo la identificación con el espectador cabe resaltar el hecho de que:

El espectador debe encontrar en el cine no ya un organismo artístico, sino al propio mundo en el proceso de ser moldeado por el hombre. [...] Para él, el cine americano crea en el espectador la ilusión de estar en el medio de la acción reproducida dentro del espacio ficticio del filme. [2002: 95]

Tal y como realiza el mencionado autor, el presente estudio busca a través de un filme concreto crear unos códigos que pudieran resultar de utilidad para el análisis/configuración de filmes posteriores. Se establece en este momento una referencia/punto de anclaje del que partir.

Lo anterior expuesto nos llevaría a plantear los siguientes objetivos:

- 1) A nivel general se plantea el inicio de una investigación en este campo.
- 2) A nivel particular:
 - a) Se persigue la posibilidad de extraer una serie de características técnicas para la configuración de personajes. Para ello, se deberá de llevar a cabo la selección de personajes de carácter mitológico y su posterior análisis a través de parámetros técnicos.
 - b) Exposición de la importancia de la técnica cinematográfica y la forma fílmica en la elaboración de una obra audiovisual, y cómo esta es la encargada de configurar el significado de las películas.

- c) Realización de una breve evolución de los pensamientos y consideraciones de diversos autores que tratan de manera especial a la forma cinematográfica, como son las figuras de Marcel Martín, Bordwell y Thompson, Joaquim Romaguera y Raimó, entre otros autores.

Resultados

Desde los inicios el cine ha sido importante atender a las formas fílmicas para justificar el fondo y crear historias que resulten verosímiles y convincentes para el espectador. Cada plano, movimiento de cámara, tipo de iluminación, etc., contribuyen en la generación de nuevos mundos, empleando códigos concretos que sirvan para identificar un tipo de personalidad o intencionalidad de los personajes -entre otros usos-.

Extraer de la historia creada por J.R.R. Tolkien a personajes que pertenecen a cada una de las edades que componen su universo nos ha servido para mostrar que no solo se pierde simbólicamente la divinidad dentro de la historia a través de los diálogos y la narración, sino que la forma en la que se disponen los planos, el tipo de iluminación que los baña y/o los movimientos de cámara que envuelven a los personajes refuerzan dicha condición. En el estudio técnico, realizado a través de la selección de escenas concretas, los personajes de Gandalf y Saruman, pertenecientes a la 1ª Edad se han mostrado constantemente desde un plano superior al resto de individuos (con angulación contrapicada), bañados por luces más intensas que revelan la naturaleza de su psique. Gandalf es un mago afable y considerado, por lo que los planos que suelen emplearse para su representación suelen ser medio-corto o primeros planos de su rostro (*figura 1*).

Figura 1: Gandalf: iluminación cálida/primer plano



Se utilizan dichos recursos a modo de “presentación” de personajes, gracias a los que podemos identificar la presencia de estos. Por su parte, Saruman es un mago que se corrompe y pierde la cordura, mostrándose a través de planos aberrantes que acentúan dicha condición y luces con subtonos verdosos vinculados con su degradación como individuo. Por su lado, los Nazgûl que forman parte de la 2ª Edad son mostrados a través de movimientos de cámara acelerados (*figura 2*), recordando constantemente al espectador que van persiguiendo al personaje de Frodo.

Figura 2: Nazgûl: movimientos acelerados/plano aberrante



De este modo el autor genera tensión ante la presencia de estos personajes que se encuentran entre el mundo de los vivos y el de las sombras, por lo que también se justifica su empleo del plano aberrante en varias de sus apariciones, ya que son seres inestables y, además, pertenecen al bando de Sauron. Por último, nos encontramos con el personaje de Aragorn, el cual en el primer filme es «Trancos», un montaraz desconocido hasta que se produce el Concilio de Elrond, en el que se descubre su identidad como heredero al trono de Gondor y sería la primera vez que lo bañase una luz fría, como símbolo de revelación (*figura 3*).

Figura 3: Aragorn, iluminación fría (desvelamiento)



Gracias a ello la luz que comienza a bañar al personaje presenta mayor calidez, destacándolo sobre el resto de los personajes como podrían ser los hobbits que lo acompañan. Del mismo modo, los planos que se emplean para representarlo son medio-cortos o los primeros planos, al igual que con la figura de Gandalf, pero diferenciándose de este por el hecho de que no se usa el contrapicado para ser presentado, haciendo vigente el hecho de que no está divinizado y pertenece a la última edad.

Finalmente, contrastando la información obtenida a través de los personajes elegidos podríamos concluir en el hecho de que en este tipo de cine los planos aberrantes y movimientos rápidos de cámara están vinculados a personajes inestables e incluso aquellos de los cuales no se conoce su identidad, generando inestabilidad en el plano. Por otro lado, el uso de primeros planos nos acerca a los personajes, ya sean buenos o malos, ya que por un lado muestran las expresiones de los personajes reflejando así parte de su psique y, por otra parte, nos presenta características de estos. Los planos contrapicados elevan a los personajes a su condición como seres divinizados o que poseen un alto cargo dentro de la historia narrada. Los colores también juegan un papel importante para crear a los personajes, en nuestro estudio podemos destacar el color verde como intensificador de la situación en la que se encuentra el personaje de Saruman (*figura 4*), puesto que el propio espectador dentro del contexto de la historia le otorga

su significado, al igual que los tonos violetas que bañan a dicho personaje, relacionándolo con lo “intangible”. Y, por último, la iluminación no solo se emplea para que podamos ver a los personajes, sino que nos indica su situación en la jerarquía de la historia, además de mostrarnos los cambios de humor que estos sufren a lo largo del relato.

Figura 4: Saruman tonalidad verde/luz fría/plano aberrante



Bibliografía

- [1] Cañizares Fernández, E. El lenguaje del cine: semiología del discurso fílmico [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid], 2002.
- [2] Pozuelo Yvancos, J. M. *Poética de la ficción*. Madrid, Síntesis, 1993.
- [3] J. Romaguera i Ramió, *El lenguaje cinematográfico. Gramática, géneros, estilos y materiales*. De la Torre, Madrid, 1992.
- [4] M. Martín, *El lenguaje del cine*. Ed. Gedisa. 5ª Reimpresión, España, 2002.
- [5] D. Bordwell y K. Thompson, *El arte cinematográfico: una introducción*. Ed. Grupo Planeta (GBS), Madrid, 1995.
- [6] S. Martínez López Delacruz, *El cine y su condición de artisticidad: un acercamiento a la teoría fílmica de Béla Balázs*. Panambí n.8 Valparaíso. Universidad de la República, Uruguay, 2019, p. 65-73.
- [7] S. Zunzunegui, *Pensar la imagen*. Ed. Cátedra/Universidad del País Vasco. 7ª Edición, España, 2010.
- [8] R. Gubern. *La mirada Opulenta*. Ed. G.Gili, México, 1992.

