

Guía de Laboratorio de Biología Molecular Básica en la Escuela



Harold Suárez, Roosevelt Escobar, Patricia Zapata
Gerardo Gallego y Joe Tohme

ISBN: 978-958-694-134-1 (formato impreso)
ISBN: 978-958-694-135-8 (formato digital)

 **CIAT**
Centro Internacional de Agricultura Tropical
Desde 1967 / *Ciencia para cultivar el cambio*

 **ODA**
Official
Development
Assistance
JAPAN
Official Development Assistance

CIAT

El Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) —miembro del Consorcio CGIAR— desarrolla tecnologías, métodos innovadores y nuevos conocimientos que contribuyen a que los agricultores, en especial los de escasos recursos, logren una agricultura eco-eficiente —es decir, competitiva y rentable así como sostenible y resiliente. La agricultura eco-eficiente reduce el hambre y la pobreza, mejora la nutrición humana y brinda soluciones ante la degradación ambiental y el cambio climático en los trópicos. Con su sede principal cerca de Cali, Colombia, el CIAT realiza investigación orientada al desarrollo en las regiones tropicales de América Latina, África y Asia.

www.ciat.cgiar.org

CGIAR es una alianza mundial de investigación agrícola para un futuro sin hambre. Su labor científica la llevan a cabo los 15 centros de investigación que conforman el Consorcio CGIAR, en colaboración con cientos de organizaciones socias.

www.cgiar.org

Publicación CIAT No. 397

Área de Investigación en Agrobiodiversidad
y
Comunicaciones Corporativas

Edición de producción: Victoria Rengifo y Claudia Calderón (CIAT)
Fotografía: Julio C. Martínez y Roosevelt Escobar
Diseño de portada: Julio C. Martínez
Diseño e impresión: Grafitextos

Guía de Laboratorio de Biología Molecular Básica en la Escuela

Harold Suárez, Roosevelt Escobar, Patricia Zapata
Gerardo Gallego y Joe Tohme



Referencias

Cooper GM; Hausman RE. 2007. La célula. Tercera edición. Marbán Libros, S.L., Madrid, España.

Curtis N. 1985. Diccionario ilustrado de la biología. Everest, S.A., Bogotá, Colombia.

Escobar Pérez RH; Escobar F; Gallego GJ; Cortés DF; Chávez AL; Bohórquez A; Caicedo AL; Soto M; Narváez AS; Lozano E; Lugo J; Tohme J. 2004. La biotecnología en el salón de clases: Documento de trabajo para docentes de secundaria, versión 1 [CD-ROM]. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. Disponible también en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_ciat/cdbiotecnologia/cover.swf

Tiessen A; Palacios N. 2007. Fundación Ciencia Activa. ISBN 978-970-95522-0-1.

Lecturas sugeridas para consulta:

- <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/menu.htm>
- <http://recursostic.educacion.es/secundaria/edad/>
- <http://www.yourgenome.org/>
- http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/index_BH.htm
- <http://learn.genetics.utah.edu/es/units/activities/extraction/>
- http://www.funsci.com/fun3_en/dna/dnaen.htm
- <http://rodas.us.es/access/home.do>

Nota

La mención de productos comerciales en esta guía no constituye una garantía del producto ni un intento para promocionarlo por parte del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) o de otra de las agencias colaboradoras.

Genoma: Información genética total que posee un organismo o una especie en particular. El genoma en eucariotas comprende el ADN contenido en el núcleo, organizado en cromosomas y el genoma mitocondrial.

Genotipo: Conjunto de información genética que porta un individuo.

Guanina (G): Base nitrogenada que se encuentra en el ARN y en el ADN y forma enlaces triples con la Citosina.

Nucleósido: Molécula orgánica resultante de la unión entre una base nitrogenada y un azúcar (ribosa o desoxirribosa).

Nucleótido: Nucleósido unido con un grupo fosfato.

Origami: Arte japonés que consiste en plegar papel y realizar figuras sin realizar ningún corte al papel ni usar pegamento.

