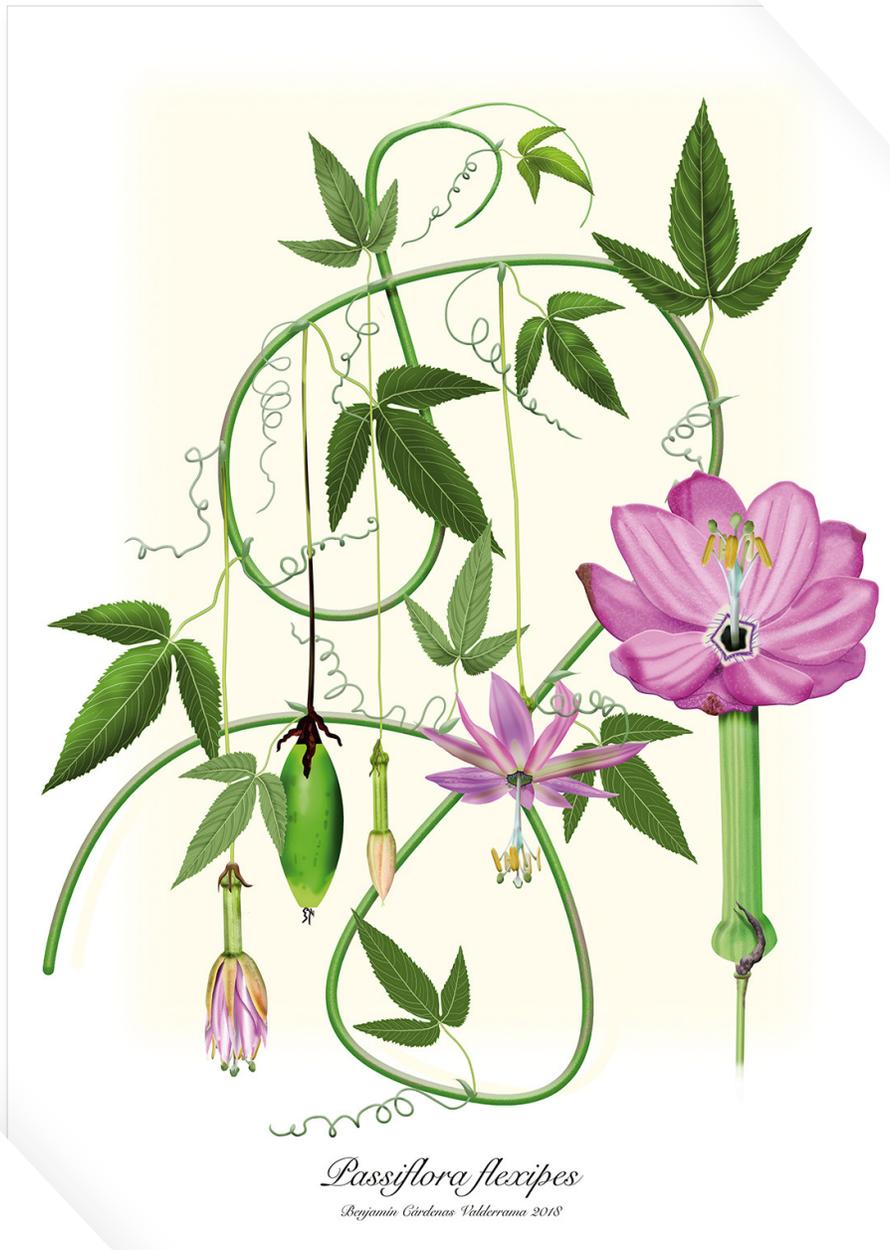


MUTIS



Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano
Jefatura de Publicaciones
Carrera 4 n.º 23-76, Módulo 29, of. 203
Piso 2, Bogotá, D. C., Colombia
Tel: (571) 242 7030, Exts. 3120-3132

Rector
CARLOS SÁNCHEZ GAITÁN

Vicerrector Académico
ANDRÉS FRANCO HERRERA

Vicerrectora Administrativa
LILIANA ÁLVAREZ REVELO

Director de Investigación, Creación y Extensión
LEONARDO PINEDA SERNA

Decano de la Facultad de Ciencias Naturales
e Ingeniería
ISAAC DYNER REZONZEW

Jefe de Publicaciones
MARCO GIRALDO BARRETO

Coordinador Editorial
JUAN CARLOS GARCÍA SAENZ

Coordinación gráfica, diseño y diagramación
LUIS CARLOS CELIS CALDERÓN

Corrector de estilo
LEONARDO PAIPILLA PARDO

Coordinación editorial y revisión
MARY LIDIA MOLINA BERNAL

Distribución y ventas
SANDRA GUZMÁN

Asistente administrativa
MARÍA TERESA MURCIA

Mutis es una publicación electrónica semestral de ciencia e investigación editada por la Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Los artículos publicados son responsabilidad de sus autores y no comprometen la posición editorial de *Mutis*.

Editor
GERARD OLIVAR TOST

Editor de sección
JAVIER HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ

Comité Editorial
ISAAC DYNER REZONZEW
Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
MICHAEL J. AHRENS
Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
LEONARDO MARIÑO RAMÍREZ
NCBI - National Center for Biotechnology Information,
Bethesda MD, EE. UU.
MYRON SPECTOR
Harvard University, EE. UU.

Comité Científico
MÓNICA PUYANA HEGEDUS
Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
ANDRÉS FELIPE SUÁREZ ESCOBAR
Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
ALBA GRACIELA ÁVILA
Universidad de los Andes, Colombia
ANDRÉS FELIPE LÓPEZ
Universidad de La Sabana, Colombia
SILVIO ALEJANDRO LÓPEZ PASOS
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca,
Colombia



MUTIS, Journal of the Faculty of Sciences and Engineering, Jorge Tadeo Lozano University, is licensed under the Creative Commons 4.0: Attribution - Noncommercial - No Derivative Works

Actualmente el contenido está indexado e incluido en Google Scholar, Academia.edu, BASE, Directory of Research Journals Indexing, Latindex, MIAR, Mendeley, PERIODICA, PKP index, ROAD, Ulrich's Periodicals Directory, DOAJ, Ebsco (fuente académica), Redib

CONTENIDO

Vol. 9 n.º 2 – II. Edición 2019

EDITORIAL

El nuevo coronavirus y el desarrollo de la ciencia

Javier Hernández Fernández

5

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN – RESEARCH ARTICLES

Producción de Astaxantina y expresión de genes en *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae, Volvocales) bajo condiciones de estrés por deficiencia de nitrógeno y alta irradiancia

Production of Astaxanthin and Expression of Genes in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae, Volvocales) under Conditions of Stress by Nitrogen Deficiency and High Irradiance

Luisa Gómez, María Isabel Orozco, Carolina Quiroga, Juan Camilo Díaz, Judith Huérfano, Luis Eduardo Díaz, Jorge Rodríguez, Judith Elena Camacho K.

7

Efectos de la densidad de cultivo y de proteína en la dieta sobre el desempeño del capaz (*Pimelodus grosskopfii*) en estanques

Effects of Dietary Culture and Protein Density on the Performance of Capaz (*Pimelodus grosskopfii*) in Ponds

Silvia Cristina Carrera

25

Evaluación de la eficiencia de un sistema de electrocoagulación en los vertimientos de curtiembres en el sector de Villapinzón (Cundinamarca)

Evaluation of the Efficiency of an Electrocoagulation System of Tannery Industry Effluents in Villapinzón (Cundinamarca)

Diana Lucía Cristancho Montenegro, Lina María Pinto Hernández, Jefersson Stiven Tique Hilarión

34

Catálogo comentado de musgos, hepáticas y antoceros acuáticos del río Teatinos (Boyacá, Colombia)

A Commented Checklist of Aquatic Mosses, Liverworts, and Hornworts of the Teatinos River (Boyacá, Colombia)

Wilson Ricardo Álvaro Alba, Daniela Alejandra Becerra Infante, Karen Alejandra Cárdenas Espinosa

49

Integración de herramientas bioinformáticas y métodos en biología molecular para el diseño de un kit diagnóstico del COVID-19: un ejemplo de aprendizaje significativo

Integration of Bioinformatics Tools and Molecular Biology Methods for the design of a COVID-19 Test Kit: An Example of Significant Learning

Catalina Rivera Forero, Luis Alejandro Yáñez Dukon, Carolina Herrera Khenayzir, Juan Carlos Arias, Jonathan Niño Vargas, Pilar Rodríguez Becerra, Leslie Leal Mejía, Javier Hernández Fernández

62

Instrucciones para autores

81

El nuevo coronavirus y el desarrollo de la ciencia

El COVID-19, el nuevo coronavirus, circula infectando humanos a velocidades inusitadas, infectando exponencialmente en todo el mundo. La ciencia tiene también un ritmo fluido. Sin embargo, el llamado de alerta es a no interpretar resultados demasiado rápido porque se puede llegar a conclusiones erróneas. Es muy posible que el COVID-19 se auto atenúe y vuelva estacionalmente como una gripe singular, pero ¿cuándo? Lo que si saben los especialistas es que las epidemias normalmente vienen y se van, y el COVID-19 no debería ser la excepción.

El primer infectado por el COVID-19 fue internado en un hospital el 12 de diciembre de 2019 en Wuhan, en la provincia de Hubei, China. La propagación del virus se asoció casi inmediatamente a un mercado de esta ciudad donde se venden peces, mariscos y una diversidad animal única, que incluía erizos, tejones, serpientes, murciélagos y aves. El paciente trabajaba en este mercado y experimentó un síndrome respiratorio severo que incluía fiebre, mareo y tos. A este paciente se le aplicaron test para 26 patógenos respiratorios comunes sin obtener resultados que identificaran el origen de su sintomatología. Para identificar el posible agente causal de la enfermedad, los investigadores colectaron una muestra de líquido de lavado broncoalveolar y se realizó una secuenciación meta-transcriptómica (técnica utilizada para identificar la biodiversidad bacteriana y otros microorganismos en un ecosistema determinado). Con esta secuenciación se obtuvieron 56.565.928 lecturas de 150 pares de bases de longitud, en las que se evidenció que el paciente tenía en sus muestras una buena cantidad de DNA y RNA de origen bacteriano y viral. Se ensamblaron estas lecturas y se reconstruyeron 384.096 transcritos, entre los cuales encontraron uno muy largo con 30.474 pares de bases. Esta secuencia tenía una alta abundancia (repeticiones) y al compararla con la secuencia de otros virus se encontró relación con un aislado de coronavirus similar al SARS de murciélago que se había muestreado previamente en China, con una identidad nucleotídica de 89,1 %. La carga viral, o número de copias del virus, en la muestra de lavado broncoalveolar se midió con técnicas moleculares, obteniendo un número de $3,95 \times 10^8$ copias por ml.

Teniendo la certeza de que se había identificado un nuevo virus, el COVID-19, se realizó un análisis filogenético para determinar las relaciones del nuevo coronavirus. Los investigadores concluyeron que el COVID-19 está más estrechamente relacionado con los coronavirus de murciélago, teniendo una similitud de aminoácidos de 100 % con el murciélago SL-CoVZC45 en las proteínas nsp7 y E. Al parecer, los murciélagos son un posible huésped para el reservorio viral de COVID-19. En el mercado de Wuhan, donde trabajaba el paciente, los murciélagos estaban a la venta cuando se notificó la enfermedad; sin embargo, es necesario realizar más estudios para determinar el reservorio natural del

nuevo coronavirus y la posibilidad de que haya tenido otro huésped intermedio. Así mismo, aparentemente, el pangolín, otro mamífero, podría ser también un candidato de reservorio del virus debido a que la proteína de unión del virus a las células hospederas es el mismo del pangolín y humanos. Esta investigación fue publicada por la revista *Nature* el 3 de febrero de 2020.

Las publicaciones periodísticas dicen que la identificación del agente causal tomó apenas 7 días y que la obtención de la secuencia completa del virus tomó 14 días adicionales. Se desprende de arriba que fue la obtención de la secuencia con la que se identificó el virus, siendo este un hallazgo tremendamente rápido.

A la fecha, se han obtenido más de 1.200 secuencias del virus, incluyendo la de Colombia. Se conocen sus rutas de dispersión, se han estudiado las posibilidades de que el virus haya sido creado por ingeniería genética, se sabe acerca de la evolución natural del mismo, se conoce la forma como se une a la célula huésped y todas sus proteínas, también la base molecular del reconocimiento y la forma de infección; la investigación ha descrito también los cambios mutacionales del virus y, por ende, su naturaleza, tasa de contagio, epidemiología y otros aspectos.

Hoy en día se venden más de 20 kits de diagnóstico del virus en humanos, desde los que utilizan la amplificación de fragmentos del virus utilizando la PCR en tiempo real —que podría tomar de 4 a 6 horas para validar su presencia—, hasta test que identifican anticuerpos para realizar en 15 m. Se sabe que las pruebas de vacunas están en fase clínica en humanos y se prevé tener la vacuna en 8-12 m. Se han registrado desde enero hasta el 25 de marzo de 2020 un total de 6.250 artículos publicados (Google académico). En fin, he dicho que la ciencia tiene un ritmo fluido, pero no es así, va a una velocidad inusitada, no antes vista. La pelea contra el COVID-19 puede ser larga, pero la ciencia debe tener la respuesta pronto: una vacuna y/o tratamientos efectivos.

Javier Hernández Fernández

Editor Revista Mutis

<https://orcid.org/0000-0001-8442-9266>

<https://doi.org/10.21789/22561498.1600>

REFERENCIAS

Lam, T. T., Shum, M. H. S., Zhu, H. C., Tong, Y. G., Ni, X. B., Liao, Y. S., ... & Guan, Y. (2020). Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>.

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., ... & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, *579*, 265-269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>

Producción de Astaxantina y expresión de genes en *Haematococcus pluvialis* (*Chlorophyceae*, *Volvocales*) bajo condiciones de estrés por deficiencia de nitrógeno y alta irradiancia

Production of Astaxanthin and Expression of Genes in *Haematococcus pluvialis* (*Chlorophyceae*, *Volvocales*) under Conditions of Stress by Nitrogen Deficiency and High Irradiance

Luisa Gómez
María Isabel Orozco
Carolina Quiroga
Juan Camilo Díaz
Judith Huérfano

Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Grupo Bioprocesos y Control, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Colombia

Luis Eduardo Díaz

Grupo de Procesos Agroindustriales, Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-9588-9935> | lediaz@gmail.com

Jorge Rodríguez

Grupo de Procesos Agroindustriales, Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, Colombia

Judith Elena Camacho K.¹

Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Grupo Bioprocesos y Control, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-8880-1501> | jelenacamacho@unicolmayor.edu.co

¹ Autora de correspondencia.

Fecha de recepción: 28 de octubre de 2019
Fecha de aprobación: 23 de enero de 2020

Sugerencia de citación: Gómez, L., Orozco, M. I., Quiroga, C., Díaz, J. C., Huérfano, J., Díaz, L. E., ... y Camacho, J. E. (2019). Producción de Astaxantina y expresión de genes en *Haematococcus pluvialis* (*Chlorophyceae*, *Volvocales*) bajo condiciones de estrés por deficiencia de nitrógeno y alta irradiancia. *Mutis*, 9 (2), 7-24. | doi:10.21789/22561498.1532

RESUMEN

La astaxantina es un carotenoide y antioxidante utilizado en las industrias cosmética, farmacéutica y alimentaria. Se produce naturalmente en la microalga *H. pluvialis* cuando esta crece bajo efecto de factores de estrés, como la deficiencia de nutrientes y una irradiancia alta, entre otros. Por lo anterior, se propone como objetivo de esta investigación determinar la producción de astaxantina y la expresión de los genes relacionados con su biosíntesis bajo condiciones de estrés por deficiencia de nitrógeno (4,0 y 5,0 %) y una irradiancia alta. Para este trabajo se realizó un cultivo en medio RM con nitrógeno a 4,0 y 5,0 %, utilizando las siguientes condiciones: pH 6,7; ciclo luz/oscuridad 20 h: 4 h; temperatura 25 °C; agitación continua; CO₂ de 5 %; iluminación con lámparas fluorescentes blancas (Tlt 20w/54RS marca Philips); e irradiancia alta de 140 μE. Adicionalmente, se utilizó como control el crecimiento en el medio con nitrógeno en concentraciones normales bajo las mismas condiciones durante 36 días. El muestreo se realizó cada tercer día para cuantificación de astaxantina y clorofila y determinación de expresión de genes. El ANOVA realizado estableció que no hay diferencias significativas entre los tratamientos (P = 0,053). Sin embargo, la producción de astaxantina fue de $3,52 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$ con una concentración de nitrógeno al 4,0 % y una irradiancia alta de 140 μE, incrementándose en 40 % frente a la producción obtenida con nitrógeno al 5,0 % ($2,08 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$). Los genes *psy*, *pds*, *lcy*, *bkt* y *chy*, se expresaron con nitrógeno al 4,0 %, mientras que con nitrógeno al 5,0 % solo se expresaron *psy*, *pds* y *chy*.

Palabras clave: microalga, carotenoide, bioproceso, irradiancia, lote, nutrientes.

ABSTRACT

Astaxanthin is an antioxidant carotenoid used in cosmetic, pharmaceutical and food industries that is produced by microalgae *H. pluvialis* in natural form. It is a secondary metabolite that increases production when microalgae grows under stress conditions, like food deficiency and high irradiation, among others. The goal of this research was to test microalgae growing under nitrogen deficiency conditions in a concentration of 4.0-5.0% and evaluate astaxanthin production and gene expression in dye biosynthesis. For this purpose, a culture in RM medium was carried out with 4.0 and 5.0% nitrogen, using the following conditions: pH 6.7; light/dark cycle 20h: 4h; temperature 25 °C; continuous agitation; 5% CO₂; lighting with white fluorescent lamps (Tlt 20w/54RS Philips brand); and a high irradiance of 140 μE. The growth in the medium was used as a control with nitrogen in normal concentrations during 36 days (under the same conditions). Sampling was carried out every third day for quantification of astaxanthin and chlorophyll and the determination of gene expression. The ANOVA performed established that there are no significant differences between treatments (P = 0.053). However, astaxanthin production with a nitrogen concentration of 4.0% and a high irradiance of 140 μE was $3.52 \times 10^{-6} \mu\text{g cell}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$, increased by 40% when compared to that obtained with 5.0% nitrogen ($2.08 \times 10^{-6} \mu\text{g cell}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$). The *psy*, *pds*, *lcy*, *bkt* and *chy* genes were expressed with 4.0% nitrogen, while 5.0% nitrogen only allowed *psy*, *pds* and *chy*.

Keywords: Microalgae, carotenoid, bioprocess, irradiance, Batch, nutrients.

INTRODUCCIÓN

H. pluvialis es una microalga verde unicelular de agua dulce (Martínez-Silva, 2011) que tiene la capacidad de producir altas concentraciones de astaxantina de buena calidad. Esta producción se obtiene como mecanismo de protección y resistencia de la microalga frente a diferentes cambios drásticos en el ambiente (Kurmen, González, & Klotz, 2013; Domínguez-Bocanegra, Legarreta, Jerónimo, & Campocosio, 2004; González, Cifuentes, & Gómez, 2009) tales como: temperatura, intensidad lumínica, ciclos de luz-oscuridad (Wan *et al.*, 2014), concentración de nutrientes (Cifuentes *et al.*, 2003; Gong & Chen, 1998), pH (Sarada, Tripathi, & Ravishankar, 2002), las especies reactivas de oxígeno, las sales (Kobayashi, Kakizono, & Nagai, 1993), el medio de cultivo (Brinda, Sarada, Kamath, & Ravishankar, 2004; González *et al.*, 2009; Imamoglu, Dalay, & Sukan, 2007) y las concentraciones de nitrógeno (Wang *et al.*, 2014), características que le permiten acumular grandes cantidades del carotenoide (Kurmen *et al.*, 2013).

La astaxantina (3,3'-dihidroxi-4,4'-diceto- β , β -caroteno) es un pigmento carotenoide de gran importancia, ya que es un antioxidante que neutraliza los radicales libres que dañan las células (Candelas-Cadillo *et al.*, 2005). La astaxantina es de color rojo y es responsable de la coloración de la piel de algunos animales marinos como mariscos, langostas y camarones, los cuales no tienen la capacidad de sintetizarla, por lo tanto, este compuesto es suministrado en el alimento; en la industria de este tipo de alimentos, el uso de pigmentos carotenoides cumple como función principal actuar como antioxidante y promotor de la producción de vitamina A (Ponce-Palafox, Arredondo-Figueroa, & Vernon-Carter, 2006). Además, la astaxantina está unida a una proteína que define la capacidad de absorber el pigmento en el músculo del pez (Armenta, Guerrero-Legarreta, & Huerta, 2002).

La astaxantina posee otras aplicaciones en diferentes industrias, como la farmacéutica y cosmética, donde cumple funciones como protector solar, al prevenir el daño de la piel causado por los rayos UV, contribuye como factor antienviejimiento y protector de la piel, aumenta la actividad inmunológica y la salud cardiovascular, disminuye los triglicéridos, aumenta el rendimiento y la recuperación física, es un potente antiinflamatorio y favorece la recuperación en la artritis

y el asma (Cerón, 2013; Domínguez *et al.*, 2004). En la industria farmacéutica es un ingrediente de suplementos dietarios. Por su parte, en la industria cosmética es empleada en la protección de las membranas celulares contra el ataque de radicales libres (Kurmen *et al.*, 2013).

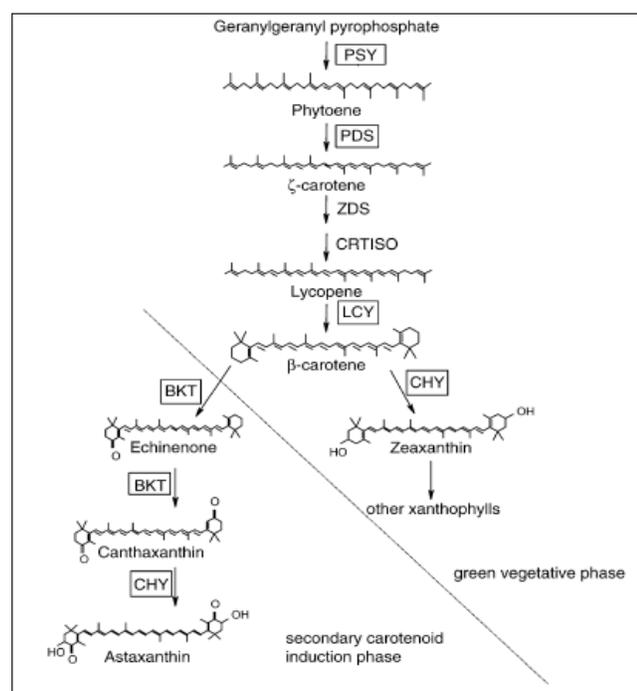
Este pigmento carotenoide es producto del metabolismo secundario de la microalga *H. pluvialis*, de la cual representa 4,0 % del peso seco. El interés por la producción y comercialización de este pigmento ha llevado a que se destaque el cultivo de *H. pluvialis* como una fuente natural de gran interés debido a la calidad del pigmento que se obtiene de ella (Abalde, Orosa-García, Torres, & Cid, 1999). Esta microalga se comercializa a razón de USD 2500 por kilogramo y cuenta con un mercado mundial anual estimado en USD 200 millones. De otro lado, la demanda de astaxantina sintética hace que el consumo sea menos saludable, dando paso a la oportunidad de producir de astaxantina de forma natural mediante la microalga *H. pluvialis* (Ramírez-Landínez, 2013).

Una vez la microalga es expuesta a crecimiento bajo diferentes factores de estrés, se produce un estímulo en la producción de astaxantina que es seguido por cambios morfológicos que van desde un estado vegetativo, en la cual se encuentra con presencia de flagelos, pasando por el estado *palmella*, donde es circular desprovista de flagelos, hasta llegar a la *aplanóspora*, la cual es una célula esférica, roja y sin flagelos producida como respuesta al estrés producido para lograr la supervivencia.

La microalga *H. pluvialis* contiene 70 % de monoésteres de astaxantina, 10 % de diésteres de astaxantina y 5,0 % de astaxantina libre. El restante 15 % está compuesto por β -caroteno, cantaxantina, luteína y otros carotenoides (Córdoba-Castro *et al.*, 2015). El aumento en la producción de astaxantina se ve reflejada cuando existe limitación de algunos nutrientes, la exposición a luz directa y la adición de otras sustancias en fase tardía de crecimiento, como el acetato de sodio, el cual hace que las aplanosporas tengan mayor peso seco y mayor contenido de pigmento. Una de los factores de estrés de mayor interés para aumentar la síntesis de este carotenoide, es la deficiencia de nutrientes como nitrógeno y fósforo, esenciales en el proceso de síntesis de este compuesto (Nunes *et al.*, 2013).

La producción de astaxantina en la microalga *H. pluvialis* se genera por reacciones enzimáticas reguladas por la expresión de los genes involucrados en su ruta biosintética, tales como fitoeno sintasa (*psy*), β -caroteno ketolasa (*bkt*), β -caroteno hidroxilasa (*chy*), fitoeno desaturasa (*pds*) y licopeno β -ciclasa (*lcy*) (Steinbrenner & Sandmann, 2006; Vidhyavathi, Venkatachalam, Sarada, & Ravishankar, 2008; Vidhyavathi, Sarada, & Ravishankar, 2009), como se muestra en la figura 1.

Figura 1. Ruta de síntesis de carotenoides secundarios en *H. pluvialis*



Fuente: Steinbrenner y Sandmann (2006).

Teniendo en cuenta la capacidad de *H. pluvialis* para producir y acumular gran cantidad de astaxantina, así como la necesidad de determinar las condiciones óptimas para aumentar su producción, el objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de la deficiencia de nitrógeno, al 5,0 y 4,0 %, sobre la expresión de genes y la producción de astaxantina, para efectos de seleccionar condiciones de proceso que permitan escalar su cultivo y producir una buena cantidad de este carotenoide.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismo y cultivo

La microalga *H. pluvialis* fue obtenida de la colección de cultivos de algas de la Universidad de Texas (UTEX 2505), Estados Unidos, y suministrada por la facultad de Ingeniería de la Universidad de La Sabana, Colombia. La cepa se mantuvo en medio sólido y líquido Mes-Volvox (por recomendación de la UTEX), a baja irradiancia y una temperatura entre 15 y 20 °C.

El cultivo se realizó en medio de cultivo Mes-Volvox, el cual consistía de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 11,8 g 100 mL⁻¹, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4 g 100 mL⁻¹, $\text{Na}_2\text{glicerofosfato} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,05 g L⁻¹, KCl 0,05g/L, MES 1,95 g L⁻¹, solución de metales PIV 6 ml L⁻¹, NH_4Cl 0,026 g L⁻¹, Vitamina B12 1ml L⁻¹, HEPES y biotina 1 ml L⁻¹, ajustado a pH 6,7, luz blanca provista por lámparas fluorescentes (Tlt 20w/54RS marca Philips) con una irradiancia de 90 μE , fotoperiodo de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad, temperatura de 25 °C, CO_2 al 5,0 % y agitación manual de 10 segundos al día. El cultivo se monitoreo por medio de microscopía en cámara de Neubauer para conteo y evaluación de parámetros como color (pigmento), morfología y viabilidad celular, cada tercer día.

Efecto de la deficiencia de nitrógeno sobre la producción de astaxantina Preparación del cultivo

El cultivo de *H. pluvialis* se realizó en sistema Batch por triplicado para cada tratamiento a ensayar, utilizando el medio de cultivo RM, el cual consistió de NaNO_3 300 mg L⁻¹, K_2HPO_4 80 mg L⁻¹, KH_2PO_4 60 mg L⁻¹, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 mg L⁻¹, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 58,5 mg L⁻¹, EDTA 7,5 mg L⁻¹, NaCl 20 mg L⁻¹, H_3BO_3 0,3 mg L⁻¹, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,5 mg L⁻¹, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 mg L⁻¹, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,3 mg L⁻¹, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,08 mg L⁻¹, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,26 mg L⁻¹, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 17 mg L⁻¹, ajustado a pH 6,7 (Imamoglu *et al.*, 2007). Los tratamientos a ensayar fueron medio RM con concentraciones de nitrógeno normales, utilizado como control del estudio 300 mg/L de NaNO_3 , con deficiencia de nitrógeno al 4,0 %, 12,010 mg L⁻¹ de NaNO_3 (tratamiento 1) y con deficiencia de nitrógeno al 5,0 %, 15,013 mg L⁻¹ de NaNO_3 (tratamiento 2). El medio estéril con el pH ajustado se adicionó en biorreactores de 500 ml hasta un volumen de 350 ml. Los biorreactores se sellaron para garantizar esterilidad.

Se procedió a adicionar el inóculo de la microalga con una concentración de 1×10^4 células mL^{-1} a cada biorreactor. Se realizó el cultivo bajo las siguientes condiciones: pH 6,7, ciclo luz/oscuridad 20h: 4h, temperatura 25 °C, agitación continua, CO_2 5 %, iluminación con lámparas fluorescentes blancas (Tlt 20w/54RS marca Philips) e irradiancia de 140 μE . La toma de muestra se realizó cada tres días en forma aséptica. La conservación de las muestras se realizó en solución forma salina (1:9), en una proporción 1:1. Se tomaron 1,0 mL para realizar control del cultivo (conteo celular, viabilidad, morfología y registro fotográfico) y el resto de muestra se utilizó para medición de pH. Además, se tomaron 10 mL para cuantificación de pigmentos y 10mL para detección de genes. El tiempo de estudio fue de 36 días.

Determinación de concentración de clorofila y astaxantina

Las muestras fueron centrifugadas a 12.000 rpm durante 5 min. Posteriormente, se retiró el sobrenadante (medio de cultivo). Al paquete celular se le adicionó 1.0 mL de metanol al 90 % y se calentó durante 10 min a 60 °C en baño serológico y a continuación se centrifugó a 12.000 rpm durante 5 min (APHA, 1992).

Para la cuantificación de clorofila y astaxantina se realizó la curva de calibración con patrones de referencia, para lo cual se hizo la lectura espectrofotométrica en el equipo Thermo Scientific Evolution 201 a una longitud de onda de 667nm para clorofila y 477nm para astaxantina, tras lo cual se hallaron concentraciones en ($\mu\text{g}/\text{mL}$). Para la elaboración de las gráficas se utilizó la ecuación 1:

$$\frac{\text{Concentración } \mu\text{g}/\text{mL} \times \text{volumen muestreado (mL)}}{\text{Número de células en conteo en cámara (cel./mL)} \times \text{volumen muestreado (mL)}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Los resultados se expresaron en $\mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$. Con base en dichos resultados, se realizaron gráficas para cada tratamiento de nitrógeno aplicado a los biorreactores.

Aislamiento de ARN y PCR

La extracción de ARN se hizo con Trizol (Invitrogen). La transcripción reversa se realizó siguiendo el protocolo RT2 First Strand Kit de la casa comercial Qiagen (2011). Los primer utilizados para la amplificación de *psy*, *pds*, *lcy*, *bkt* y *chy* fueron diseñados por Vidhyavathi *et al.* (2008) y se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Genes específicos y temperaturas usadas en RT-PCR.

Primer	Secuencia primer (5'- 3')	T (°C)	Ciclos de amplificación	ID GenBank/ referencia	Tamaño amplicones (pb)
PSY- forward	ATGTACCATCCCAAGGCAAG	60	30	AY835634	402
PSY- reverse	CTGGACCAGGCCTACGAC				
PDS- forward	TCCATGATCTTTGCCATGC	60	30	AY768691	462
PDS- reverse	CGGGAGTTGAACATGAGGTC				
LCY- forward	CTTCTTCTCCGCTTCTTCA	60	30	AY182008	565
LCY- reverse	GCATCCTACCGCTCAAAGAA				
BKT- forward	CATCTCCTTGTAAGCCTGGT	55	30	X86782	423
BKT- reverse	CAGTGCAGGTGCAAGTGTA				
CHY- forward	CTACACCACAGCGGCAAGTA	55	30	AF162276	521
CHY- reverse	GCCTCACCTGATCCTACCAA				
ACT- forward	AGCGGGAGATAGTGCGGGACA	61	22	Huang <i>et al.</i> , 2006	200
ACT- reverse	ATGCCACCCTCCATGC				

Fuente: Vidhyavathi *et al.* (2008).

La separación de los productos de PCR se realizó en gel de agarosa al 1,5 %. Para su lectura e interpretación se utilizó el equipo BIORAD con un sistema de documentación de geles Gel Doc XR por luz UV, mediante el programa Quantity One. Se realizó la secuenciación de los productos de PCR (Mendoza *et al.*, 2001) utilizando

el secuenciador ABI 3730xl, obteniendo registro de los datos en tiempo real con el sistema LIMS (sistema de registro de laboratorios) y ofreciendo lectura de 650 pb a 1050 pb con criterio de calidad QV20. Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa Chromas Lite versión 2.5.1 formato ab1.

Las secuencias en formato FASTQ obtenidas fueron interpoladas al programa The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), con el fin de encontrar la identidad de cada una de las secuencias analizadas y así confirmar la presencia de los genes de la cascada de biosíntesis de la astaxantina. La determinación de expresión de genes se realizó en el muestreo 6 (día 18 del cultivo), el muestreo 8 (día 24) y el muestreo 12 (día 36). Los muestreos se seleccionaron por la producción de astaxantina obtenida y se analizaron para cada tratamiento (nitrógeno al 4 %, nitrógeno al 5 % y control) (Chavarro, 2011).

Análisis estadístico

Los experimentos se realizaron por triplicado para cada tratamiento ensayado. Se aplicó el Software Dm FIT, con base en el modelo de Baranyi y Roberts (1994), para ajustar las curvas de crecimiento obtenidas. Además, se realizó un análisis de varianza ANOVA (95 %) usando Excel 2010, para determinar diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).