Capítulo 19. Élités sociales en el reino de Córdoba durante la Época Moderna: los Fernández Tejeiro de Cabra

Jorge Reverte Ruedas

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Filosofía y Letras. Departamento de Historia.

Dirección: c/ de la Asociación, 15. E-mail: l72reruj@uco.es

Resumen

Los tópicos que han rodeado este ámbito de estudio están siendo superados en los últimos años, por suerte, gracias al esfuerzo y dedicación de algunos historiadores. Hoy conocemos la realidad de una sociedad, en apariencia inmóvil, en la que incluso los sectores menos favorecidos, como es el caso de los judeoconversos, supieron labrarse un camino de ascenso hasta posiciones elevadas que en teoría les deberían estar prohibidas. El presente trabajo escoge el ejemplo paradigmático de una familia egabrense de dudoso origen, los Fernández Tejeiro, que conseguirá en poco más de un siglo pasar de conversos notorios a ocupar cargos importantes que los asentaban en la nobleza española.

Fundamento y presentación de resultados

El trabajo realizado a lo largo del tiempo que ha abarcado la presente beca se ha enfocado siempre en arrojar luz sobre un hecho que, aunque pudiera parecer improbable según los estándares que aún hoy día se siguen enseñando, resulta más que evidente. Hablamos del ascenso social en una época donde los estamentos se presuponían inamovibles, al menos de cara al gran público.

Las investigaciones llevadas a cabo muestran, sin embargo, que esto ocurría con mucha más frecuencia de lo imaginable [1,3,4,6,7], trayendo en este caso un ejemplo paradigmático de una familia que en menos de tres siglos pasa de ser forastera a una de las más influyentes, si no la que más, en la villa de Cabra, uno de los centros poblacionales más importantes de la actual provincia cordobesa y Andalucía durante buena parte de la Edad Moderna [5,7].

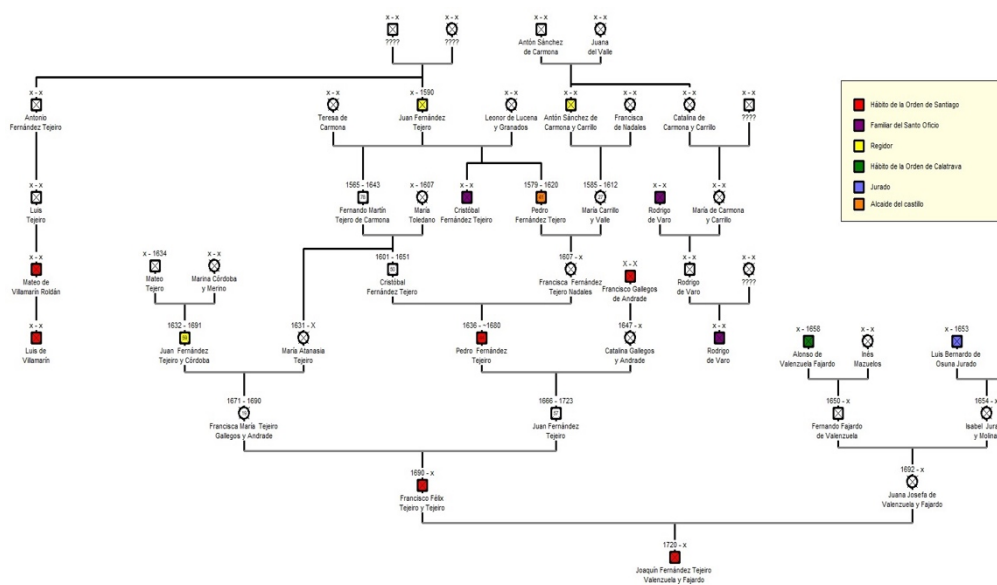
Además, durante todo este proceso se observan también indicios que hacen presuponer que dicha familia, no solo no es de origen noble, sino que además pudiera contar con un origen judeoconverso, no siendo esto impedimento para lograr sus objetivos. Este origen parece estar oculto mediante una serie de estrategias y actuaciones comúnmente seguidas por estas familias, entre las que se incluyen el cambio de apellidos, matrimonios endogámicos, invención de parientes o tergiversación documental, siendo todo ello un perfecto ejemplo de cómo el poder prevalecía sobre la sangre en estos tiempos [3,4].

Los Fernández Tejeiro, o más probablemente los Tejero, apellido original, son tan solo uno de los muchos ejemplos de familias que se ennoblecieron con el paso de las generaciones y dejaron atrás, olvidado en el tiempo, su poco deseable origen. Mediante acumulación de riquezas y poder, pudieron casar de manera hipergámica (con gentes por encima de ellos en

el escalafón social), formando alianzas con familias que ya contaban con miembros dentro de la iglesia o integraban las filas de la nobleza y mesocracia local (regidores, caballeros de órdenes, etc.) para finalmente ser ellos mismos los que obtuviesen dichos cargos y honores, dejando debida cuenta de ello por escrito, haciendo uso de la enorme y compleja maquinaria burocrática existente, gracias a la cual podemos hoy reconstruir, casi al pie de la letra, cómo vivieron, o al menos, cómo querían hacernos creer que vivieron [8,9,10].

Por desgracia, gran parte de la documentación anterior a mediados del siglo XVI correspondiente al municipio egabrense se encuentra hoy perdida, o al menos dispersa, siendo difícil acceder a ella para su estudio. Por eso resulta complicado recrear el origen familiar de los Fernández Tejeiro, al menos de manera verídica, pese a contar con indicios que nos hacen suponer parte de esta información, como un registro en el que aparece un tal Cristóbal Fernández Tejero como hermano mayor de la cofradía de la Virgen de la Sierra (siendo este, además, el primer hermano mayor conocido) en 1559 [2], siendo este Cristóbal protagonista como testigo de prácticamente todos los casamientos y bautizos de dicha familia en el último tercio del XVI, revelando que posiblemente estemos ante una figura que ya en tan tempranos años se erigía como una especie de cacique o persona de prestigio dentro de la comunidad [8]. Prueba de ello, es el hecho de que se hiciese con un gran cortijo, que alcanzase el cargo de regidor del Cabildo, o que tuviese un hermano desempeñando las funciones de alcalde mayor de la villa [2]. Presumiblemente estos Fernández Tejeiro habrían llegado a Cabra a finales del siglo XV, supuestamente procedentes de Galicia, de una localidad en donde los Fernández Tejeiro eran efectivamente nobles. Sin embargo, es a raíz de esta investigación que queda demostrado, pese a lo que digan documentos posteriores, claramente manipulados, que estos Tejero no corresponden a los Fernández Tejeiro nobles gallegos. Pese a ello, quedará pendiente para una futura investigación, de mayor calado, donde discernir estos acontecimientos, buscando arrojar mayor luz sobre el origen de la familia, lo que no hará sino reforzar los resultados extraídos del trabajo aquí expuesto.