Timina (T): Base nitrogenada que se encuentra solo en el ADN. Forma enlaces dobles con la Adenina.

Uracilo (U): Base nitrogenada que se encuentra solo en el ARN.

Introducción

En la biotecnología se integran diversas disciplinas del conocimiento, como las ciencias básicas, biología celular, bioquímica, biofísica, fisiología, matemáticas, entre otras. En las investigaciones en biotecnología, se llevan a cabo diversas técnicas y prácticas de laboratorio, algunas muy complejas que requieren de laboratorios y equipos sofisticados y costosos. Por lo anterior, surgen las siguientes preguntas: ¿Cómo enseñar biotecnología en la escuela, de una manera experimental que sea complemento de la teoría? y ¿Qué estrategias se pueden implementar en un aula para subsanar la falta de laboratorios?

Este trabajo titulado “Guía de laboratorio de biología molecular básica en la escuela” muestra cómo se pueden llevar a cabo cinco prácticas experimentales con elementos sencillos de fácil consecución. También, brinda al docente una herramienta pedagógica para enseñar algunos aspectos básicos de la biología molecular, y al estudiante le permite vivenciar de manera práctica estos temas y reconocer su importancia a nivel económico y social.

Adriana Bohórquez
Asociada de Investigación
Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)

Objetivos

La “Guía de Laboratorio de Biología Molecular Básica en la Escuela” se diseñó con el fin de apoyar, de manera sencilla, el desarrollo de algunas prácticas de biología celular, biología molecular y genética en un curso de biología general. La guía se puede complementar con la aplicación interactiva “La Biotecnología en el Salón de Clases” (Escobar Pérez et al., 2004) desarrollada por el CIAT, la cual ha sido implementada en escuelas públicas de Cali (Centro Auxiliar de Servicios Docentes - CASD), escuelas públicas rurales (Institución Educativa Técnico Agropecuaria Carlos Arturo Verbel Vergara de Caracol, Toluviejo, departamento de Sucre y la Institución Educativa Técnica Tunía (IETT), departamento del Cauca). Las dos últimas instituciones se han beneficiado con proyectos de inversión financiados por la Embajada del Japón, para la construcción y adecuación de Centros de formación en biotecnología en sus instalaciones.

Esta guía permite que los estudiantes experimenten y disfruten de la ciencia de una manera lúdica y práctica.

Glosario

Ácido desoxirribonucleico (ADN): Macromolécula que se encuentra en cada célula almacenando la información genética de cada individuo. Está compuesto por azúcar desoxirribosa y bases nitrogenadas (Adenina, Guanina, Citosina y Timina), unidas mediante enlaces fosfodiéster.

Ácido ribonucleico (ARN): Macromolécula formada por azúcar ribosa, bases nitrogenadas (Adenina, Guanina, Citosina y Uracilo). Es lineal y de hebra sencilla.

Adenina (A): Base nitrogenada que se encuentra en el ARN y en el ADN. Forma enlaces dobles con la Timina o el Uracilo.

Alelo dominante: Alelo de un gen que se expresa en presencia del alelo recesivo.

Alelo recesivo: Alelo de un gen que se silencia en presencia del alelo dominante.

Base nitrogenada: Compuesto orgánico cíclico que puede llevar en su estructura dos o más átomos de nitrógeno.

Bioseguridad: Aplicación de conocimientos, técnicas y equipamientos para prevenir la exposición de personas, laboratorios, áreas hospitalarias y medio ambiente a agentes potencialmente infecciosos o considerados de riesgo biológico.

Célula: Unidad básica y funcional de la vida.

Citosina (C): Base nitrogenada que se encuentra en el ARN y en el ADN. Forma enlaces triples con la Guanina.

Cromatina: Complejo formado por ADN y proteínas histonas que producen enrollamiento.

Cromosoma: Estructuras portadoras de los genes, que consta de moléculas largas de ADN y de proteínas asociadas. Representan el mayor grado de condensación de la cromatina.

Fenotipo: Características morfológicas, fisiológicas y conductuales de un individuo o población.

Gen: Fragmento de ADN que lleva la información necesaria para producir una proteína o molécula de ARN.