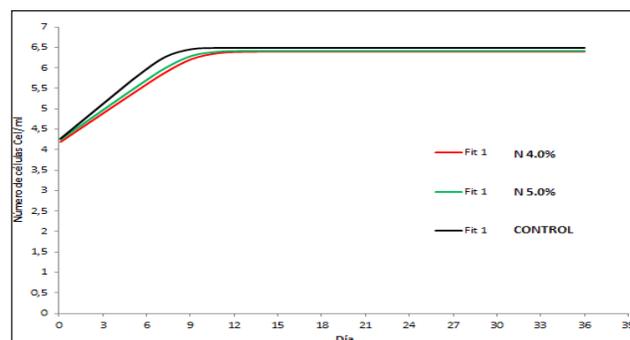
RESULTADOS

Cultivo de *H. pluvialis*

El crecimiento de *H. pluvialis* en el tratamiento control fue de 4.83×10^6 cel. mL⁻¹, en el cual se utilizó el medio RM con la concentración de nitrógeno en la cantidad establecida para este medio (Niño-Castillo, Rodríguez-Rivera, Díaz, & Lancharos-Díaz, 2017). En el caso del tratamiento con medio RM con concentración de nitrógeno al 4,0 % el crecimiento registrado fue de 2.10×10^6 cel mL⁻¹, mientras que para el tratamiento con medio RM con concentración de nitrógeno al 5,0 % fue de 1.38×10^6 cel. mL⁻¹. En el control se observó un crecimiento mayor debido a que el medio de cultivo no presenta deficiencia de ningún nutriente (figura 2).

La velocidad de crecimiento para el control fue de 0,0030 cel. día⁻¹, para el tratamiento con concentración de nitrógeno al 4,0 % fue de 0,0029 cel. día⁻¹ y para el tratamiento con concentración de nitrógeno al 5,0 % fue 0,0028 cel. día⁻¹, observando una velocidad de crecimiento mayor en el control con respecto a los tratamientos donde se utilizó una concentración de nitrógeno al 4,0 y 5,0 %.

Figura 2. Crecimiento de *H. pluvialis* para los tratamientos: control, nitrógeno 4,0 % y nitrógeno 5,0 %



El crecimiento de la microalga es una variable a tener en cuenta debido a que se puede ver afectada según la fuente de nitrógeno proporcionada por el medio. Según Sarada *et al.* (2002), el medio *basal bold* (BBM) que contiene nitrato de sodio, nitrato de amonio, nitrato de potasio y nitrato de calcio, arrojó resultados favorables con respecto a la producción de biomasa y astaxantina. Los resultados obtenidos en esta investigación, donde se utilizó el medio RM que contiene nitrato de sodio, permitió confirmar que la presencia de este nutriente es importante para el crecimiento de esta microalga, puesto que ni su deficiencia evitó observar crecimiento de esta microalga, identificando la fase exponencial en los tratamientos ensayados entre el día 9 y el día 18.

En el día 18 se obtuvo para el control una concentración de *H. pluvialis* de 4.23×10^6 cel mL⁻¹. En el tratamiento con medio RM y concentración de nitrógeno al 4,0 % se obtuvo un crecimiento de la microalga de 1.85×10^6 cel mL⁻¹ y para el tratamiento de medio RM con concentración de nitrógeno al 5,0 % se obtuvo una concentración de 3.20×10^6 cel. mL⁻¹, mostrando que en el tratamiento donde se utilizó una concentración de nitrógeno al 4,0 % disminuyó el crecimiento de esta microalga en 56 % frente al control. Por su parte, para el tratamiento donde se empleó en el medio una concentración del 5,0 %, el crecimiento de la microalga disminuyó 24 % frente al control.

En el día 21 de cultivo se obtuvo para el control un crecimiento de la microalga de 3.25×10^6 cel. mL⁻¹. Para el tratamiento con concentración de nitrógeno al 4,0 % se registró un crecimiento de 1.76×10^6 cel. mL⁻¹ y para el tratamiento con concentración con nitrógeno al 5,0 % de 2.50×10^6 cel. mL⁻¹. Se observa que el

crecimiento de la microalga en el tratamiento con medio RM con concentración de nitrógeno al 4,0 % disminuyó 46 % y en el tratamiento con medio RM con concentración de nitrógeno al 5,0 % disminuyó 23 % con respecto al control, en ambos casos. Estos resultados indican que la concentración de nitrógeno sí afecta el crecimiento de la microalga y que a menor concentración menor será su crecimiento, disminuyendo hasta 46 %.

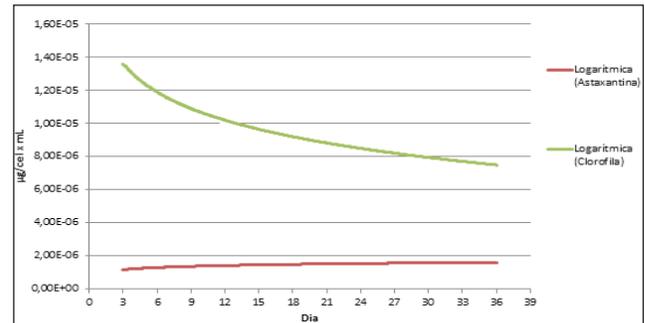
Efecto de la deficiencia de nitrógeno y una irradiación alta de 140 μE sobre la producción de astaxantina

El cultivo de *H. pluvialis* utilizado como control presentó una concentración inicial de astaxantina de $1,60 \times 10^{-7} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$ (muestreo 1, día 3), la cual fue en aumento hasta obtener una concentración final de $1,33 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$ (muestreo 12, día 36) en el día 36 del experimento, con un incremento de 88 % (figura 3) y una disminución de la clorofila a medida que transcurría el crecimiento de la microalga. En el experimento se registró una concentración inicial de clorofila de $1,60 \times 10^{-5} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$ y una concentración final de $7,38 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$, con una disminución de la concentración de este pigmento de 53 %.

En la microalga *H. pluvialis* la disminución del nitrógeno es un factor que inhibe la biosíntesis de clorofila *a* y promueve la degradación de la clorofila *b*, como expresan Scibilia, Girolomoni, Berteotti, Alboresi y Ballo-

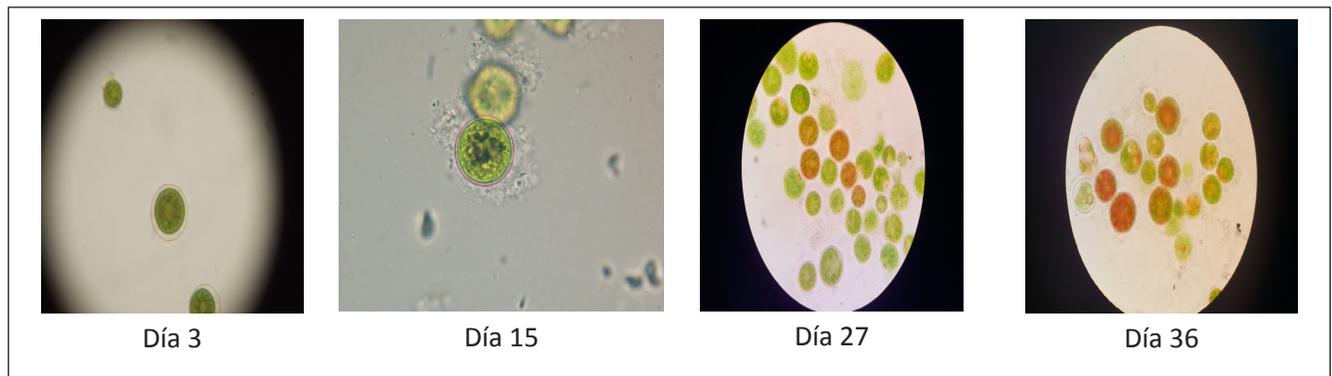
ttari (2015), quienes indican que la falta de nitrógeno impide la producción de clorofila en condiciones normales, retrasando así el proceso llevado a cabo por la microalga de fotosíntesis.

Figura 3. Concentración de astaxantina y clorofila (tratamiento control)



En la figura 3 se observa que la concentración de astaxantina tiene un comportamiento inversamente proporcional a la concentración de clorofila durante el proceso de crecimiento de *H. pluvialis*. Esto se debe a que en el tratamiento control, el cual contiene las concentraciones de nitrógeno adecuadas para el crecimiento de esta microalga, se observó microscópicamente que en el día 27 de crecimiento (muestreo 9) iniciaba la acumulación del pigmento en concentraciones mínimas, dándose una relación inversamente proporcional entre clorofila y astaxantina, con un aumento notorio de este último (figura 4).

Figura 4. Morfología tratamiento control. 40X



En la producción de astaxantina para el tratamiento donde se utilizó medio RM con una concentración de nitrógeno al 4,0 %, expresada en $\mu\text{g/cel.} \times \text{mL}$ vs. días de muestreo, se observó que al comparar el control

(figura 3) con el tratamiento con medio RM con nitrógeno al 4,0 %, este último tuvo una mejor producción de astaxantina (62 %) con una concentración de $3,52 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \times \text{mL}^{-1}$ en el día 36 muestreo 12

(figura 5). La concentración de clorofila disminuyó a medida que la producción de astaxantina aumentaba con una concentración inicial (muestreo 1, día 3) de

$4,23 \times 10^{-5} \mu\text{g cel}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ de muestra y una concentración final (muestreo 12, día 36) de $3,73 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ (figura 6), mostrando una disminución de 91 %.

Figura 5. Concentración de astaxantina y clorofila (tratamiento con nitrógeno 4,0 %)

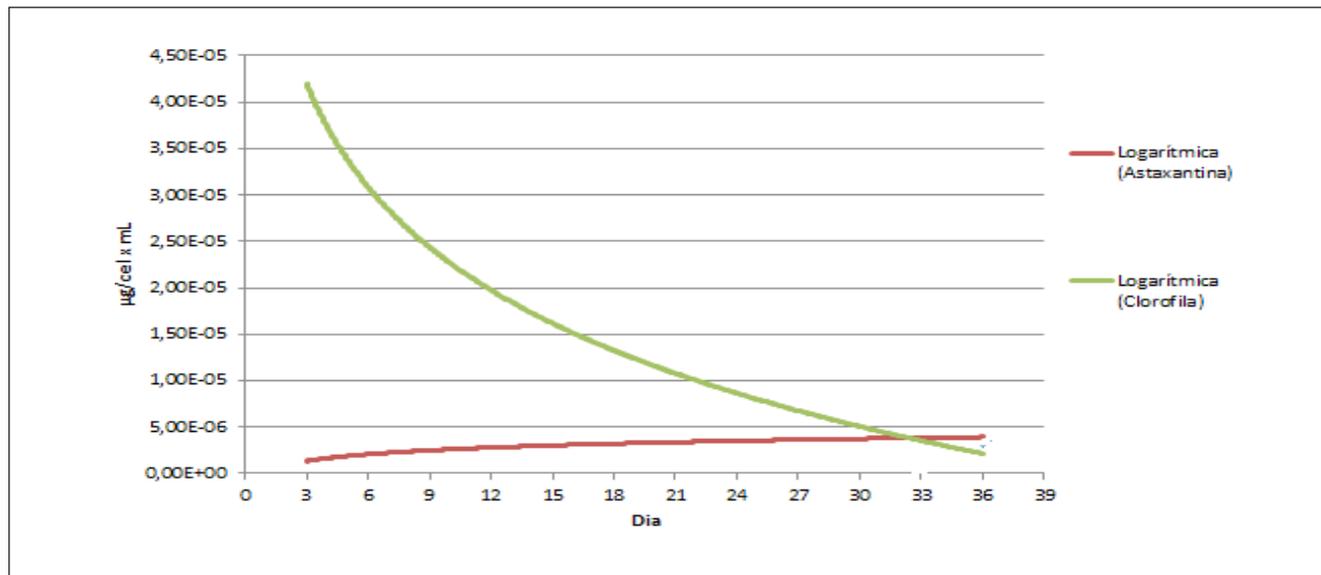
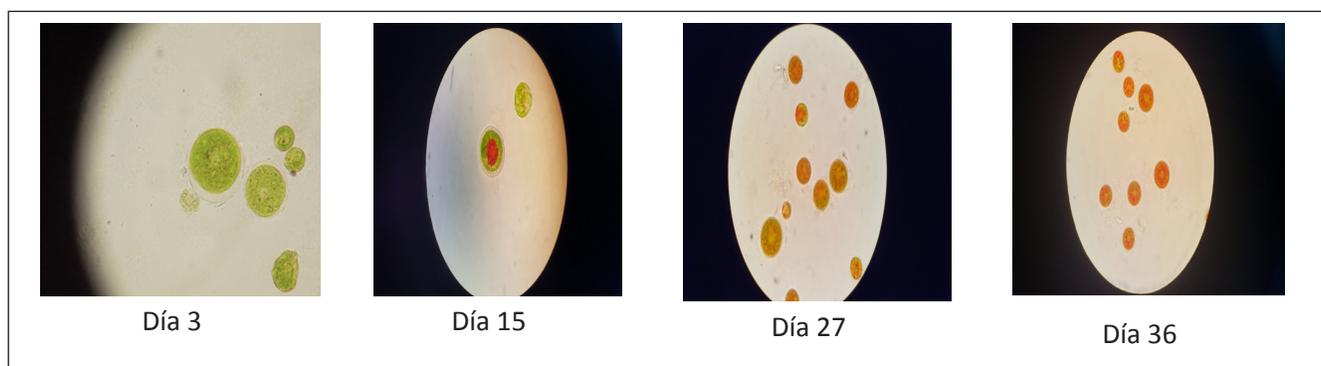


Figura 6. Morfología del tratamiento con nitrógeno al 4,0 % (40X)



En el tratamiento en medio RM con una concentración de nitrógeno al 5,0 % en $\mu\text{g cel}^{-1} \text{ x mL}^{-1}$ vs. días de muestreo, se observó el mismo comportamiento del control (figura 3) y el tratamiento con nitrógeno al 4,0 % (figura 5), en los que se reiteró que la producción de clorofila es inversamente proporcional a la producción de astaxantina. La figura 7 permite evidenciar que este tratamiento tuvo una menor

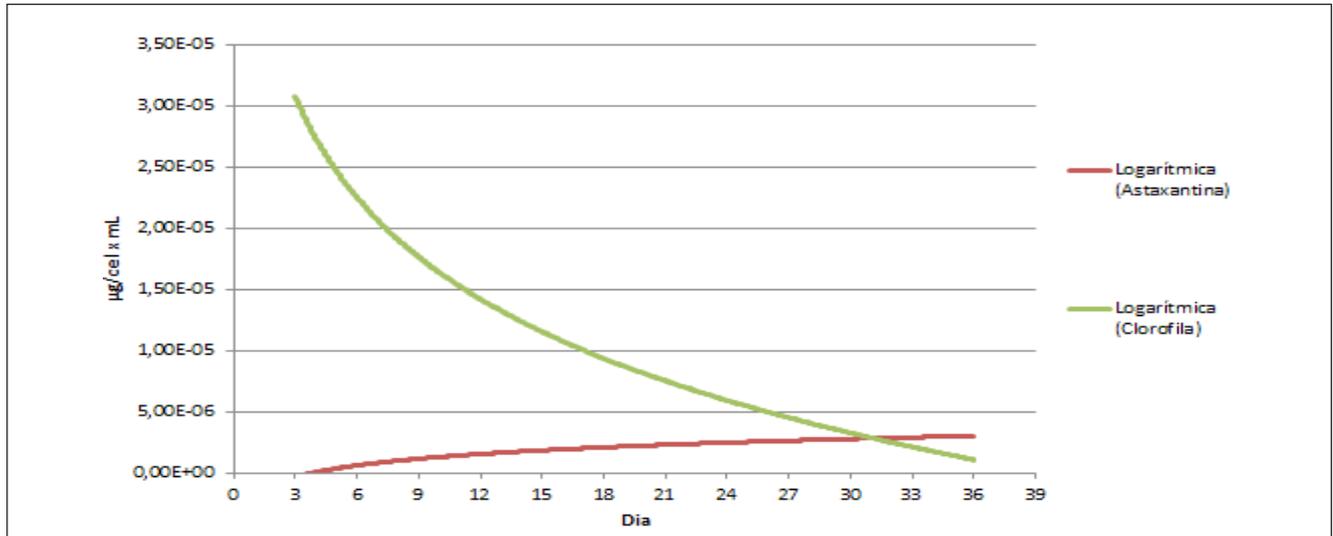
eficiencia de producción de astaxantina con respecto al tratamiento de RM con nitrógeno al 4,0 %, con una concentración de $2,08 \times 10^{-6} \mu\text{g cel}^{-1} \text{ x mL}^{-1}$ al día 36 (muestreo 12).

Al comparar la producción de astaxantina del tratamiento de RM con nitrógeno al 5,0 % con el control (figura 3) se observó que la producción fue mayor,

por lo que se concluye que el factor de estrés de una concentración de nitrógeno al 5,0 % favorece la producción del pigmento. La concentración de clorofila desciende a medida que aumenta la concentración de astaxantina, la cual inició con una concentración

(muestreo 1, día 3) de $1,69 \times 10^{-5} \mu\text{g/cel} \times \text{mL}$ y terminó con una concentración final (muestreo 12, día 36) de $1,85 \times 10^{-6} \mu\text{g/cel} \times \text{mL}$, mostrando una disminución de 89 %.

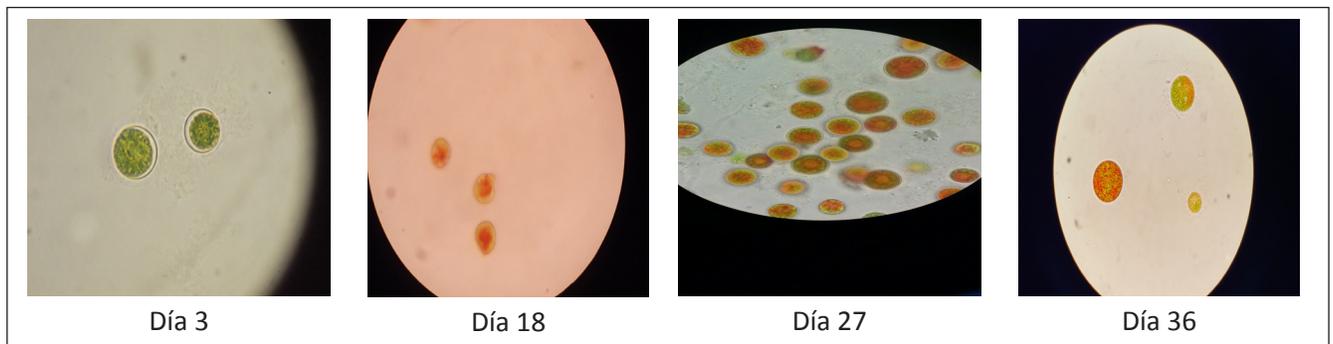
Figura 7. Concentración de astaxantina y clorofila (tratamiento con nitrógeno al 5,0 %)



La diferencia de producción y/o acumulación del pigmento comparado con el tratamiento en el que se usó nitrógeno al 4,0 % fue de $1,44 \times 10^{-6} \mu\text{g/cel} \times \text{mL}$, mostrando una disminución de 41 % que evidencia que el tratamiento con una concentración de nitrógeno al 5,0 % favorece la producción, aunque no en cantidades mayores a las del tratamiento con

una concentración de nitrógeno de 4,0 %. Este tratamiento (nitrógeno al 5,0 %) se observó microscópicamente, dando resultado de estrés al día 18 (muestreo 6), lo que indica que el proceso de síntesis de astaxantina es más lento en este tratamiento comparado con el tratamiento con una concentración de nitrógeno al 4,0 % (figura 8).

Figura 8. Morfología con tratamiento de nitrógeno al 5,0 % (40X)



Al comparar la producción de astaxantina en los tratamientos 1 y 2 y control, se observó que la producción fue 40 % mayor en el tratamiento 1, con lo que se concluye que el factor de estrés en el cual se utilizó una concentración de 4,0 % de nitrógeno y una alta irradiancia es favorable para obtener una muy buena producción del pigmento.

El análisis estadístico realizado (ANOVA 95 %) para estos tratamientos evidenció que no existen diferencias significativas entre el tratamiento de nitrógeno al 5,0 y 4,0 % combinadas con la irradiancia alta ($P = 0,053$). Sin embargo, los niveles de astaxantina son 40 % mayores en la concentración obtenida en este estudio para el tratamiento con nitrógeno al 4,0 %, combinado con la irradiancia alta utilizada (140 μE), que para el tratamiento que contiene 5,0 % de nitrógeno.

Expresión de genes

Se observaron la expresión de genes pertenecientes a la cascada de producción de astaxantina. Estos genes se denominan fitoeno sintetasa (*psy*), β -caroteno Hidroxilasa (*chy*), fitoeno desaturasa (*pds*), licopeno β -ciclase (*lcy*) y β -caroteno ketolasa (*bkt*), y son fundamentales para llevar a cabo el proceso de producción/o biosíntesis del carotenoide. La expresión del gen *bkt* se da gracias a que este se encuentra en mayores cantidades cuando en estado de célula verde

flagelada y va disminuyendo a medida que esta se desarrolla, como afirman Huang, Chen y Sandmann (2005), cuando la expresión del gen aumenta su concentración debido a que la microalga se expone a factores de estrés y se detecta en concentraciones basales al completar la cascada de producción de astaxantina (figuras 9 y 10).

En cuanto al gen *pds*, se puede afirmar que se encuentra presente siempre que hay concentraciones de ARNm durante el periodo de acumulación de astaxantina, lo que refiere que es regulado según el nivel de ARNm disponible, como sostienen Grünewald, Eckert, Hirschberg y Hagen (2000), quienes afirman que este gen se encuentra en el cloroplasto y regula la producción de astaxantina, la cual, a su vez, es regulada por la disponibilidad de ARNm en el momento de la síntesis y acumulación del caroteno; por ende, en los resultados de la electroforesis y PCR para este gen, se observa que siempre estuvo presente durante la biosíntesis, con una mayor intensidad en el tratamiento con nitrógeno al 4,0 % (figura 9). Por otra parte, los factores de estrés ambientales aumentan las condiciones estacionales de los genes *psy* y *chy*, logrando la regulación diferencial de los niveles de ARNm de los genes de la biosíntesis de astaxantina, como expresan Steinbrenner y Linden (2001), quienes refieren que los ARNm de estos genes están regulados en respuesta a diferentes condiciones de estrés.

Figura 9. Expresión de genes en el control

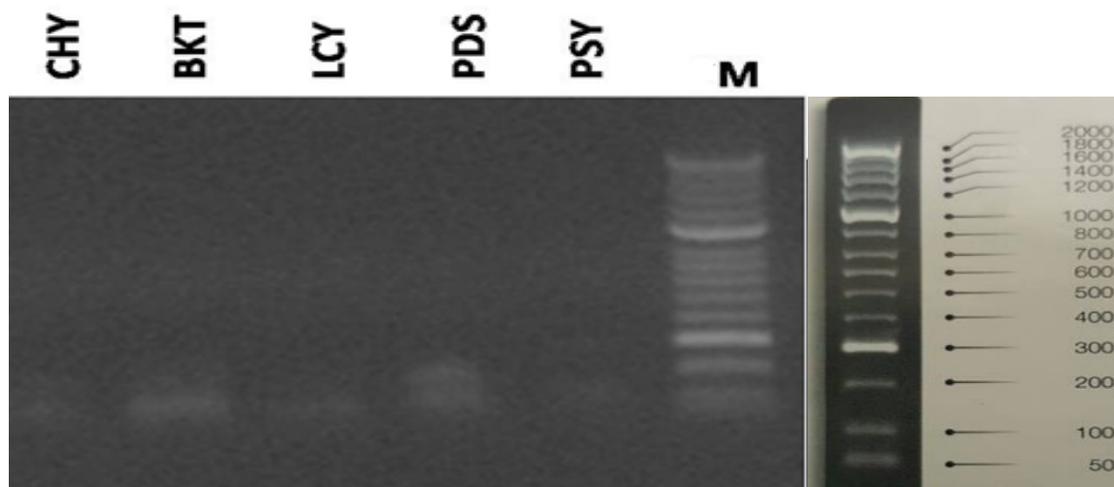
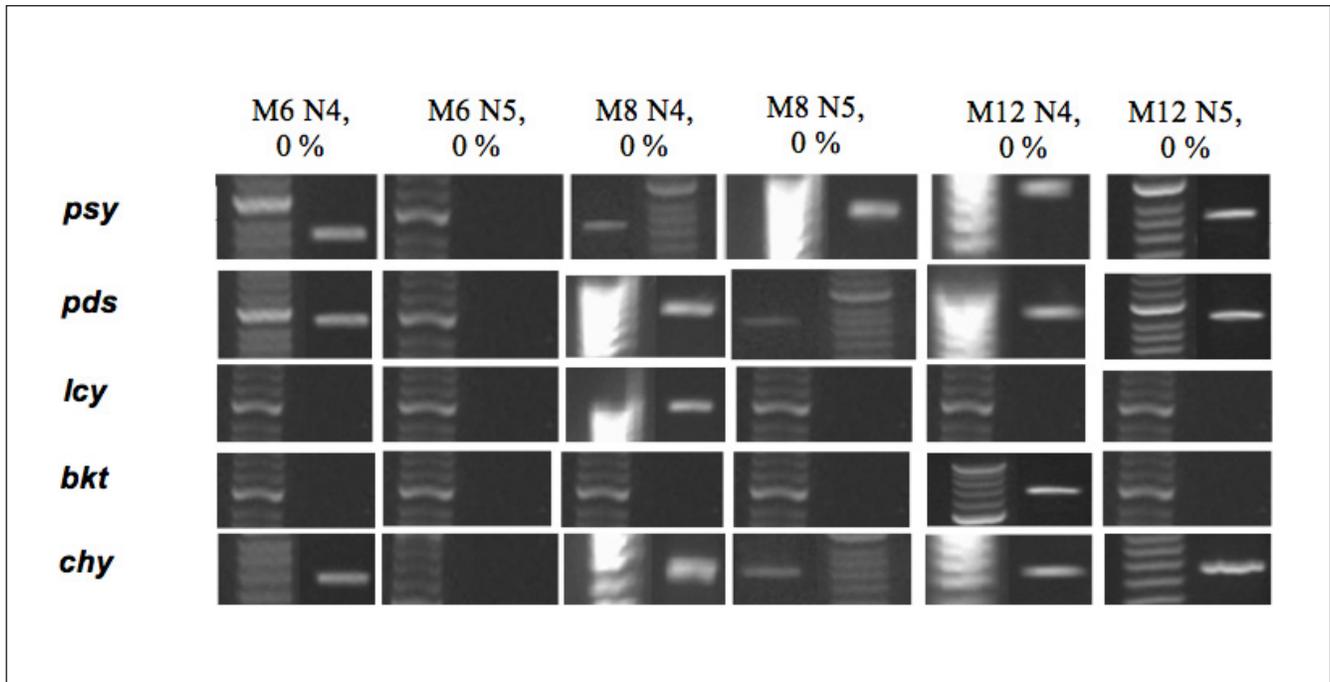


Figura 10. Expresión de genes de la ruta biosintética de la astaxantina en los tratamientos nitrógeno 4,0 %, nitrógeno 5,0 % día 18 (muestreo 6), día 24 (muestreo 8) y día 36 (muestreo 12)



La expresión de *psy* y *chy* se evidenció en todos los muestreos 6 día 18, muestreo 8 día 24, muestreo 12 día 36 del tratamiento de nitrógeno al 4,0 %, en comparación con el tratamiento de nitrógeno al 5,0 %, donde se observa solo expresión de estos genes en los muestreos 8 (día 24) y 12 (día 36) (figuras 9-11). En cuanto al gen *lcy*, este se observó solo en el muestro 8 (24 día) del tratamiento con nitrógeno al 4,0 %, lo que se concluye que la disponibilidad de ARNm en ese momento del experimento no era la suficiente para expresión de la mayoría de los genes (*psy*, *pds*, *lcy* y *chy*).

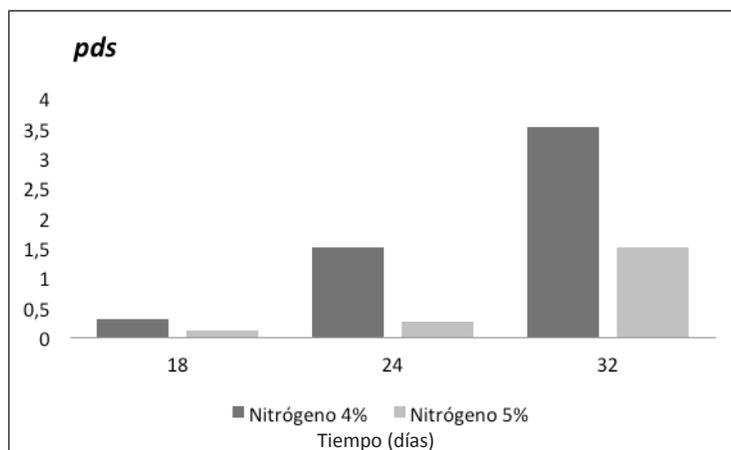
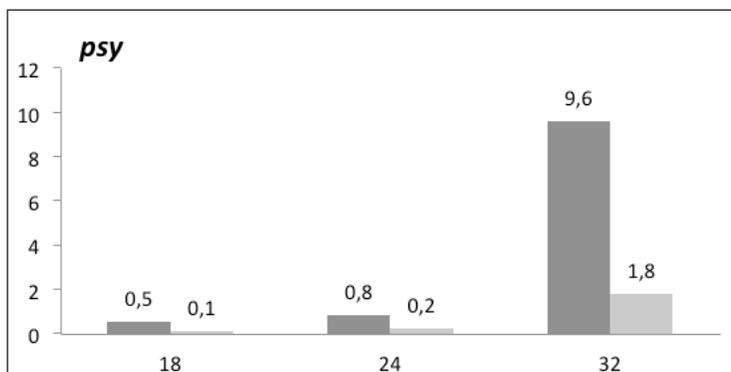
La ausencia de expresión de genes de la ruta biosintética de la astaxantina para el control se debe a que este medio de cultivo RM no presentó ninguna condición de estrés en la deficiencia de nutrientes, ya que cuenta con los niveles adecuados de nitrógeno; hecho que no influye en la producción y acumulación de astaxantina. Referente a esta situación, en el muestreo 6 con nitrógeno al 5,0 % se evidenció una

ausencia similar de los genes de la síntesis del carotenoide. Esto se debe a que la concentración de ARNm en este momento fue óptima para lograr una expresión de genes marcada, en comparación con el tratamiento con nitrógeno al 4,0 % (figuras 9 y 10).

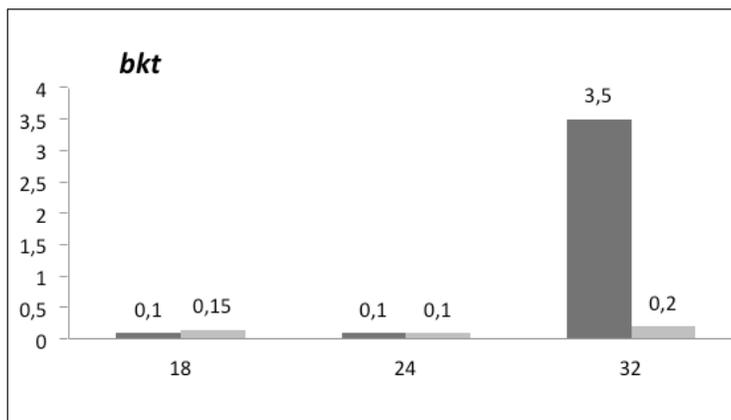
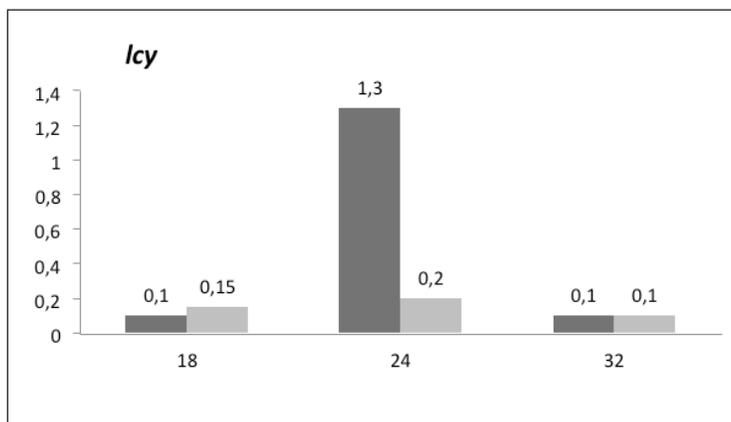
Por último, se llega a la verificación de la presencia de los genes de la ruta biosintética obtenidos en la PCR mediante el proceso de secuenciación, donde la identidad varió entre 93 y 100 %, con 0 % de discrepancias, con lo cual se concluye que los genes involucrados en la ruta biosintética se expresan bajo el factor de estrés ensayado, caracterizado por la disminución en la concentración de nitrógeno: 4,0 y 5,0 %, logrando una mayor expresión de los genes *psy*, *pds* y *chy* en el tratamiento con nitrógeno al 4,0 % (figura 11).