Figura 1. Reconstrucción genealógica de la familia Fernández Tejeiro, elaboración propia.



Bibliografía

- [1] A. Domínguez Ortiz, *Los judeoconversos en la España moderna*, Mapfre, 1991.
- [2] A. Moreno, La Virgen de la Sierra, patrona principal de Cabra, *Boletín de la Real Academia de Córdoba, de Ciencias, Bellas Artes y Nobles Artes*, 155 (julio-diciembre 2008) 176-187.
- [3] E. Soria Mesa, *La realidad tras el espejo. Ascenso social y limpieza de sangre en la España de Felipe II*, Colección "SÍNTESIS", XVII, Universidad de Valladolid, 2016.
- [4] E. Soria Mesa, En los límites de la Herencia inmaterial. La usurpación de apellidos en la España Moderna como estrategia de ascenso social, en: Fortea Pérez, *et alii* (coords.), *Linajes y noblezas en la articulación de la Monarquía Hispánica*, Fundación Española de Historia Moderna – Universidad de Cantabria, Madrid, 2020, 261-297.
- [5] J. L. Casas Sánchez (coord.), *Guía histórica de Cabra*, Cabra, Ayuntamiento de Cabra, 1999.
- [6] J. M. García Ríos, Los judeoconversos en la Córdoba del siglo XV al XVII. Un estado de la cuestión, en: E. Soria Mesa (coord.), *La ciudad y sus legados históricos. Córdoba judía*, Córdoba, Real Academia de Ciencias, Bellas Artes y Nobles Artes de Córdoba, 2019, 83-107.
- [7] J. M. Valle Porras, La usurpación de armerías en la villa de Cabra (Córdoba) durante la Edad Moderna. *Addenda* al libro *El rumor de las piedras, Armas e Troféus*, 21 (2019) 209-270.
- [8] *Libro de bautismos de Cabra, 1545-1569*, AGOC, Cabra, Libro II.
- [9] *Pruebas para la concesión del Título de Caballero de la Orden de Santiago de Pedro Fernández Tejeiro, natural de Cabra, 1672*, AHN, Órdenes Militares, Santiago, exp. 3029.
- [10] *Pruebas para la concesión del Título de Caballero de la Orden de Santiago de Joaquín Fernández Tejeiro y Valenzuela y Fajardo, natural de Cabra, 1765*, AHN, Órdenes Militares, Santiago, exp. 3030.

Ingeniería y tecnología

Capítulo 20. Evaluación de la tecnología NIRS para la autenticación de la pureza genética de carne de cerdo etiquetada como "100% raza autóctona ibérico"

Salvador Gómez-Alfárez Santos

*Universidad de Córdoba. Escuela de Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes.
Departamento de Producción Animal.*

*Dirección: Producción Animal - Campus Universitario de Rabanales, 14071, Córdoba. E-mail:
g62gosas@uco.es*

Resumen

La carne de cerdo ibérico y sus productos derivados poseen unas características sensoriales y nutricionales excepcionales, lo cual está estrechamente relacionado con la raza y el régimen alimenticio de los animales. Debido al elevado coste y a su alta demanda, los productos derivados del cerdo ibérico están expuestos a fraudes en su etiquetado. La normativa no establece ningún método analítico de referencia para la identificación racial complementario al sistema de trazabilidad del libro genealógico y, aunque en algunos casos se utilizan análisis genéticos, su elevado coste, tiempo de realización y requerimientos técnicos, no permiten su aplicación directa a nivel de la línea productiva. Ello plantea la necesidad de buscar alternativas analíticas que posibiliten la autenticación de carnes del cerdo ibérico de forma rápida, precisa y no destructiva, y su incorporación en el control automatizado en industrias cárnicas, como los sensores NIRS (Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano). Para este propósito, se han analizado 650 solomillos de cerdo ibérico procedentes de animales puros y cruzados con el instrumento NIRS de última generación MicroNIR-1700. Los modelos de análisis discriminante en Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) permiten clasificar correctamente el 80% de las muestras de la categoría "ibéricos puros" y el 78% de las muestras de la categoría "cruzados".

Fundamento y presentación de resultados

La tecnología NIRS (Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano) se define como una técnica espectroscópica vibracional que abarca la zona del infrarrojo cercano, comprendida entre las longitudes de onda (λ) 780 nm y 2500 nm. El fundamento de esta técnica se basa en la absorción producida cuando la radiación proveniente del infrarrojo cercano vibra a la misma frecuencia específica que los enlaces moleculares del producto analizado [2, 3]. Esta tecnología está caracterizada por: ser un método rápido, digital no destructivo, respetuoso con el medio ambiente, de elevada velocidad de respuesta en los análisis y de alta versatilidad (i.e., gran variedad de productos y parámetros de interés). Además, los nuevos dispositivos NIRS portátiles permiten el análisis *in situ*, más allá del laboratorio.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la viabilidad de la tecnología NIRS para la clasificación a nivel de la línea de sacrificio de carne de cerdo ibérico, en función de su pureza

racial (100% ibéricos *vs* cruzados), garantizando así la autenticidad de su etiquetado como “100% Raza Autóctona Ibérica”.

Para alcanzar este objetivo, se analizaron un total de 650 solomillos de cerdo ibérico de distinta pureza racial, de los cuales 383 correspondían a animales 100% de raza Ibérica y 267 a animales cruzados (Ibéricos × Duroc). Para la toma de espectros, se utilizó un espectrofotómetro manual portátil, el MicroNIR-1700 (VIAVI, AZ, EE.UU.) y, para el tratamiento quimiométrico de los datos espectrales, se empleó el programa informático WinISI II versión 1.50 (Infrasoft Internacional, Port Matilda, PA, EE.UU.). Dicho tratamiento quimiométrico se basó en el desarrollo de modelos matemáticos y estadísticos para seleccionar procedimientos experimentales óptimos, proporcionar la máxima información química relevante mediante el análisis de datos químicos, y la obtención de información sobre sistemas químicos. En el caso del presente estudio se desarrollaron modelos de clasificación supervisados, el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA, *Partial Least Squares-Discriminant Analysis*) [1, 2].

De cara a garantizar la calidad de la librería espectral, se realizó en primer lugar el estudio de la repetibilidad espectral por medio del estadístico Raíz Cuadrática Media (RMS, *Root Mean Square*) para calcular las similitudes y diferencias existentes entre los valores de absorbancia de varios espectros tomados de una misma muestra [4, 5]. Las diferencias entre las submuestras pueden ser debidas a diferentes fuentes de error y deben minimizarse para garantizar la calidad del dato espectral obtenido para cada muestra, por lo que se deberán eliminar. A continuación, tal y como recomiendan [6, 7], se aplicó un tratamiento matemático de derivación 1,1,1,1 utilizando el rango espectral completo (910-1676 nm), con el fin de detectar las zonas que presentaban ruido y proceder a su eliminación.