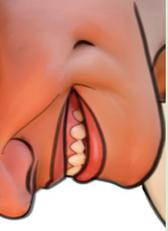
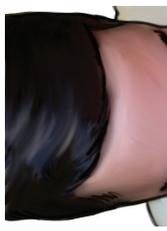
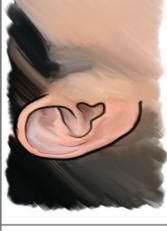
El orden específico de las bases nitrogenadas a lo largo de una cadena de ADN se conoce con el nombre de secuencia del ADN. En esta secuencia se almacenan las instrucciones genéticas específicas requeridas para generar un ser vivo. De esta manera, la información genética puede definirse como frases escritas usando las bases A, C, T y G como alfabeto.

En el ADN, la secuencia de las bases a lo largo de una cadena se complementa exactamente con la otra cadena (antiparalela) lo cual indica que ambas cadenas contienen la misma información genética. Las dos cadenas de ADN se unen químicamente a través de puentes de hidrógeno, formando pares de bases: A siempre estará unida a T por dos puentes de hidrógeno, mientras que G estará unida a C por tres puentes de hidrógeno. El tamaño del genoma se expresa de acuerdo al número total de pares de bases (pb) que lo conforman.

Conceptos para recordar...

- El ADN es una macromolécula de doble cadena presente en el núcleo de las células y contiene las instrucciones para generar un ser vivo.
- Las cuatro bases nitrogenadas que componen el ADN se encuentran unidas mediante puentes de hidrógeno. $G \equiv C$ y $A = T$
- El ARN es de cadena sencilla. El Uracilo solo se presenta en el ARN.
- El azúcar del ADN es la desoxirribosa y en ARN la D-ribosa.

Cuadro 1. Rasgos mendelianos en humanos.

Caracter	Forma recesiva	Forma dominante	Caracter	Forma recesiva	Forma dominante
Hoyuelos en la mejilla	 NO	 SÍ	Dedo meñique	 Recto	 Curvo
Línea frontal del cabello	 Sin pico viuda	 Pico de viuda	Capacidad de enrollar la lengua	 NO	 SÍ
Enrollamiento del cabello en la coronilla	 Sentido contrario	 Sentido horario	Hoyuelo en el mentón	 NO	 SÍ
Pulgar extensible	 SÍ	 NO	Lóbulo de la oreja	 Unido	 Suelto
Longitud del 2º dedo respecto del dedo pulgar	 Corto	 Largo	Longitud relativa del dedo índice	 Largo	 Corto

Adaptado de: <http://rodas.us.es/access/home.do>

Fundamento:

Mendel enunció en 1868 las leyes por las cuales se rige la herencia de la información genética. Gracias a su trabajo, se sabe que los caracteres hereditarios están determinados por alelos o formas alternativas de un gen. Cuando dos parentales se cruzan, si un hijo (filial) recibe un alelo dominante de uno de los padres, expresará (fenotipo) el rasgo o carácter dominante. Por el contrario, los que reciben el alelo recesivo de ambos padres, expresarán el fenotipo recesivo.

Procedimiento:

1. En el Cuadro 2, listar los nombres de los estudiantes del curso e identificar los rasgos fenotípicos mendelianos monogénicos (dominante o recesivo) de cada individuo, teniendo en cuenta el Cuadro 1.
2. Los genes están conformados por dos formas alternativas o alelos. Asignar con una letra mayúscula al alelo dominante del rasgo y con una letra minúscula al alelo recesivo del rasgo; por ejemplo, para la característica lóbulo de la oreja: lóbulo pegado, carácter recesivo (a) y lóbulo suelto carácter dominante (A).
3. Marcar con una X el rasgo que se observa en cada estudiante.
4. Resumir en un cuadro a tres columnas e indicar nombre del estudiante, fenotipo y genotipo probable.
5. Determinar frecuencia del carácter en cada caso.

Discutir en grupos de trabajo la experiencia.