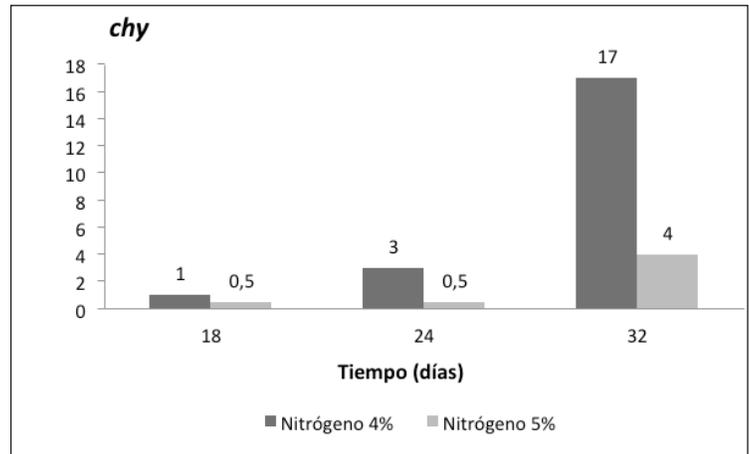
Figura 11. Nivel de expresión de genes ruta biosintética de astaxantina. Los datos mostrados son promedio de dos experimentos independientes expresados como intensidades de bandas de los genes *psy*, *pds*, *lcy*, *bkt* y *chy*

Intensidad de banda (Int.)



Intensidad de banda (Int.)





Como se mencionó previamente, la concentración de astaxantina es 40 % mayor en el tratamiento con nitrógeno al 4,0 % con respecto al tratamiento con nitrógeno al 5,0 % combinado con la irradiancia alta. Así mismo, se logró una mayor expresión de los genes *psy*, *pds*, *lcy bkt* y *chy* en el tratamiento con nitrógeno al 4,0 %, mientras que con nitrógeno al 5,0 % solo se expresaron los genes *psy*, *pds* y *chy*.

DISCUSIÓN

El medio de cultivo RM utilizado contiene nitrato de sodio (NaNO_3) en concentraciones que permiten un buen desarrollo celular. No obstante, al disminuir sus niveles, estimula una mayor acumulación del carotenoide, como señalan Orosa, Franqueira y Cid (2005), quienes indican que la disponibilidad de nitratos en el medio en concentraciones bajas (0,15 g/L) permite la acumulación de astaxantina y evita un cese en el proceso de división celular; como se pudo evidenciar en este trabajo de investigación.

Las concentraciones bajas de nitrógeno no afectaron el crecimiento celular ni la producción de la astaxantina, permitiendo afirmar que una concentración de nitrógeno de 4,0 % (12,0104 mg/L de NaNO_3) provoca una mayor acumulación de astaxantina en comparación con la concentración de nitrógeno al 5,0 % (15,013 mg/L de NaNO_3), según los criterios y las condiciones de estrés aplicadas en este experimento.

Las bajas concentraciones de nitrógeno ensayadas no fueron desfavorables para la microalga en cuanto a su

desarrollo celular en el medio de cultivo RM. En contraste, se pudo mostrar que el porcentaje de nitrógeno al 4,0 % (12,010 mg/L de NaNO_3) provocó mayor acumulación de astaxantina en comparación con la concentración de nitrógeno al 5,0 % (15,013 mg/L de NaNO_3).

Los datos anteriores están sustentados en un registro fotográfico que permite observar los cambios morfológicos y la cuantificación de astaxantina y clorofila, evidenciando que en el tratamiento de nitrógeno al 4,0 % se inició a la producción de astaxantina en una cantidad considerable al día 15 del muestreo 5, mientras que en el tratamiento de nitrógeno al 5,0 % dicha producción se dio a partir del día 18 muestreo 6.

Las bajas concentraciones de nitrógeno no afectaron el crecimiento de *H. pluvialis*, puesto que al noveno día se estabilizó la curva de crecimiento debido a que la cantidad de nitrógeno disponible en el medio se pudo haber agotado, logrando una transición al estadio de enquistamiento de la microalga; momento en el cual se inició de producción del metabolito secundario, manteniendo las mismas concentraciones de células hasta el día 36 muestreo 12 con respecto al control (concentraciones normales de nitrógeno). Por lo anterior, se concluyó que bajas concentraciones de nitrógeno no afectan el crecimiento celular hasta cuando este se agota en el medio. De esta manera empieza la biosíntesis de astaxantina por parte de *H. pluvialis*, ya que se ha reportado que la concentración de nitrógeno baja da como resultado una productividad de biomasa reducida. Como resultado,

las células pueden alcanzar un cierto grado de crecimiento/producción de biomasa desde células vegetativas verdes a los quistes rojos, sintetizando una gran cantidad de astaxantina como parte de un mecanismo de defensa enzimática celular para hacer frente al estrés combinado, el cual es generado también por la irradiancia alta (Kurmen *et al.*, 2013).

Una característica que se observa en la microalga *H. pluvialis* al inducir un factor de estrés con la deficiencia de nitrógeno es el enquistamiento de la célula, el cual ocurre al detectar ausencia o disminución de este nutriente en el medio y que resulta en un aceleramiento de la producción de astaxantina, favoreciendo un ligero color rojo en los quistes y un aumento en su tamaño celular (Kang, An, Park, & Sim, 2006; Luna, Menéndez, Álvarez, & Flores, 2009; Niño-Castillo *et al.*, 2017) tal como se observó en este trabajo de investigación.

En el tratamiento de nitrógeno al 4,0 % se evidenció un enquistamiento de la microalga al día 15 (muestra 5), observándose al microscopio una doble membrana, un ligero color rojo y un aumento de tamaño que se trata de un proceso de supervivencia de *H. pluvialis* al detectar una disminución de nutrientes en el medio. El mismo comportamiento se observó para el tratamiento de nitrógeno al 5,0 % al día 18 (muestra 6) y para el control al día 27 (muestra 9). Los resultados obtenidos concuerdan con que la baja concentración de nitrógeno es el mayor factor en estimular la síntesis y acumulación de astaxantina y sus acilsteres en *H. pluvialis* (Richmond, 2008).

La iluminación del cultivo de manera continua juega un papel importante en el crecimiento y la producción de astaxantina, como refieren Imamoglu *et al.* (2009) en su investigación, señalando que la iluminación continúa, en lugar de ciclos luz/oscuridad, podría ser una fuente adicional de estrés y ser utilizado para el proceso de acumulación de astaxantina. En este trabajo, el ciclo luz/oscuridad empleado fue de 20h: 4h, obteniendo una síntesis del carotenoide en cantidades favorables.

La intensidad lumínica utilizada en este proyecto fue de 140 μE que, en comparación con lo afirmado por Fábregas, Domínguez y Álvarez (1998), permite evidenciar que la intensidad de luz a la cual se puede lograr estimular la producción de astaxantina es superior a 90 μE . Por ende, se deduce que a mayor intensidad

de luz se genera un tipo de estrés y una buena síntesis del carotenoide, sumando como variable que a altas intensidades de luz es posible un mayor consumo de nitrógeno ($40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Lo anterior se vio reflejado en los resultados obtenidos en esta investigación, ya que al combinar las variables de luz alta y deficiencia de nitrógeno se logró una aceleración en la acumulación de astaxantina.

En respuesta a la alta intensidad de luz, la clorofila y otros pigmentos involucrados en la fotosíntesis disminuyen, mientras que los carotenoides secundarios (zeaxantina, β -caroteno, astaxantina) se incrementan, funcionando a modo de agentes fotoprotectores. Estos carotenoides a menudo se acumulan en estructuras especiales tales como plastoglobulos de plástidos o cuerpos lipídicos citoplasmáticos, contribuyendo a prevenir el exceso de la energía lumínica del alcance de la maquinaria fotosintética (Richmond, 2008).

En estudios similares se ha observado que la deficiencia de nitrógeno combinada con un alto nivel de estrés lumínico es el método más efectivo para la inducción máxima de astaxantina (Boussiba & Vonshak, 1991; Fábregas *et al.*, 2001; Torzillo, Göksan, Isik, & Gökpinar, 2005), lo cual se estableció en este estudio, en el cual se observó mayor concentración de astaxantina cuando se trabajó con nitrógeno al 4,0 % e irradiancia de 140 μE , confirmando que la productividad máxima de astaxantina es resultado de la combinación de estos dos parámetros. El principal objetivo del cultivo de *Haematococcus* es garantizar la productividad máxima de astaxantina, debido a que, como se ha mencionado, una luz óptima en un medio de cultivo con agotamiento de nitrógeno durante la etapa roja sería la mejor condición para lograr el contenido máximo de astaxantina celular, aunque con una productividad de biomasa algo reducida.

Los factores de estrés utilizados (aumento de la intensidad de luz y deficiencia de nitrógeno) logran una reducción de la piscina plastoquinona, la cual tiene un papel de sensor que, al disminuir, activa el potencial redox del sistema fotosintético para la activación transcripcional de genes carotenogénicos (Vidhyavathi *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

El tratamiento realizado bajo los factores de estrés de deficiencia de nitrógeno al 4,0 % y una irradiancia alta de 140 μE , junto con las condiciones de CO_2 al 5 %, medio de cultivo RM, pH 6,7, fotoperiodo ciclo luz/oscuridad 20h: 4h, luz blanca y una temperatura de 25 °C, permitieron obtener una mayor concentración de astaxantina ($3,52 \times 10^{-6}$ $\mu\text{g}/\text{cel.} \times \text{mL}$) y la expresión de los genes *psy*, *pds*, *lcy bkt* y *chy*, con respecto al tratamiento con nitrógeno al 5,0 %, en el cual solo se expresaron los genes *psy*, *pds* y *chy* y se obtuvo un 40 % menos de producción de astaxantina. Sin embargo, según el ANOVA (95 %) realizado, no se presentaron diferencias significativas ($P = 0.053$) entre tratamientos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, al grupo Bioprocesos y Control (GBYC), a la Universidad de La Sabana y al Grupo de procesos agroindustriales (GIPA).

Nomenclatura

RM	Medio de cultivo Rudic
UV	Rayos ultravioleta
pH	Concentración de iones hidrógeno
<i>PSY</i>	Gen fitoeno sintasa
<i>BKT</i>	Gen β -caroteno ketolasa
<i>CHY</i>	Gen β -caroteno gidroxilasa
<i>PDS</i>	Gen fitoeno desaturasa
<i>LCY</i>	Gen licopeno β -ciclasa)
L	Litro
°C	Grados centígrados
USA	Estados Unidos

mL	Mililitros
cel. /mL	Células/mililitro
rpm	Revoluciones por minuto
$\mu\text{g}/\text{mL}$	Microgramo/militro
nm	Nanómetro
Ug/cel.	Microgramo/célula
ARN	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa retrotranscriptasa
cdNA	Ácido desoxirribonucleico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
ITS	Espaciadores internos transcriptos
pb	Pares de base
TBE	Tris-borato-EDTA
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacetico
<i>BLAST</i>	<i>The Basic Local Alignment Search Too</i>
CO_2	Dióxido de carbono
BBM	Medio de cultivo <i>Bold Basal Medium</i>
OHM	Medio de cultivo medio <i>Haematococcus</i>
cel./día	Células/día
$\mu\text{g}/\text{cel.} \times \text{mL}$	Microgramo/célula por mililitro
NaNO_3	Nitrato de sodio
mg/L	Miligramos/litro
g/L	Gramo/litro
μE	Microeinst
$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Micromol por metro cuadrado por segundo
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero

REFERENCIAS

- Abalde, J., Orosa-García, M., Torres, E., & Cid, A. (1999). La microalga *Haematococcus* como fuente de astaxantina. En *Simposio Científico en Biología Celular y Molecular*, La Coruña, España.
- American Public Health Association [APHA] (1992). *AWWA and WEF: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (18th Ed.). Washington D. C.: American Public Health Association/American Water Works Association and Water Environment Federation.
- Armenta, R. E., Guerrero-Legarreta, I., & Huerta, S. (2002). Extracción de caroproteínas a partir de residuos de camarón fermentados. *Revista mexicana de ingeniería química*, 1(1-2), 49-55.
- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International journal of food microbiology*, 23(3-4), 277-294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Boussiba, S., & Vonshak, A. (1991). Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant and cell Physiology*, 32(7), 1077-1082. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078171>
- Brinda, B. R., Sarada, R., Kamath, B. S., & Ravishankar, G. A. (2004). Accumulation of astaxanthin in flagellated cells of *Haematococcus pluvialis*—cultural and regulatory aspects. *Current Science*, 87(9), 1290-1295. <https://www.jstor.org/stable/24109449>
- Candelas-Cadillo, M. G., Alanís-Guzmán, M. G. J., Bautista-Justo, M., Del Río-Olague, F., & García-Díaz, C. (2005). Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 4(3), 299-307.
- Cerón, M. C. (2013). Producción de microalgas con aplicaciones nutricionales para humanos y animales. *Cuadernos de estudios agroalimentarios*, 87(5), 83-101.
- Chavarro-Mesa, E. (2011). *Variabilidad genética y detección molecular de poblaciones del hongo *Rhizoctonia solani* en regiones colombianas productoras de papa* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Cifuentes, A. S., Gonzalez, M. A., Vargas, S., Hoeneisen, M., & Gonzalez, N. (2003). Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Nevada, USA) under laboratory conditions. *Biological Research*, 36(3-4), 343-357. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602003000300006>
- Córdoba-Castro, N. M., Acero-Reyes, N. L., Duque-Buitrago, L. F., Jiménez-Aguilar, L. J., Serna-Jiménez, J. A. (2015). Obtención y caracterización de astaxantina de la microalga *Haematococcus Pluvialis*. *UG Ciencia*, 21, 73-82. <https://doi.org/10.18634/ugcj.21v.1i.426>
- Domínguez-Bocanegra, A. R., Legarreta, I. G., Jerónimo, F. M., & Campocoso, A. T. (2004). Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource technology*, 92(2), 209-214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.04.001>
- Fábregas, J., Domínguez, A., Álvarez, D. G., Lamela, T., & Otero, A. (1998). Induction of astaxanthin accumulation by nitrogen and magnesium deficiencies in *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Letters*, 20(6), 623-626. <https://doi.org/10.1023/A:1005322416796>
- Gong, X., & Chen, F. (1998). Influence of medium components on astaxanthin content and production of *Haematococcus pluvialis*. *Process Biochemistry*, 33(4), 385-391. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(98\)00003-X](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00003-X)
- González, M. A., Cifuentes, A. S., & Gómez, P. I. (2009). Crecimiento y contenido total de carotenoides en cuatro cepas chilenas de *Haematococcus pluvialis* flotow, bajo condiciones de laboratorio. *Gayana. Botánica*, 66(1), 58-70. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432009000100006>
- Grünwald, K., Eckert, M., Hirschberg, J., & Hagen, C. (2000). Phytoene desaturase is localized exclusively in the chloroplast and up-regulated at the mRNA level during accumulation of secondary carotenoids in *Haematococcus pluvialis* (Volvocales, Chlorophyceae). *Plant Physiology*, 122(4), 1261-1268. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1261>
- Huang, J. C., Chen, F., & Sandmann, G. (2006). Stress-related differential expression of multiple

- β -carotene ketolase genes in the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of biotechnology*, 122(2), 176-185. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.09.002>
- Imamoglu, E., Dalay, M. C., & Sukan, F. V. (2009). Influences of different stress media and high light intensities on accumulation of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *New biotechnology*, 26(3-4), 199-204. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2009.08.007>
- Imamoglu, E., Vardar, F., Sukan, M., & Dalay, C. (2007). Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(3), 5-9.
- Kang, C. D., An, J. Y., Park, T. H., & Sim, S. J. (2006). Astaxanthin biosynthesis from simultaneous N and P uptake by the green alga *Haematococcus pluvialis* in primary-treated wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 31(3), 234-238. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.08.002>
- Kobayashi, M., Kakizono, T., & Nagai, S. (1993). Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cyst cells of a green unicellular alga, *Haematococcus pluvialis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(3), 867-873. <https://doi.org/10.1128/AEM.59.3.867-873.1993>
- Kurmen, J. E. C., González, G., & Klotz, B. (2013). Producción de Astaxantina en *Haematococcus pluvialis* bajo diferentes condiciones de estrés. *Nova*, 11(19), 93-104.
- Luna, L. G., Menéndez, J., Álvarez, I., & Flores, I. (2009). Efecto de diferentes protocolos de aplicación de un campo magnético (0.03 T) sobre el crecimiento, viabilidad y composición pigmentaria de *Haematococcus pluvialis* Flotow en suficiencia y ausencia de nitrógeno. *Bioteología vegetal*, 9(2), 105-117.
- Martínez-Silva, A. S. (2011). *Evaluación del crecimiento celular y de los pigmentos obtenidos de la microalga Haematococcus pluvialis (Chlorophyta: Volvocales) cultivada en diferentes medios* (Disertación doctoral). Instituto Técnico Nacional, Ciudad de México, México.
- Mendoza, N. M., Jaramillo, C. A., Guhl, F., Padilla, J. C., & Rentería, M. C. (2001). Diagnóstico de malaria por el método de la PCR anidada. *Biomédica*, 21(4), 320-327. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v21i4.1124>
- Niño-Castillo, C. M., Rodríguez-Rivera, F. C., Díaz, L. E., & Lancheros-Díaz, A. G. (2017). Evaluation of Cell Growth Conditions for the Astaxanthin Production as of *Haematococcus pluvialis* Microalgae. *Nova*, 15(28), 19-31. <https://doi.org/10.22490/24629448.2073>
- Nunes, M., Vieira, A. A. H., Pinto, E., Carneiro, R. L., & Monteiro, A. C. (2013). Carotenogenesis in *Haematococcus pluvialis* cells induced by light and nutrient stresses. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 825-832. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800003>
- Orosa, M., Franqueira, D., Cid, A., & Abalde, J. (2005). Analysis and enhancement of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 96(3), 373-378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.04.006>
- Ponce-Palafox, J. T., Arredondo-Figueroa, J. L., & Vernon-Carter, E. J. (2006). Carotenoids from plants used in diets for the culture of the pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 5(2), 157-165.
- Qiagen (2011). *RT2 Easy First Strand Handbook, For cDNA synthesis*. Qiagen
- Ramírez-Landínez, D. M. (2013). *Evaluación del crecimiento y producción de astaxantina por Haematococcus pluvialis en un fotobiorreactor tipo airlift* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Richmond, A. (Ed.). (2008). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. John Wiley & Sons.
- Sarada, R., Tripathi, U., & Ravishankar, G. A. (2002). Influence of stress on astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* grown under different culture conditions. *Process Biochemistry*, 37(6), 623-627. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00246-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00246-1)

- Scibilia, L., Girolomoni, L., Berteotti, S., Alboresi, A., & Ballottari, M. (2015). Photosynthetic response to nitrogen starvation and high light in *Haematococcus pluvialis*. *Algal Research*, *12*, 170-181. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.024>
- Steinbrenner, J., & Linden, H. (2001). Regulation of two carotenoid biosynthesis genes coding for phytoene synthase and carotenoid hydroxylase during stress-induced astaxanthin formation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant physiology*, *125*(2), 810-817. <https://doi.org/10.1104/pp.125.2.810>
- Steinbrenner, J., & Sandmann, G. (2006). Transformation of the green alga *Haematococcus pluvialis* with a phytoene desaturase for accelerated astaxanthin biosynthesis. *Applied and environmental microbiology*, *72*(12), 7477-7484. <https://doi.org/10.1128/AEM.01461-06>
- Torzillo, G., Göksan, T., Isik, O., & Gökpınar, Ş. (2005). Photon irradiance required to support optimal growth and interrelations between irradiance and pigment composition in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *European Journal of Phycology*, *40*(2), 233-240. <https://doi.org/10.1080/09670260500123609>
- Vidhyavathi, R., Venkatachalam, L., Sarada, R., & Ravishankar, G. A. (2008). Regulation of carotenoid biosynthetic genes expression and carotenoid accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* under nutrient stress conditions. *Journal of Experimental Botany*, *59*(6), 1409-1418. <https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/59/6/1409/485379>. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern048>
- Vidhyavathi, R., Sarada, R., & Ravishankar, G. A. (2009). Expression of carotenogenic genes and carotenoid production in *Haematococcus pluvialis* under the influence of carotenoid and fatty acid synthesis inhibitors. *Enzyme and Microbial Technology*, *45*(2), 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.05.005>
- Wan, M., Zhang, J., Hou, D., Fan, J., Li, Y., Huang, J., & Wang, J. (2014). The effect of temperature on cell growth and astaxanthin accumulation of *Haematococcus pluvialis* during a light-dark cyclic cultivation. *Bioresource technology*, *167*, 276-283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.030>
- Wang, J., Sommerfeld, M. R., Lu, C., & Hu, Q. (2013). Combined effect of initial biomass density and nitrogen concentration on growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta) in outdoor cultivation. *Algae*, *28*(2), 193-202. <https://doi.org/10.4490/algae.2013.28.2.193>

Efectos de la densidad de cultivo y de proteína en la dieta sobre el desempeño del capaz (*Pimelodus grosskopfii*) en estanques

Effects of Dietary Culture and Protein Density on the Performance of Capaz (*Pimelodus grosskopfii*) in Ponds

Silvia Cristina Carrera

Magister en acuicultura, Universidad del Magdalena. Centro Agroempresarial y Desarrollo Pecuario del Huila, Grupo de Investigación Innovagro, Garzón, Huila, Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-0096-9255>
silviacrisco@yahoo.com

Fecha de recepción: 24 de mayo de 2019
Fecha de aceptación: 20 de septiembre de 2019

Sugerencia de citación: Carrera, S. C. (2019). Efectos de la densidad de cultivo y de proteína en la dieta sobre el desempeño del capaz (*Pimelodus grosskopfii*) en estanques. *Mutis*, 9(2), 25-33.
doi:10.21789/22561498.1524

RESUMEN

La diversificación de la piscicultura colombiana se restringe sobre aquellas especies calificadas como promisorias. En el grupo de los silúridos se tienen representantes sobre los que se ha logrado estabilizar algún nivel de constante esfuerzo experimental en el país. En particular, con el capaz (*Pimelodus grosskopfii*), los desarrollos alcanzados se centran en la estandarización de manejo reproductivo, pero la información sobre su comportamiento en condiciones de cultivo aún es deficiente. En un estanque en tierra se manejaron alevinos de capaz obtenidos por reproducción artificial en tres densidades de siembra (2, 3 y 4 peces m⁻²), a los que se suministró concentrado comercial de 25 y 32 % de proteína bruta (PB); se configuró un diseño con un total de 6 tratamientos, cada uno con tres réplicas. El seguimiento se realizó durante 6 meses con muestreos quincenales en los que se evaluó el desempeño. El monitoreo de calidad del agua fue constante durante el periodo. En el crecimiento se demostró una interacción significativa ($\alpha = 0,05$) entre la densidad de siembra y el porcentaje de proteína en la dieta. Se registró un mayor desempeño con 25 % PB y en densidades de siembra de 2 y 4 peces m⁻².

Palabras clave: *P. grosskopfii*, cultivo, densidad de siembra, crecimiento, estanques en tierra.



ABSTRACT

The diversification of Colombian fish farming is restricted to those species that are described as promising. The group of the silurids includes species on whom it has been possible to stabilize some level of constant experimental effort in the country. In particular, some developments regarding the standardization of the reproductive management of able (*Pimelodus grosskopfii*) have been achieved; however, information on their behavior under cultivation conditions is only marginal. In a pond on the ground, fry of fodder obtained by artificial reproduction were managed at three planting densities (2, 3 and 4 fish m⁻²) with commercial concentrate of 25 and 32% crude protein (CP); a design was configured with a total of 6 treatments, each with three replicates. Follow-up was carried out for 6 months, with biweekly sampling in which their performance was evaluated. Water quality monitoring was constant during the period, and in the growth a significant interaction ($\alpha=0,05$) between the seed density and the percentage of protein in the diet was demonstrated. A higher performance was recorded with 25% CP and at planting densities of 2 and 4 fish m⁻².

Keywords: *P. grosskopfii*, crop, seeding density, growth, ponds on land.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura en Colombia se muestra como uno de los sectores de la economía que ha venido presentando un importante y significativo nivel de crecimiento anual, cuya estructura productiva depende básicamente de tres especies, dos de las cuales son consideradas exóticas (Parrado-Sanabria, 2012). A pesar de que se cuenta con suficientes opciones con potencial, la posible diversificación es un objetivo aún no materializado en la práctica. Para metas de producción en cautiverio o para establecer esquemas de repoblamiento que permitan sostener extracciones pesqueras, las limitaciones se identifican en el desconocimiento de varios aspectos de carácter biológico y técnico de algunas especies de peces (Le François, Lemieux, & Blier, 2002). Dentro de la multiplicidad de particularidades que conlleva el término de paquete tecnológico, es claro que persisten elementos con avance muy reducidos en algunas de las especies que han sido calificadas con gran potencial productivo (Cruz *et al.*, 2010).

El capaz (*Pimelodus grosskopfii*) se distribuye en las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca, San Jorge, Sinú, Cesar, Atrato, Baudó y Catatumbo (Carrera & Valbuena-Villareal, 2015) y en los embalses de Betania y Prado (Villaneda, 1977), ubicados en los departamentos de Huila y Tolima, respectivamente. A nivel comercial, esta especie tiene una alta aceptación y es parte importante de economías locales que se dedican a su extracción. Además, esta ha sido calificada

como promisoría dentro de las posibilidades piscícolas del país (Villa-Navarro, 1999) y como parte de un desarrollo experimental que ha sido constante durante los últimos años.

Hasta el momento, se han establecido protocolos de reproducción que habilitan condiciones para asegurar una mayor oferta de alevinos, pero se reconoce que aún es necesario estandarizar procesos para que el acceso a semilla pueda alcanzar regularidad comercial (Valbuena-Villareal, Zapata, & Cruz, 2010). La principal línea de investigación se ha enfocado en la reproducción, incluyendo algunos aspectos sobre su manejo temprano (Valbuena-Villareal, Zapata, & Gutiérrez, 2012), hábitos alimenticios, morfometría y estados gonadales (Ramírez & Pinilla, 2012), así como en algunos ensayos de cultivo en jaulas flotantes (Carrera & Valbuena-Villareal, 2015). Por lo tanto, estudios publicados sobre su comportamiento en cautiverio son escasos. Por lo anterior, al igual que sucede con otros bagres, las posibilidades reales de producción piscícola comercial de esta especie siguen siendo bajas (Cruz, 2010).

Con el fin de ampliar el conocimiento y disponer de registros obtenidos directamente en condiciones de cultivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño productivo de juveniles de capaz en estanques en tierra bajo diferentes densidades de siembra y con varios niveles de proteína bruta en la dieta, por medio de un seguimiento adelantado durante un periodo de 6 meses.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los alevinos fueron adquiridos en la Estación Piscícola del Alto Magdalena, AUNAP (Gigante, Huila), y trasladados hasta una granja privada ubicada en el corregimiento de Fortalecillas (Neiva, Huila). El lote estuvo compuesto por 360 peces con un peso medio de $37,6 \pm 2,4$ g y una longitud total de $17,5 \pm 1,7$ cm. En un estanque de 600 m^2 con divisiones internas en malla plástica se acondicionaron 18 unidades experimentales de 20 m^2 cada una. Aleatoriamente, se distribuyeron tres densidades de siembra (D1:2, D2:3 y D3:4 peces m^{-2}) con un suministro de concentrado comercial para tilapias con dos niveles de proteína bruta (25 y 32 %). El ensayo se configuró con 6 tratamientos, cada uno por triplicado, para un total de 18 grupos. En el estanque, el recambio diario fue de 5 % y el seguimiento tuvo una duración de 180 días.

Después de la siembra, los peces fueron mantenidos en aclimatación por 48 horas; tiempo en el que no se suministró alimento, permitiendo también que las pérdidas registradas por manejo el inicial fueran repuestas para conservar las densidades experimentales. Al no disponer de tablas de alimentación

específicas, se adaptaron las tablas recomendadas por Mojica, Rodríguez y Orozco (2003) para el yaque (*Leiarius marmoratus*) de la siguiente manera: (i) desde la siembra hasta 30 g el suministro fue a voluntad; (ii) entre 30 y 150 g el 3,5 % de la biomasa; (iii) para tallas superiores, el 2,5 % de la biomasa. El alimento fue ofrecido dos veces al día (9:00 y 15:00 horas) en cantidades ajustadas cada quince días con base en los muestreos de crecimiento realizados. En cada unidad, semanalmente se midieron parámetros de calidad del agua en temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxígeno disuelto (mg L^{-1}), pH, nitritos (mg L^{-1}), amonio (mg L^{-1}), alcalinidad (mg L^{-1}) y dureza (mg L^{-1}). Para el efecto se utilizó una sonda multiparamétrica (ysi 566) y un kit colorimétrico de aguas (Aquamerck).

Desempeño productivo

En los muestreos quincenales se midió el 10 % de la población presente en cada unidad experimental, tomando registros de longitud total (cm), longitud estándar (cm) y peso (g) por medio de un ictiómetro y una balanza digital (Ohaus Scout Pro). Con los datos finales, a los 180 días se calcularon las siguientes variables productivas:

$$\text{Ganancia de peso (g): } GP = \text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)} \quad (\text{Ec. 1})$$

$$\text{Ganancia en longitud (cm): } GT = \text{longitud final (cm)} - \text{longitud inicial (cm)} \quad (\text{Ec. 2})$$

$$\text{Conversión alimenticia: } TCA = \frac{\text{Cantidad de alimento suministrado (g)}}{\text{ganancia total en peso (g)}} \quad (\text{Ec. 3})$$

$$\text{Factor de crecimiento relativo: } FCR = \frac{\text{Peso final (g)}}{\text{Longitud total final (cm)}} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$\text{Factor de condición: } K = \frac{\text{Peso final (g)}}{\text{Longitud total (cm)}^3} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$\text{Tasa de crecimiento específico: } TCE = \frac{\text{Ln peso final} - \text{Ln peso inicial}}{\text{tiempo de cultivo}} \times 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

$$\text{Sobrevivencia \%} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ final de individuos}}{\text{N}^{\circ} \text{ inicial de individuos}} \times 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

En el momento de la cosecha se sacrificó el 10 % de la población de cada tratamiento por sobreexposición a anestésico (MS 222). Mediante disección, se retiraron las vísceras, el hígado y la grasa presente, los cuales fueron pesados. Con los datos se calcularon los índices viscerosomático (IVS), hepatosomático (IHS) y de grasa visceral (IGV).

Los datos se presentan como media \pm desviación estándar (DE). Para determinar el efecto de los tratamientos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, verificando previamente los supuestos de normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene). Cuando se presentaron, se utilizó la prueba de Tukey para precisar diferencias. El criterio de significancia fue $p < 0,05$. Para un caso se estableció (por regresión) el modelo de crecimiento en peso con mayor ajuste (R^2). Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SPSS 13,0.

RESULTADOS

Las variables fisicoquímicas del agua fueron relativamente estables y no se presentaron diferencias ni entre las unidades experimentales ni entre las mediciones durante el periodo de seguimiento. Con el amonio se presentó la mayor variación entre los muestreos ($cv = 84,3\%$), sin que los peces llegaran a mostrar síntomas de toxicidad; los niveles de alcalinidad, dureza, con la estabilidad del pH y su cercanía a valores neutros, podrían explicar esta circunstancia (tabla 1).

A partir de la talla de siembra ($17,5 \pm 19,6$ cm de longitud total y $37,6 \pm 2,4$ g de peso), en los tratamientos D1-25 % y D3-25 % se alcanzaron pesos finales cercanos a los 200 g, con incrementos en longitud y peso significativamente diferentes a los demás tratamientos (tabla 2). Se comprobó que tanto la densidad ($p = 0,00$) como el tipo de dieta ($p = 0,0126$) tuvieron una influencia significativa en la talla, con una interacción también significativa ($p = 0,002$). Respecto a la densidad, los mejores resultados se obtuvieron en las densidades de 2 y 4 peces m^{-2} y alimentados con el concentrado comercial de 25 % de PB. Con la combinación de 3 peces m^{-2} y el concentrado de 25 % PB, se registró la menor ganancia en peso y longitud total entre los seis tratamientos experimentales.

En cuanto al desempeño productivo, los indicadores que resultaron significativos para las densidades de 2 y 4 peces m^{-2} y alimentados con concentrado del 25 % PB fueron: (i) ganancia diaria de peso, (ii) conversión alimenticia, (iii) tasa de crecimiento específica y (iv) factor de crecimiento relativo. En las variables “factor de condición” y “sobrevivencia” no se presentaron diferencias estadísticas (tabla 2). Los índices viscerosomático (IVS), hepatosomático (IHS) y de grasa visceral (IGV) calculados al finalizar el ensayo no presentaron diferencias significativas entre los 6 tratamientos evaluados (tabla 3).