Previamente al desarrollo de los modelos de clasificación, se dividió el colectivo constituido por 650 muestras en las dos categorías establecidas en función de la pureza genética (100% ibérico y cruzado) para los dos modos de análisis ensayados (estático y dinámico). El modo de análisis estático se basó en la toma de espectros en distintos puntos superficiales de la muestra, mientras que en el dinámico los espectros se tomaron desplazando el dispositivo sobre la superficie de la muestra.

Para la autenticación de solomillos de cerdo Ibérico en función su pureza racial, se desarrollaron modelos de clasificación utilizando el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA, *Partial Least Squares-Discriminant Analysis*,). El mejor modelo de clasificación se seleccionó empleando el estadístico “porcentaje de muestras correctamente clasificadas”, siendo esto el resultado del cociente de las muestras correctamente clasificadas respecto al total de muestras del colectivo. Estos resultados se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1: Estadísticos correspondientes al mejor modelo discriminante (1,5,5,1 SNV+DT) obtenido para la autenticación de solomillo de cerdo ibérico en función de su pureza racial y validación de los mejores modelos cualitativos NIRS desarrollados. Modos de análisis: estático y dinámico.

Modo de Análisis	Número de términos	Estadísticos	Calibración	Validación
Estático	6	Sensibilidad:	85%	80%
		Especificidad:	78%	78%
		% Correctas:	82%	79%
Dinámico	6	Sensibilidad:	86%	78%
		Especificidad:	79%	71%
		% Correctas:	83%	75%

El mejor de los modelos discriminantes desarrollados para la autenticación de la pureza racial en solomillos de cerdo ibérico permite clasificar correctamente el 80% de las muestras de la categoría “ibéricos puros” y el 78% de las muestras de la categoría “cruzados”, cuando se valida externamente el modelo, con muestras no incluidas en su entrenamiento.

Los modelos discriminantes obtenidos para la autenticación de la pureza racial en solomillos de cerdo ibérico con los modos de análisis estático y dinámico no presentan diferencias destacables a nivel de muestras correctamente clasificadas, ni en el proceso de entrenamiento, ni en el de validación. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, en este caso, el análisis del producto en modo dinámico se ve dificultado por la forma y topología de la muestra, por lo que se recomienda el uso del modo estático.

Se confirma que los datos proporcionados por el productor no son adecuados para el entrenamiento de los modelos, ya que existen problemas en la autenticación de las muestras, como se ha puesto de manifiesto con los análisis genéticos de parte de las muestras de los que se ha dispuesto al final del proyecto. Por tanto, se recomienda utilizar sólo muestras autenticadas genéticamente para el desarrollo de los modelos.

La tecnología NIRS ha sido ampliamente utilizada en el sector cárnico, para la predicción de la composición nutricional de productos frescos y procesados, así como en numerosas aplicaciones cualitativas relativas a la clasificación y discriminación de productos en función de distintos atributos de calidad [8, 9]. No obstante, el uso de la tecnología NIRS para la autenticación racial en productos animales es muy escasa. Esto supone una prometedora oportunidad para futuros proyectos de esta índole.

Bibliografía

- [1] Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Buydens, L. M. C., De Jong, S., Lewi, P. J., y Smeyers-Verbeke, J. (1997). Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Volume 20, Part 1.
- [2] Pérez-Marín, D. C. (2005). Tecnología NIRS para la Certificación y Trazabilidad de Piensos Compuestos. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, 267.

- [3] Skoog, D., Holler, F., y Crouch, S. (2008). Introducción a la espectrometría infrarroja. En *Principios de análisis fundamental*, 430-455.
- [4] Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. (1995b). *Routine Operation, Calibration, Development and Network System Management Manual*. NIRSystems, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring, MD, USA.
- [5] Shenk, J. S., y Westerhaus, M. O. (1996). Calibration the ISI way. *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*, 198-202.
- [6] Hruschka, W.R. (1987). Near-Infrared technology in the agricultural and food industries. *American Association of Cereal Chemists* 35, 55.
- [7] McClure, W.F., Hana, M., Sugiyama, J. 1992. Neural networks in NIR spectroscopy. In: *Near Infrared Spectroscopy. Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy*. Murray, I., Cowe, I.A. (Eds.). Ian Michael Publications, Chichester, West Sussex, UK, pp. 200-209.
- [8] Zamora-Rojas, E., Garrido-Varo, A., De Pedro-Sanz, E., Guerrero-Ginel, J. E., y Pérez Marín, D. (2011). Monitoring NIRS calibrations for use in routine meat analysis as part of Iberian pig-breeding programs. *Food Chemistry*, 129(4), 1889-1897.
- [9] Pérez-Marín, D., Fearn, T., Riccioli, C., De Pedro, E., y Garrido, A. (2021). Probabilistic classification models for the in-situ authentication of Iberian pig carcasses using near infrared spectroscopy. *Talanta*, 222, 8.

Capítulo 21. Subproductos agroindustriales como fuente de fósforo: efecto residual sobre el cultivo de girasol

José Javier Guerrero Criado

*Universidad de Córdoba. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes.
Departamento de Agronomía.*

*Dirección: Ctra. Madrid – Cádiz km 396, Edificio Celestino Mutis 1ª planta. Unidad de Edafología
E-mail: g62gucrj@uco.es*

Resumen

El fósforo (P), segundo elemento más importante en la nutrición vegetal se obtiene como fertilizante de la roca fosfórica, recurso no renovable. Por ello, la recuperación del P presente en residuos agroindustriales se estudia con el objetivo de alcanzar una producción agrícola sostenible, que permita incrementar la salud del suelo. En este trabajo se evaluó el efecto residual, en el suelo y en las plantas de girasol (como segundo cultivo de una rotación), tras haber aplicado 4 fertilizantes de P de base orgánica (harina de sangre-HAS, alperujo compostado-ALP, residuo sólido urbano compostado-RSU y vermicompost-VER) y un fertilizante inorgánico (Super 18-S18) en dos dosis (25 y 50 mg P kg⁻¹) sobre 4 suelos con distintas propiedades físico-químicas y distinto nivel inicial de P disponible (Rabanales-RAB, Tomejil-TOM, Sancho Miranda-SAN y Encineño-ENC). Los resultados determinaron que la aplicación de los subproductos orgánicos incrementa el P disponible de forma similar o superior al fertilizante inorgánico, permitiendo el correcto desarrollo del cultivo y obteniendo rendimientos en girasol comparables al uso del fertilizante químico S18. Sin embargo, el efecto de los fertilizantes de base orgánica sobre la dinámica de los nutrientes depende de la naturaleza de los fertilizantes y de las propiedades del suelo.