- ¿Qué es y qué estudia la genética?
- Establezca las relaciones entre gen y alelo.
- Defina y explique qué es dominancia y recesividad en un gen.
- Defina y explique homocigoto y heterocigoto.
- Establezca porcentajes e identifique los caracteres dominantes y recesivos de mayor frecuencia entre los estudiantes que participaron en este estudio.

Normas básicas de bioseguridad en el laboratorio

1. Leer la guía de laboratorio para comprender los objetivos, los conceptos básicos y el procedimiento a seguir durante la actividad.
2. Preparar y reservar los materiales, equipos y reactivos o soluciones necesarias para el desarrollo de la práctica. Leer las Fichas Técnicas y de Seguridad (MSDS, por sus siglas en inglés) de los reactivos que van a ser usados durante la experimentación.
3. Utilizar elementos de protección (bata de laboratorio, guantes, gafas de seguridad, máscaras para gases y zapatos con suela antideslizante). La bata y los zapatos deben mantenerse bien cerrados para evitar accidentes (Figura 2).
4. No consumir alimentos ni bebidas en el laboratorio.
5. Trabajar en un área con buena ventilación.
6. No pipetear con la boca.
7. En caso de presentarse algún derrame o salpicadura, se debe limpiar inmediatamente, empleando el equipo de seguridad adecuado. Si hay contacto con la piel o los ojos debe lavar inmediatamente durante al menos 10 minutos con abundante agua. Todo accidente o incidente debe ser informado al coordinador de la práctica.
8. Lavarse las manos con agua y jabón antes y después de la práctica.
9. Limpiar y organizar el área de trabajo al finalizar.



Figura 2. Elementos de protección para usar en las prácticas de laboratorio.

Actividades en el laboratorio

Reconocimiento de la estructura del ADN

Objetivo: Reconocer la estructura básica de la molécula de ADN mediante la construcción de un modelo tridimensional usando la técnica de Origami.

Fundamento: La molécula de ADN posee una conformación estructural específica y se organiza espacialmente como una doble hélice (forma helicoidal). Dicha conformación es posible gracias a la unión de bases nitrogenadas mediante puentes de hidrógeno. Para comprender de manera general el sistema de apareamiento de bases y la estructura helicoidal del ADN, se construirá una representación tridimensional en papel y se discutirán algunas propiedades físicas de esta molécula.

Metodología de aprendizaje por descubrimiento

- Cada estudiante debe construir un modelo de la molécula de ADN, usando la plantilla sugerida (Figura 3).
- Discutir y retroalimentar la experiencia.
 - ¿Cómo es la estructura de la molécula de ADN?
 - ¿Cómo está constituido el ADN?

Materiales y lista de chequeo:

Una hoja de papel tamaño carta	<input type="checkbox"/>
Regla	<input type="checkbox"/>
Lápiz	<input type="checkbox"/>
Colores	<input type="checkbox"/>

La genética y la herencia

La genética es la rama de la biología que estudia la herencia de los caracteres, analiza la manera como las características de un individuo (morfológicas, fisiológicas o bioquímicas) se transmiten de una generación a otra. Esta ciencia nació con los experimentos de Gregorio Mendel.

En organismos que se reproducen, se heredan dos juegos de cromosomas uno del padre y el otro de la madre. En cada par de cromosomas homólogos hay parejas de genes (o alelos) en la misma posición que no tienen que llevar precisamente la misma información (homocigoto dominante, heterocigoto, homocigoto recesivo). Algunos de estos genes se comportan de manera mendeliana y permiten reconocer físicamente (el fenotipo) si la característica que se expresa en el individuo es la dominante o la recesiva.

Para tener en cuenta...

- Un individuo lleva dos alelos para cada carácter, uno heredado del padre y el otro de la madre.
- Un individuo es homocigoto si lleva dos alelos iguales para una característica.
- Un individuo es heterocigoto si lleva dos alelos diferentes para un determinado carácter.

Determinar caracteres monogénicos en humanos

Objetivo: Comprender de manera práctica la herencia mendeliana de algunos caracteres monogénicos en humanos (Cuadro 1).