Tabla 1. Valores (promedio \pm DE) y coeficiente de variación (cv; %) de los parámetros de calidad de agua en las unidades de cultivo durante el periodo experimental

Parámetro	Unidad	Valor	cv
Temperatura	°C	$29 \pm 0,89$	3,1
Oxígeno disuelto	$mg L^{-1}$	$4,85 \pm 0,58$	12,0
pH	unidades	$7,4 \pm 0,2$	2,7
Amonio	$mg L^{-1}$	$0,23 \pm 0,197$	84,3
Nitritos	$mg L^{-1}$	$0,0002 \pm 0,00004$	18,8
Alcalinidad	$mg L^{-1}$	$128,25 \pm 17,93$	14,0
Dureza	$mg L^{-1}$	$133,95 \pm 12,87$	9,6

Tabla 2. Variables de desempeño productivo del capaz (*P. grosskopfii*) cultivado en estanques en tierra durante 6 meses

Variables	Concentrado comercial con 25 % de PB			Concentrado comercial con 32 % de PB		
	2 peces m ⁻²	3 peces m ⁻²	4 peces m ⁻²	2 peces m ⁻²	3 peces m ⁻²	4 peces m ⁻²
Ganancia de peso (gr)	159 ± 5 ^a	102 ± 12 ^b	173 ± 13 ^a	112 ± 7 ^{bc}	130 ± 5 ^d	120 ± 14 ^{bc}
Ganancia de talla (cm)	11 ± 1 ^b	9,4 ± 0,6 ^d	12 ± 1 ^a	10,4 ± 1,4 ^c	10 ± 1 ^c	11 ± 1 ^b
Ganancia diaria de peso (gr/día)	0,88 ± 0,01 ^b	0,56 ± 0,11 ^c	0,96 ± 0,07 ^a	0,67 ± 0,03 ^c	0,72 ± 0,02 ^{bc}	0,67 ± 0,07 ^c
Conversión alimenticia	1,70 ± 0,44 ^a	2,55 ± 0,71 ^b	1,78 ± 0,33 ^a	2,36 ± 0,17 ^b	2,33 ± 0,23 ^b	2,29 ± 0,25 ^b
Tasa de crecimiento específico (%)	0,81 ± 0,01 ^{ab}	0,75 ± 0,02 ^d	0,82 ± 0,01 ^a	0,78 ± 0,09 ^{cd}	0,78 ± 0,07 ^{bc}	0,78 ± 0,06 ^{cd}
Factor de crecimiento relativo	6,92 ± 1,06 ^{ab}	5,17 ± 0,17 ^d	7,24 ± 0,64 ^a	5,71 ± 0,61 ^{cd}	6,18 ± 0,33 ^{bc}	5,66 ± 0,19 ^{cd}
Sobrevivencia (%)	95 ± 5 ^a	94 ± 2 ^a	91 ± 6 ^a	96 ± 7 ^a	91 ± 5 ^a	95 ± 4 ^a
Factor de condición Kn	0,0086 ± 0,0007 ^a	0,0072 ± 0,0006 ^a	0,0086 ± 0,0012 ^a	0,0077 ± 0,0009 ^a	0,0085 ± 0,0007 ^a	0,0072 ± 0,0006 ^a

Nota: las letras indican diferencias significativas entre tratamientos (p < 0.05).

Tabla 3. Índices corporales del capaz al finalizar el seguimiento experimental cultivado en estanques en tierra durante 6 meses de cultivo

Variables	Concentrado comercial con 25 % de PB			Concentrado comercial con 32 % de PB		
	2 peces m ⁻²	3 peces m ⁻²	4 peces m ⁻²	2 peces m ⁻²	3 peces m ⁻²	4 peces m ⁻²
Índice viscerosomático	7,36 ± 0,77 ^a	8,12 ± 0,80 ^a	7,36 ± 0,76 ^a	7,53 ± 0,17 ^a	7,75 ± 1,29 ^a	7,87 ± 0,79 ^a
Índice hepatosomático	1,05 ± 0,36 ^a	0,97 ± 0,05 ^a	0,88 ± 0,14 ^a	1,08 ± 0,10 ^a	1,01 ± 0,03 ^a	1,00 ± 0,07 ^a
Índice de grasa visceral	3,68 ± 1,02 ^a	4,53 ± 0,96 ^a	3,82 ± 0,49 ^a	3,9 ± 0,50 ^a	3,74 ± 0,89 ^a	3,98 ± 0,79 ^a

*Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05).

DISCUSIÓN

El registro de crecimiento en la densidad evaluada de 3 peces m^{-2} y 25 % PB no guardó consistencia con los extremos experimentales en las densidades de 2 y 4 peces m^{-2} , lo que en principio puede ser reflejo de los menores resultados de crecimiento observados en una de las réplicas de este tratamiento; aun así, es un dato que por no tener una explicación clara debe ser objeto de validación.

Es interesante observar que fue significativa la respuesta superior en desempeño con el concentrado de menor valor de PB, lo cual coincide y confirma datos para la especie en un ensayo realizado en jaulas, cuyos resultados son similares con este mismo nivel de proteína en el alimento (Carrera & Valbuena-Villareal, 2015).

La relación entre el peso (g) y el tiempo (días) para el tratamiento con mayor desempeño (4 peces m^{-2} y 25% PB) fue significativa ($R^2 = 0,976$; $p < 0,001$), con el mejor ajuste a un modelo de tipo exponencial para el rango de tallas trabajado. Con la ecuación definida (peso = $36,987 * e^{0,0102 * \text{tiempo}}$), la proyección para obtener un peso entre 250 y 300 g estaría alrededor de 6,5 meses después de la siembra, tiempo similar al que se puede proyectar con los datos obtenidos por Carrera y Valbuena-Villareal (2015) en jaulas de bajo volumen, aún con las mayores densidades evaluadas por estos autores. Se debe tener en cuenta la elevada talla inicial de los peces, por lo que a la duración del ciclo habría que adicionar el tiempo que transcurre entre un alevino de 1-2 g y los juveniles de aproximadamente 35 g con el que se dio comienzo al seguimiento. Se pone de relieve, entonces, que: (i) las proyecciones siguen siendo aproximadas, (ii) resulta evidente el vacío de información que se tiene en la definición de curvas de crecimiento que abarquen ciclo completo en ensayos realizados directamente bajo condiciones de cultivo comercial y (iii) la respuesta observada solo es aplicable a lo que sería manejo en levante y engorde, no extrapolable a las fases de desarrollo temprano.

La densidad de población utilizada en la actividad de acuicultura es un factor importante para el cultivo de peces debido a que densidades inadecuadas pueden conducir al estrés, lo cual afecta el comportamiento y la fisiología de los mismos (Ellis *et al.*, 2002, Montero, Izquierdo, Tort, Robaina, & Vergara, 1999). Sobre el

desempeño de otros silúridos nativos, las referencias nacionales son escasas y los pocos reportes disponibles muestran resultados muy variables, lo que hace que las comparaciones sean limitadas y poco concluyentes hasta el momento.

Los registros que reflejan posibilidades comerciales se tienen para el yaque (*Leiarius marmoratus*) (Muriillo-Pacheco *et al.*, 2012), pues bajo diferentes niveles de proteína en la dieta (24, 30 y 34 % PB) se alcanzan ganancias de peso entre 1,6 y 3,2 g $día^{-1}$ en una densidad de 1 pez m^{-2} y ganancias en el rango de 2,34 a 3,01 gramos $día^{-1}$ en densidades de 0,5 a 2 peces m^{-2} (Cruz *et al.*, 2010). En otro extremo, y si bien ha sido objeto de numerosas evaluaciones, se tiene al blanquillo (*Sorubim cuspicaudus*), cuyo rendimiento en sistema de jaulas apenas llega a 0,06 g de ganancia media en peso por día, según datos de Prieto, Atencio y Pardo (2005), quienes identifican algunos aspectos relacionados con la nutrición como los principales limitantes.

Bajo una estricta expectativa de cultivo que permita valorar una real competitividad o una alternativa de diversificación, los grupos que son los referentes de comparación para aguas cálidas en el país son las tilapias y las cachamas. Se tiene que, en productividad, las ganancias diarias en peso para estas especies por lo general oscilan en un rango de 2 a 4 g (Cala, Pérez, & Rodríguez, 1996); nivel que supera al capaz, de acuerdo con lo encontrado hasta el momento. Entre los aspectos relevantes, independientemente de lo que se pueda precisar en valoraciones futuras dirigidas a mejorar estándares de desempeño para la especie, se tiene que las fortalezas del capaz se siguen puntualizando en su alta aceptación (facilidad de mercadeo) y precios comerciales favorables.

Varias consideraciones adicionales sobre los parámetros observados en este ensayo deben ser analizadas. La primera se refiere a la respuesta del capaz a un concentrado con bajo contenido de proteína. Al respecto, destaca que el factor de condición (K) que, sin diferencias entre los tratamientos, presentó una media de $0,797 \pm 0,068$, resulta ser comparable y similar al registrado de 0,805 (valor promedio entre machos y hembras), calculado en poblaciones provenientes del embalse de Betania (Cala *et al.*, 1996). Bajo el supuesto de que en este sistema los peces acceden a fuentes de alimento que, en conjunto, cumplen sus

requerimientos nutricionales, el valor de K en las condiciones de cultivo sugiere que durante el seguimiento no se manifestó alguna condición deficitaria en términos de la condición general de los peces; es decir, la relación longitud-peso en el ensayo se mantuvo dentro de límites equivalentes a los que se reportan para el medio, indicando un adecuado grado de bienestar (Ramos *et al.*, 2013).

Si bien las exigencias nutricionales del capaz aún no están definidas, el uso de concentrados con un nivel reducido de proteína, al menos de manera preliminar, parece ser más conveniente en términos de desempeño que el de mayor contenido en PB, bajo las condiciones en las que se desarrolló este ensayo, lo que también coincide con lo registrado en jaulas (Carrera & Valbuena-Villareal, 2015). No obstante, el hábito omnívoro con tendencia a carnívoro de la especie, la posible influencia de otras fuentes dentro de las unidades y el rango de tallas que fue trabajado, son cuestiones por valorar. En lo que se refiere al factor de conversión alimenticia, en un rango de 1,7 a 2,55, es superior al registrado para el yaque (1,51:1; 1 pez m⁻²; 30 % PB) (Cruz *et al.*, 2010) y reafirma que la línea sobre nutrición en el capaz requiere desarrollo.

El segundo factor productivo está representado en la supervivencia, que fue alta, estable y sin diferencias entre los tratamientos (promedio de $93,7 \pm 2,1$ %). La talla de los peces en el momento de la siembra fue elevada, lo que puede explicar parcialmente el resultado. Es factible también considerar que la especie muestra resistencia y adaptabilidad a condiciones de cautiverio, variable que debe ser tenida en cuenta para evaluaciones posteriores; especialmente porque permite plantear ensayos que consideren una mayor densidad en estanques. La supervivencia que reportan en jaulas (Carrera & Valbuena-Villareal, 2015) con cargas superiores también puede ser considerada elevada (> 70 %), lo cual sugiere que las posibilidades de manejo que se tienen con capaz utilizando altas densidades pueden significar proyecciones con atractivo comercial en cultivo, tanto en estanques como en jaulas.

Por último, los peces sembrados mostraron una homogeneidad inicial relativamente alta, representada en un coeficiente de variación de 13,31 y 23,1 para la longitud total y el peso, respectivamente, lo cual fue determinado en el día 16 de seguimiento. Se observó,

como rasgo especial, una disminución progresiva del CV, con un 6,78 % en la longitud y un 10,73 % en peso, al final del periodo (día 180); reducción que no es usual cuando se tienen poblaciones en cautiverio, puesto que la dispersión en tallas, en este ensayo, disminuyó conforme avanzó el periodo de cultivo.

La heterogeneidad en el crecimiento depende de varios factores y su expresión es especie-específica. Aunque no es claro que necesariamente se encuentre vinculada solo al establecimiento de jerarquías sociales, también supone que intervienen otras variables con efecto en la escala que se puede presentar entre las diferencias individuales en tamaño (Baras & Jobling, 2002; Rutten *et al.*, 2006); se ha sugerido que en tales factores están, entre otros, la densidad de la población. Así, la disminución de la heterogeneidad inicial conforme avanza el tiempo apoyaría la hipótesis de que la especie podría llegar a tolerar densidades más elevadas de las que se contemplaron en este trabajo.

Los índices viscerosomático (IVS), hepatosomático (IHS) y de grasa visceral (IGV) no presentaron diferencia significativa entre los 6 tratamientos evaluados. Teniendo en cuenta que la longitud total de madurez (promedio entre machos y hembras) del capaz es de 27,4 cm (Cala, 1997), talla que se alcanzó en la media de los tratamientos en el último de los muestreos (180 días de cultivo), es posible afirmar que durante el periodo del experimento el crecimiento no se vio afectado por el desarrollo gonadal, lo cual explica los valores de los índices.

CONCLUSIONES

Con el carácter preliminar de los datos y entendiendo igualmente que existen aspectos básicos de comportamiento y manejo aún desconocidos, los registros sugieren que el capaz cuenta con interesantes posibilidades de manejo productivo en cautiverio. Los avances en la disponibilidad regular de semilla, fundamentada en protocolos ya estandarizados, es una fortaleza adicional.

El desempeño de la especie en estanques muestra parámetros con valores intermedios a los registrados para otros silúridos en el país. Los resultados, en prin-

cipio, sustentan que sea factible inferir un válido potencial de producción con objetivos comerciales. Las limitantes en conocimiento sobre manejo en cautiverio y el carácter preliminar de estos primeros ensayos, no obstante, impiden que actualmente se puedan ofrecer proyecciones más precisas, particularmente las que involucran el comportamiento en la etapa de iniciación. Estos son elementos que deben hacer parte de líneas de investigación complementarias, considerando la ventaja que significa que tallas comerciales parecen conseguirse en tiempos razonables, aún si se comparan con los ciclos de las especies que soportan la producción piscícola en el país. Tanto la supervivencia como la condición general de los peces en el ensayo son indicativos adicionales que nos muestran que esta especie tiene gran potencial para ser utilizada comercialmente.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a Colciencias (Convenio No. 157-2013) por el apoyo financiero; al Centro de Desarrollo Piscícola Surcolombiano, Acuapez, y a la Universidad Surcolombiana por el apoyo logístico; a la estación piscícola Las Brisas por el espacio físico brindado para el desarrollo de este experimento.

REFERENCIAS

- Baras, E., & Jobling, M. (2002). Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fish. *Aquaculture research*, 33, 461-479. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00732.x>
- Cala, P. (1997). Espermatogénesis y ciclo anual reproductivo del capaz, *Pimelodus grosskopfii* (pisces: pimelodidae) en el alto río magdalena, Colombia. *Caldasia*, 35, 43-53.
- Cala, P., Pérez, M. C., & Rodríguez, L. (1996). Estado actual del capaz, *Pimelodus grosskopfii* (Pisces: Pimelodidae), en el embalse de Betania y aguas arriba en el río Magdalena, Colombia. *Revista de la Academia Colombo Ciencias exactas*, 20, 319-330.
- Carrera, S., & Valbuena-Villareal, R. D. (2015). Desempeño productivo del capaz (*Pimelodus grosskopfii*, Steindachener, 1879) bajo diferentes densidades de siembra y contenido de proteína en la dieta. *Revista Intropica*, 10, 20-27. <https://doi.org/10.21676/23897864.1644>
- Cruz, N., Marciales-Caro, L. J., Díaz-Olarte, J. J., Murillo-Pacheco, R., Medina-Robles, V. M., & Cruz-Casallas, P. E. (2010). Desempeño productivo del yaque (*Leiarius marmoratus* Gill, 1870) bajo diferentes densidades de siembra en estanques en tierra. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23, 22-28.
- Ellis, T., North, B., Scott, A. P., Bromage, N. R., Porter, M., & Gaddthe, D. (2002). Relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of fish Biology*, 61, 493-531. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb00893.x>
- Le François, N. R., Lemieux, H., & Blier, P. U. (2002). Biological and technical evaluation of the potential of marine and anadromous fish species for cold-water mariculture. *Aquaculture Research*, 33, 95-108. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00652.x>
- Mojica, H. O., Rodríguez, J. A., & Orozco, C. R. (2003). *Manual de reproducción y cultivo. El bagre rayado (Pseudoplatystoma fasciatum)*. Villavicencio: Inpa-pronatta.
- Montero, D., Izquierdo, M. S., Tort, L., Robaina, L., & Vergara J. M. (1999). High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20(1), 53-60. <https://doi.org/10.1023/A:1007719928905>
- Murillo-Pacheco, R., Cruz-Casallas, N. E., Ramírez-Merlano, J. A., Marciales-Caro, L. J., Medina-Robles, V. M., & Cruz-Casallas, P. E. (2012). Efecto del nivel de proteína sobre el crecimiento del Yaque *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) bajo condiciones de cultivo. *Orinoquia*, 16(2), 52-61. <https://doi.org/10.22579/20112629.146>
- Parrado-Sanabria, Y. A. (2012). Historia de la acuicultura en Colombia. *Aquatic*, 37, 60-77.

- Prieto, M. J., Atencio, V. J., & Pardo, S. C. (2005). *El bagre blanco Sorubim cuspicaudus y su potencial en acuicultura. Temas claves de la acuicultura*. Montería: Editorial Universidad de Córdoba, 70 p.
- Ramírez, A., & Pinilla, G. (2012). Hábitos alimentarios, morfometría y estados gonadales de cinco especies de peces en diferentes períodos climáticos en el río Sogamoso (Santander, Colombia). *Acta Biológica Colombiana*, 17(2), 241-258.
- Ramos, I., Ramos, B., Heleno, S., Zanatta, A., Zica, É., Silva, R., Rezende-Ayroza, J., & Carvalho, D. (2013). Interference of cage fish farm on diet, condition factor and numeric abundance on wild fish in a Neotropical reservoir. *Aquaculture*, 444, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.013>.
- Rutten, M. J. M., Bovenhuis, H., Komen, J., & Bijma, P. (2006). Mixed model methodology to infer whether aggression increases due to selection on growth in aquaculture species. In *Proceedings of the 8th world congress on genetics applied to livestock production*, Belo Horizonte, Brazil (pp. 9-12).
- Villaneda, A. (1977). *Algunos aspectos biológicos del capaz, Pimelodus grosskopfii* (Trabajo de grado). Universidad Jorge Tadeo Lozano, Departamento de Biología.
- Villa-Navarro, F. A. (1999). *Estudio biológico pesquero de la represa de prado para la determinación de especies promisorias en acuicultura*. Ibagué: Universidad del Tolima,
- Valbuena-Villareal, R. D., Zapata, B., & Cruz, P. E. (2010). Reproducción inducida de capaz (*pimelodus grosskopfii*) con extracto de hipófisis de carpa: reporte preliminar. *Orinoquia* 14(2), 133-139.
- Valbuena-Villareal, R. D., Zapata, B., & Gutiérrez, M. C. (2012). Coeficientes de digestibilidad aparente de tres ingredientes proteicos para capaz, *Pimelodus grosskopfii*. *Orinoquia* 16(1), 179-186. <https://doi.org/10.22579/20112629.77>

Evaluación de la eficiencia de un sistema de electrocoagulación en los vertimientos de curtiembres en el sector de Villapinzón (Cundinamarca)

Evaluation of the Efficiency of an Electrocoagulation System of Tannery Industry Effluents in Villapinzón (Cundinamarca)

Diana Lucía Cristancho Montenegro

Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas, Departamento de Ingeniería Ambiental,
Universidad Central, Colombia
<https://orcid.org/0000-0001-7417-2583>
dcristanchom@ucentral.edu.co

Lina María Pinto Hernández

Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas, Departamento de Ingeniería Ambiental,
Universidad Central, Colombia
<https://orcid.org/0000-0001-8199-3670>
lpintoh@ucentral.edu.co

Jefersson Stiven Tique Hilarión

Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas, Departamento de Ingeniería Ambiental,
Universidad Central, Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-3596-570>
jtiqueh@ucentral.edu.co

Fecha de recepción: 7 de noviembre de 2019
Fecha de aceptación: 23 de diciembre de 2019

Sugerencia de citación: Cristancho-Montenegro, D. L., Pinto-Hernández, L. M. y Tique-Hilarión, J. S. (2019). Evaluación de la eficiencia de un sistema de electrocoagulación en los vertimientos de curtiembres en el sector de Villapinzón (Cundinamarca). *Mutis*, 9(2), 34-48.
doi: 10.21789/22561498.1590

RESUMEN

Este artículo presenta el análisis del vertimiento de curtiembres en Villapinzón (Cundinamarca, Colombia) y propone un sistema de electrocoagulación para la minimización de contaminantes (principalmente metales pesados) vertidos directamente a los cuerpos de agua. Las descargas directas al río Bogotá (tramo Villapinzón-Chocontá) sin previo tratamiento generan afectaciones en la calidad de los cuerpos de agua, además de afectar la salud de la población. Por ende, para este estudio se diagnosticó el estado actual de los vertimientos en el río Bogotá. Adicionalmente, se llevó a cabo una búsqueda de información acerca del proceso de electrocoagulación, la cual sirvió de base para el diseño e implementación a escala laboratorio con las muestras del vertimiento de una curtiembre del sector a analizar. Después de la implementación del sistema se obtienen los siguientes porcentajes de remoción: Cr (52,8 %), DQO (36 %), nitritos (99,6 %), nitratos (99,4 %), sulfatos (92,9 %) y fosfatos (99,1 %). Estos parámetros fueron evaluados de acuerdo con la normativa vigente (Resolución 0631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible) y el acuerdo 08 del 2004 de la CAR, donde 6 de 10 parámetros se ajustaron a la normativa. De esta manera, se concluye que el sistema de electrocoagulación es una alternativa viable como tratamiento no convencional para el tratamiento de aguas residuales industriales de curtiembre que contribuye a la disminución de los impactos generados a la cuenca alta del río Bogotá.

Palabras clave: agua residual industrial, río Bogotá, remoción de contaminantes, metales pesados, eficiencia, viabilidad.

ABSTRACT

This article presents the analysis of the shedding of tanneries in Villapinzón (Cundinamarca, Colombia) and proposes an electrocoagulation system for the minimization of pollutants (mainly heavy metals) discharged directly to bodies of water. Direct discharges to the Bogotá River (Villapinzón-Chocontá section) without prior treatment generate effects on the quality of water bodies, in addition to affecting the health of the population. Therefore, for this study, the current state of the discharges in the Bogotá River was diagnosed. Additionally, an information search was conducted on the electrocoagulation process. This search served as the basis for the design and implementation of the laboratory-scale electrocoagulator model with the samples of the shedding of a tannery in the studied sector. After the implementation of the system, the following removal percentages are obtained: Cr (52.8%), COD (36%), nitrites (99.6%), nitrates (99.4%), sulfates (92.9%) and phosphates (99.1%). These parameters were evaluated in accordance with current regulations (Resolution 0631 of 2015 of the Ministry of Environment and Sustainable Development) and agreement 08 of 2004 by the CAR, where 6 out of 10 parameters were adjusted to the regulations. Thus, it is concluded that the electrocoagulation system is a viable alternative as an unconventional treatment for the treatment of tannery industrial wastewater that contributes to the reduction of the impacts generated to the upper Bogotá River basin.

Keywords: Industrial wastewater, Bogotá River, contaminants removal, heavy metals, efficiency, viability.

INTRODUCCIÓN

El río Bogotá ha sido catalogado en la última década como uno de los ríos más contaminados del mundo. Sus aguas, las cuales reportan la presencia de metales pesados y otros elementos tóxicos, son utilizadas para el consumo humano y actividades agropecuarias. Durante más de treinta años, la cuenca del río Bogotá no recibió atención alguna por parte del Estado ni de la población. A partir de la sentencia del río Bogotá se proyecta la recuperación de la cuenca a través de una gestión integral que busca el mejoramiento de la calidad de los ecosistemas y sus habitantes, teniendo en cuenta sus altos niveles de contaminación, ocasionados por los vertimientos de aguas residuales domésticas e industriales y las malas prácticas por parte de la comunidad e industrias aledañas.

A pocos kilómetros del nacimiento del río Bogotá se encuentra el municipio de Villapinzón, el cual basa su economía en la industria de las curtiembres. Esta industria genera vertimientos directos con alta carga contaminante al cauce del río, por lo que la calidad del mismo se ve altamente deteriorada. El problema radica en que al crearse las industrias no se contempla el tratamiento de las aguas residuales industriales (ARI) provenientes de las curtiembres, en las que los mayores contaminantes reportados son los metales pesados (Cr, es el más abundante).

Teniendo en cuenta que el índice de calidad del río pasa de tipo 1 (muy bueno) en su nacimiento a tipo 3 (regular) en el tramo Villapinzón-Chocontá (Agudelo, 2018), se plantea un sistema de electrocoagulación para el tratamiento de vertimientos en la industria de las curtiembres. La electrocoagulación es un método electroquímico no convencional empleado para el tratamiento de aguas residuales con amplio rango de contaminantes (en especial de metales pesados). A través de este método se desestabilizan los contaminantes en un medio acuoso haciendo pasar una corriente eléctrica a través del mismo, lo que permite alcanzar altos niveles de remoción.

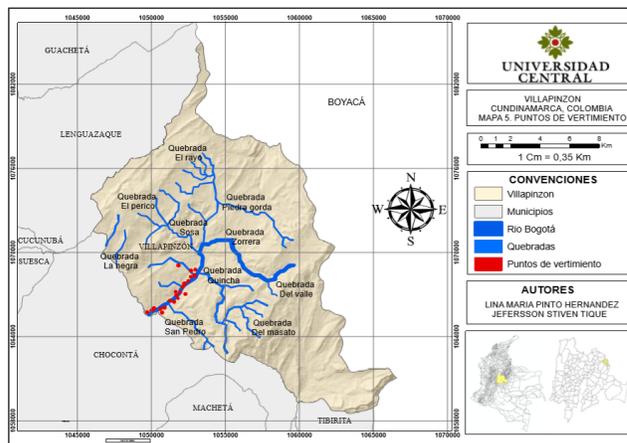
Por lo anterior, esta investigación busca analizar el vertimiento de curtiembres en Villapinzón (Cundinamarca) y proponer un sistema de electrocoagulación para minimizar los contaminantes –principalmente metales pesados– vertidos directamente a los cuerpos de agua de esta zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

Vertimientos

Teniendo en la cuenta la sentencia de la Corporación Autónoma Regional (CAR) sobre el río Bogotá, la línea base de carga contaminante para el tramo 2 (Villapinzón-Chocontá) en la actividad del curtido para el parámetro DBO es de 49,97 t/año y para el SST es de 115,33 t/año (CAR, 2014). Para 2017, se presentó una carga contaminante de SST de 113,12 t/año y de DBO de 161,51 t/año (ORARBO, 2017). En 2018, los procesos para permisos de vertimientos en este tramo solicitados ante la autoridad ambiental sumaron un total de 220 (CAR, 2018). De otro lado, se evidencia que existen 120 curtiembres registradas, de las cuales 35 tienen permiso de vertimientos al cauce del río Bogotá y sus afluentes (CAR, 2019). En la figura 1 se puede apreciar la ubicación de los vertimientos ocasionados por curtiembres, observando que los vertimientos se encuentran en cauce del río Bogotá y en menor dimensión en la quebrada Quincha. En su mayoría, los vertimientos se observan en la salida de Villapinzón sentido sur-oeste, donde mayormente se encuentra ubicada la industria de las curtiembres.

Figura 1: Mapa de vertimientos por curtiembres en Villapinzón



Fuente: autores con información de CAR (2014).

Electrocoagulación

La electrocoagulación es una tecnología emergente que se presenta como alternativa para el tratamiento de aguas residuales y que cuenta con un alto

potencial para la remoción de diversos contaminantes de aguas residuales provenientes de diferentes fuentes (Restrepo & Arango, 2006). Este es un proceso electroquímico bastante utilizado en el tratamiento de aguas residuales con alto porcentaje de metales pesados, por medio del cual se desestabilizan contaminantes suspendidos o disueltos en un medio acuoso haciendo pasar una corriente eléctrica a través del mismo. En el proceso se emplean una gran variedad de ánodos y cátodos geométricos (generalmente de hierro o aluminio) por los cuales fluye la corriente necesaria para que estos comienzan a reaccionar con el medio de manera análoga a un proceso de corrosión (Ojeda-Armaignac & Hing-Cortón, 2010).

En general, se evidencia el uso de acrílico para la construcción de la celda, el cual es un material aislante que permite visualizar las reacciones generadas por la electrocoagulación. Además, se empleó un reactor de tipo Batch donde se lleva a cabo el proceso químico, en el cual la mezcla se homogeneiza constantemente por medio de un agitador magnético, los electrodos se disponen de forma paralela conectados en serie a una fuente de voltaje (Camacho & López, 2015) y, a su vez, estos electrodos son divididos en ánodos y cátodos por los cuales circula corriente eléctrica para llevar a cabo la reacción química (el arreglo de los electrodos es de forma monopolar [polaridad intercalada]). Por último, una fuente de alimentación de corriente directa suministra la energía eléctrica que promueve la electrocoagulación (Beltrán, 2015).

Considerando que el sistema de electrocoagulación requiere una fuente de poder, se consultó que la disposición de los electrodos tiene mayor efectividad con una conexión monopolar en paralelo, donde la corriente eléctrica se reparte entre todos los electrodos (Aguilar-Ascón, 2015). Al realizar la revisión de estudios previos sobre el tema, se encontraron valores de entre 8 y 63 V y de 3 a 25 A, denotando el uso de una fuente de poder directa.

Para la selección de los electrodos se consultó que en los procesos de electrocoagulación se han usado gran variedad de materiales para los electrodos, dentro de los que se encuentran hierro, cobre, aluminio, acero inoxidable, zinc y grafito, siendo el hierro y el aluminio los materiales más utilizados, según la información disponible respecto a su uso (Mendoza & Bueno, 2017).

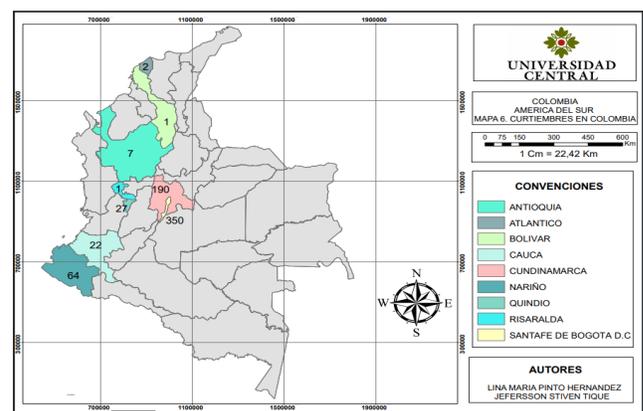
El diseño del reactor tipo Batch permite definir la zona de reacción donde se da la desestabilización de las partículas y el proceso de coagulación, así como visualizar la zona de sedimentación. Los lodos que se forman se depositan en la parte superior de la celda cuando su densidad es baja y se precipitaron cuando la densidad alcanza niveles altos. El uso de este reactor a nivel laboratorio es conveniente debido a que permite estudiar el proceso y los parámetros *in situ* (Ruíz & Giraldo, 2007).

Curtiembres

El curtido es el proceso de transformación de pieles de animales en cuero, como resultado de la estabilización de las fibras de colágeno de la piel con agentes curtientes, mediante la formación de complejos tipo quelatos. Allí se llevan a cabo 4 procesos como lo son ribera, curtido, acabado en húmedo, acabado en seco, produciendo vertimientos en cada uno de ellos con alta carga contaminante, todo esto con el fin de evitar su descomposición y facilitar su uso para la fabricación de productos de calzado, marroquinería, tabarbería, tapizados, entre otros (Alcaldía de Bogotá, 2015, p. 9).

En Colombia, la industria de las curtiembres hace parte de un mercado no muy amplio en todas las regiones, es decir, se presenta en determinados departamentos y municipios del país. La figura 2 presenta la distribución de la industria de las curtiembres en Colombia.

Figura 2. Número de curtiembres en Colombia por departamento



Fuente: autores con base en Martínez y Romero (2018).

Con respecto a la industria de las curtiembres en Colombia, el departamento de Cundinamarca y la ciudad Bogotá concentran 80 % del total de las curtiembres existentes en el país, lo cual equivale a una producción promedio de 103.000 cueros que, a su vez, representa el 38 % de la producción total nacional. Los municipios de Villapinzón y Chocontá (Cundinamarca) y el barrio San Benito, en Bogotá, son las zonas que más concentran el desarrollo de esta actividad industrial.

El municipio de Villapinzón se caracteriza por ser una de las principales fuentes de la industria de curtiembres en Colombia, donde esta actividad se ha llevado a cabo desde la época colonial y se ha caracterizado por ser un trabajo cultural tradicional transmitido de generación en generación, proveyendo a este municipio con cerca de 700 empleos directos y 4.000 empleos entre directos e indirectos (Ledezma, López, Ramírez, & Triana, 2017). Sin embargo, esta industria genera una gran problemática en la actualidad al ser la principal fuente de contaminación del río Bogotá, uno de los más contaminados a nivel mundial. Esta situación se debe a que tanto el municipio como las curtiembres vierten en el río Bogotá sus residuos sin la realización de un tratamiento efectivo, generando vertimientos con amplio rango de contaminantes tóxicos (especialmente metales pesados) con grandes consecuencias para las fuentes hídricas, teniendo en cuenta que su remoción es bastante compleja y requiere de grandes inversiones. El río Bogotá en Villapinzón se encuentra localizado a 40 km de Bogotá y a 6 km de su nacimiento, es decir, a pocos kilómetros de su nacimiento el río ya se ve afectado de forma importante por la industria de las curtiembres y su gran cantidad de vertimientos (Escobar, Ubaque, & Bohórquez, 2012).

Muestreo (caso de estudio)

Para la toma de muestras de la curtiembre se realizó una colaboración con una de las curtiembres registradas ante la CAR que opera en la zona de estudio del municipio de Villapinzón, la cual, además, genera vertimientos al río Bogotá. El muestreo se realizó en el vertimiento final tomando una cantidad aproximada de 7 L. Las tablas 1-3 reportan los datos más relevantes

Tabla 1. Cronograma recolección de muestras

DÍA	HORA	LUGAR	PARÁMETROS
20/04/2019	3:00 p.m.	Villapinzón, Cundinamarca	-pH: 7,84 -Insitu: *Conductividad: No detectable por el multiparametro.

Nota: La toma de muestra se realizó una sola vez, teniendo en cuenta las restricciones de la empresa y las limitaciones frente al uso de reactivos en el laboratorio de la Universidad. Fuente: autores.

DÍAS	LUGAR	PARÁMETROS
21-25/04/2019	Laboratorio de aguas, Universidad Central	Físicos: Color real, color aparente, conductividad, turbidez
		Químicos: PH, temperatura, tren de sólidos, oxígeno disuelto, nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, plomo, cromo, zinc, cadmio
		Biológicos: DQO, DBO
		Bacteriológicos: Coliformes

Fuente: autores.

DÍAS	LUGAR	PARÁMETROS
20/04/2019 hasta 03/05/2019	Laboratorio de aguas, Universidad Central	Físicos: Color real, color aparente, conductividad, turbidez
		Químicos: pH, temperatura, tren de sólidos, oxígeno disuelto, nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, plomo, cromo, zinc, cadmio
		Biológicos: DQO, DBO
		Bacteriológicos: Coliformes

Fuente: autores.