Fundamento y presentación de resultados

El fósforo (P), segundo elemento más importante en la nutrición vegetal es responsable de numerosos procesos metabólicos implicados en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, la roca fosfórica, mineral del que se genera el 90% del P como fertilizante, es un recurso no renovable sometido a tensiones económicas internacionales [1] cuyo agotamiento, estimado entre 2030 y 2050, compromete la sostenibilidad de la agricultura [2]. Debido a ello, en los últimos años, se han puesto en práctica distintas alternativas al uso de fertilizantes de P de síntesis química, como la recuperación del P presente en residuos agroindustriales de distinta naturaleza y su aplicación como fertilizantes de base orgánica. De esta forma, además de reducir los problemas medioambientales derivados de la gestión de estos residuos, se consigue cerrar el ciclo de los nutrientes y compuestos presentes en dichos residuos en el propio sector agroalimentario aplicando los principios de Economía Circular [3,4]. Esto permitirá optimizar recursos e incrementar la producción de alimentos, en línea con los objetivos de las políticas en materia de cambio climático como el Pacto Verde Europeo.

Mediante la aplicación de los fertilizantes de base orgánica se mantiene el nivel de P en el suelo en formas con distinto grado de disponibilidad, que ayudan a reducir su inmovilización junto a determinados minerales del suelo y a la materia orgánica, variable en función de las propiedades físico-químicas de cada suelo [5]. Por consiguiente, los fertilizantes de base orgánica permiten realizar una fertilización integral del suelo mediante el aporte de la materia orgánica y los nutrientes que contienen y que incrementan la salud y la funcionalidad del suelo. No obstante, su efecto sobre el desarrollo de los cultivos debe ser estudiado con mayor profundidad, en línea con el objetivo principal de este trabajo:

Evaluar el efecto residual sobre el suelo y la planta, de la aplicación de cuatro fertilizantes de base orgánica procedentes de la agroindustria como fuente de P en el cultivo de girasol, como segundo cultivo de una rotación (trigo-girasol).

Para lograr el objetivo se desarrolló un ensayo de cultivo bajo condiciones controladas de temperatura, humedad relativa y fotoperíodo, compuesto de 220 macetas conteniendo 240 g de suelo y una planta de girasol (*Helianthus annuus* L.). En este ensayo se utilizaron 4 suelos con diferentes propiedades físico-químicas analizadas en laboratorio y que muestran como el suelo de la Finca de Rabanales (RAB), no calcáreo, de pH ácido, textura arenosa y P Olsen elevado, difiere de los 3 restantes: Tomejil (TOM), Sancho Miranda (SAN) y Encineño (ENC), procedentes de vertisoles de la campiña, calcáreos, con pH básico, textura arcillosa y niveles de P Olsen medio-bajos. Esta limitación en el contenido de P en los suelos calcáreos se debe al tamponado de su pH en torno a 8 [6].

La aplicación de los fertilizantes de P se realizó antes de la siembra del trigo, primer cultivo de la rotación, que precedió al girasol. Concretamente se aplicaron 5 tratamientos de P: 4 fertilizantes de base orgánica, seleccionados por su diferente naturaleza y composición: Alperujo compostado (ALP), harina de sangre compostada (HAS), residuo sólido urbano compostado (RSU) y vermicompost (VER), que fueron comparados con el fertilizante inorgánico de P Super 18 (S18). Estos tratamientos se aplicaron a dos dosis de P (25 y 50 mg P kg⁻¹), estableciéndose también un control negativo (sin P) por cada suelo. Además, para cada combinación de suelo, tratamiento y dosis de P se establecieron 5 repeticiones.

Sobre cada maceta creció una planta de girasol, que se regó diariamente con agua desionizada y semanalmente con una solución nutritiva Hoagland sin P. Durante el ensayo se midieron altura, índice de clorofila (SPAD), diámetro del tallo y estadio fenológico (escala BBCH) cada 3 semanas. Tras la plena floración, a los 80 DDS las plantas fueron cosechadas separándose el capítulo (órgano floral) del resto de la parte aérea (tallos y hojas) y procesándose de forma independiente. Para ello, el material vegetal se secó en una estufa a 65 °C durante 72 h, tomando posteriormente las medidas de peso seco del capítulo (rendimiento potencial) y del resto de la planta. A continuación, las muestras vegetales se molieron y se sometieron a una digestión en medio ácido para posteriormente determinar el contenido de P y de micronutrientes (Fe, Cu y Zn) en las mismas. Además, al finalizar el ensayo, se realizaron dos muestreos del suelo sobre el que crecieron las plantas: la muestra de suelo fresco tomada tras la cosecha se utilizó para la determinación de la actividad de la fosfatasa ácida y básica en el suelo. Por otro lado, la muestra de suelo seco fue utilizada para determinar el pH, la conductividad eléctrica y el contenido de P Olsen.