Materiales y lista de chequeo:

Lápiz	<input type="checkbox"/>	Borrador	<input type="checkbox"/>	Papel	<input type="checkbox"/>
-------	--------------------------	----------	--------------------------	-------	--------------------------

Metodología de aprendizaje por descubrimiento:

Analizar las características morfológicas (fenotipo) y traducirlas a un lenguaje genético.

Extracción de ADN de células animales

Materiales y lista de chequeo:

Agua <input type="checkbox"/>	Etanol al 70% y 95% <input type="checkbox"/>	Solución de jabón líquido (25%) <input type="checkbox"/>	Vaso desechable <input type="checkbox"/>
Cuchara de plástico <input type="checkbox"/>	Alambre en forma de anzuelo <input type="checkbox"/>	Sal (NaCl) <input type="checkbox"/>	Hielo <input type="checkbox"/>

Procedimiento:

1. Adicionar en un tubo de ensayo etanol al 95% y poner a enfriar en un recipiente con hielo.
2. Colocar un poco de agua (aproximadamente 20 ml) en un vaso desechable y enjuagar la boca en forma enérgica, durante al menos medio minuto, para arrastrar la mayor cantidad posible de células de descamación de la mucosa bucal.

Nota: Antes de hacerlo trague saliva para eliminar la acción de las amilasas, enzimas contenidas en la saliva.
3. Devolver el agua del enjuague al vaso. Añadir dos pizcas de sal y dos gotas de la solución de jabón líquido (25%), agitar suavemente evitando la formación de espuma.
4. Transferir la mezcla al tubo de ensayo con el etanol frío. Dejar en reposo durante 2 o 3 minutos sin mover el tubo —esta mezcla se muestra turbia y es más densa que el alcohol, por lo que se deposita en el fondo del tubo. El alcohol forma una capa por encima de la fase acuosa en la que se encuentra el ADN en disolución provocando que este se precipite (Figura 8A).
5. Esperar unos 10 minutos mientras el ADN se precipita en la interfase alcohol-agua, formando una masa blanquecina (grumo de aspecto algodonoso).
6. Recoger el ADN utilizando un alambre en forma de anzuelo (Figura 8B). Resuspender el ADN en un vial con etanol al 70%.

Discutir en grupos de trabajo la experiencia.

- ¿Cuál es la función del ADN?
- ¿Qué estructuras de la célula protegen al ADN?
- ¿Qué función tiene el jabón para la extracción del ADN?
- ¿El ADN tiene mayor afinidad con el agua o con el alcohol?