Diseño y construcción del sistema de electrocoagulación a escala laboratorio

Para el diseño y la construcción del sistema de electrocoagulación a escala laboratorio se realizó una comparación de investigaciones que dio como resultado la presentación del diseño más viable del sistema a partir de los siguientes parámetros: dimensiones de la celda, materiales de la celda y de los electrodos y equipos necesarios para su correcto funcionamiento.

Construcción de la celda del reactor para el sistema de electrocoagulación

Para la fabricación de la celda se usó un reactor tipo Batch a escala laboratorio con capacidad de 5 L (figura 3) y se empleó acrílico como material aislante, teniendo en cuenta su resistencia y que este material

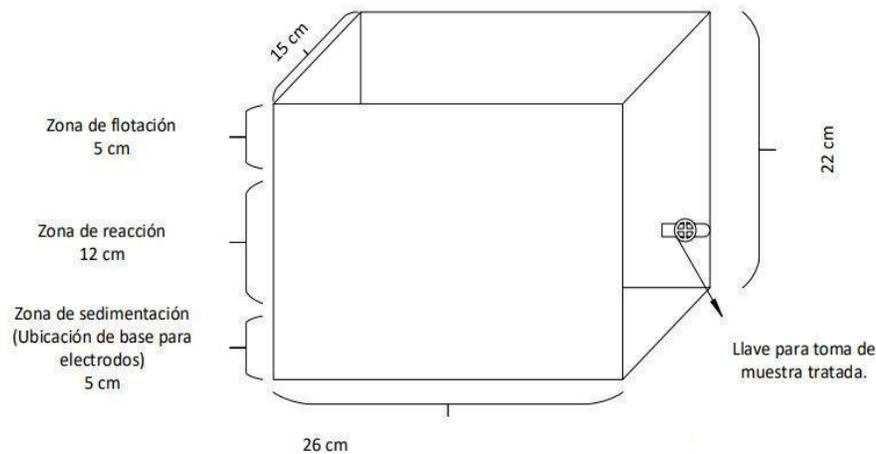
permite apreciar todos los procesos de la electrocoagulación. Además, se usaron soportes en acrílico con separación de 5 mm para la correcta ubicación de las láminas (figura 4). La celda tiene las siguientes dimensiones: A = 15 cm, L = 26 cm y H = 22 cm, y fue diseñada con un criterio de 3 zonas:

- Zona de flotación superior: donde se acumulan los lodos generados.
- Zona de reacción: donde se ubican sumergidos los electrodos y ocurre el proceso de electrocoagulación.

- Zona de sedimentación: en esta zona se precipitan los sólidos sedimentables y también se ubica la base de los electrodos.

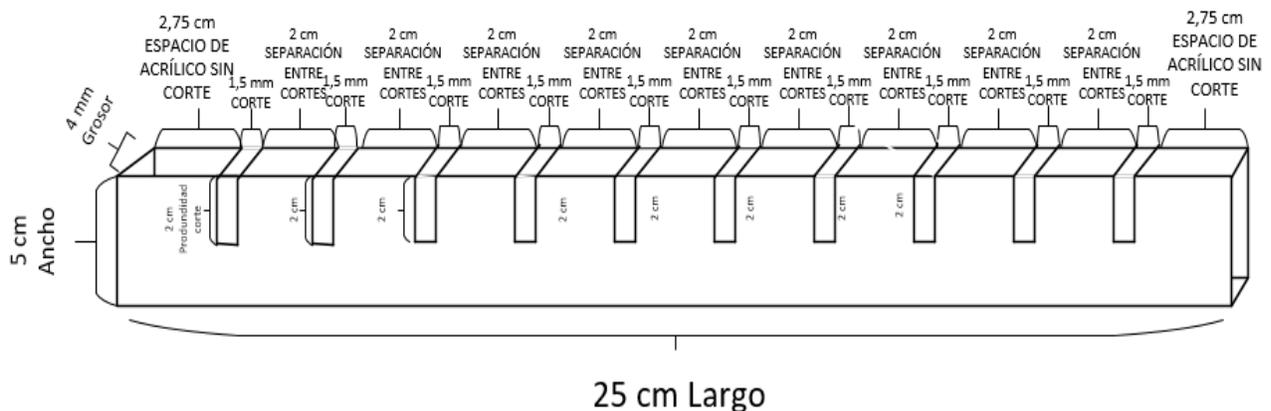
Finalmente, se instaló una llave en una de las caras de la celda a la altura de la zona de reacción para la toma de muestras en cada ensayo y su posterior caracterización y posible evacuación dentro del recipiente de manera segura.

Figura 3. Diseño de celda del sistema de electrocoagulación



Fuente: autores.

Figura 4. Diseño base de electrodos

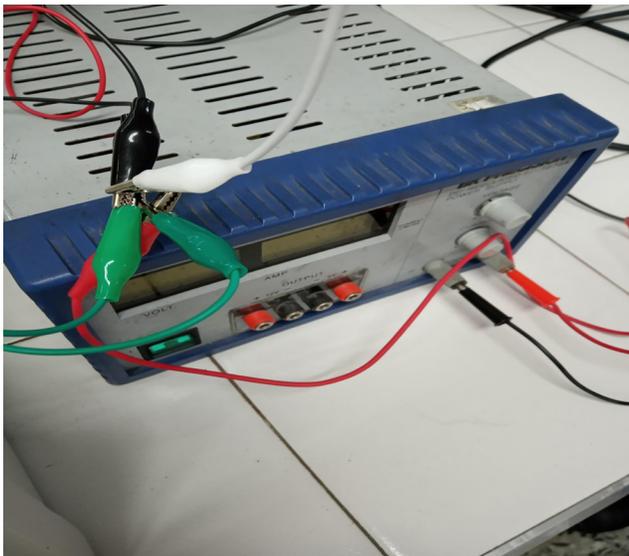


Fuente: autores.

Sistema eléctrico para el sistema de electrocoagulación

La fuente de poder permite regular la cantidad de corriente suministrada a la celda del sistema de electrocoagulación en cuanto a amperaje y voltaje se refiere. Para el suministro de energía continua a los electrodos se emplearon cables de uso eléctrico y pinzas (cocodrilos) para la conexión de la fuente a las láminas (figura 5). Además, se utilizó una placa magnética para homogeneizar la muestra y ser precursor para las reacciones ocurridas durante el proceso.

Figura 5. Sistema eléctrico



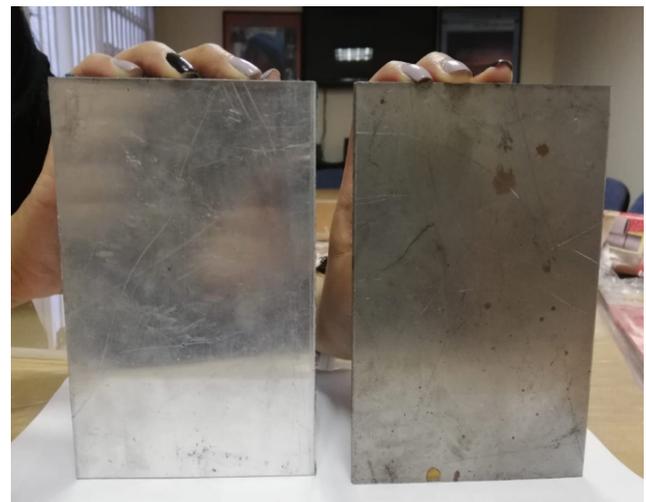
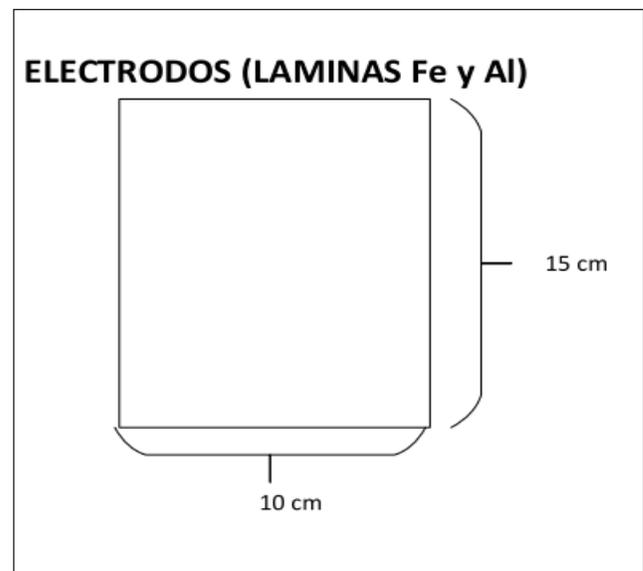
Fuente: autores.

Sistema de electrodos para el sistema de electrocoagulación

Al evaluar los artículos de investigación consultados se encuentra que los materiales de electrodos más utilizados son el hierro y el aluminio. Para el caso de curtiembres es más viable la utilización de estos, dada su mayor accesibilidad en cuanto a disponibilidad y costos. Adicionalmente, con base en estudios anteriores (Ruíz & Giraldo, 2007; Beltrán, 2015; Camacho & López, 2015), se determinó que los iones de aluminio tienen mejores propiedades adsorbentes y la velocidad de reacción es más rápida que la del hierro, ya

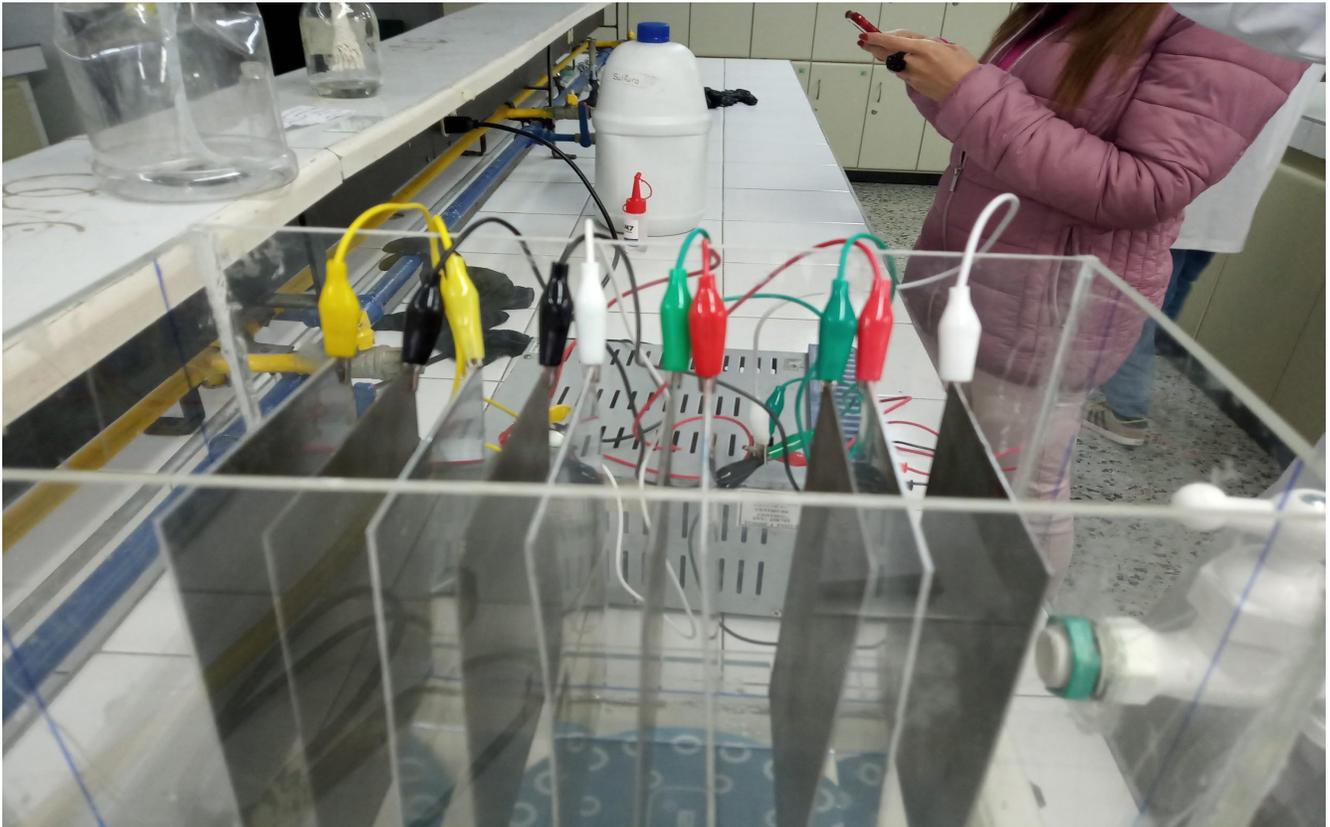
que el aluminio tiene mayor potencial de oxidación. Para este caso, se empleó aluminio con un calibre de 18 pulgadas. Los electrodos utilizados en este experimento tenían una dimensión de 15 cm de largo y 10 de ancho y forma rectangular (figura 6). El montaje cuenta con 10 placas, 5 de hierro (cátodo) y 5 de aluminio (ánodo), cada una con una separación de 2 cm (figura 7).

Figura 6. Sistema de electrodos



Fuente: autores.

Figura 8. Sistema de electrodos

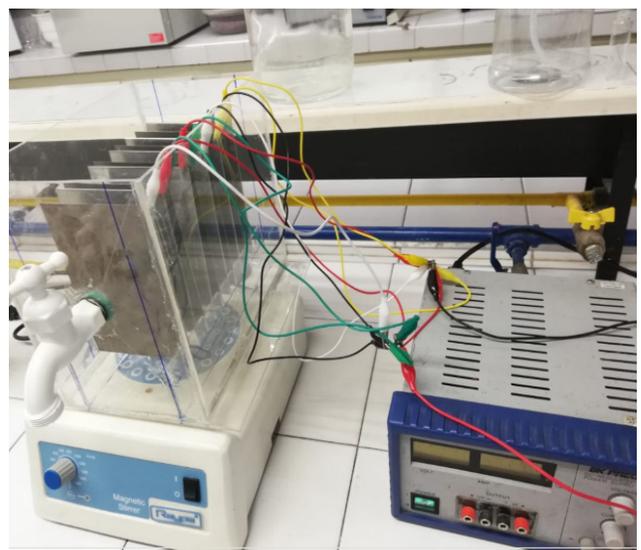


Fuente: autores.

Implementación del sistema propuesto

Para la implementación del sistema diseñado se ubicó la celda de electrocoagulación en las instalaciones del Laboratorio de Calidad de Aguas de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central. La celda fue dispuesta sobre una placa magnética a 400 rpm con el fin de homogeneizar la muestra (figura 8). Por su parte, el sistema eléctrico fue configurado con un voltaje de 12 V y 5 A constantes.

Figura 8. Implementación del sistema propuesto

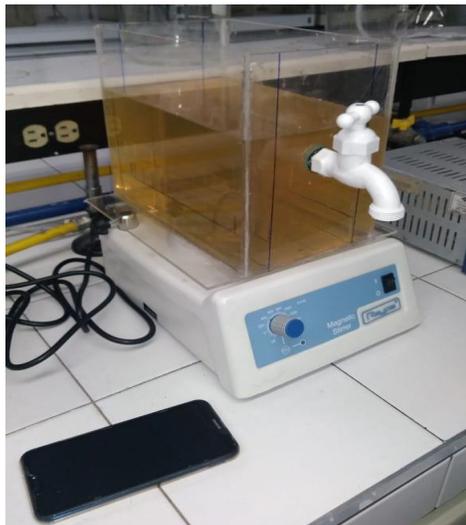


Fuente: autores.

A continuación, se procedió a iniciar las pruebas de funcionamiento del sistema. Inicialmente, se probó con agua de grifo (figura 9) y posteriormente se planteó el sistema completo con el agua problema, como se observa en la figura 10. La duración del experimento fue de 90 minutos, distribuidos entre 20, 40 y 60 min, dejando 30 min para sedimentación, como se observa en la figura 11. Durante este lapso se apreció la variación en los parámetros organolépticos, formación de los flóculos y la rapidez en la sedimentación de los sólidos. Durante el proceso de electrocoagulación se generan compuestos hidrofóbicos que desestabilizan los contaminantes, provocando su floculación.

Además, ocurre una disolución anódica donde se liberan elementos que pueden reaccionar con algunos contaminantes en solución, logrando con ello su precipitación. En los electrodos se generan micro burbujas de hidrógeno y oxígeno que chocan y se adhieren a los flóculos, arrastrándolos a la superficie del líquido, donde se forma una espuma que puede ser removida mecánicamente. De igual forma, las burbujas formadas dentro del reactor ayudan a que el aceite y las grasas floten (Cenkin & Belevtsev, 1985). En la figura 12 se muestra el resultado final, es decir, el agua tratada después del sistema de electrocoagulación después del tiempo de residencia.

Figura 9. Ensayo con agua de grifo



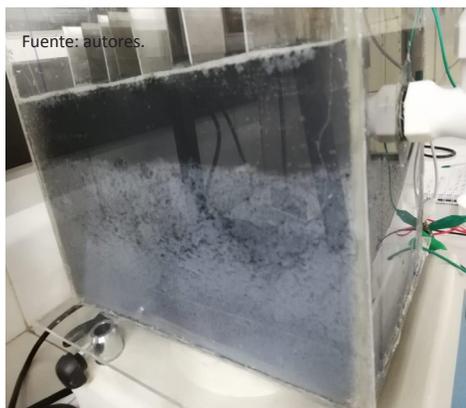
Fuente: autores.

Figura 10. Formación de flóculos



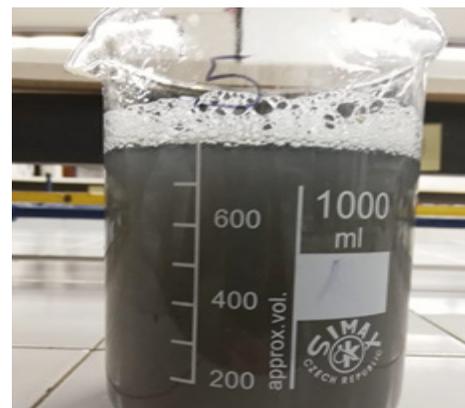
Fuente: autores.

Figura 11. Proceso de sedimentación



Fuente: autores.

Figura 12. Agua tratada



Fuente: autores.

RESULTADOS

Análisis de resultados de los parámetros evaluados

Diagnóstico inicial (caracterización antes del tratamiento)

El análisis de los parámetros se realizó a través del protocolo en la Universidad Central, el cual se basa en los métodos analíticos del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), donde se evalúan parámetros como: pH, DQO, DBO₅, SST, sulfatos, nitratos y fosfatos. Para la medición de metales

pesados (Zn, Cr, Cd y Pb) se usó el espectrofotómetro de absorción atómica de los laboratorios de química de la Universidad Central.

Comparación con normativa nacional vigente del diagnóstico inicial

Para realizar el diagnóstico inicial del vertimiento se realiza una comparación entre los valores establecidos por la Resolución 0631 del 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y el Acuerdo 08 de 2004 de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca. La tabla 4 muestra la verificación del cumplimiento de los datos obtenidos con base en la normativa nacional vigente.

Tabla 4: Comparación de datos obtenidos con la normativa vigente

PARÁMETRO	UNIDAD	DATOS INICIALES	NORMATIVA	CUMPLE O NO
pH	Unidades de pH	8,85	6-9 (Resolución 0631 de 2015)	Cumple
Sólidos totales	mg/L	33030	600 mg/L (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
			1000 mg/L Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Incumple
Sólidos sedimentables	mg/L	943	2.0 mg/L (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
Coliformes Totales	UFC/100ml	5000	5000 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple
DQO	mg/L O ₂	24900	1200 mg/L O ₂ (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
			400- Acuerdo 08 (CAR, 2004)	
DBO ₅	mg/L	5187,5	600 mg/L O ₂ (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
			200 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	
Sulfato	mg/L	10900	400 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Incumple
Nitrato	mg/L	3930		
Nitrito	mg/L	20.4		
Fosfato	mg/L	6760		
Zinc	mg/L	3.67	25 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple
Cromo total	mg/L	267.8	1.5 mg/L (Resolución 0631 del 2015)	Incumple
			<0,01 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	
Cadmio	mg/L	Sin presencia de Cadmio.	0.05 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple

Fuente: autores.

Al realizar el diagnóstico del agua de vertimiento de la curtiembre se evidencia que los parámetros que superan los límites máximos permisibles el vertimiento en aguas superficiales y alcantarillado son: sólidos totales, sólidos sedimentables, DQO, DBO₅, sulfatos y cromo total. Lo anterior permite determinar que estos niveles son consecuencia de procesos ejecutados durante la operación de curtido, como la separación de pieles, en los cuales se emplean sustancias como cal, sulfuros, formiato, cromo y tintes (anilinas) y se vierten gran cantidad de sólidos provenientes de la separación de la piel del animal, lo que conlleva a la alta concentración de parámetros que impactan negativamente a la calidad del río Bogotá debido a que estas sustancias pueden acelerar procesos como la eutrofización. Sumado a lo anterior, el agua de este río es utilizada en procesos de riego y de abastecimiento de alcantarillado no oficial, situación que conlleva al aumento de enfermedades gastrointestinales en los pobladores de la zona.

Análisis de resultados del sistema propuesto

Una vez realizado el tratamiento de electrocoagulación del sistema propuesto, se procedió a realizar el análisis del agua tratada haciendo un comparativo de los parámetros del diagnóstico inicial (antes del tratamiento), que posteriormente serán analizados con base a la normativa legal vigente.

Comparación con normativa nacional vigente del diagnóstico final

Para el análisis de los datos obtenidos en el diagnóstico final del agua tratada por electrocoagulación, se realizó una comparación entre los valores establecidos por la Resolución 0631 del 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y el Acuerdo 08 de 2004 de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca. La verificación del cumplimiento de los datos obtenidos se reporta en la tabla 5.

Tabla 5. Comparación de datos obtenidos con la normativa vigente

PARAMETRO	UNIDAD	SIN TRATAMIENTO	CON TRATAMIENTO	NORMA APLICABLE	CUMPLIMIENTO
pH	Unidades de pH	8,85	7,62	6-9 (Resolución 0631 de 2015)	Cumple
Sólidos totales	mg/L	33030	9500	600 (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
				1000 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple
Sólidos sedimentables	mL/L	943	34	2.0 mL/L (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
Coliformes Totales	UFC/100ml	5000	No hay presencia de coliformes	5000 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple
DQO	mg/L O ₂	24900	9100	1200 (Resolución 0631 de 2015)	Incumple
				400- Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Incumple
DBO ₅	mg/L	5187,5	486	600 (Resolución 0631 de 2015)	Cumple
				200 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Incumple
Sulfato	mg/L	10900	770	400 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Incumple
Nitrato	mg/L	3930	23		
Nitrito	mg/L	20.4	0.10		
Fosfato	mg/L	6760	62		
Zinc	mg/L	2,67	8.72	25 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple
Cromo total	mg/L	267,8	126.2	1.5 mg/L 0631 del 2015	Incumple
				<0,01 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Incumple
Cadmio	mg/L	No hay presencia de cadmio	No hay presencia	0.05 Acuerdo 08 (CAR, 2004)	Cumple

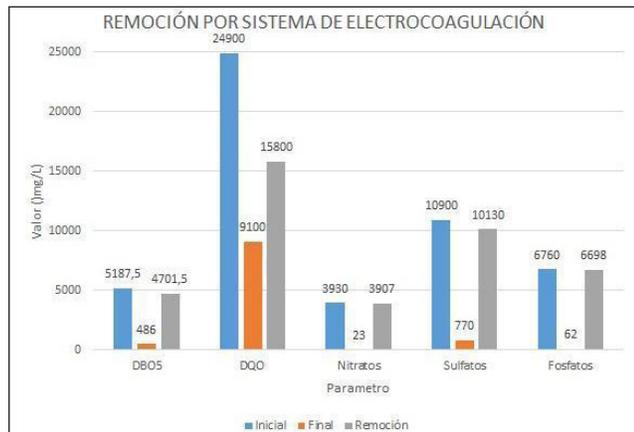
Fuente: autores.

Teniendo en cuenta la información de la tabla 5, se deduce que los niveles de SST, DQO, DBO₅, sulfato y cromo total, incumplen con la normativa establecida para los vertimientos de aguas residuales industriales, en este caso, de la industria de curtiembres. Esto ocurre como efecto de la alta carga contaminante que se determinó en las pruebas iniciales, teniendo en cuenta que dentro de los procesos desarrollados en la curtiembre no se realiza ningún tipo de tratamiento.

Eficiencia del sistema

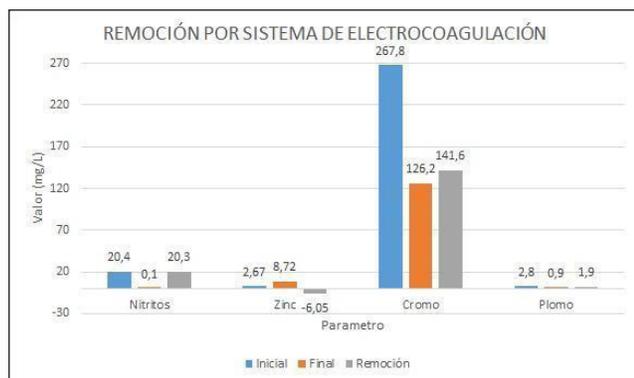
La determinación del porcentaje de remoción se lleva a cabo con base en los parámetros más importantes y el objetivo del tratamiento, es decir, aquellos de más importancia en cuanto a la contaminación del recurso hídrico: DBO, DQO, nitritos, nitratos, sulfatos, fosfatos, zinc, cadmio, cromo y plomo. La remoción de cada parámetro tras analizar el diagnóstico inicial, el diagnóstico final y su reducción, se aprecian en las figuras 13 y 14.

Figura 13. Eficiencia del sistema de electrocoagulación



Fuente: autores.

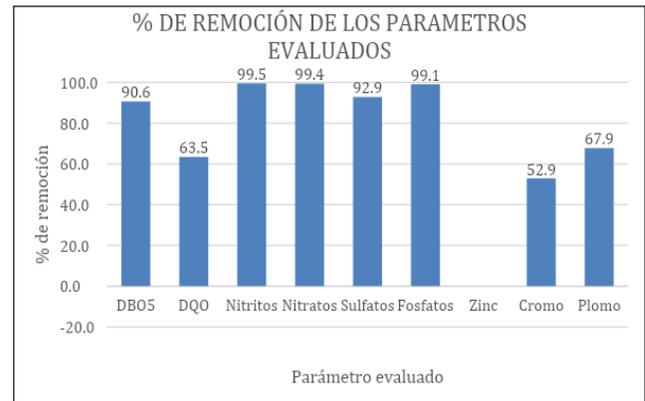
Figura 14. Eficiencia del sistema de electrocoagulación



Fuente: autores.

Teniendo en cuenta las figuras 13 y 14, se obtuvo la figura 15, la cual ilustra los porcentajes de remoción obtenidos en cada parámetro evaluado.

Figura 15. Porcentaje de remoción por parámetro evaluado



Fuente: autores.

DISCUSIÓN

Considerando la figura 15, se analiza que la alta presencia de aniones nitrito, nitrato, sulfato y fosfatos resulta ser un indicador de vertimientos con una alta carga de materia orgánica en el agua sin tratamiento, generando procesos como la nitrificación y la eutrofización al cuerpo de agua. Esta situación genera incertidumbre, teniendo en cuenta que esta agua sin tratamiento es posteriormente consumida por algunas comunidades cercanas al río Bogotá y utilizada para la hidratación de animales de granja y el riego de cultivos, lo cual puede generar un aumento en la incidencia de enfermedades gastrointestinales; de allí la importancia de la remoción de estos compuestos.

En los 4 parámetros (nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos) se presenta una remoción que supera el 90 %, lo cual indica que el sistema de electrocoagulación es altamente eficiente para la disminución de estos parámetros. Además, sobresale su eficiencia en la remoción en menor magnitud de parámetros tóxicos tales como el cromo y el plomo. En cuanto al DQO y el DBO₅, se determina que el agua tratada presenta una remoción de 63,4 % de la demanda química de oxígeno, lo que conlleva a concluir la presencia de

materia orgánica biodegradable y no biodegradable en los vertimientos como consecuencia de procesos como el descarte y la separación de pelo y piel.

Los metales pesados en la industria de las curtiembres y sus vertimientos representan un impacto negativo que se ve reflejado en la calidad del hídrico, alteraciones al ecosistema acuático y, por consiguiente, la flora y fauna acuática; de allí la importancia de lograr la disminución de estos compuestos. Por medio del sistema de electrocoagulación se logró una disminución significativa (52,8 %) en los niveles de cromo, el metal pesado más contaminante, y de plomo (67,8 %). Con respecto al zinc, se presentó un aumento de su concentración debido a su naturaleza de material conductor; teniendo en cuenta que el sistema funciona con el paso de corriente continua a través de los ánodos y cátodos, los niveles de zinc pueden llegar a aumentar debido a que las reacciones que se producen al interior del sistema propician un aumento en su concentración.

En la investigación se identificó que los contaminantes más abundantes son el cromo y el plomo. Estos metales, según estudios previos (Molina, Aguilar, & Codovez, 2010), son los que causan mayores repercusiones en la calidad del recurso hídrico y la flora y fauna acuática, gracias a su capacidad de bioacumulación.

De forma indirecta, el ser humano también se ve afectado debido al consumo de productos cárnicos, peces, hortalizas y/o verduras expuestos al agua proveniente del río Bogotá con contenido de contaminantes, principalmente metales pesados. Con respecto al plomo, este tiende a distribuirse en diferentes órganos, tejidos, huesos y dientes, acumulándose con el paso del tiempo y variando de acuerdo con la edad y el nivel de exposición de un individuo (Reyes, Vergara, Torres, Díaz, & Gonzales, 2016). Según la evidencia, el órgano más afectado por este metal pesado es el riñón, debido a que produce cambios en las mitocondrias e inflamación de las células del epitelio, causando serias alteraciones funcionales que provocan aminoaciduria y siendo precursor del síndrome de Fanconi. El cromo también trae serias repercusiones, principalmente por la intolerancia hacia la glucosa; esta es la causa de la aparición de diversos problemas, como los compuestos de Crison cancerígenos (Santoyo, 2009).

Al evaluar los porcentajes de remoción obtenidos tras la caracterización inicial y el análisis del agua tratada después del sistema de electrocoagulación, se obtuvo un alto porcentaje de remoción que puede incrementarse según el diseño del sistema y la disposición de los electrodos. Según la literatura, el uso mixto de electrodos de hierro y aluminio es más eficiente para el tratamiento de vertimientos, así como los tiempos de residencia del agua a tratar; lo anterior, basados en las dimensiones del sistema, teniendo en cuenta que a mayor escala y mayor disposición de electrodos se lograría un aumento en la eficiencia. Sin embargo, se define que el sistema propuesto funciona para esta clase de aguas residuales industriales, siendo una alternativa viable para el tratamiento de estas y para la disminución de impactos generados por esta industria al caudal del río Bogotá. Según datos disponibles en la literatura, la electrocoagulación puede tener un porcentaje de remoción entre 50 y 99 % para contaminantes disueltos en forma emulsionada o no emulsionada y para partículas suspendidas (Apráez & García, 2015). Por su parte, el desarrollo experimental de esta investigación dio como resultado un porcentaje de remoción total de 83 %, el cual se ajusta a los datos reportados en trabajos previos.

CONCLUSIONES

Para el diseño y construcción del sistema de electrocoagulación a escala laboratorio se realizó una revisión de literatura sobre prototipos realizados e implementados, la cual permitió determinar que el material adecuado para la base exterior y la base de electrodos es el acrílico, gracias a su resistencia dentro de procesos de remoción. De igual manera, este material resultó ser adecuado para la disposición de los electrodos de hierro y aluminio de forma intercalada, debido a que muestra una mayor eficiencia para la minimización o eliminación de metales pesados mediante el tratamiento de electrocoagulación.

Se evaluó el sistema de tratamiento experimental teniendo en cuenta los valores reportados antes y después del tratamiento. Al respecto, se evidenció que el sistema generó una alta eficiencia en la disminución de parámetros como DBO_5 , nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos, permitiendo obtener una remoción superior a 90 % para los parámetros base o de mayor

relevancia por su peligrosidad y contaminación al recurso hídrico. Con los metales pesados se obtuvieron los siguientes resultados en cuanto a remoción: cromo (52,8 %) y plomo (67,8 %), lo cual evidencia que el sistema de electrocoagulación a escala es eficiente, teniendo en cuenta todos los parámetros estudiados, y su implementación es viable, con variaciones en sus dimensiones, cantidad y disposición de electrodos.

Se concluye que el sistema propuesto es eficiente para la minimización de los contaminantes presentes en los vertimientos de curtiembres ubicadas en el municipio de Villapinzón (Cundinamarca) que van a parar al río Bogotá. Este tratamiento podría garantizar los requerimientos de la normatividad vigente colombiana, justificando la minimización en el impacto del recurso hídrico en zonas donde este tipo de actividades tienen una alta presencia y denotando su sencillez, facilidad de montaje y bajo consumo energético, características que hacen que este sistema sea de gran atención para el mejoramiento de los sistemas de tratamiento de aguas residuales industriales existentes.