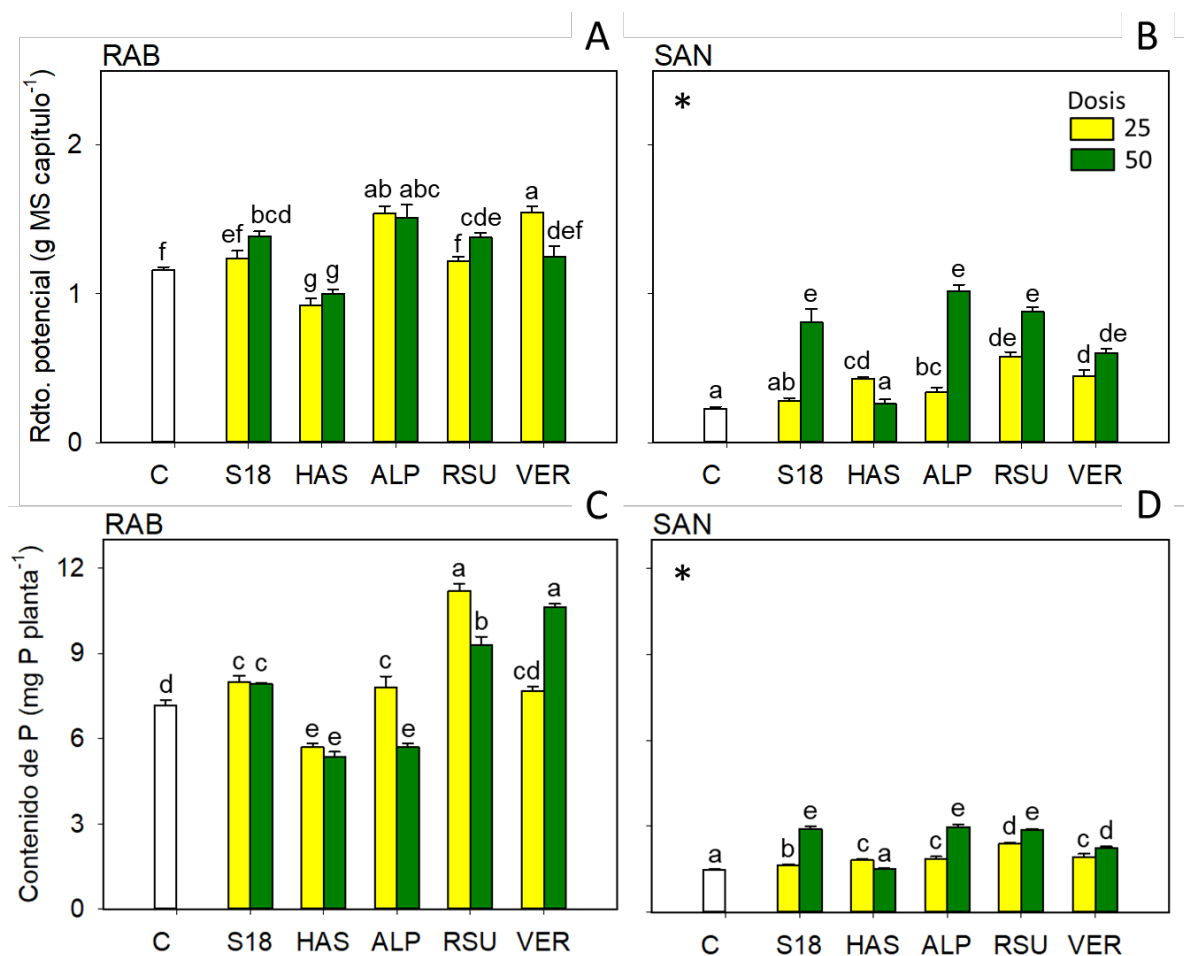
Tras comprobar que se cumplía el criterio de homogeneidad de varianzas para todas las variables, los resultados se trataron mediante ANOVA trifactorial (suelo, tratamiento y dosis). Sin embargo, la existencia de numerosas interacciones significativas entre factores hizo que se realizase un ANOVA de dos vías (tratamiento y dosis) para cada suelo. Cuando existieron diferencias significativas, se realizó el test *pot hoc* LSD para la separación de las medias. De las variables analizadas, en la Figura 1 se muestran los resultados correspondientes al rendimiento potencial ($\text{g MS capítulo}^{-1}$) y al contenido de P en la planta (mg P planta^{-1}) para una selección de dos suelos, RAB y SAN, con diferentes propiedades físico-químicas y P Olsen inicial: 30 y 4 mg P kg^{-1} suelo respectivamente.

En las dos variables que se muestran en la Figura 1, se observa como todos los tratamientos y dosis en el suelo RAB (Figura 1.A y C), con mayor contenido inicial de P Olsen que el suelo SAN, se obtuvieron valores superiores a los obtenidos en este último suelo (Figura 1.B y D). Sin embargo, en ambos se observó una tendencia parecida, produciendo el tratamiento HAS rendimientos potenciales y contenidos de P en la planta similares e incluso inferiores a los obtenidos con la no aplicación de P, lo que se debe principalmente a la elevada conductividad eléctrica en el suelo que produjo este tratamiento, impidiendo en muchos casos el correcto desarrollo del cultivo. Por el contrario, tanto el fertilizante químico S18, como los tratamientos ALP, RSU y VER en sus dos dosis, produjeron incrementos del rendimiento potencial y del contenido de P en las plantas de girasol respecto a la no aplicación de P. No obstante, mientras que en el suelo RAB, el contenido de P se incrementó en mayor medida con los tratamientos RSU y VER (Figura 1.C), en el suelo SAN este incremento se observó en igual medida para todos los tratamientos excepto HAS (Figura 1.D).

En cuanto al efecto de la dosis, mientras que en el suelo RAB (Figura 1.A y C) no se observó ninguna tendencia clara, en el suelo SAN (Figura 1.B y D) el rendimiento potencial y el contenido de P en la planta fue mayor para los tratamientos S18, ALP, RSU y VER cuando se aplicaron en la dosis de 50 mg P kg^{-1} suelo. Esta respuesta a la dosis se debe al menor nivel de P Olsen en este último suelo, de forma que cualquier aplicación de P se traduce en un incremento de su absorción y por ello se obtienen mayores rendimientos potenciales.

Tras realizar este estudio se confirma que la aplicación de fertilizantes de P de base orgánica presenta diferentes efectos sobre el crecimiento del cultivo, en función de la composición de dichos fertilizantes y a su aplicación sobre suelos con distintas propiedades físico-químicas. Además, su efecto residual fue comparable al obtenido con la aplicación de un fertilizante tradicional de P. Sin embargo, el tratamiento HAS provocó por norma general un crecimiento de las plantas similar a la no aplicación de P (C). También se debe tener en cuenta que los fertilizantes de base orgánica incrementaron en muchos de los casos el contenido de otros nutrientes en el suelo y la presencia y actividad de los microorganismos que transforman el P aportado en formas disponibles para los cultivos, lo cual se confirma con indicadores como el aumento de la actividad fosfatasa.

Figura 1. Rendimiento potencial ($\text{g MS capítulo}^{-1}$) y contenido de P (mg P planta^{-1}) (media \pm error estándar, $n = 5$) de las plantas de girasol cultivadas sobre los suelos RAB y SAN en función del tratamiento (C: sin P, S18: super 18, HAS: Harina de sangre, ALP: alperujo, RSU: residuo sólido urbano y VER: vermicompost) y de la dosis de P (25 y 50 mg P kg^{-1}). Las letras indican diferencias significativas entre las medias para las distintas combinaciones de tratamiento y dosis de P conforme al análisis post hoc LSD ($p < 0,05$). *Letras en orden inverso debido a la transformación inversa de los datos.



Bibliografía

- [1] M. Chen, T.E. Graedel, *Global Environmental Change*, 36 (2016) 139-152.
- [2] T. Nesme, P.J.A. Withers, *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 104 (2016) 259-264.
- [3] C. Ott, H. Rechberger, *Resources, Conservation and Recycling*, 60 (2012) 159-172.
- [4] R. Recena, I. Díaz, A. Delgado, A. (Eds.), *Geoderma*, 297 (2017) 10-18.
- [5] R. Recena, I. Díaz, M.C. del Campillo, J. Torrent, A. Delgado, *Agronomy for Sustainable Development*, 36 (2016) 54.
- [6] E.C. Sample, R.J. Soper, G.J. Racz, *The role of phosphorus in agriculture*, (1980) 263-310.

Capítulo 22. Identificación de proxémica en imágenes usando pose 2D y 3D

María Isabel Jiménez Velasco

Universidad de Córdoba. Escuela Politécnica Superior de Córdoba.
Departamento de Informática y Análisis Numérico.

Dirección: Edificio C2, Planta 3, Campus Univ. Rabanales. E-mail: i72jivem@uco.es

Resumen

Proxémica o proxemia (*proxemics* en inglés) es una rama de la antropología que estudia cómo los humanos utilizan el espacio personal como medio de comunicación no verbal [1], es decir, estudia cómo interactúan las personas (mano en contacto con la mano de otra persona, con el hombro de otra persona, hombro con hombro, etc).