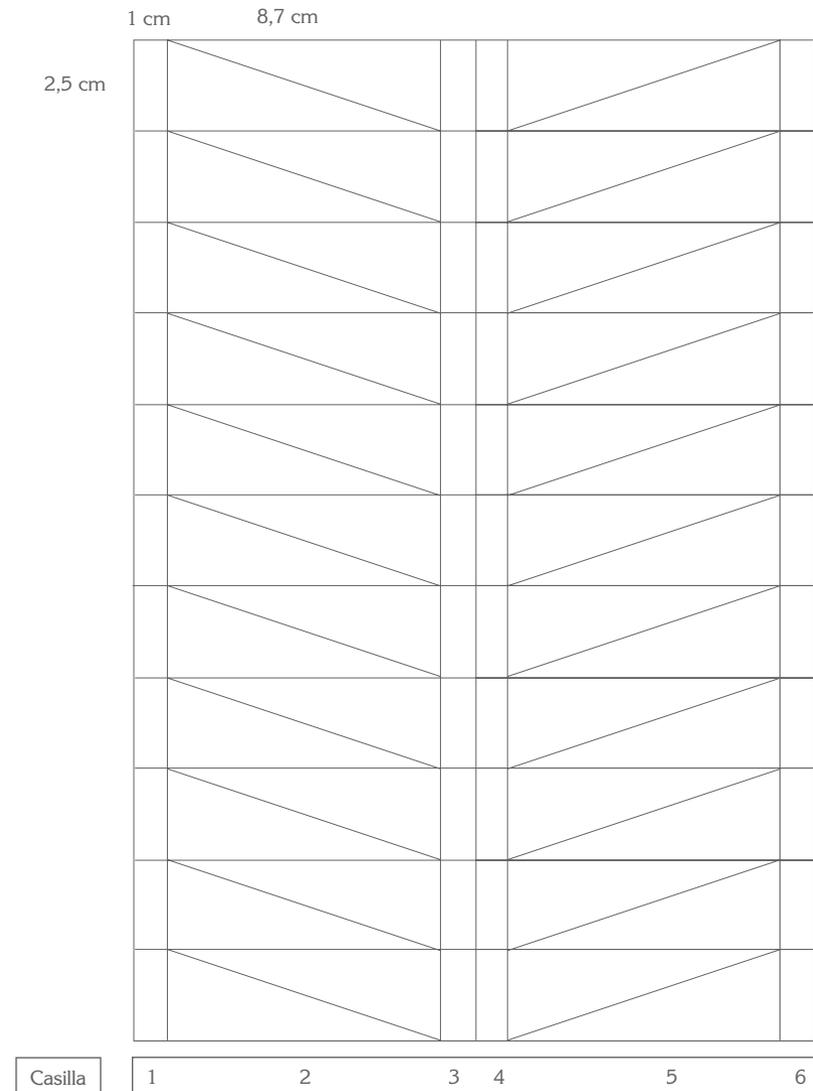


Figura 3. Plantilla para la elaboración del modelo del ADN en Origami.

Procedimiento:

1. En una hoja de papel, usando un lápiz y una regla, tomar las medidas indicadas en la Figura 3 y realizar la plantilla sugerida.
2. Recortar la plantilla dibujada por el borde externo (Figura 4A).
3. Asignar al azar, entre las diagonales de las casillas (2 y 5) una secuencia usando los siguientes códigos (Figura 4B):
 - A Adenina
 - C Citosina
 - G Guanina
 - T Timina
4. Tener en cuenta, por la complementariedad de las bases nitrogenadas, que:
 - A debe asignarse en frente de T, y viceversa.
 - G debe asignarse en frente de C, y viceversa.
5. La secuencia asignada en la Casilla 2 se debe reflejar en la Casilla 5 (Figura 4B).
6. Identificar según el par de bases nitrogenadas en las casillas espejo el tipo de enlace y asignarlo (Figura 4C).
 - Doble enlace entre A=T
 - Triple enlace entre G≡C

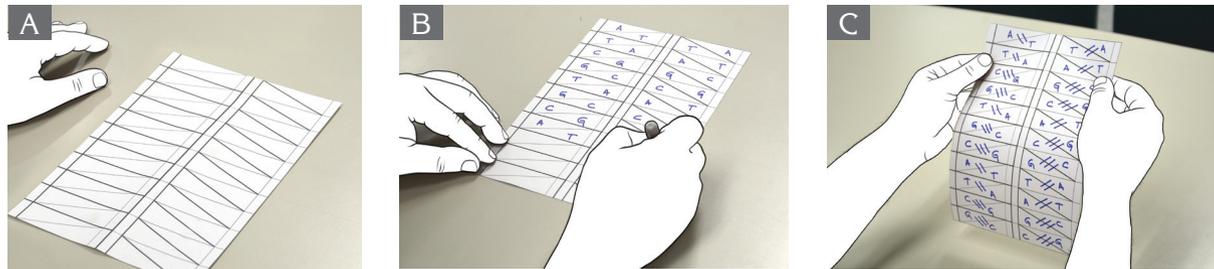


Figura 4. (A) Diagrama de la plantilla para asignar la secuencia al azar entre las diagonales de las casillas (2 y 5). (B) Complementariedad entre bases nitrogenadas (AT y CG). (C) Enlaces mediante puentes de hidrógeno entre bases nitrogenadas (doble o triple).