REFERENCIAS

- Aguilar-Ascón, E. A. (2015). *Evaluación de la eficiencia de una celda de electrocoagulación a escala laboratorio para el tratamiento de agua* (tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Alcaldía Mayor De Bogotá (2015). *Guía de producción más limpia para el sector curtiembres de Bogotá Enfoque en vertimientos y residuos*. Bogotá: Alcaldía Mayor de Bogotá. <http://www.ambientebogota.gov.co/documents/24732/3987253/Guía+de+producción+más+limpia+para+el+sector+curtiembres+de+Bogotá.+Enfoque+en+vertimientos+y+residuos.pdf>
- Apráez, S., & García, J. (2015). *Análisis de la electrocoagulación como tecnología eficiente para el tratamiento de aguas residuales de una industria textil* (tesis de pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá.
- Beltrán, K. E. (2015). *Diseño conceptual y construcción de un electrocoagulador controlado por labview* (tesis de pregrado). Universidad Santo Tomás, Bogotá.
- Camacho, J. M., & López, P. J. (2015). *Evaluación de un proceso de electrocoagulación en un reactor tipo batch para la remoción de cromo hexavalente (Cr6+) con electrodos de aluminio – aluminio y de hierro – aluminio en condiciones de laboratorio* (tesis de pregrado). Universidad Santo Tomás, Bogotá.
- Centkin, V. E., & Belevtsev, A. N. (1985). Electrochemical treatment of industrial wastewater. *Effluent and water treatment journal. Effluent & Water Treatment Journal*, 25, 243-247.
- Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca [CAR] (2014). *Línea Base de carga Contaminante*. <https://www.car.gov.co/uploads/files/5ade351964fd3.pdf>
- Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca [CAR] (2018). *Información General Río Bogotá*. https://www.car.gov.co/rio_bogota
- Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca [CAR] (31 de enero de 2019). *Curtiembres Río Bogotá* (L. Pinto, & J. Tique, entrevistadores).
- Escobar, A. F., Ubaque, C. A., & Bohórquez, M. L. (2012). Identificación y evaluación de la contaminación del agua por curtiembres en el municipio de Villapinzón. *Tecnura*, 16, 185-194
- Ledesma, D., López, A., Ramírez, S., & Triana, D. (2017). *Calidad de vida y efectos en salud asociados a la generación de olores ofensivos por industrias de curtiembres en los habitantes de dos veredas de Villapinzón durante el 2017-I* (tesis de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá. <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/865/1/proyecto%20calida%20de%20vida%20final%2012.pdf>
- Martínez, S., & Romero, J. (2018). Revisión del estado actual de la industria de las curtiembres en sus procesos y productos: un análisis de su competitividad. *Revista Facultad de Ciencias Económicas*, xxvi(1)113-124. <https://doi.org/10.18359/rfce.2357>

- Mendoza, L. K., & Bueno, A. F. (2017). *Diseño de un prototipo para el tratamiento de aguas residuales domésticas, basado en electrocoagulación* (tesis de pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá.
- Molina, N., Aguilar, P., & Codovez, C. (2010). Plomo, cromo III y cromo VI y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia & Tecnología para la Salud Visual y Ocular*, 77-88.
- Observatorio Regional Ambiental y de Desarrollo Sostenible del Río Bogotá [ORARBO] (2017). *Información Ambiental para la Gestión Integral de la Cuenca Hídrica del Río Bogotá*. <http://www.orarbo.gov.co/es/indicadores?log=0&id=1407&v=l>
- Observatorio Regional Ambiental y de Desarrollo Sostenible del Río Bogotá [ORARBO] (2018). *Los trabajadores del cuero que le apuestan al resurgir del río Bogotá*. [http://orarbo.gov.co/apc-aa/view.php3?vid=265&cmd\[265\]=x-265-11859](http://orarbo.gov.co/apc-aa/view.php3?vid=265&cmd[265]=x-265-11859)
- Ojeda-Armaignac, E., & Hing-Cortón, R. (2010). Estudio del proceso de electrocoagulación de la vinaza empleando electrodos de aluminio. *Tecnología Química*, 30(2), 5-15.
- Restrepo, A., & Arango, Á. (2006). La Electrocoagulación: retos y oportunidades en el tratamiento de aguas. *Producción+Limpia*, 1(2), 58-72. http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/514/1/pl_v1n2_58-77_electrocoagulacion.pdf
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M., & Gonzáles, E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 16(2), 66-77. <https://doi.org/10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447>
- Ruíz, A. A., & Giraldo, L. F. (2007). Diseño de una celda de electrocoagulación para el tratamiento de aguas residuales de la industria láctea. *Revista Universidad EAFIT*, 43(147), 56-67.
- Santoyo, M. (2009). Insuficiencia renal por metales pesados. Efecto del cadmio en la regulación renal del sistema renina-angiotensina y el desarrollo de la hipertensión. *Bioquímica*, 34(1), 55.

Catálogo comentado de musgos, hepáticas y antoceros acuáticos del río Teatinos (Boyacá, Colombia)

A Commented Checklist of Aquatic Mosses, Liverworts, and Hornworts of the Teatinos River (Boyacá, Colombia)

Wilson Ricardo Álvaro Alba

¹Grupo de Investigación Biología para la Conservación, Facultad de Ciencias Básicas, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia
<https://orcid.org/0000-0003-3089-9515>
walvaroa@gmail.com

Daniela Alejandra Becerra Infante

Grupo de Investigación Biología para la Conservación, Facultad de Ciencias Básicas, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-5595-2418>
daniela.becerrain@gmail.com

Karen Alejandra Cárdenas Espinosa

Grupo de Investigación Biología para la Conservación, Facultad de Ciencias Básicas, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia
<https://orcid.org/0000-0001-6446-0119>
cardenasek@gmail.com

1 Autor de correspondencia.

Fecha de recepción: 23 de diciembre de 2019

Fecha de aceptación: 20 de enero de 2020

Sugerencia de citación: Álvaro-Alba, W. R., Becerra-Infante, D. A. y Cárdenas-Espinosa, K. A. (2019). Catálogo comentado de musgos, hepáticas y antoceros acuáticos del río Teatinos (Boyacá, Colombia). *Mutis*, 9(2), 49-61.

doi: 10.21789/22561498.1564

RESUMEN

Los briófitos acuáticos son un componente conspicuo de la vegetación de ríos de alta montaña tropical. Sin embargo, solo seis estudios abordan la taxonomía y ecología de estas plantas en Colombia. Este trabajo tiene como objetivo conocer la riqueza de especies de briófitos que se establecen en el río Teatinos y aportar información sobre la forma de crecimiento, tipo de sustrato colonizado, abundancia, características del hábitat y altitud para cada una de las especies. Se ubicaron 12 puntos de muestreo cada 100 m altitudinales, donde se colectaron las especies de briófitos que crecen sobre suelo y roca. Se presenta el catálogo comentado de briófitos acuáticos del río Teatinos donde se registran 70 especies, organizadas alfabéticamente por familias, géneros y especies en cada grupo (musgos, hepáticas y antoceros).

Palabras clave: abundancia, briófitos acuáticos, forma de crecimiento, riqueza, sustrato.

ABSTRACT

Aquatic bryophytes are a conspicuous component of the vegetation of high tropical mountain rivers. However, only six studies address the taxonomy and ecology of these plants in Colombia. This work aims to know the richness of bryophytes species that grow in the Teatinos River and provide information about their growth forms, substrate, abundance, habitat, and altitude for each of the species. Twelve sampling points were located every 100 m altitude, where bryophyte species that grow on soil and rock were collected. A commented checklist of aquatic bryophytes in the Teatinos River is presented through a record of 70 species, organized by alphabetical order of families, genera, and species in each group (mosses, liverworts and hornworts).

Keywords: Abundance, aquatic bryophyte, growth forms, richness, substrate.

INTRODUCCIÓN

El río Teatinos nace en el Páramo de Rabanal hacia el sector suroriental del municipio de Samacá (Boyacá), en el sector el alto del Santuario, sobre los 3.400 m, con coordenadas: 05°24'26" N - 73°33'54" O. Se encuentra represado a 3.250 m, formando el embalse de Teatinos, el cual tiene una capacidad de 8 millones de m³. La longitud del cauce es de 19,65 km, tiene un área total de 89 km² y un perímetro de 80 km. Presenta un caudal medio de 327 l/s, un caudal crítico de 279,31 l/s y una infiltración de 103,4 mm al año, equivalente a 8,91 % de la precipitación (Márquez & Suárez, 2005). La microcuenca del río Teatinos recibe las aguas de las quebradas la Yerbabuena, Chital, las Pilas, Cortaderal (Ventaquemada) y Las Juntas (Samacá). Este cambia su nombre durante el recorrido a río Bata (Santa María, Boyacá), el cual es embalsado para

generación de energía eléctrica en la represa de La Esmeralda, que suministra agua a la Central Hidroeléctrica de Chivor. El río Teatinos hace parte de la subcuenca del río Garagoa. Este último desemboca en el río Lengupá, que converge en la cuenca del río Orinoco (Márquez & Suárez, 2005).

En los ecosistemas lóticos, los briófitos (musgos, hepáticas y antoceros) cumplen funciones importantes, pudiendo alterar la estructura y función de los mismos (Stream Bryophyte Group, 1999), tales como modificar las concentraciones de nutrientes como fósforo y nitrógeno, reducir la velocidad del agua y actuar como fuente de alimento y sitio de desove e incubación para larvas de invertebrados, alterando así las características de las comunidades de la fauna acuática (Martínez & Sánchez, 1988; Stream Bryophyte Group, 1999).

La pérdida de especies a causa de la perturbación ejercida sobre el medio por las actividades humanas es quizás el mayor reto ambiental al que ha de enfrentarse la humanidad durante los próximos años. En consecuencia, cualquier estrategia de protección del medio natural debe asegurar la protección de la biodiversidad (Moreno, 2001). Uno de los principales problemas a los que se enfrenta la conservación es la carencia de datos que permitan evaluar el estado de la biodiversidad a nivel local (Myers, Mittermeier, Mittermeier-da-Fonseca, & Kent, 2000; Olson & Dinerstein, 2002). Por esto, los inventarios son herramientas básicas para conocer la biodiversidad (Rangel-Ch, 2015) que permiten ser divulgados a través de los catálogos de especies. Las investigaciones sobre briófitos acuáticos en el país son escasas. Las únicas contribuciones han sido realizadas por Cleef (1981), Linares y Churchill (1997), Lagos, Sáenz y Morales (2008), Bolaños (2012), Romero (2017) y Becerra y Cárdenas (2017). Esta investigación abarca el gradiente altitudinal más amplio (2.100-3.300 m) con relación a los demás trabajos realizados sobre este tema en Colombia y presenta el número más alto de especies (70) reportado en los estudios de briófitos reófilos para el país, con lo cual aporta información sobre la forma de crecimiento, tipo de sustrato colonizado, abundancia, características del hábitat y altitud para cada una de las especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase de campo se realizó en una época de transición entre el pico de época seca y época de lluvia en los meses de abril y mayo. Se realizó una colecta manual y minuciosa de estas plantas cada 100 m altitudinales, donde se registró el sustrato en el que se establecen las especies, especificando el lugar donde se encontró: suelo (orilla y/o fondo del río) y roca (cara superior, anterior, posterior y caras laterales). La forma de crecimiento se identificó de acuerdo con Richards (1984). La abundancia se estimó con relación a la cobertura obtenida en cm² para cada especie de acuerdo con la siguiente escala: rara (1-10 cm²), ocasional (11-100 cm²), escaso (101-1.000 cm²), abundante (1.001-10.000 cm²) y muy abundante > 10.000 cm².

Los ejemplares fueron colectados bajo el Permiso Marco de Recolección de especímenes, otorgado por la Agencia Nacional de Licencias Ambientales (ANLA) a

la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, mediante la Resolución 0724 del 2014. Las colecciones botánicas se depositaron en el Herbario del Jardín Botánico de Bogotá (JBB), bajo la numeración de Rosero, Becerra y Cárdenas. Los briófitos se determinaron al nivel taxonómico posible con el uso de las claves taxonómicas de Váña (1974); Fulford (1976); Zander (1993); Churchill y Linares (1995); Uribe y Aguirre (1995); Uribe (1999); Gradstein, Churchill y Salazar (2001); Bischler, Gradstein, Jovet, Long y Salazar (2005); Costa (2008); Vaz y Costa (2008); Ireland y Buck (2009); Gradstein (2016a, 2016b); y Aponte y Uribe (2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los especímenes colectados se determinaron a nivel de especie en 97 %. Se colectó un total de 336 muestras, donde 58,57 % de la riqueza correspondió a musgos, 38,57 % a hepáticas y 2,86 % a antoceros. Los musgos acrocárpicos están representados con 31,43 % del total y los pleurocárpicos con el 27,14 %; las hepáticas foliosas tienen el 21,43 % y las hepáticas talosas, incluidos los antoceros, 20 %.

Para musgos la familia Bryaceae presenta la mayor riqueza con cuatro géneros y ocho especies, seguida de las familias Brachytheciaceae (cuatro y seis), Pottiaceae (cuatro y cuatro), Pilotrichaceae (tres y tres), Hypnaceae (dos y tres), Dicranaceae, Neckeraceae y Polytrichaceae (dos y dos) cada una y Fissidentaceae (uno y cinco); reportes que coinciden con los presentados por Bolaños (2012), quien también presenta las familias Bryaceae, Brachytheciaceae, Fissidentaceae y Pottiaceae como las más distintivas. Lagos *et al.* (2008) registran a Brachytheciaceae como la familia con mayor número de especies, la cual se ubica en el segundo lugar en riqueza para este estudio. A nivel de género, *Fissidens* presenta la mayor cantidad de especies (cinco), seguido de *Bryum* (cuatro), *Brachythecium* (tres) y *Pohlia* (dos).

Para las hepáticas, la familia Lophocoleaceae es la más representativa, con tres géneros y cuatro especies, seguida de Pallaviciniaceae (uno y cinco), Aneuraceae (uno y tres), Plagiochilaceae, Lejeuneaceae y Calypogeiaceae (uno y dos). Las familias restantes están representadas por un género y una especie. El género *Symphyogyna* reporta la mayor cantidad de especies (cinco), seguido de *Riccardia*

(tres), *Calypogeia*, *Heteroscyphus*, *Plagiochila* y *Lejeunea* (dos). Los géneros restantes están representados por una especie. Para los antoceros se reportan dos familias, cada una con un género y una especie.

La mayoría de las especies (25) mostró preferencia por establecerse sobre roca, 22 se encontraron sobre suelo y 23 se reportan colonizando ambos sustratos. Los musgos mostraron una preferencia mayor que las hepáticas y antoceros por establecerse sobre roca. La preferencia por establecerse sobre las rocas se atribuye a que son un sustrato más estable que el suelo. Según el Stream Bryophyte Group (1999), los briófitos se encuentran principalmente sobre sustratos estables, pues requieren tiempos largos para su colonización.

Las formas de crecimiento en tepe, tapete y flageliforme se reportan en todos los puntos de muestreo. Los dendroides ramificados se presentan desde los 2.700 a los 3.300 m y el crecimiento en trama desde los 2.800 a los 3.300 m. A 2.500 m solo se reportan tres formas de crecimiento, tapete liso, tepe corto y flageliforme, y a 3.000 m se encuentran todas las formas de crecimiento.

Sobre los sustratos, roca y suelo del río Teatinos, predominan las formas de crecimiento tepe corto (27,14 %), tapete liso (21,43 %) y tapete taloso (18,57 %). En menor proporción, se encontraron especies con crecimiento dendroide y tepe abierto (1,43 % c/u). Los musgos de hábito pleurocárpico presentan formas de crecimiento flageliforme, dendroide ramificado, tapete liso, tapete rugoso y trama. Los acrocárpicos presentan formas de crecimiento en tepe abierto, tepe alto y tepe corto. Para hepáticas foliosas se presenta crecimiento en tapete liso, tepe alto y tepe corto. Para hepáticas talosas se presentan las formas de crecimiento dendroide ramificado y tapete taloso. Para antoceros, tapetes talosos.

Las especies con crecimiento dendroide fueron encontradas principalmente sobre suelo, mientras que las formas en tepes y tapetes colonizan las rocas. Las formas de crecimiento en tepe corto, tepe alto y tepe abierto, en su mayoría, se registran en sitios con alta luminosidad y sequía, lo que evidencia una tendencia a tolerar dichas condiciones. Por su parte, las especies pleurocárpicas que presentan crecimiento flageliforme, dendroide ramificado, tapete liso, tapete rugoso y trama, se relacionan con ambientes más sombríos.

Las especies de briófitos con formas de crecimiento en tepes se reportan a diferentes profundidades a lo largo del río Teatinos, lo que indica que es el crecimiento ideal para briófitos facultativos, pues les permite soportar altas velocidades y cambios en el nivel del agua. Según Birse (1958), los tepes altos se presentan en constante alcance de la capa freática, mientras que los tepes cortos se asocian con hábitats secos y se les atribuye a la alternancia estacional entre condiciones muy húmedas y secas. Schofield (1985) afirma que los tapetes talosos suelen ser tolerantes a la desecación como resultado de la forma de crecimiento, pues son dispositivos estructurales que ralentizan la desecación, como lo observado en las hepáticas del orden Marchantiales.

Teniendo en cuenta que el muestreo fue realizado en un único momento, que corresponde a un periodo de transición entre la época seca y época lluviosa, los términos sumergido y emergente se refieren a la condición en que se encontró cada especie en el momento del muestreo, donde las especies sumergidas son aquellas que están por debajo del nivel de la corriente y las emergentes las encontradas por encima de este nivel.

En los puntos de muestreo realizados a lo largo del río Teatinos se registran especies de briófitos que no son típicas de cuerpos de agua corriente. Para musgos: *Brachythecium occidentale* (Hampe) A. Jaeger, *Rhynchostegium serrulatum* (Hedw.) A. Jaeger, *Anomobryum robustum* Broth., *Bryum dichotomum* Hedw., *Pohlia elongata* Hedw., *Catagonium brevicaudatum* Müll. Hal. ex Broth., *Fissidens asplenioides* Hedw., *F. curvatus* Hornsch., *Helicodontium capillare* (Hedw.) A. Jaeger, *Cyclodictyon roridum* (Hampe) Kuntze y *Lepidopilum longifolium* Hampe. Para hepáticas: *Calypogeia andicola* Bischler, *C. subintegra* (Gottsche, Lindenb. & Nees) Bischl., *Heteroscyphus contortuplicatus* (Nees & Mont.) Grolle, *H. polyblepharis* (Spruce) Schiffner, *Leptoscyphus amphibolius* (Nees) Grolle, *Metzgeria crassipilis* (Lindb.) A. Evans, *Symphyogyna brasiliensis* Nees, *S. brongniartii* Mont., *S. circinata* Mont., *S. podophylla* (Thunb.) Mont. & Nees, *S. trivittata* Spruce, *Plagiochila alternans* Lindenb. & Gottsche, *P. laetevirens* Lindenb., *Radula episcia* Spruce y el antocero: *Nothoceros vinctianus* (Lehm. & Lindenb.) J.C. Villarreal. Las demás especies, según reportes en literatura (Gradstein & Costa, 2003; Allen, 1994, 2002, 2010, 2018), se establecen en los sustratos suelo y roca de ríos.

A continuación, se presenta el catálogo de briófitos acuáticos en orden alfabético por familias, géneros y especies, dentro de los musgos, hepáticas y antocefros. Adicionalmente, se proporciona información sobre la forma de crecimiento, tipo de sustrato, ambiente, abundancia, altitud y las colecciones estudiadas. La categoría taxonómica de familia asignada a cada especie sigue la propuesta del Catálogo de Plantas y Líquenes de Colombia de Bernal, Gradstein y Celis (2015).

MUSGOS

Bartramiaceae

Philonotis uncinata (Schwägr.) Brid.

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, coloniza todas las caras de las rocas y el suelo (orilla del río), desde ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, raro entre 2.500 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 701, 702, 710, 718, 733, 754, 772.

Brachytheciaceae

Brachythecium occidentale (Hampe) A.Jaeger

Musgo pleurocárpico, en forma flageliforme, sobre roca (cara anterior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, raro a 2.400 m. Rosero *et al.*, 745.

Brachythecium plumosum (Hedw.) Schimp.

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete rugoso, sobre suelo (orilla del río) y roca (cara lateral izquierda), en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, raro a 2.200 y 2.800 m. Rosero *et al.*, 681.

Brachythecium ruderales (Brid.) W.R.Buck

Musgo pleurocárpico, en forma flageliforme, sobre roca (cara lateral izquierda), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, raro a 2.500 m. Rosero *et al.*, 744.

Kindbergia praelonga (Hedw.) Ochyra

Musgo pleurocárpico, en forma de trama, coloniza todas las caras de las rocas y el suelo (orilla del río),

en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, abundante entre 2.800 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 730, 752, 770, 792, 793, 819, 820, 821, 822.

Platyhypnidium aquaticum (A.Jaeger) M. Fleisch.

Musgo pleurocárpico, en forma flageliforme, coloniza todas las caras de las rocas y el suelo (orilla y fondo del río), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, muy abundante desde 2.100 a 3.300 m. Rosero *et al.*, 655, 668, 669, 681, 683, 684, 691, 700, 708, 715, 728, 729, 751, 769, 791, 818.

Rhynchostegium serrulatum (Hedw.) A.Jaeger

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete liso, sobre roca (cara superior y lateral), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, escasa a 2.100 m. Rosero *et al.*, 654.

Bryaceae

Anomobryum robustum Broth.

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara superior), en ambientes descubiertos, sumergido, raro a 2.800 m. Rosero *et al.*, 830.

Bryum dichotomum Hedw.

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara superior y lateral izquierda), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.700 m. Rosero *et al.*, 725.

Bryum laevigatum Hook.f. & Wilson

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, coloniza todas las caras de las rocas, en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, abundante a 2.100, 2.200, 2.500, 2.600 y 2.700 m. Rosero *et al.*, 665, 680, 705, 726, 747, 748, 768.

Bryum limbatum Müll. Hal.

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, coloniza todas las caras de las rocas y el suelo (orilla y fondo del río), en ambientes descubiertos y

parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, abundante entre 2.100 y 2.700 m (ausente a 2.300 m s. n. m). Rosero *et al.*, 664.

***Bryum renauldii* Renauld & Cardot**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara anterior y superior), en ambientes descubiertos, sumergido, escaso a 2.100 m. Rosero *et al.*, 666.

***Pohlia elongata* Hedw.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre suelo (orilla y fondo del río) y roca (cara superior), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido, escaso entre 2.800 a 3.300 m. (ausente a 3.100 m.s.n.m). Rosero *et al.*, 743, 766, 788, 837.

***Pohlia wahlenbergii* (F.Weber & D.Mohr) A. L. Andrews**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara anterior y superior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 809.

***Schizymenium* sp.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara anterior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido, raro a 2.800 m. Rosero *et al.*, 741.

Catagoniaceae

***Catagonium brevicaudatum* Müll. Hal. ex Broth.**

Musgo pleurocárpico, en forma flageliforme, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 3.300 m. Rosero *et al.*, 832.

Dicranaceae

***Dicranella hilariana* (Mont.) Mitt.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes descubiertos, sumergido y emergente, raro a 2.800 m. Rosero *et al.*, 839.

***Dicranella vaginata* (Hook.) Cardot**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre suelo (fondo del río), en ambientes descubiertos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.900 m. Rosero *et al.*, 765.

Fissidentaceae

***Fissidens asplenioides* Hedw.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe abierto, sobre suelo (orilla del río) y roca (cara superior), en ambientes parcial y completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, escaso entre 2.900 a 3.100 m. Rosero *et al.*, 757, 774, 798.

***Fissidens crispus* Mont.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, coloniza todas las caras de las rocas y el suelo (orilla y fondo del río), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, abundante desde 2.100 a 3.300 m (ausente a 2.500 m). Rosero *et al.*, 658, 672, 685, 694, 712, 719, 735, 755, 773, 796, 823.

***Fissidens curvatus* Hornsch.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 3.300 m. Rosero *et al.*, 824.

***Fissidens inaequalis* Mitt.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe alto, sobre suelo (orilla del río) y roca (cara anterior y superior), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, escaso entre 2.200 y 2.400 y entre 2.900 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 797.

***Fissidens rigidulus* Hook.f. & Wilson**

Musgo acrocárpico, en forma de tapete corto, sobre roca (cara anterior y lateral izquierda), en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido, escaso a 2.700, 2.800 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 736.

Fontinalaceae

Fontinalis bogotensis Hampe

Musgo pleurocárpico, en forma flageliforme, sobre roca (cara anterior y superior), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido, abundante entre 2.700 y 3.300 m. (ausente a 3.100 m.s.n.m). Rosero *et al.*, 727, 737, 758, 776, 825.

Hypnaceae

Isopterygium tenerifolium Mitt.

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete liso, sobre suelo (orilla del río) y roca (cara lateral derecha y superior), en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.800 y 2.900 m. Rosero *et al.*, 739.

Mittenothamnium reduncum (Schimp. ex Mitt.) Ochyra

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete rugoso, coloniza todas las caras de las rocas, en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, raro a 2.200, 2.800 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 674, 738, 780.

Mittenothamnium reptans (Hedw.) Cardot

Musgo pleurocárpico, en forma de trama, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 804.

Myriniaceae

Helicodontium capillare (Hedw.) A.Jaeger

Musgo acrocárpico, en forma de tapete rugoso, sobre roca (cara superior y lateral derecha), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, ocasional a 2.100 y 2.200 m. Rosero *et al.*, 660, 675.

Neckeraceae

Porotrichum korthalsianum (Dozy & Molke.) Mitt.

Musgo pleurocárpico, en forma dendroide ramificada, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcial y completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional entre 3.000 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 786, 810, 836.

Thamnobryum fasciculatum (Hedw.) I. Sastre

Musgo pleurocárpico, en forma dendroide ramificada, sobre roca (cara posterior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido, escaso a 2.700 m. Rosero *et al.*, 721.

Pilotrichaceae

Cyclodictyon roridum (Hampe) Kuntze

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete liso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 805.

Lepidopilum longifolium Hampe

Musgo pleurocárpico, en forma flageliforme, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, rara a 3.100 m. Rosero *et al.*, 808.

Trachyxiphium variabile (Mitt.) W.R.Buck

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete liso, sobre suelo (orilla del río) y roca (cara superior, anterior y lateral izquierda), en ambientes parcial y completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, escaso a 2.500, 2.700, 3.000 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 704, 722, 787.

Plagiotheciaceae

Plagiothecium novogranatense (Hampe) Mitt.

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete rugoso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 811.

Polytrichaceae***Atrichum polycarpum* (Müll.Hal.) Mitt.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe alto, sobre suelo (orilla del río) y roca (cara posterior), en ambientes parcial y completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.900 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 763.

***Pogonatum campylocarpon* (Müll.Hal.) Mitt.**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe alto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, escaso a 3.300 m. Rosero *et al.*, 835.

Pottiaceae***Bryoerythrophyllum campylocarpum* (Müll.Hal.) H.A.Crum**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara anterior, posterior, superior y lateral izquierda), en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.800 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 740, 785.

***Hymenostylium recurvirostrum* (Hedw.) Dixon**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, escaso a 3.300 m.

***Hyophila involuta* (Hook.) A.Jaeger**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara lateral derecha), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.200 m. Rosero *et al.*, 746.

***Trichostomum brachydontium* Bruch**

Musgo acrocárpico, en forma de tepe corto, sobre roca (cara posterior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 2.200 m. Rosero *et al.*, 677.

Sematophyllaceae***Sematophyllum galipense* (Müll. Hal.) Mitt.**

Musgo pleurocárpico, en forma de tapete rugoso, coloniza todas las caras de la roca, en ambientes descubiertos y parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, abundante a 2.100, 2.200, 2.400, 2.700, 2.800 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 657, 671, 693, 717, 731, 732, 771.

HEPÁTICAS**Acrobolbaceae*****Tylimanthus laxus* (Lindenb.) Steph.**

Hepática foliosa, en forma de tepe alto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 807.

Aneuraceae***Riccardia cataractarum* (Spruce) Schiffn.**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara anterior y superior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, escasa a 3.000 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 782, 803.

***Riccardia hans-meyeri* (Steph.) Meenks & C.De Jong**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara superior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 690.

***Riccardia* sp.**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, sumergido y emergente, rara a 3.300 m.

Calypogeiaceae

Calypogeia andicola Bischler

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida, ocasional a 3.300 m. Rosero *et al.*, 831.

Calypogeia subintegra (Gottsche, Lindenb. & Nees) Bischl.

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 817.

Herbertaceae

Triandrophyllum subtrifidum (Hook. & Taylor) Fulford & Hatcher

Hepática foliosa, en forma de tepe corto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, ocasional a 3.000 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 784, 834.

Jamesoniellaceae

Syzygiella sonderi (Gottsche) K. Feldberg, Váña, Hentschel & J. Heinrichs

Hepática foliosa, en forma de tepe alto, sobre roca (cara anterior, superior y laterales) y suelo (orilla del río), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, abundante desde 2.900 a 3.300 m. Rosero *et al.*, 759, 777, 800, 826.

Jungermanniaceae

Jungermannia ovato-trigona (Steph.) Grolle

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara superior), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 2.600, 2.800 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 711, 734, 795.

Lejenuneaceae

Lejeunea flava (Sw.) Nees

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara posterior, superior y laterales), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa entre 2.100 y 2300 m. y a 2.800 m. Rosero *et al.*, 661, 678, 689.

Lejeunea laeta (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb.

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara anterior, posterior y laterales), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 2.100, 2.200 y 2.700 m. Rosero *et al.*, 662, 679, 723, 742.

Lophocoleaceae

Clasmatocolea vermicularis (Lehm.) Grolle

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara posterior y lateral derecha) y suelo (orilla del río), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa entre 2.900 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 761, 779, 801, 828.

Heteroscyphus contortuplicatus (Nees & Mont.) Grolle

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara anterior y lateral izquierda) y suelo (orilla del río), en ambientes parcial y completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 2.100, 2.200, 2.300, y 2.500 m. Rosero *et al.*, 659, 673, 687, 703.

Heteroscyphus polyblepharis (Spruce) Schiffner

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, ocasional a 3.300 m. Rosero *et al.*, 799.

***Leptoscyphus amphibolius* (Nees) Grolle**

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara anterior y laterales) y suelo (orilla del río), en ambientes parcial a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, abundante a 2.400, 2.900, 3.000 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 697, 762, 781, 829.

Lunulariaceae***Lunularia cruciata* (L.) Lindb.**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, coloniza todas las caras de las rocas y sobre suelo (orilla del río), en ambientes descubiertos a parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, abundante a 2.100, 2.200, 2.400, 2.600, 2.700, 2.900 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 656, 670, 692, 709, 716, 753, 794.

Marchantiaceae***Marchantia berteriana* Lehm. & Lindenb.**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara superior) y suelo (orilla del río), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, abundante a 2.200 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 676, 833.

Mezgeriaceae***Metzgeria crassipilis* (Lindb.) A.Evans**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara anterior) y suelo (orilla del río), en ambientes parcial a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa entre 2.100 y 2.300 m. Rosero *et al.*, 667, 682.

Pallaviciniaceae***Symphyogyna brasiliensis* Nees**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara superior) y suelo (orilla del río), en ambientes parcial a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, ocasional a 3.100 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 706, 814.

***Symphyogyna brongniartii* Mont.**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 2.200 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 815.

***Symphyogyna circinata* Mont.**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, ocasional a 2.900 y 3.000 m. Rosero *et al.*, 790.

***Symphyogyna podophylla* (Thunb.) Mont. & Nees**

Hepática talosa, en forma dendroide, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcial a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 3.000 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 699, 789.

***Symphyogyna trivittata* Spruce**

Hepática talosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara superior), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 3.100 m. Rosero *et al.*, 813.

Pelliaceae***Noteroclada confluens* Hook.f. & Wilson**

Hepática foliosa, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara superior y lateral derecha) y suelo (orilla del río), en ambientes descubiertos a completamente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 2.900, 3.000 y 3.300 m. Rosero *et al.*, 760, 778, 827.

Plagiochilaceae***Plagiochila alternans* Lindenb. & Gottsche**

Hepática foliosa, en forma de tepe alto, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, ocasional a 3.100 m. Rosero *et al.*, 816.

***Plagiochila laetevirens* Lindenb.**

Hepática foliosa, en forma de tepe alto, sobre roca (cara superior, posterior y lateral izquierda), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida, ocasional a 2.100 m. Rosero *et al.*, 663.

Radulaceae

***Radula episcia* Spruce**

Hepática foliosa, en forma de tapete liso, sobre roca (cara anterior, posterior y lateral izquierda) y suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, escasa a 2.300, 2.400 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 688, 696, 802.

ANTOCEROS

Dendrocetotaceae

***Nothoceros vincentianus* (Lehm. & Lindenb.) J. C. Villarreal**

Antocero, en forma de tapete taloso, sobre roca (cara superior y lateral izquierda) y suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, abundante a 2.600 y 3.100 m. Rosero *et al.*, 714, 806.

Notothyladaceae

***Phaeoceros carolinianus* (Michx.) Prosk.**

Antocero, en forma de tapete taloso, sobre suelo (orilla del río), en ambientes parcialmente protegidos por vegetación vascular, sumergida y emergente, ocasional a 2.900 m. Rosero *et al.*, 764.

AGRADECIMIENTOS

A Stephan Robbert Gradstein, Timo Koponen y Edgar Linares por la corroboración taxonómica de algunas especies. A la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia por el financiamiento del proyecto a través de la convocatoria capital semilla.