En el trabajo “*Recognizing Proxemics in Personal Photos*” [2], se proponía la clasificación de los distintos tipos de proxémica en imágenes mediante el uso de modelos específicos para cada tipo de proxémica, ya que los estimadores de pose humana de esos años (2012) no obtenían buenos resultados, debido a dificultades como oclusión o partes del cuerpo ambiguas.

Sin embargo, a lo largo de estos 10 últimos años, la estimación de la pose humana en 2D/3D en imágenes ha ganado una gran atención en el área de “Visión por Computador”, dando lugar a estimadores más precisos.

Así pues, en este trabajo se ha analizado y determinado si los nuevos estimadores de pose existentes pueden ayudar en este problema del reconocimiento proxémico entre personas en imágenes, y mejorar así los resultados obtenidos en el artículo de 2012 con el uso de modelos específicos y por otros métodos competentes.

Fundamento y presentación de resultados

Para llevar a cabo este trabajo se ha hecho uso de la base de datos Proxemics [3]. Los datos constan de 589 imágenes completamente anotadas con las posiciones de las articulaciones y las etiquetas de los tipos de proxémica que aparecen en cada imagen. Los autores de esta base de datos identificaron 6 tipos de proxémica predominantes:

Figura 1. Ejemplo de los 6 tipos de proxémica que se consideran en este trabajo.



En términos generales, se han realizado los siguientes análisis:

- Se han utilizado diferentes y recientes estimadores de pose 2D y 3D. En concreto, AlphaPose [4], DensePose [5] y MediaPipe [6].
- Se han propuesto y evaluado diferentes representaciones de la pose a partir de la información obtenida por los estimadores de pose 2D y 3D (3 representaciones para pose 2D y otras 3 representaciones para pose 3D). De este modo, la red neuronal profunda seleccionada, puede aprender a utilizar la pose de diferentes maneras y obtener la representación que genere los mejores resultados.
- Finalmente, se han diseñado y evaluado 3 métodos diferentes para la clasificación de los distintos tipos de proxémica mediante el uso de la información de pose:
 - Un método artesanal (*hand-crafted*) que no utiliza Aprendizaje Profundo o *Deep Learning* ni redes neuronales, y determina la existencia o no de proxémica en función de la distancia euclídea entre las articulaciones presentes en cada una de las clases de proxémica.
 - Otros 2 métodos basados en el uso de 2 arquitecturas de redes profundas populares: la red neuronal convolucional VGG16 [7] y VisionTransformers (ViT) [8].

Para ambas arquitecturas (VGG16 y ViT) se han propuesto 3 tipos de modelos:

- Modelo que usa sólo la red profunda y, por tanto, solo las imágenes RGB del dataset - RGB model.
- Modelos que utilizan únicamente la información de pose 2D o 3D obtenida de las imágenes del conjunto de datos (no utilizamos la red profunda) -Pose model.
- Modelos que incorporan la información de pose 2D o 3D en la red profunda. Es decir, las imágenes RGB del conjunto de datos Proxemics junto con las diferentes representaciones de pose generadas – RGB + Posemodel.

De este modo, podremos analizar cómo contribuye la información de pose a nuestro problema con respecto al modelo RGB.

Cabe destacar que, dado que se trata de un problema multietiqueta en el que cada imagen puede clasificarse con más de un tipo de proxémica, se ha sustituido la capa de salida *Softmax* de ambas redes por una capa Sigmoide de 6 unidades (una para cada clase).

La Tabla 1 muestra la comparativa del modelo que ha generado los mejores resultados con respecto a los trabajos de referencia [2,9,10]. En concreto, se trata del modelo que incorpora las imágenes RGB con la información de la pose de dichas imágenes (RGB+Pose) y que utiliza la arquitectura de red de Vision Transformers (ViT).

En dicha tabla se comparan dos valores de *mean AveragePrecision* (mAP): columna (a) que es el valor de mAP tras la media de los valores de AP de los 6 tipos de proxémica; y columna (b) es la media de los valores de AP pero excluyendo la clase Mano-Torso (HT)[9].

Tabla 1. Comparación del mejor modelo con el estado del arte.

Modelos	HH	HS	SS	HT	HE	ES	mAP (a)	mAP (b)
Yang et al. [2]	37	29	50	61	38	34	42	38
Chu et al. [9]	41.2	35.4	62.2	-	43,9	55	-	46.68
Jiang et al. [10]	59.7	52	53.9	33.2	36.1	36.2	45.2	47.58
OurRGB+Pose (ViT)	54.69	58.13	38.15	89.42	63.45	53.11	59.5	53.5

En ambos casos, los resultados del mejor modelo RGB + Pose, que incorpora la red ViT, supera a todos los métodos de la competencia - 59,5% de mAP (a) y 53,5% de mAP (b).

En conclusión, nuestros experimentos con el conjunto de datos Proxemics han mostrado que los estimadores de pose 2D y 3D han mejorado en la última década, y ayudan favorablemente en el problema de reconocimiento de proxémicos, ya que aplicando la información de pose a nuestros modelos, superamos considerablemente los resultados obtenidos hasta ahora por otros métodos ya existentes. Por lo tanto, esto indica que la información de la pose tiene una influencia positiva en el problema del reconocimiento de la proxémica en imágenes.

Bibliografía

- [1] E. Hall. A system for the notation of proxemic behavior. *American Anthropologist*, 1963
- [2] Yi Yang, Simon Baker, Anitha Kannan, Deva Ramanan. Recognizing Proxemics in Personal Photos. *IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, 2012
- [3] Yi Yang, Simon Baker, Anitha Kannan, and Deva Ramanan. PROXEMICS dataset. <https://www.dropbox.com/s/5zarkyny7ywc2fv/PROXEMICS.zip?dl=1>, 2012.
- [4] Hao-Shu Fang, Shuqin Xie, Yu-Wing Tai, and Cewu Lu. RMPE: Regional Multi-person Pose Estimation. In *ICCV*, 2017.
- [5] Riza Alp Guler, Natalia Neverova, and Lasonas Kokkinos. Densepose: Dense human pose estimation in the wild. In *2018 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, pages 7297–7306. 2018.
- [6] Camillo Lugaresi, Jiuqiang Tang, Hadon Nash, Chris McClanahan, Esha Uboweja, Michael Hays, Fan Zhang, Chuo-Ling Chang, Ming Guang Yong, Juhyun Lee, Wan-Teh Chang, Wei Hua, Manfred Georg, and Matthias Grundmann. Mediapipe: A framework for building perception pipelines, 2019.
- [7] Karen Simonyan and Andrew Zisserman. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition. *arXiv 1409.1556*, 09 2014.
- [8] Ashish Vaswani, Noam Shazeer, Niki Parmar, Jakob Uszkoreit, Llion Jones, Aidan N Gomez, Lukasz Kaiser, and Illia Polosukhin. Attention is all you need. In I. Guyon, U. Von Luxburg, S. Bengio, H. Wallach, R. Fergus, S. Vishwanathan, and R. Garnett, editors, *Advances in Neural Information Processing Systems*, volume 30. Curran Associates, Inc., 2017.