7. Escoger cuatro colores al azar y asignar uno a uno a las bases nitrogenadas.
8. Pintar, en el recuadro de la diagonal donde aparezca la base nitrogenada, con el color asignado.
9. Tomar la plantilla y doblar por la mitad; remarcar el doblez (Figura 5A).
10. Plegar por el borde de la Casilla 1 y llevar hacia atrás (Figura 5B).
11. Remarcar el doblez (Figura 5C).
12. Plegar por el borde de la Casilla 3 y llevar hacia adelante (Figura 5D). Remarcar el doblez.



Figura 8. (A) Docentes de la Asociación de Instituciones Educativas Oficiales de los Montes de María (ASOJETOMM) llevando a cabo la práctica de extracción de ADN de plantas. Toluvejo, departamento de Sucre. (B) Momento en el que se pesca el ADN con la ayuda de un alambre en forma de anzuelo.

Discutir en grupos de trabajo la experiencia.

¿Cuál es la función de la sal, el jabón y el alcohol en el proceso de extracción del ADN?

Procedimiento:

1. Preparar una solución con 10 ml del jabón líquido, 1.5 g de sal y 100 ml de agua. Agitar suavemente la mezcla hasta que la sal se disuelva completamente.
2. Con la ayuda de guantes y cuchillo pelar y remover las primeras capas y picar la parte central de la cebolla. Depositar en un vaso plástico.
3. Adicionar suficiente cantidad de solución con jabón hasta cubrir la cebolla picada.
4. Preparar un baño maría (calentar en una estufa agua en una olla pequeña a 60 °C) y dentro de esta sumergir durante 10 minutos el vaso plástico con la mezcla con cebolla. Mientras se calienta, y con la ayuda de una cuchara, macerar la cebolla contra las paredes del recipiente.
5. Enfriar la mezcla en un baño de hielo durante 5 minutos y continuar la maceración contra las paredes para romper las células y liberar el ADN.
6. En un colador plástico, colocar el filtro para café y pasar la solución del macerado a través del filtro. En un recipiente de vidrio, guardar el filtrado en la nevera o sobre hielo.
7. Vaciar dos cucharadas del filtrado frío en un tubo de ensayo e inclinar levemente. ¿Qué color tiene el filtrado? Detalle algún tipo de partículas.
8. Adicionar, con cuidado y lentamente, dos cucharadas de etanol frío por las paredes del tubo. Observar la formación de capas, ¿cuántas se forman?.
9. Esperar 3 minutos y observar detenidamente. El etanol hace que el ADN se separe de la capa acuosa y empiece a flotar en la capa de alcohol (Figura 8A).
10. Tratar de pescar el ADN haciendo un movimiento envolvente con el alambre en forma de anzuelo. Sacar el ADN de la solución y observar detenidamente (Figura 8B). Describa el olor y propiedades físicas visibles, elasticidad y viscosidad del ADN extraído.

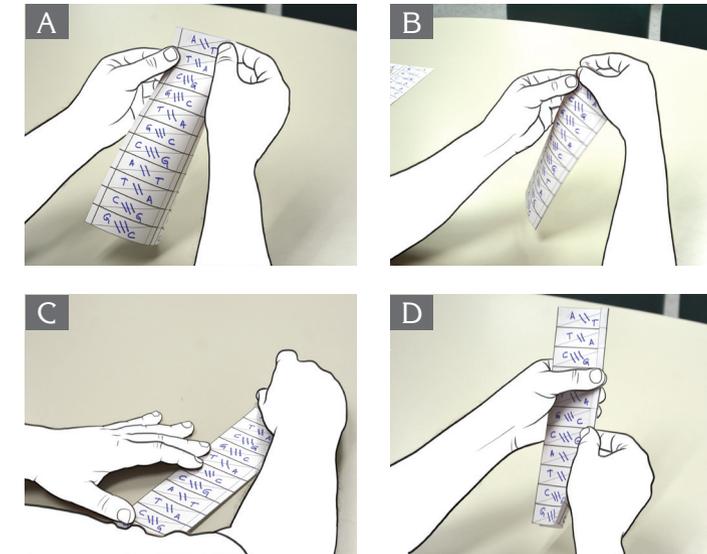


Figura 5. Pliegues iniciales entre los bordes de la plantillas.