REFERENCIAS

- Allen, B. (1994). *Moss flora of Central America. Part 1. Sphagnaceae-Calymperaceae*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Allen, B. (2002). *Moss flora of Central America. Part 2. Encalyptaceae-Orthotrichaceae*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Allen, B. (2010). *Moss flora of Central America. Part 3. Anomodontaceae-Symphodontaceae*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Allen, B. (2018). *Moss flora of Central America. Part 4. Fabroniaceae-Polytrichaceae*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- Aponte, A., & Uribe, J. (2017). Revisión de la familia Polytrichaceae (Bryophyta) para Colombia. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 52(2), 209-250. <https://doi:10.31055/1851.2372.v52.n2.17438>.
- Bernal, R., Gradstein, S. R. & Celis, M. [editors]. (2015). *Catálogo de plantas y líquenes de Colombia*. (primera edición). Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co>.
- Becerra, D., & Cárdenas, K. (2017). *Estructura y composición de los briófitos reófilos del río Teatinos (Boyacá, Colombia)* (tesis de pregrado). Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja.
- Birse, E. (1958). Ecological studies on growth-form in bryophytes: III. The relationship between the growth-form of mosses and ground-water supply. *The Journal of Ecology*, 46(1), 9-27. <https://doi.org/10.2307/2256900>
- Bischler, H., Gradstein, S. R., Jovet, S., Long, G., & Salazar, N. (2005). *Marchantiidae. Flora Neotropica Monograph 97*. New York: The New York Botanical Garden Press.
- Bolaños, G. (2012). *Briófitos reófilos de la parte alta de la quebrada Juntas y el río Cocuy del departamento del Cauca, Colombia* (tesis de pregrado). Departamento de Biología, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

- Churchill, S. P., & Linares, E. (1995). *Prodromus Bryologiae Novo-Granatensis. Introducción a la flora de musgos de Colombia*. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales-Museo de Historia Natural.
- Cleef, A. (1981). The vegetation of the páramos of the Colombian Cordillera Oriental. *Mededelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijksuniversiteit te Utrecht*, 481, 1-320.
- Costa, D. P. (2008). *Metzgeriaceae* (Hepaticae). *Flora Neotropica Monograph 102*. New York: The New York Botanical Garden Press.
- Fulford, M. (1976). *Manual of the Leafy Hepaticae of Latin America (Memoirs of the New York Botanical Garden)*. New York: New York Botanical Garden Press.
- Gradstein, S. R. (2016a). A new key to the genera of liverworts of Colombia. *Caldasia*, 38(2), 225-249. <https://doi:10.15446/caldasiav38n2.60915>.
- Gradstein, S. R. (2016b). The genus *Plagiochila* (Marchantiophyta) in Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 40(154), 104-136. <https://doi:10.18257/raccefyn.272>.
- Gradstein, S. R., Churchill, S. P., & Salazar, N. (2001). *Guide to the bryophytes of tropical America*. New York: The New York Botanical Garden Press.
- Gradstein, S. R., & Costa, D. P. (2003). *The Liverworts and Hornworts of Brazil* (vol. 87). New York: New York Botanical Garden Press.
- Ireland, R., & Buck, W. (2009). Some Latin American genera of Hypnaceae (Musci). *Smithsonian Contributions to Botany*, 93, 1-97. <https://doi.org/10.5479/si.0081024X.93>
- Lagos, M., Sáenz, F., & Morales, M. E. (2008). Briófitos reófilos de tres quebradas del páramo de Mamapacha, Chinavita (Boyacá-Colombia). *Acta Biológica Colombiana*, 13(1), 143-160.
- Linares, E., & Churchill, S. (1997). Comunidades de briófitos reófilos en un caño de montaña en San Francisco, Cundinamarca, Colombia. *Caldasia* 19(1-2), 323-329.
- Márquez, G., & Suárez, N. (2005). *Plan de Ordenación y Manejo Ambiental de la Cuenca del río Garagoa*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Martínez, J., & Sánchez, M. (1988). Ecofisiología de briófitos acuáticos. En P. Montserrat (ed.). *Homenaje a Pedro Montserrat* (pp. 955-964). Zaragoza: Instituto de Estudios Altoaragoneses.
- Moreno, C. E. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad*. Zaragoza: Sociedad Entomológica Aragonesa.
- Myers, N., Mittermeier, R., Mittermeier-da-Fonseca, G., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858. <https://doi:10.1038/35002501>.
- Olson, D. M., & Dinerstein, E. (2002). The Global 200: priority ecoregions for global conservation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89, 199-224. <https://doi:10.2307/3298564>.
- Rangel-Ch, J. O. (2015). La biodiversidad de Colombia: significado y distribución regional. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(151), 176-200. <https://doi:10.18257/raccefyn.136>.
- Richards, P. (1984). The ecology of tropical forest bryophytes. En R. M. Shuster (Ed.). *New manual of bryology* (pp. 123-127). Nichinan: Hattori Botanical Laboratory.
- Romero, M. C. (2017). *Análisis de la distribución de las comunidades de briófitos reófitos como bioindicadores en la calidad del agua de los caños Parrado y Buque, dentro de la reserva Buenavista (Villavicencio- Colombia)* (tesis de pregrado). Universidad de Los Llanos, Villavicencio, Colombia.
- Schofield, B. (1985). *Introduction to bryology*. New York: Macmillan Publishing Company.
- Stream Bryophyte Group (1999). Roles of Bryophytes in Stream Ecosystems. *Journal of North American Benthological Society*, 18(2), 151-184. <https://doi:10.2307/1468459>.
- Uribe, J., & Aguirre, J. (1995). Las especies colombianas del género *Symphyogyna* (Hepaticae: Pallaviciniaceae). *Caldasia*, 17(82-85), 429-458.

- Uribe, J. (1999). Nuevo registro del género *Symphyogyna* (Hepaticae: Pallaviciniaceae) para Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 23(Suplemento especial), 119-121.
- Vañá, J. (1974). Studien über die Jungermannioideae (Hepaticae) 4. *Jungermannia* Subg. *Plectocolea* und Subg. *Solenostoma*: Allgemeines, süd- und mittelamerikanische Arten. *Phytotaxa*, 9(2), 179-208. <https://doi:10.1007/BF02853150>.
- Vaz, T., & Costa, P. (2008). The Pilotrichaceae (Hookeriales) of Rio de Janeiro, Brazil. *The Bryologist*, 111(4), 551-575. <https://doi:10.1639/0007-2745-111.4.551>.
- Vitt, D., & Glime, J. (1984). The structural adaptations of aquatic Musci. *Lindbergia*, 10, 95-110.
- Zander, R. (1993). *Genera of the Pottiaceae: Mosses of Harsh Environments*. New York: Buffalo Society of Natural Sciences.

Integración de herramientas bioinformáticas y métodos en biología molecular para el diseño de un kit diagnóstico del COVID-19: un ejemplo de aprendizaje significativo

Integration of Bioinformatics Tools and Molecular Biology Methods for the design of a COVID-19 Test Kit: An Example of Significant Learning

Catalina Rivera Forero
Luis Alejandro Yáñez Dukon
Carolina Herrera Khenayzir
Juan Carlos Arias
Jonathan Niño Vargas

Estudiantes de Biología Marina y Biología Ambiental, Departamento de Ciencias Naturales y Ambientales, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Grupo de Investigación Genética, Biología Molecular y Bioinformática, GENBIMOL, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia

Pilar Rodríguez Becerra

Docente, Departamento de Ciencias Naturales y Ambientales, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Grupo de Investigación Genética, Biología Molecular y Bioinformática, GENBIMOL, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
<https://orcid.org/0000-0003-3843-1490>

Leslie Leal Mejía

Docente, Departamento de Ciencias Naturales y Ambientales, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Grupo de Investigación Genética, Biología Molecular y Bioinformática, GENBIMOL, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
<https://orcid.org/0000-0001-7940-0020>

Javier Hernández Fernández

Docente, Departamento de Ciencias Naturales y Ambientales, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Grupo de Investigación Genética, Biología Molecular y Bioinformática, GENBIMOL, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia
<https://orcid.org/0000-0001-8442-9266>
javier.hernandez@utadeo.edu.co

Fecha de recepción: 10 de marzo de 2020
Fecha de aceptación: 30 de marzo de 2020

Sugerencia de citación: Rivera-Forero, C., Yáñez-Dukon, L. A., Herrera-Khenayzir, C., Arias, J. K., Niño-Vargas, J., Rodríguez-Becerra, P. ... y Hernández-Fernández, J. (2019). Integración de herramientas bioinformáticas y métodos en biología molecular para el diseño de un kit diagnóstico del COVID-19: un ejemplo de aprendizaje significativo.

Mutis, 9(2), 62-80. | [doi: 10.21789/22561498.1599](https://doi.org/10.21789/22561498.1599)

RESUMEN

Como una forma pedagógica de aprendizaje activo, se relacionaron temas desarrollados en clase de biología molecular con la pandemia del coronavirus COVID-19 que en este momento avanza en casi la totalidad del planeta. Contar con un método eficiente para diagnosticar la infección durante el inicio de esta infección respiratoria aguda es importante para detectar tanto los pacientes sintomáticos como los asintomáticos. Por este motivo, se retó a los estudiantes de séptimo semestre de las carreras de biología marina y ambiental que cursan la materia biología molecular en la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano a diseñar un método diagnóstico para el virus COVID-19 basado en RT PCR y qPCR. El objetivo de este ejercicio académico consistió en incentivar a los estudiantes para que propusieran un método efectivo que permita detectar el virus COVID-19 a través de los conocimientos adquiridos durante el curso. Se realizó una revisión de la literatura previa para identificar los métodos existentes para la detección del virus y con ayuda de herramientas bioinformáticas se realizó el análisis de las secuencias de los genomas del COVID-19, el SARS humano y el SARS de murciélago disponibles en GenBank.

Palabras claves: RT-qPCR, SARS COV 2, pandemia, coronavirus, educación contextualizada.

ABSTRACT

As a pedagogical form of active learning, topics developed in molecular biology class were related to the coronavirus COVID-19 pandemic that is currently advancing in almost the entire planet. Having an efficient method of diagnosing infection during the onset of this acute respiratory infection is important in detecting both symptomatic and asymptomatic patients. For this reason, seventh semester students from marine and environmental biology courses studying molecular biology at the University of Bogotá Jorge Tadeo Lozano were challenged to design a diagnostic method for the COVID-19 virus based on RT PCR and qPCR. The objective of this academic exercise was to encourage students to propose an effective method to detect the COVID-19 virus using the knowledge acquired during the course. A review of the previous literature was carried out to identify the existing methods for the detection of the virus and, with the help of bioinformatic tools, the analysis of the sequences of the genomes of COVID-19, human SARS and bat SARS available at GenBank was carried out.

Keywords: RT-qPCR, SARS COV 2, pandemic, coronavirus, contextualized education.

INTRODUCCIÓN

La biología molecular y la genética en la sociedad del conocimiento del siglo XXI se mezclan cada vez más con disciplinas tradicionalmente separadas pero relacionadas, como la física, la informática y la matemática (Furge, Stevens-Truss, Moore, & Langeland, 2009). El proyecto genoma humano, iniciado en 1990, produjo el desarrollo de una ciencia sin la cual la gran cantidad de datos del genoma no hubiera podido ser analizada: la bioinformática. Esta ciencia –que cada día toma más fuerza–, unida al uso de métodos computacionales, puede resolver problemas biológicos

que requieren nuevos enfoques. Un plan de estudio bien estructurado e integral en biología molecular debe incluir esta ciencia. De otra parte, el aprendizaje basado en problemas, orientado a la investigación y el desarrollado en equipos, y dirigido de manera adecuada por profesores, se convierte en una estrategia centrada en el estudiante que apoyan el aprendizaje activo y que son muy efectivas en la educación científica (Prieto, 2006).

La bioinformática se refiere a: “La investigación, desarrollo o aplicación de herramientas y enfoques computacionales para expandir el uso de datos

biológicos, médicos, conductuales o de salud, incluidos aquellos para adquirir, almacenar, organizar, archivar, analizar o visualizar datos” (BISTIC, 2000). Teniendo esta definición en mente, y siguiendo nuestro programa durante la semana siete de clases, se desarrolló el tema de métodos en biología molecular, específicamente los métodos de RT-PCR, PCR tiempo real, sondas, hibridaciones de Southern, Northern y Western, así como la utilización de vectores (plásmidos, cósmidos, fásmidos, cromosomas bacterianos y cromosomas de levaduras) para la clonación de genes. Paralelamente, se realizaron aplicaciones bioinformáticas para aprender a descargar secuencias de GenBank y utilizar programas para el corte con enzimas de restricción [Nebcutter V2.0, <http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>] (Vincze, Posfai, & Roberts, 2003) y construir los perfiles electroforéticos. Adicionalmente, los estudiantes aprendieron a realizar alineamientos de secuencias de ADN utilizando ClustalW [<https://www.genome.jp/tools-bin/clusterw>] (Li, 2003), diseñar primer con Primer3web versión 4.1.0 [<http://primer3.ut.ee/>] (Untergasser *et al.*, 2012), hacer PCR virtuales con iPCR [https://embnet.vital-it.ch/software/iPCR_form.html] (Lexa, Horak, & Brzobohaty, 2001) y, de manera destacada, a manejar la herramienta BLASTn de GenBank para la búsqueda de secuencias homólogas [<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>] (Altschul, Gish, Miller, Myers, & Lipman, 1990); este último programa además compara secuencias de nucleótidos o proteínas con bases de datos de secuencias y calcula la significación estadística (GenBank, 2020). Teniendo en cuenta lo anterior, se puede afirmar que los estudiantes se relacionaron con las más actuales y modernas herramientas para el aprendizaje de análisis de secuencias proteicas y de ácidos nucleicos.

Históricamente, la educación en ciencia ha requerido desarrollar un enfoque que propicie enseñanza contextualizada o en contexto del mundo real, con lo cual el aprendizaje se convierte en altamente significativo. Así, cuando la nueva información se relaciona con algún aspecto de lo ya existente en la estructura cognitiva del individuo, se produce un proceso que conduce al aprendizaje significativo (Novak, 1988). A partir de este argumento, se introdujo a los estudiantes en el conocimiento de la pandemia producida por el nuevo coronavirus (ncov 19) descubierto a finales de 2019 en Wuhan, provincia de Hubei, China (Wu *et al.*, 2020). Este coronavirus causa una infección severa

en las vías respiratorias. Desde su aparición a principios de diciembre de 2019 hasta el 26 de marzo de 2020, el número de casos ha aumentado exponencialmente hasta 858.785, con un total de 42.151 muertes y una recuperación de 178.119 pacientes (Dong, Du, & Gardner, 2020). La pandemia se ha generalizado a 180 países, donde las naciones con mayor número de infectados son China (82.290), Italia (105.792), Estados Unidos (189.035) y España (95.923). Colombia no ha sido ajeno a la pandemia, registrando su primer caso de contagio el 3 de marzo de 2020. Actualmente, el país cuenta con 906 casos reportados (Dong *et al.*, 2020).

Dentro de las políticas que han tomado la mayoría de los países que presentan individuos infectados por COVID-19 se encuentran: el aislamiento de los enfermos, la cuarentena de personas que posiblemente han estado expuestas al virus, el confinamiento de todos sus habitantes para prevenir nuevos contagios y la realización de un mayor número de pruebas diagnósticas. Una de estas pruebas se basa en la RT-qPCR, técnica que permite hacer una copia de DNA complementario a partir del RNA viral utilizando una enzima denominada transcriptasa inversa, la cual convierte el RNA de cadena sencilla en DNA de doble cadena. Con esta enzima es posible amplificar diferentes regiones del virus para posibilitar su caracterización. Para ello, se usan primers, o cadenas sencillas cortas de ADN (20 nucleótidos), y sondas de DNA marcadas con fluorocromos para identificar en tiempo real la amplificación de los fragmentos.

La PCR en tiempo real (o cuantitativa) permite medir la cantidad de copias del DNA viral en la muestra. Esta técnica es bastante confiable para identificar los virus. Sin embargo, cuenta con algunas limitaciones. Una de ellas es el tiempo necesario para su ejecución (4-6 h), lo que limita el número de pruebas que se pueden realizar al día. Otra limitante son los reactivos o kits para desarrollar las pruebas, puesto que en este momento se reporta escasez de estos elementos debido a la gran demanda a escala global. Además, la contaminación es un problema limitante, puesto que se requieren laboratorios con suficiente bioseguridad a fin de evitar que se presenten falsos positivos y falsos negativos, como ocurre en algunas ocasiones.

Por otra parte, estas pruebas permiten detectar pacientes asintomáticos, configurando un diagnóstico de gran importancia debido a que estos son transmisores

activos de la infección (Costa, 2004; Salazar, Sandoval, & Armendáriz, 2013).

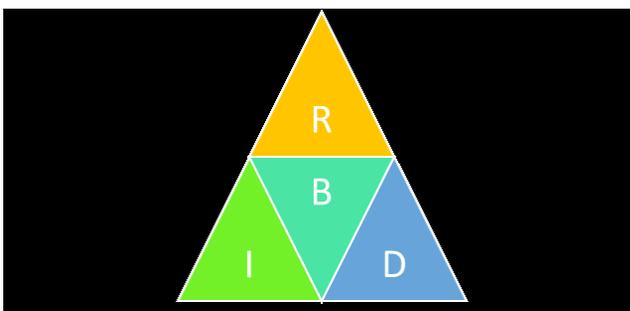
A partir de lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo diseñar una prueba diagnóstica con los estudiantes del curso de biología molecular 2020-1 de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, quienes trabajaron muy seriamente y propusieron las bases para desarrollar una prueba que podría convertirse en kit para identificar el COVID-19.

MÉTODOS

Revisión de literatura

Los estudiantes consultaron literatura relacionada con las técnicas moleculares actualmente utilizadas para la identificación de virus de RNA en las bases de datos ScienceDirect, Scopus, GenBank y Elsevier. Con base en la información recopilada, se planteó una metodología alternativa para la detección del SARS-CoV2. La figura 1 presenta la propuesta metodológica para el desarrollo de este estudio.

Figura 1. Esquema metodológico utilizado para el desarrollar un método alternativo para detectar el covid-19



Nota: R) reconocimiento de métodos moleculares y herramientas bioinformáticas para detección y análisis de virus de RNA; B) búsqueda de genomas de virus de interés; I) identificación de genes candidatos; D) diseño de primers y sondas.

Fuente: elaboración propia.

Identificación de genes

Se recuperaron de la base de datos de GenBank (NCBI, 2020) los genomas completos de tres cepas

de coronavirus correspondientes a Wuhan nCoV-19 (NC_045512.2), Human SARS (NC_004718.3) y Bat SARS (DQ412043.1). Las secuencias de cada uno de los 11 genes que componen al virus Wuhan nCoV-19 fueron alineadas al genoma de las otras dos especies con ClustalW. Adicionalmente, se seleccionaron los genes que presentaron menor puntaje contra regiones del genoma del Human SARS y Bat SARS como posibles candidatos para la identificación molecular de COVID-19.

Diseño de primers

Utilizando la secuencia de los genes candidatos identificados previamente mediante ClustalW que presentaron un score inferior a 70 %, se diseñaron primers con el programa Primer3 versión 4.1.0, empleando los parámetros %GC (40 < %GC < 60) y la probabilidad de *hair pins* (horquillas).

Diseño de sondas

Se diseñaron sondas tipo TagMan a partir de unas regiones de 20 y 24 pb al interior de cada uno de los genes predichos como posibles marcadores moleculares. Se utilizó el programa MegaX para extraer la secuencia *reverse complement* de las regiones de cada uno de los genes, las cuales, por complementariedad, se hibridarán a los genes que se quiere identificar. A las sondas creadas se les incorporará dos fluorocromos (un aceptor y un donador).

RT-qPCR

Para el diagnóstico del virus COVID-19 se realizará una RT-qPCR, la cual, inicialmente, sintetizará una cadena de cDNA a partir del RNA viral, para posteriormente amplificar y cuantificar en tiempo real la expresión de genes que permitirán su identificación de forma diferencial (Pinilla, 2019).

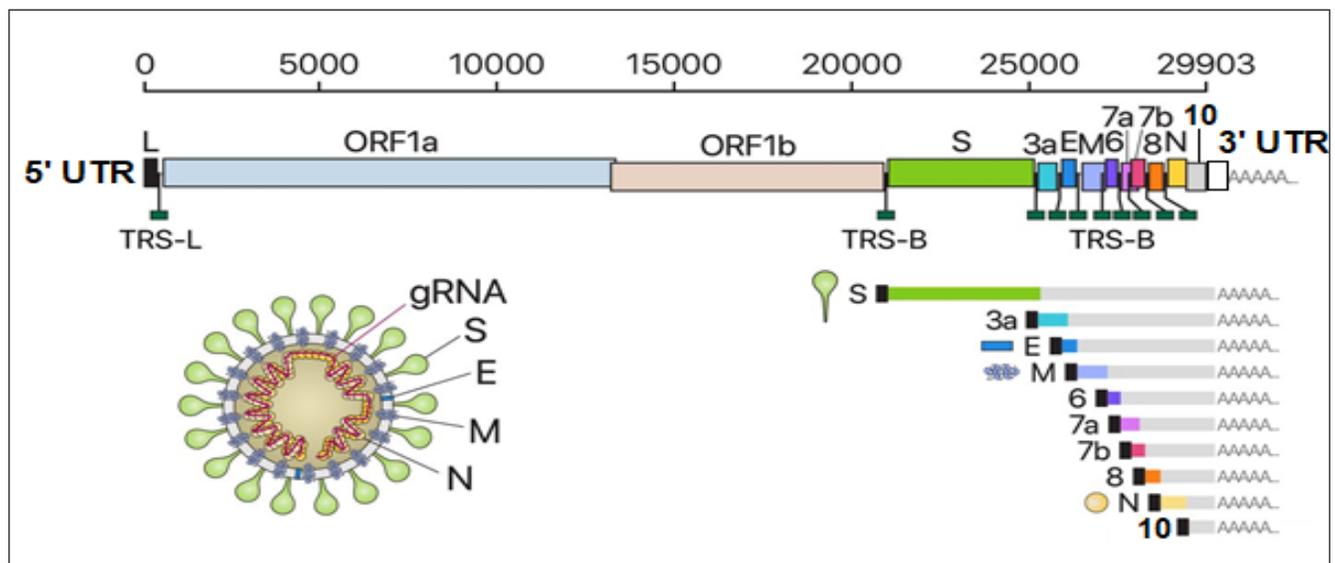
RESULTADOS

El SARS-CoV-2 es un betacoronavirus responsable de la pandemia de COVID-19. Este posee un transcriptoma altamente complejo debido a numerosos eventos de recombinación, tanto canónicos como no canónicos. Su genoma está compuesto por 11 genes con

longitudes entre 114 y 3.822 pb y comprende cerca de 30.000 pb, distribuido de la siguiente manera: en el extremo 3' una cápside, en el extremo 5' una cola poliA, en su interior dos ORFs 1a y 1b, los cuales se traducen en 46 proteínas una vez colonizan la célula,

3 regiones de ARN que codifican para proteínas estructurales ("S" proteína espiga "spike protein", "M" proteína de membrana, "N" proteína de la cápside) y 6 proteínas accesorias (3a, 6, 7a, 7b, 8 y 10), como se muestra en la figura 2 (Kim *et al.*, 2020).

Figura 2. Presentación esquemática de la organización del genoma del SARS-CoV-2 los ARNm subgenómicos canónicos y la estructura del virión



Nota: las cajas grandes representan los ORFs, las cajas pequeñas las proteínas accesorias y el cuadro negro indica la secuencia líder.

Fuente: adaptado de Kim *et al.* (2020).

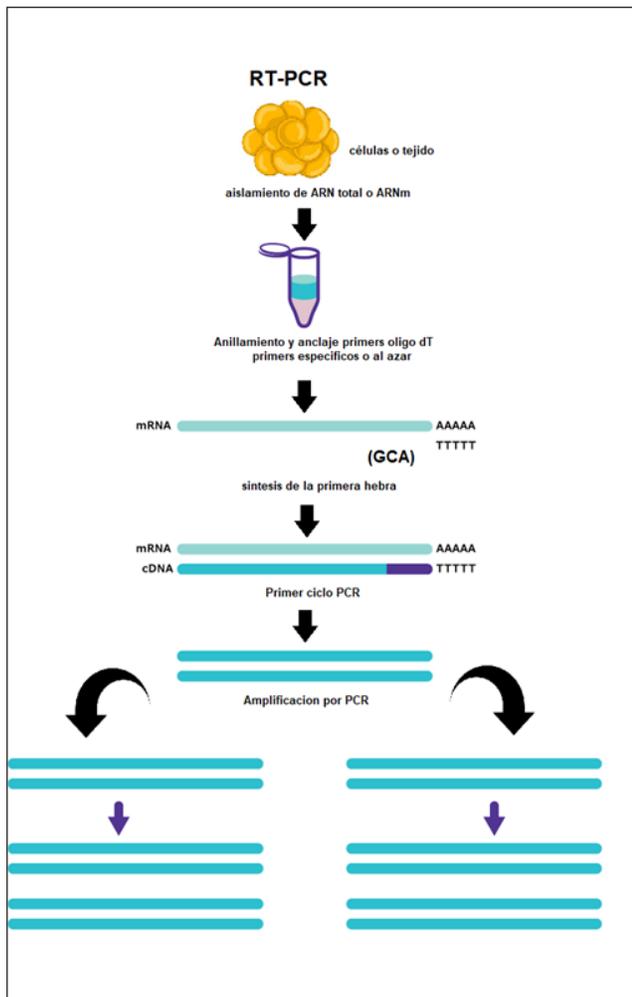
La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-qPCR) es una metodología sensible que se utiliza ampliamente en diagnóstico e investigación biológica. Su mayor virtud es poder amplificar fragmentos pequeños a partir de mínimas cantidades de DNA del cual se quiere identificar presencia en una muestra. En diagnóstico clínico, la RT-qPCR es utilizada para medir las cargas virales o bacterianas. Por esta razón, los autores consideran que este método es el mejor, más rápido y económico para hacer diagnóstico del coronavirus COVID-19. Sin embargo, se requiere tener alguna experiencia en el manejo de las herramientas bioinformáticas para reconocer los genes o regiones a amplificar, el diseño de primers y el diseño de sondas. La RT-qPCR es utilizada para mejorar la eficiencia diagnóstica como método rápido y temprano para identificar el agente etiológico (en este caso, el coronavirus COVID-19) y

de esta manera tomar las medidas de prevención y control del contagio y la enfermedad en fases tempranas con el objetivo de evitar su dispersión (Corman *et al.*, 2020).

El COVID-19 es un virus cuyo material genético es RNA de cadena sencilla. Por ello, se presenta un inconveniente, pues la PCR amplifica únicamente fragmentos de cadena doble, es decir, DNA. Sin embargo, métodos como la RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa o reversa) representan una solución para estos casos debido a que permiten convertir una cadena sencilla de RNA en una doble cadena de DNA complementaria (cdNA) con una alta fidelidad (Costa, 2004). En la figura 3 se presenta el proceso mediante el cual, empleando un kit de aislamiento para RNA total, se obtiene el material genético del virus. Posteriormente, utilizando

un primer de TTTTs, se origina la primera cadena de cDNA y luego, por PCR, se obtienen cadenas dobles del cDNA del virus (figura 3).

Figura 3. Proceso de RT-PCR por el cual se obtiene una cadena doble de DNA complementario

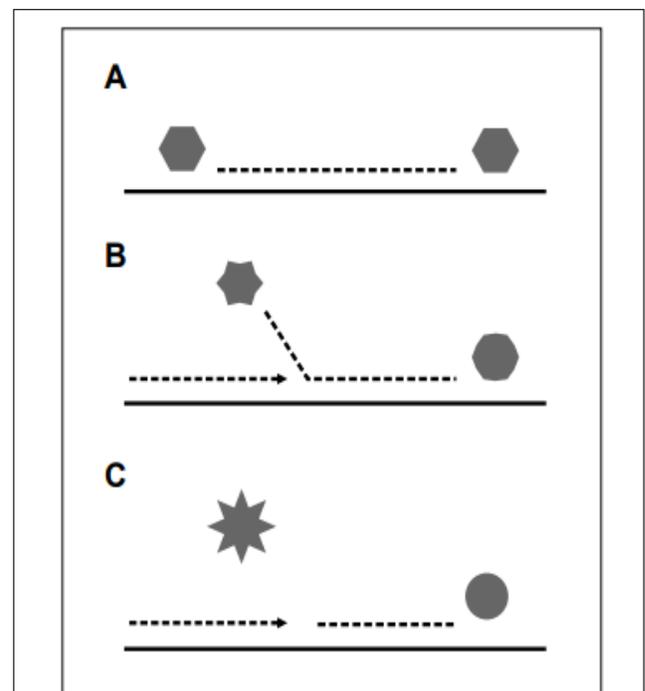


Fuente: adaptada de <https://www.sigmaaldrich.com/life-science/molecular-biology/pcr/rt-pcr.html>.

Al tener la cadena de cDNA se prosigue con la amplificación de uno o varios fragmentos de esta molécula. El COVID-19 tiene un RNA de 29,903 pb (figura 1). La qPCR es un método que amplifica regiones o fragmentos de ADN y los detecta de manera paralela dentro del mismo microtubo utilizado. Por ello, se utilizan sondas, que son fragmentos marcados de ADN de cadena sencilla complementarios a las zonas que se

van a amplificar, de manera que al unirse a los fragmentos amplificados permite identificarlos y cuantificarlos. Los autores del presente trabajo seleccionaron sondas de hidrólisis (Taqman) que corresponden a fragmentos de ADN de cadena sencilla marcados en el extremo 3' con un fluorocromo donador que reporta la fluorescencia, emitiendo luz al ser chocado por la ADN polimerasa, y un aceptor en el extremo 5', llamado quencher, el cual atrapa la fluorescencia que libera el donador. Las moléculas donadora y aceptora deben estar cercanas, de manera que cuando la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador no es observable, al ser absorbida por el aceptor (figura 4A). Durante la amplificación, la Taq polimerasa de ADN rompe o libera el extremo libre 5' de la sonda que contiene al donador al iniciar la síntesis, permitiéndole emitir la fluorescencia (figura 4B), que es captada por el lector (figura 4C) (Costa, 2004).

Figura 4. Proceso e activación de la fluorescencia en la qPCR



Nota: A) la sonda se hibrida a la zona complementaria del fragmento que se va a amplificar, el extremo donador está cerca al quencher, no hay fluorescencia; B) la polimerasa que ha iniciado la síntesis de DNA choca contra el donador y lo libera, produciéndose fluorescencia; C) la fluorescencia es captada y transmitida por el lector.

Fuente: tomada de Costa (2004).

Identificación de genes candidatos para detección del virus COVID-19

Las secuencias de los genomas de Wuhan nCOV-19, Human SARS y Bat SARS descargados de GenBank presentaron longitudes de 29.903, 29.751 y 29.749 pb, respectivamente. El virus Wuhan- nCOVID-19,

estructuralmente está compuesto por 11 genes distribuidos como se presenta en la tabla 1, con longitudes entre 114 y 3.822 pb. A diferencia del SARS humano, el SARS aislado en murciélagos es 0,5 % más largo y su composición está bien definida a nivel de UTRs, CDs y proteínas.

Tabla 1. Composición estructural de los genes del virus Wuhan n-COVID-19, Human SARS y Bat SARS utilizados en este estudio

21289 pb	3822	828	228	669	186	366	132	366	1280	114		
ORF 1	Gen S	ORF 3a	Gen E	Gen M	ORF 6	ORF 7a	ORF 7b	ORF 8	Gen N	ORF 10		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Human SARS												
21221	3768	825	465	231	666	353	369	135	120	255	1269	297
ORF1ab	Gen S	SARS3a	Sars3b	Gen E	Gen M	Sars6	Sars7a	Sars7b	Sars8a	Sars8b	Gen N	Sars9b
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Bat SARS												
13167	7887	3726	825	231	666	192	369	135	366	1263	294	213
P1a	P1b	Spike	ORF3a	Gen E	Gen M	ORF6	Sars7a	Sars7b	ORF8	N	ORF 9a	ORF 9b
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Las secuencias de los once genes presentados por el Wuhan COVID-19 coronavirus (NC_045512.2) fueron alineados con los genomas de las cepas de Human-SARS y Bat-SARS mediante ClustalW. Los puntajes obtenidos por el alineamiento de cada una de las secuencias con cada uno de los 11 genes coincidió con que los genes 2 y 9 presentes en COVID-19 podrían ser utilizados para su identificación por RT-qPCR, considerando que los dos alineamientos presentaron puntajes menores a 70 % contra regiones de los dos coronavirus (figuras 5 y 6). Los alineamientos de estos dos genes al genoma del virus Human-SARS se pueden apreciar en las figuras 7 y 8.

Figura 5. Puntaje de alineamiento (%) de los 11 genes presentes en el Wuhan nCOV-19 vs. el genoma de Human SARS

Gen 1 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 76.7861
Gen 2 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 68.9499
Gen 3 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 75.7256
Gen 4 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 91.1392
Gen 5 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 84.6411
Gen 6 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 64.6552
Gen 7 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 81.4189
Gen 8 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 64.5161
Gen 9 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 29.7297
Gen 10 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 87.6471
Gen 11 nCov-19 Wuhan vs. Human SARS	= 87.234

Nota: los puntajes en el recuadro rojo corresponden a los genes candidatos para el diagnóstico.

Fuente: elaboración propia.

Figura 6. Puntaje de alineamiento (%) de los 11 genes presentes en el Wuhan nCoV-19 vs. el genoma de Bat SARS

Gen 1 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 75.0189
Gen 2 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 67.9904
Gen 3 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 70.5805
Gen 4 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 91.7722
Gen 5 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 82.9716
Gen 6 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 71.5517
Gen 7 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 83.1081
Gen 8 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 74.1935
Gen 9 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 67.2297
Gen 10 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 87.6471
Gen 11 nCov-19 Wuhan vs. Bat SARS	= 91.4894

Nota: los puntajes en el recuadro rojo corresponden a los genes candidatos para el diagnóstico.

Fuente: elaboración propia.