- [9] Xiao Chu, Wanli Ouyang, Wei Yang, and Xiaogang Wang. Multi-task recurrent neural network for immediacy prediction. ICCV, 2015.
- [10] Hao Jiang and Kristen Grauman. Detangling people: Individuating multiple close people and their body parts via region assembly. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2017.

Capítulo 23. Evaluación de variedades de almendro por su resistencia frente a la antracnosis causada por *Colletotrichum* spp.

Paula Peña Enríquez

Universidad de Córdoba. Escuela Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes. Departamento de Agronomía.

Dirección: Grupo de Patología Agroforestal. Campus de Rabanales, Edif. C4.

E-mail: g72peenp@uco.es

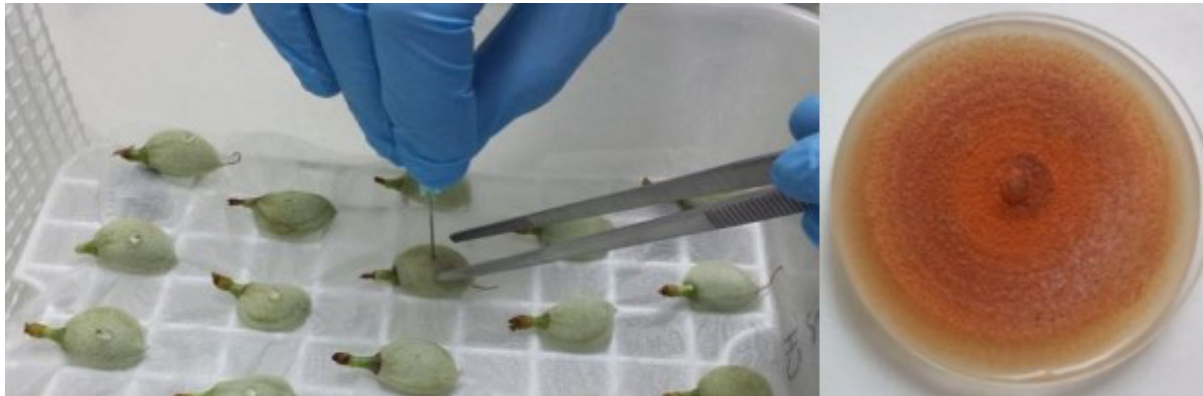
Resumen

El almendro ha pasado de ser un cultivo marginal a un cultivo intensivo ampliamente extendido que, junto con el uso de mayores insumos para favorecer el rendimiento de las nuevas plantaciones, han propiciado una mayor incidencia de enfermedades, entre las que destaca la Antracnosis, causada por varias especies fúngicas del género *Colletotrichum*. El patógeno afecta principalmente al fruto, causando lesiones deprimidas y redondeadas, de color anaranjado, que terminan con la momificación de los frutos y la desecación de las ramas gravemente afectadas. En años epidémicos, el momificado y la caída prematura de frutos pueden provocar pérdidas de cosecha hasta del 80%. La escasez de materias activas autorizadas para esta enfermedad en almendro, hace necesaria la búsqueda de alternativas para su control. En este sentido, la resistencia varietal es una de las medidas más eficaces en la protección de cultivos dentro del marco de la gestión integrada. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo ha sido evaluar la resistencia de 14 variedades comerciales de almendro frente a la antracnosis, causada por *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds, mediante ensayos en condiciones controladas. Este estudio es de gran importancia tras la incorporación de nuevas variedades que no habían sido evaluadas en España. Los resultados preliminares permiten agrupar las variedades en tres grupos diferenciados: variedades resistentes, susceptibles y altamente susceptibles.

Fundamento y presentación de resultados

El efecto de la resistencia varietal frente a la antracnosis del almendro se realizó siguiendo los protocolos descritos en estudios previos [1,2]. Para ello, se seleccionaron almendras verdes, sanas y sin heridas de 14 variedades comerciales de almendro: Asperilla, Butte, Cartagenera, Ferraduel, Filippo, Fritz, Independence, Lauranne, Makako, Mandaline, Monterrey, Padre, Penta y Vialfás. Las almendras se lavaron con agua y Tween-20, se desinfectaron superficialmente primero con lejía comercial al 10% y, en segundo lugar, con alcohol etílico al 70%. A continuación, los frutos se dejaron secar a temperatura ambiente y se colocaron en cámaras húmedas. Para la inoculación se realizó una herida en el fruto con ayuda de una aguja estéril (Fig. 1A) sobre la que se depositó una gota de 20µl de una suspensión de 106 conidios/ml de un aislado de *Colletotrichum acutatum sensu stricto* (Col-536) (Fig. 1B).

Figura 1. A) Inoculación de almendras mediante realización de herida y deposición de gota de suspensión conidial B) Aislado de *Colletotrichum acutatum* Col-536 crecido en PDA tras 10 días de incubación a $23 \pm 2^\circ\text{C}$



Las almendras inoculadas y dispuestas en las cámaras húmedas se incubaron a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y un fotoperiodo alterno de 12 horas. Tras la aparición de síntomas, se realizó una evaluación cada 3 - 4 días hasta que la mayoría de los frutos alcanzaron el 90 - 100% de superficie afectada (aprox. 21 días) (Fig. 2). Para ello, se midió el diámetro mayor y menor de la lesión producida en cada fruto, cuyo promedio se utilizó para determinar el porcentaje de fruto afectado y, posteriormente, se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad relativa (ABCPER). En este momento, los datos obtenidos están siendo analizados estadísticamente empleando el programa estadístico Statistix 10. Los resultados preliminares analizados permiten englobar las variedades en tres grupos diferenciados según el grado de susceptibilidad; siendo variedades comerciales como Penta, altamente susceptible, Lauranne, medianamente susceptible y Ferraduel, resistente.

Figura 2. Almendras inoculadas con el aislado de *Colletotrichum acutatum* Col-536 a los 21 días tras la inoculación



Bibliografía

- [1] A. López-Moral, M.C. Raya-Ortega, C. Agustí-Brisach, L.F. Roca, M. Lovera, F. Luque, O. Arquero, A. Trapero, *Plant Dis.* 101 (2017) 2034-2045.
- [2] A. López Moral, C. Agustí-Brisach, M. Lovera, F. Luque, L.F. Roca, O. Arquero, A. Trapero, *Plant Dis.* 103 (2019) 2425-2432



UCOPress

Editorial Universidad de Córdoba