13. Por la diagonal de la primera casilla, plegar entre los bordes de las Casillas 1 y 3 y llevar hacia atrás (Figura 6A).
14. Por la base de la primera casilla, plegar entre los bordes de las Casillas 1 y 3 y llevar hacia adelante (Figura 6B).
15. Repetir sucesivamente los pliegues hacia atrás (diagonal) y hacia adelante (base) de cada casilla hasta llegar al final del papel (Figura 6C y 6D).

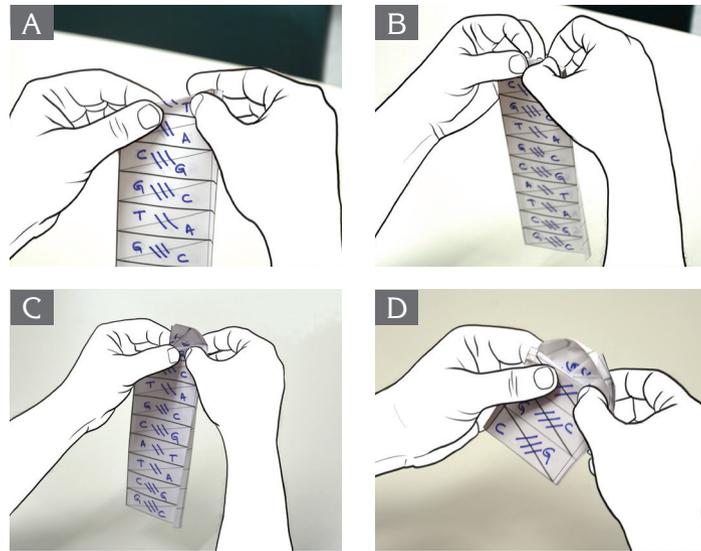


Figura 6. (A) Pliegues entre las diagonales y (B) entre las bases de las casillas de la plantilla para, en forma secuencial (C-D), ir construyendo un modelo tridimensional del ADN.

16. Con las dos manos, tomar los extremos de la figura (Figura 7A) y halar suavemente para dar forma a la figura tridimensional, en forma helicoidal del ADN (Figura 7B y 7C).



Figura 7. Modelo tridimensional, en forma helicoidal del ADN obtenido mediante la técnica de plegado del Origami.

Extracción de ADN de células vegetales y animales

Extracción de ADN de células vegetales

Objetivo: Extraer ADN de plantas y determinar algunas de sus características físicas.

Fundamento: El ADN se encuentra al interior del núcleo de las células, superenrollado y unido a proteínas para formar la cromatina. Para su extracción, es necesario romper las células (membrana o pared celular), acceder al núcleo y liberar el ADN.

Preguntas para desarrollar en la práctica:

- ¿Qué es el ADN y por qué es importante estudiarlo?
- ¿En qué componentes o estructuras celulares es posible encontrarlo?

Materiales y lista de chequeo:

10 ml de jabón líquido (de color claro)	<input type="checkbox"/>	Un vaso graduado de plástico	<input type="checkbox"/>
100 ml de agua	<input type="checkbox"/>	Un vaso de vidrio	<input type="checkbox"/>
10 ml de etanol al 95%	<input type="checkbox"/>	Una estufa	<input type="checkbox"/>
1.5 g de sal (NaCl)	<input type="checkbox"/>	Un termómetro	<input type="checkbox"/>
Una olla pequeña	<input type="checkbox"/>	Una cuchara metálica	<input type="checkbox"/>
Un colador plástico	<input type="checkbox"/>	Un tubo de ensayo	<input type="checkbox"/>
Un cuchillo	<input type="checkbox"/>	Guantes de látex	<input type="checkbox"/>
1 Tallo de cebolla larga*	<input type="checkbox"/>	Hielo	<input type="checkbox"/>
Alambre doblado en la punta (anzuelo)	<input type="checkbox"/>	Papel de filtro para café	<input type="checkbox"/>

* Como tejido alterno se pueden usar hojas de espinaca o un banano.