Figura 7. Human SARS vs. gen 9 (ORF 8) del nCoV-19 (Wuhan)

HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	CAAACCATTCTTAGGACAAGCAGCAATTACAACATCAAATTGCGCTAAGA -----
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	GATTAGCACAAACGTGTGTTTAAACAATTATATGCCTTATGTGTTTACATTA -----CATGTACTCAACATCAA----CCATATGTAGTTGATGAC * ** * ** * ** * **
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	TTGTTCCAATTGTGTACTTTTACTAAAAGTACCAATTCTAGAATTAGAGC CCGTGTC--CTATTCACTTCTATTCTAAATGGTA-TATTAGAGTAGGAGC ** * * * ** * ** * * * ** * **
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	TTCACTACCTACAACCTATTGCTAAAAATAGTGTTAAGAGTGTGCTAAAT TAGAAAATCAGCACCT-----TTAA-----TTGAAT * * * * * ** * ** * ** * **
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	TATGTTTGATGCCGGCATTAAATATGTGAAGTCACCCAAATTTCTAAA TGTGCGTGGATG--AGGCTGGTCT--AAATCACCCA--TTCAGTACA * ** * ** * * ** * ** * ** * ** * **
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	TTGTTCCAAATCGCTATGTGGCTATTGTTGTTAAGTATTTGCT-TAGGTT TCGATATCGGTAATTATACAGTT--TCCTGTTTACCTTTTACAATTAATT * * * * * * ** * * * ** * ** * ** * **
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	CTCTAATCTGTGTAACCTGCTGCTTTTGGTGTACTTATCTAATTTTGGT GCCAGGAACCTAAATGGGTAGTCTTGTAGTGCCTTGTTCGTTCTATGAA * * * * * ** * ** * ** * **
HUMANSARS_ATATTAGGTTTTACCTACC 9genCovid-19_ATGAAATTTCTTGTTTT	GCTCCTCTTATTGTAATGGCGTTAGAGAATTGTATCTTAATTCGCTCAA GACTTTTTAGAGTATCATGACGTTTCGTG--TTGTTTAGATTTCATCTAA * ** * * * ** * ** * ** * ** * ** * **

Fuente: elaboración propia mediante ClustalW (Aligned score =29,72).


```

NC_004718.3      GTA-CACAGAC---ACATACTATGATATTCGA-----TAATGCATTT
                * * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  AATTGCACTTTTGAATATGTCTCTCAGCCTTTTCTTATGGACCTTGAAGG
NC_004718.3      AATTGCACTTTTCGAGTACATATCTGATGCCTTTTCGCTTGATGTTTCAGA
                ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  AAAACAGGGTAATTTCAAAAATCTTAGGGAATTTGTGTTAAGAATATTG
NC_004718.3      AAAGTCAGGTAATTTAAACACTTACGAGAGTTTGTGTTAAAAATAAAG
                *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  ATGGTTATTTTAAAATATATTCTAAGCACACGCCTATTAATTTAGTGCCT
NC_004718.3      ATGGGTTTCTCTATGTTTATAAGGGCTATCAACCTATAGATGTAGTTCGT
                ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  GATCTCCCTCAGGGTTTTTCGGCTTTAGAACCATTGGTAGATTTGCCAAT
NC_004718.3      GATCTACCTTCTGGTTTTAACACTTTGAAACCTATTTTAAAGTTGCCTCT
                ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  AGGTATTAACATCACTAGGTTTCAAACCTTACTTGCTTTACATAGAAGTT
NC_004718.3      TGGTATTAACATTACAAATTTAGAGCCATTCTTAC-----AGCC
                ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  ATTTGACTCCTGGTGATTCTTCTTCAGGTTGGACAGCTGGTGCTGCAGCT
NC_004718.3      TTTTCA--CCTGCTCAAGACATTTGGGGCACGTCAGCTG-----CAGCC
                * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  TATTATGTGGTTATCTTCAACCTAGGACTTTTCTATTAATATAATGA
NC_004718.3      TATTTTGTGGCTATTTAAAGCCAACACTACATTTATGCTCAAGTATGATGA
                ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  AAATGGAACCATTACAGATGCTGTAGACTGTGCACTTGACCCTCTCTCAG
NC_004718.3      AAATGGTACAATCACAGATGCTGTTGATTGTTCTCAAAATCCACTTGCTG
                ***** * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  AAACAAAGTGTACGTTGAAATCCTTCACTGTAGAAAAAGGAATCTATCAA
NC_004718.3      AACTCAAATGCTCTGTTAAGAGCTTTGAGATTGACAAAGGAATTTACCAG
                ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  ACTTCTAACTTTAGAGTCCAACCAACAGAATCTATTGTTAGATTTCCCTAA
NC_004718.3      ACCTCTAATTTCAGGGTTGTTCCCTCAGGAGATGTTGTGAGATTTCCCTAA
                * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
NC_045512.2_21563-25384  TATTACAAACTTGTGCCCTTTTGGTGAAGTTTTTAACGCCACCAGATTTG
    
```

NC_004718.3 TATTACAACTTGTGTCCTTTTGGAGAGGTTTTAATGCTACTAAATTCC

NC_045512.2_21563-25384 CATCTGTTTATGCTTGGAACAGGAAGAGAATCAGCAACTGTGTTGCTGAT
NC_004718.3 CTTCTGTCTATGCATGGGAGAGAAAAAATTTCTAATTGTGTTGCTGAT
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 TATTCTGTCCTATATAATTCCGCATCATTTTCCACTTTTAAGTGTTATGG
NC_004718.3 TACTCTGTGCTCTACAACCAACATTTTTTCAACCTTAAGTGCTATGG
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 AGTGTCTCCTACTAAATTAATGATCTGCTTTACTAATGTCTATGCAG
NC_004718.3 CGTTTCTGCCACTAAGTTGAATGATCTTTGCTTCTCCAATGTCTATGCAG
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 ATTCATTTGTAATTAGAGGTGATGAAGTCAGACAAATCGCTCCAGGGCAA
NC_004718.3 ATTCTTTGTAGTCAAGGAGATGATGTAAGACAAATAGCGCCAGGACAA
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 ACTGGAAGATTGCTGATTATAATTATAAATTACCAGATGATTTTACAGG
NC_004718.3 ACTGGTGTTATTGCTGATTATAATTATAAATTGCCAGATGATTTTATGGG
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 CTGCGTTATAGCTTGAATTCTAACAATCTTGATTCTAAGGTTGGTGGTA
NC_004718.3 TTGTGTCCTTGCTTGAATACTAGGAACATTGATGCTACTTCAACTGGTA
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 ATTATAATTACCTGTATAGATTGTTTAGGAAGTCTAATCTCAAACCTTTT
NC_004718.3 ATTATAATTATAAATATAGGTATCTTAGACATGGCAAGCTTAGGCCCTTT
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 GAGAGAGATATTTCAACTGAAATCTATCAGGCCGGTAGCACACCTTGTA
NC_004718.3 GAGAGAGACATATCTAATGTGCCTTTCTCCCCTGATGGCAAACCTTGCAC
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 TGGTGTGAAGGTTTTAATTGTTACTTTCTTTACAATCATATGGTTTCC
NC_004718.3 CCCACCTGC---TCTTAATTGTTATTGGCCATTAAATGATTATGGTTTTT
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 AACCCACTAATGGTGTGGTTACCAACCATACAGAGTAGTAGTACTTTCT
NC_004718.3 ACACCACTACTGGCATTGGCTACCAACCTTACAGAGTTGTAGTACTTTCT
* * * * *
NC_045512.2_21563-25384 TTTGAACTTCTACATGCACCAGCAACTGTTTGTGGACCTAAAAAGTCTAC

NC_004718.3 TTTGAACTTTTAAATGCACCGCCACGTTTGTGGACCAAATTATCCAC
***** ** ***** ** ** ***** ** * ** *

NC_045512.2_21563-25384 TAATTTGGTTAAAAACAAATGTGTCAATTTCAACTTCAATGGTTAACAG
NC_004718.3 TGACCTTATTAAGAACCAGTGTGTCAATTTAATTTAATGGACTCACTG
* * * **** * * ***** ** * ** *

NC_045512.2_21563-25384 GCACAGGTGTTCTTACTGAGTCTAACAAAAAGTTTCTGCCTTTCCAACAA
NC_004718.3 GTACTGGTGTGTTAACTCCTTCTTCAAAGAGATTCAACCATTTCACAA
* * * **** * * * * * ** * * * * * ** * * * * *

NC_045512.2_21563-25384 TTTGGCAGAGACATTGCTGACACTACTGATGCTGTCCGTGATCCACAGAC
NC_004718.3 TTTGGCCGTGATGTTTCTGATTTCACTGATTCCGTTTCGAGATCCTAAAAC
***** *

NC_045512.2_21563-25384 ACTTGAGATTCTTGACATTACACCATGTTCTTTTGGTGGTGTGAGTGTGA
NC_004718.3 ATCTGAAATATTAGACATTTACCTTGCCTTTTGGGGGTGAAGTGTA
* *

NC_045512.2_21563-25384 TAACACCAGGAACAAATACTTCTAACCAGTTGCTGTTCTTTATCAGGAT
NC_004718.3 TTACACCTGGAACAAATGCTTCATCTGAAGTTGCTGTTCTATATCAAGAT
* *

NC_045512.2_21563-25384 GTTAACTGCACAGAAGTCCCTGTTGCTATTCATGCAGATCAACTTACTCC
NC_004718.3 GTTAACTGCACTGATGTTTCTACAGCAATTCATGCAGATCAACTCACACC
***** *

NC_045512.2_21563-25384 TACTTGGCGTGTATTCTACAGGTTCTAATGTTTTTCAAACACGTGCAG
NC_004718.3 AGCTTGGCGCATATATTCTACTGGAAACAATGATTCCAGACTCAAGCAG
***** *

NC_045512.2_21563-25384 GCTGTTAATAGGGGCTGAACATGTCAACAACATCATATGAGTGTGACATA
NC_004718.3 GCTGTCTTATAGGAGCTGAGCATGTCGACACTTCTATGAGTGCACATT
***** *

NC_045512.2_21563-25384 CCCATTGGTGCAGGTATATGCGCTAGTTATCAGACTCAGACTAATTCTCC
NC_004718.3 CCTATTGGAGCTGGCATTGTGCTAGTTACCATAC-----AGTTTCT
* *

NC_045512.2_21563-25384 TCGGCGGGCACGTAGTG-TAGCTAGTCAATCCATCATTGCCTACACTATG
NC_004718.3 TTATT----ACGTAGTACTAGCCAAA-AATCTATTGTGGCTTATACTATG
* *

```
NC_045512.2_21563-25384   TCACTTGGTGCAGAAAATTCAGTTGCTTACTCTAATAACTCTATTGCCAT
NC_004718.3               TCTTTAGGTGCTGATAGTTCAATTGCTTACTCTAATAACACCATTGCTAT
** * ***** ** * ***** ***** ***** * ***** **

NC_045512.2_21563-25384   ACCCACAAATTTTACTATTAGTGTACCACAGAAATTCTACCAGTGTCTA
NC_004718.3               ACCTACTAACTTTTCAATTAGCATTACTACAGAAGTAATGCCTGTTTCTA
*** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   TGACCAAGACATCAGTAGATTGTACAATGTACATTTGTGGTGATTCAACT
NC_004718.3               TGGCTAAAACCTCCGTAGATTGTAATATGTACATCTGCGGAGATTCTACT
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   GAATGCAGCAATCTTTTGTGCAATATGGCAGTTTTTGTACACAATTA
NC_004718.3               GAATGTGCTAATTTGCTTCTCCAATATGGTAGCTTTTGCACACAATA
***** ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   CCGTGCTTAACTGGAATAGCTGTTGAACAAGACAAAACACCCAAGAAG
NC_004718.3               TCGTGCACTCTCAGGTATTGCTGCTGAACAGGATCGCAACACACGTGAAG
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   TTTTGCACAAGTCAAACAAATTTACAAAACACCACCAATTAAGATTTT
NC_004718.3               TGTTGCTCAAGTCAAACAAATGTACAAAACCCCAACTTTGAAATATTTT
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   GGTGGTTTTAATTTTTCACAAATATTACCAGATCCATCAAACCAAGCAA
NC_004718.3               GGTGGTTTTAATTTTTCACAAATATTACCTGACCCTCTAAAGCCAATA
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   GAGGTCATTTATTGAAGATCTACTTTTCAACAAAGTGACACTTGCAGATG
NC_004718.3               GAGGTCATTTATTGAGGACTTGCTCTTAATAAGGTGACACTCGCTGATG
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   CTGGCTTCATCAAACAATATGGTGATTGCCTTGGTGATATTGCTGCTAGA
NC_004718.3               CTGGCTTCATGAAGCAATATGCGAATGCCTAGGTGATATTAATGCTAGA
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   GACCTCATTTGTGCACAAAAGTTTAAACGGCCTTACTGTTTTGCCACCTTT
NC_004718.3               GATCTCATTTGTGCGCAGAAGTTCAATGGACTTACAGTGTTGCCACCTCT
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

NC_045512.2_21563-25384   GCTCACAGATGAAATGATTGCTCAATACACTTCTGCACTGTTAGCGGGTA
NC_004718.3               GCTCACTGATGATATGATTGCTGCCTACACTGCTGCTCTAGTTAGTGGTA
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
```


NC_045512.2_21563-25384 TGTGACTTATGTCCCTGCACAAGAAAAGAACTTCACAACCTGCTCCTGCCA
NC_004718.3 TGTCACGTATGTGCCATCCCAGGAGAGGAACTTCACCACAGCGCCAGCAA
*** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 TTTGTCATGATGGAAAAGCACACTTTCCTCGTGAAGGTGTCTTTGTTTCA
NC_004718.3 TTTGTCATGAAGGCAAAGCATACTTCCCTCGTGAAGGTGTTTTGTGTTT
***** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 AATGGCACACTGGTTTGTAAACACAAAGGAATTTTATGAACCACAAAT
NC_004718.3 AATGGCACTTCTTGTTTATTACACAGAGGAACTTCTTTTCTCCACAAAT
***** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 CATTACTACAGACAACACATTTGTGTCTGGTAACTGTGATGTTGTAATAG
NC_004718.3 AATTACTACAGACAATACATTTGTCTCAGGAAATTGTGATGTCGTTATTG
***** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 GAATTGTCAACAACACAGTTTATGATCCTTTGCAACCTGAATTAGACTCA
NC_004718.3 GCATCATTAAACAACACAGTTTATGATCCTCTGCAACCTGAGCTTGACTCA
* * * * ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 TTCAAGGAGGAGTTAGATAAATATTTAAGAATCATAACATCACCAGATGT
NC_004718.3 TTCAAAGAAGAGCTGGACAAGTACTTCAAAAATCATAACATCACCAGATGT
***** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 TGATTTAGGTGACATCTCTGGCATTAAATGCTTCAGTTGTAAACATTCAAA
NC_004718.3 TGATCTTGGCGACATTTAGGCATTAACGCTTCTGTGTCGCAACATTCAAA
***** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 AAGAAATTGACCGCTCAATGAGGTTGCCAAGAATTTAAATGAATCTCTC
NC_004718.3 AAGAAATTGACCGCTCAATGAGGTCGCTAAAAATTTAAATGAATCACTC
***** ** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 ATCGATCTCCAAGAACTTGAAAGTATGAGCAGTATATAAAATGGCCATG
NC_004718.3 ATTGACCTTCAAGAATTGGGAAAATATGAGCAATATATTAATGGCCTTG
* * * * ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 GTACATTTGGCTAGGTTTTATAGCTGGCTTGATTGCCATAGTAATGGTGA
NC_004718.3 GTATGTTTGGCTCGGCTTCATTGCTGGACTAATTGCCATCGTCATGGTTA
*** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *
NC_045512.2_21563-25384 CAATTATGCTTTGCTGTATGACCAGTTGCTGTAGTTGTCTCAAGGGCTGT
NC_004718.3 CAATCTTGCTTTGTTGCATGACTAGTTGTTGCAGTTGCCTCAAGGGTGCA
**** ***** ** * ** * ** ***** ** * ** * ** *

```

NC_045512.2_21563-25384   TGTTCTTGTTGATCCTGCTGCAAATTTGATGAAGACGACTCTGAGCCAGT
NC_004718.3               TGCTCTTGTTGTTCTTGCTGCAAGTTTGATGAGGATGACTCTGAGCCAGT
** ***** ** ***** ***** ** *****
NC_045512.2_21563-25384   GCTCAAAGGAGTCAAATTACATTACACATAA-----
NC_004718.3               TCTCAAGGGTGTCAAATTACATTACATAAACGAACTTATGGATTGTG
***** ** *****
    
```

Fuente: elaboración propia mediante ClustalW (Aligned score = 67,99).

Diseño de primers-oligonucleótidos

Utilizando el programa Primer3 versión 4.1.0 y la secuencia completa de los dos genes candidatos (genes 2 y 9) como posibles marcadores moleculares para la identificación de COVID-19, se diseñaron dos pares de primers con una longitud de 20 pb cada uno, los cuales amplifican en su totalidad cada uno de los genes. Sus características se presentan en la tabla 2.

A pesar de que el gen número 8 también produjo una puntuación baja, se descartó su uso debido a que este correspondía a una secuencia muy corta dentro del genoma del Wuhan nCoV-19 (figura 1) y por tanto no cumple con las características para el diseño de primers.

Tabla 2. Características de los primers diseñados para la identificación de COVID-19

Primer/Gen	Secuencia	TM (°C)	%G-C	Producto
CVD-19UJTL-02 Forward CVD-19UJTL-02 Reverse	5' ACACTACTGATGCTGTCCGT 3' 5' GCCCTATTAAACAGCCTGC 3'	58,74 58,69	50 55	3822 (pb)
CVD-19UJTL-09 Forward CVD-19UJTL-09 Reverse	5' ACTGTAGCTGCATTTACCA 3' 5' AGAACCAGCCTCATCCACG 3'	57,43 59,18	45 55	366 (pb)

Diseño de sondas

Para el diseño de las sondas se seleccionaron 2 regiones dentro de los genes 2 y 9, de 20 y 24 pb, respectivamente. Con ayuda del programa MegaX, se obtuvieron las cadenas complementarias a esas regiones

utilizando la opción *reverse complement*. Las regiones seleccionadas se hibridarán por complementariedad a los genes que se requiere identificar. Además, a estas sondas se les incorporará dos tipos de fluorocromos (un aceptor y un donador). Las sondas diseñadas se presentan a continuación:

Sonda COVID-19- Gen2 (Size = 20pb)

5'GATCCACAGACACTTGAGATTCTTGACATTACACCATGTTCTTTTGGTGGTGTTCAGTGTATAACACCAGGAACAAATAC-TTCTAACCAGGTTGCTGTTCTTTATCAGGATGTTAACTGCACAGAAGTCCCTGTTGCTATTCATGCAGATCAACTTACTCCTACTTGGCGTGTATTATTCTACAGGTTCTAATGTTTTTCAAACACGT-3' → **CADENA A AMPLIFICAR DELIMITADA POR LOS PRIMERS**

5'-ATGTTCTTTTGGTGGTGTCA-3' → **REGIÓN A LA QUE SE UNIRÁ LA SONDA**

3'-TACAAGAAAACCACCACAGT-5' → **SONDA**

Sonda COVID-19- Gen9 (Size = 24pb)

5'TAGTTTACAGTCATGTACTCAACATCAACCATATGTAGTTGATGACCCGTGCCTATTCACTTCTATTCTAAATGGTATATTAGAGTAGGAGCTAGAAAATCAGCACCTTAA-3' → **CADENA A AMPLIFICAR DELIMITADA POR LOS PRIMERS**

5'-ATGTACTCAACATCAACCATATGTA-3' → **REGIÓN A LA QUE SE UNIRÁ LA SONDA**

3'-TACATGAGTTGTAGTTGGTATACAT -5' → **SONDA**

Una vez tenemos los primers y las sondas diseñadas para amplificar un fragmento de los genes S y ORF8, es posible afirmar que contamos con los componentes necesarios para realizar la identificación del COVID-19; los demás reactivos, como enzimas, tampones y cofactores, se consiguen fácilmente en el mercado.

DISCUSIÓN

Se propuso un diseño para el desarrollo de la reacción de RT-qPCR y de esta forma identificar el virus COVID-19 responsable de la pandemia que actualmente se desarrolla en todo el planeta. Para ello, se utilizaron métodos moleculares (RT-qPCR) y programas bioinformáticos que permitieron analizar las secuencias del virus y a partir de ellas diseñar los primers y sondas para su amplificación y cuantificación. Por medio de este ejercicio, los estudiantes lograron comprender las variables de las dos reacciones: RT-PCR y la PCR Tiempo Real.

Aunque, en general, se utilizaron de forma adecuada las herramientas bioinformáticas para encontrar los genes, diseñar los primers y las sondas, se presentó un error conceptual, puesto que al inicio se realizaron las comparaciones entre genes y genomas. No obstante, se hizo necesario comparar gen con gen para detectar la identidad de cada uno de ellos y así detectar zonas de homología y zonas variables, con el fin de diseñar los primers de tal manera que se aseguraran de amplificar fragmentos únicos del COVID-19. Finalmente, esto se consiguió gracias a que los estudiantes aprendieron del error, lo corrigieron y lograron identificar los genes más variables.

ClustalW es una herramienta sencilla que permite explicar conceptos básicos de biología molecular y hacer comparaciones entre secuencias equidistantes y de una longitud similar (Thompson, Plewniak, & Poch, 1999). Al realizar comparaciones entre secuencias de

diferente longitud, y con base en la plataforma que se utilice, el resultado de los alineamientos difiere, ya que cada plataforma maneja sus propios parámetros por defecto. Por ende, cuando se realizan alineamientos múltiples se asignan diferentes puntuaciones a los gaps e inserciones para optimizarlos (Gaskell, 2000).

La realización de este tipo de ejercicios académicos por parte de los estudiantes de biología molecular permite afianzar los conocimientos adquiridos, incentivar la creatividad y gusto por las ciencias ómicas y despertar su curiosidad por comprender nuevas herramientas como la bioinformática, lo cual nos permite adentrarnos y comprender nuevos conceptos y procesos relacionados con la vida, contribuyendo a descubrir los misterios ocultos de la naturaleza.

CONCLUSIONES

Se logró el objetivo planteado para esta investigación al analizar las secuencias de los virus y diseñar primers y sondas, los cuales son los insumos más importantes para realizar el diagnóstico de COVID-19.

El trabajo presentado consistió en la aplicación de la metodología de aprendizaje basado en problemas (ABP) a manera de un ejercicio de aprendizaje en contexto, el cual fue llevado al plano actual de la pandemia de COVID-19 con un enfoque interdisciplinar en el que se debían aplicar conocimientos teóricos de métodos en biología molecular y emplear diferentes herramientas bioinformáticas.

ClustalW y primers 3 son dos herramientas bioinformáticas fáciles de usar que resultan muy valiosas, ya que permiten a los estudiantes afianzar los conocimientos adquiridos en clase y desarrollar su capacidad de análisis.

Ejercicios académicos como estos ayudan a los estudiantes a comprender la importancia de la biología molecular, la bioinformática y las ciencias ómicas para el desarrollo de estrategias que permitan detectar virus emergentes y contribuir al desarrollo de la ciencia.

REFERENCIAS

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Biomedical Information Science and Technology Initiative Consortium [BISTIC]. (2000). *Definition Committee NIH working definition of bioinformatics and computational biology*. <http://www.bisti.nih.gov/CompuBioDef.pdf>
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., ... & Mulders, D. G. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3), 2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
- Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 22(5), 299-305. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(04\)73092-X](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(04)73092-X)
- Dong, E., Du, H., & Gardner, L. (2020) An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect Dis*, published online February 19. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30120-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1)
- Furge, L. L., Stevens-Truss, R., Moore, D. B., Langeland, J. A. (2009). Vertical and horizontal integration of bioinformatics education: A modular, interdisciplinary approach. *Biochem Mol Biol Educ.*, 37(1): 26-36. <https://doi.org/10.1002/bmb.20249doi: 10.1002/bmb.20249>.
- Gaskell, G. J. (2000). Multiple sequence alignment tools on the Web. *BioTechniques*, 29(1), 60-62. <https://doi.org/10.2144/00291io01>
- Kim, D., Lee, J. Y., Yang, J. S., Kim, J. W., Kim, V. N., & Chang, H. (2020). The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *bioRxiv*, (preprint). <https://doi.org/10.1101/2020.03.12.988865>
- Lexa, M., Horak, J., & Brzobohaty, B. (2001). Virtual PCR. *Bioinformatics*, 17(1), 192-193. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.2.192>

- Li, K. B. (2003). ClustalW-MPI: ClustalW analysis using distributed and parallel computing. *Bioinformatics*, 19(12), 1585-1586. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg192>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2020). *GenBank. Bat SARS coronavirus Rm1, complete genome. >DQ412043.1, FASTA*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/DQ412043.1?report=fasta>.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2020). *GenBank. SARS coronavirus, complete genome >NC_004718.3, FASTA*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_004718.3?report=fasta.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2020). *GenBank. Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1, complete genome.>NC_045512.2, FASTA*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_045512.2?report=fasta.
- Novak, J. D. (1988). *Teoría y Práctica de la educación*. Madrid: Alianza Editorial.
- Pinilla, G. (2019). *Biología molecular: ADN recombinante y sus aplicaciones*. Bogotá: Manual Moderno.
- Prieto, L. (2006). Aprendizaje activo en el aula universitaria: el caso del aprendizaje basado en problemas, en Miscelánea Comillas. *Revista de Ciencias Humanas y Sociales*, 64(24), 173-196.
- Salazar, A., Sandoval, A., & Armendáriz, J. (2013). *Biología molecular fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*. Ciudad de México: McGraw Hill Education.
- Thompson, J. D., Plewniak, F., & Poch, O. (1999). A comprehensive comparison of multiple sequence alignment programs. *Nucleic acids research*, 27(13), 2682-2690. <https://doi.org/10.1093/nar/27.13.2682>
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., & Rozen, S. G. (2012). Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic acids research*, 40(15), e115-e115. <https://doi.org/10.1093/nar/gks596>
- Vincze, T., Posfai, J., & Roberts, R. J. (2003). NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Res.*, 31, 3688-3691. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg526>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., ... & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579, 265-269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>

MUTIS

REVISTA DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD JORGE TADEO LOZANO

Instrucciones para autores

ENVÍOS DE ARTÍCULOS

La revista *Mutis* acepta permanentemente los siguientes tipos de artículos:

1. Artículo de investigación científica y tecnológica: documento que presenta, de manera detallada, los resultados originales de proyectos terminados de investigación.
2. Artículo de métodos: documento que presenta la invención o estandarización de un método experimental, computacional, o educativo, entre otros.
3. Artículo de revisión (estado del arte): es una revisión bibliográfica de por lo menos 50 referencias, con el fin de dar cuenta sobre los avances y las tendencias de desarrollo de un campo particular de las ciencias naturales e ingeniería.
4. Comunicación corta: documento que presenta resultados parciales de una investigación en desarrollo cuya publicación sea de gran importancia.

Los trabajos que se presentan a consideración de la revista *Mutis*, se deben enviar a través de nuestro sistema de gestión editorial <http://goo.gl/m6Q6FD> o vía correo electrónico a revista.mutis@utadeo.edu.co (Asunto: artículo revista *Mutis*) en formato de procesador de texto habilitado para modificaciones (Microsoft Word). El artículo debe estar escrito en español o inglés, con una extensión máxima de 25 páginas (incluyendo tablas, figuras y referencias), con márgenes simétricas de 2 cm, sin columnas, con títulos y subtítulos alineados a la izquierda, en letra Times New Roman, tamaño 12 y en espacio doble. Para facilitar el proceso de evaluación, se deben numerar todos los renglones del trabajo. Los trabajos deben tener la siguiente estructura y cumplir con los siguientes requisitos:

Título. El título debe representar con precisión y de manera concisa el contenido del trabajo sin exceder 15 palabras. Se debe escribir con letras tamaño de fuente 16, en minúsculas, en negrilla y alineado a la izquierda, en idioma original y en inglés.

Autores. Debe escribirse nombre completo de los autores, separados por comas y tamaño de fuente 12. No se deben incluir títulos académicos ni las posiciones o cargos que los autores ocupan. Las afiliaciones se deben escribir en este orden: universidad, facultad, programa, laboratorio o grupo (si aplica), dirección, ciudad, país, correo electrónico del autor, número de registro en ORCID y Google Scholar. Ejemplo:

Yvonne Sarmiento Rangel,¹ Ariadna Hazel Vergel^{2*}

¹Universidad Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Departamento de Ciencias Naturales y Ambientales. Grupo de Investigación Genética, Biología Molecular y Bioinformática – (GENBIMOL), Carrera 4 n.º 22-61, Bogotá D. C., Colombia. CP 011110

²Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba. CP 53000. Correo electrónico: arhazel@inivit.cu <https://orcid.org/xxx>
https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=pTZo5RoA AAAJ&view_op=list_works

Resumen. Debe tener un máximo de 250 palabras. El texto del resumen debe ir en tamaño de fuente 12 Times New Roman. El resumen debe incluir objetivo, métodos, resultados concretos de la investigación y una conclusión general.

Palabras clave. Deben escogerse un máximo de 5 palabras claves. Palabras diferentes incluidas en el título.

Abstract. Debe ser una traducción correcta y precisa al idioma inglés del resumen que aparece en español. Se usa el mismo estilo ya descrito para el resumen en español.

Keywords. Debe ser una traducción correcta y precisa al idioma inglés de las palabras clave que aparecen en español. Se usa el mismo estilo ya descrito para las palabras clave en español.

Introducción. Donde se habla sobre el origen de la investigación, interés y visión general del tema a tratar.

Materiales y métodos. No aplica para artículo de revisión. Descripción detallada de técnicas, equipos y reactivos utilizados en el desarrollo de la investigación.

Resultados. No aplica para artículo de revisión. Donde se hace una presentación clara de los resultados de investigación.

Discusión. Donde se realiza la interpretación y análisis de los resultados de investigación comparándolos con resultados previamente publicados. Pueden presentarse tablas o figuras para sintetizar los resultados. Si se han realizado análisis estadísticos, se deberá describir la procedencia de los datos y el método estadístico empleado.

Conclusiones. Deben basarse en los resultados obtenidos y estar relacionadas con la hipótesis o planteamiento del problema descrito en la introducción.

Ecuaciones. Las ecuaciones se deben escribir centradas con respecto al texto principal y se deben numerar continuamente a lo largo del texto. Cada ecuación debe estar enumerada con un número entre paréntesis ubicado en el margen derecho del texto. El significado y las unidades deben explicarse inmediatamente después de la ecuación en que se utilicen por primera vez.

Cantidades y unidades. Para todas las cantidades numéricas, se debe utilizar una coma para separar los miles y un punto para indicar las cifras decimales. Se recomienda utilizar el Sistema Internacional de Unidades.

Tablas. Las tablas se deben numerar continuamente a lo largo del texto. El encabezado de cada tabla debe incluir la palabra **Tabla** (en negrilla) seguida del número arábigo consecutivo correspondiente y de una breve descripción del contenido de la tabla. Tanto el

encabezado como el contenido de la tabla se deben escribir en tamaño de fuente 10. Solo deben usarse líneas horizontales para separar las entradas de la tabla. No deben usarse líneas verticales para separar las columnas. En el caso de necesitarse algún pie de tabla, este debe estar escrito con tamaño de fuente 8. Las tablas no deben duplicar la información dada en las figuras.

Figuras. Las figuras (o fotografías) se deben numerar de manera consecutiva a lo largo del texto. El rótulo de cada figura debe estar en la parte inferior de la figura y debe incluir la palabra **Figura** (en negrilla) seguida del número arábigo correspondiente y de una breve descripción del contenido de la figura. El rótulo de la figura se debe escribir en tamaño de fuente 10. Las figuras deben incluirse como imágenes originales importadas o copiadas al archivo del trabajo desde una herramienta gráfica (por ejemplo, *Microsoft Excel*) con una resolución de 300 dpi, de tal manera que la legibilidad no se sacrifique cuando el tamaño de las figuras se ajuste durante el proceso de edición. No se publicará por ningún motivo información de fotografías descargadas de internet sin el permiso expreso del autor.

Referencias bibliográficas. Se debe utilizar a lo largo del texto el sistema de citación APA que utiliza los apellidos de autores seguidos del año de publicación entre paréntesis. La lista de las referencias se debe dar al final del documento después de la sección de Conclusiones y debe estar organizada en orden alfabético de acuerdo a la inicial del primer apellido del primer autor. En esta lista solamente se deben colocar las referencias citadas en el texto. Todas las referencias se deben escribir en tamaño de fuente 12 Times New Roman.

EJEMPLOS:

ARTÍCULO

Giraldo, G., Talens, P., Fito, P., & Chiralt, A. (2003). Influence of sucrose solution concentration on kinetics and yield during osmotic dehydration of mango. *Journal of food Engineering*, 58(1), 33-43.

LIBRO

Shames, I. H., & Shames, I. H. (1982). *Mechanics of fluids* (pp. 8-36). New York: McGraw-Hill.

CAPÍTULO DE LIBRO

Bertucco, A. &. (2002). Micronization of a polysaccharide by a supercritical antisolvent technique. En J. &. Williams (ed), *Supercritical Fluids Methods and Protocols*. (pp. 335-412). New Jersey: Humana Press, Inc.

DOCUMENTO DE INTERNET

Benson, T. (Nov. 17, 2005). *Forces on a Rocket*. Consultado en octubre 2, 2008, Disponible en: <http://exploration.grc.nasa.gov/education/rocket/rktfor.html>, accesado el XX de XX de XXXX

TESIS DE GRADO

Yépez, B. (2009). *Glicerólisis e hidrólisis de triglicéridos saturados, en dióxido de carbono supercrítico* (tesis doctoral). Escuela de Ingeniería Química, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

En caso de dudas, comunicarse con el editor (revista.mutis@utadeo.edu.co). Estas instrucciones quedan supeditadas a los cambios que el Comité Editorial disponga.



ESTA REVISTA ELECTRÓNICA
ES EDITADA POR LA
UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ
JORGE TADEO LOZANO.
SE FINALIZÓ EN 2020