



ISSN 0370-3908

# REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Academia Colombiana de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 38 · Número 149 · Págs. 343-446 · Octubre - Diciembre de 2014 · Bogotá - Colombia





ISSN 0370-3908

# REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Academia Colombiana de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 38 · Número 149 · Págs. 343-446 · Octubre - Diciembre de 2014 · Bogotá - Colombia

## Comité editorial

### Editoras

Elizabeth Castañeda  
Instituto Nacional de Salud,  
Bogotá, Colombia

Carmenza Duque  
Universidad de La Sabana, Chía, Colombia  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

### Editores asociados

#### Ciencias físicas y matemáticas

Bernardo Gómez  
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Pedro Fernández de Córdoba  
Universidad Politécnica de Valencia, España

Rubén Antonio Vargas  
Universidad del Valle,  
Cali, Colombia

Victor Albis  
Universidad Nacional de Colombia,  
Bogotá, Colombia

#### Ciencias naturales (biología, botánica, zoología, ecología, bioquímica)

Gabriel Roldán  
Universidad Católica de Oriente,  
Rionegro, Antioquia, Colombia

M. Gonzalo Andrade  
Universidad Nacional de Colombia,  
Bogotá, Colombia

Jaime Ricardo Cantera  
Universidad del Valle,  
Cali, Colombia

José Luis Fernández  
Real Jardín Botánico, Consejo Superior de  
Investigaciones Científicas, Madrid, España

Thomas Defler  
Universidad Nacional de Colombia,  
Leticia, Colombia

#### Ciencias de la tierra

Germán Poveda  
Universidad Nacional de Colombia,  
Medellín, Colombia

Armando Espinosa  
Universidad del Quindío,  
Armenia, Colombia

Carlos Alberto Vargas  
Universidad Nacional de Colombia,  
Bogotá, Colombia

José Ignacio Martínez  
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

#### Ciencias humanas

Guillermo Páramo  
Universidad Central, Bogotá, Colombia

Rubén Ardila  
Universidad Nacional de Colombia,  
Bogotá, Colombia

#### Ciencias biomédicas

Felipe Guhl  
Universidad de Los Andes,  
Bogotá, Colombia

Luis Fernando García  
Universidad de Antioquia,  
Medellín, Colombia

#### Ciencias químicas

Fanor Mondragón  
Universidad de Antioquia,  
Medellín, Colombia

Moisés Wasserman  
Universidad Nacional de Colombia,  
Bogotá, Colombia

Sonia Moreno  
Universidad Nacional de Colombia,  
Bogotá, Colombia

## Comité científico internacional

Ángela María Guzmán  
University of Central Florida,  
Orlando, Estados Unidos

Antoine M. Cleef  
University of Amsterdam, Holanda

Carlos Jiménez  
Universidad de La Coruña, España

Gioconda San Blas  
Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas  
y Naturales, Caracas, Venezuela

José Rubens Pirani  
Universidade de São Paulo, Brasil

Wolfgang Gieren  
Universidad de Concepción, Chile

---

**Asistencia y coordinación editorial** Carolina Acosta

**Corrección de estilo y ortografía**  
Marta Renza

**Diagramación**  
Johanna Morales

**Impresión y acabados**  
Gente Nueva

---

## Reseñada en los siguientes índices nacionales e internacionales:

Actualidad Iberoamericana

Agris

CIRS

Current Mathematical Publications

Dialnet

EBSCO

Historia Mathematica

Index Kewensis

Latindex

Mathematical Reviews

MathSciNet (on line data base)

OCLC (Online Computer Library Center)

PERIODICA

Publindex, Colciencias

RLG

SciELO

Zentralblatt für Mathematik

Zoological Record

---

**Periodicidad:** trimestral

**Fecha de inicio:** 1936

**Tamaño:** 21,5 x 27 cm

**Papel:** proplamate de 90 gr.

Solicitud de canje

Esta publicación se ha financiado mediante la transferencia de recursos del Gobierno Nacional a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

La Academia no es responsable de las opiniones aquí expresadas.

Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico, mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma.

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra solo puede ser realizada con la autorización previa de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales.

Impreso en Colombia



### Portada:

La especie *Mutisia clematis* fue dedicada por Linneo a José Celestino Mutis y luego una especie de este género, *Mutisia grandiflora* fue adoptada como símbolo en el escudo de la Academia de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. En la parte superior: "clavellino". Nombre científico: *Mutisia clematis*, Familia: Asteraceae. A la izquierda, en posición vertical: *Cissampelos sp.* Familia: Menispermaceae.

**Página web de la revista:** [www.raccefyn.co](http://www.raccefyn.co)

**Correo electrónico:** [revista@accefyn.org.co](mailto:revista@accefyn.org.co)

**Sede de la Academia:** Cra. 28a No.39a - 63  
Bogotá, Colombia

**Teléfonos:** (571) 244 3186 - 268 3290 -  
268 2846



Academia Colombiana de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales

ISSN 0370-3908

# REVISTA DE LA ACADEMIA COLOMBIANA de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 38 · Número 149 · Págs. 343-446 · Octubre - Diciembre de 2014 · Bogotá - Colombia

## Contenido - Contents

Ciencias  
naturales

- Variables ambientales durante blanqueamiento coralino en el Caribe colombiano**  
Environmental variables during coral bleaching in the Colombian Caribbean  
*Deisy Romero-Rodríguez, Gladys Bernal, Sven Zea* ..... 347
- Estudio químico y etnobotánico de *Croton leptostachyus***  
Chemical and ethnobotanical study of *Croton leptostachyus*  
*Jhon Jairo Mendez-Arteaga, Walter Murillo-Arango* ..... 356
- Catálogo de polen en mieles de *Apis mellifera* provenientes de zonas cafeteras en la Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia**  
Pollen catalog for *Apis mellifera* honey from coffee regions in the Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia  
*Paula María Montoya-Pfeiffer, Daniela León-Bonilla, Guiomar Nates-Parra* ..... 364
- Evaluación de la comunidad desnitrificante tipo *nosZ* en la columna de agua de Isla del Sol, embalse de Prado, Tolima**  
Evaluation of the *nosZ*-type denitrifier community in Isla del Sol water column, Prado reservoir, Tolima  
*Maribeb Castro-González* ..... 385
- Effect of waterlogging stress on the growth, development and symptomatology of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants**  
Efecto del estrés por anegamiento sobre el crecimiento, desarrollo y sintomatología de plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.)  
*Fernando Aldana, Pedro Nel García, Gerhard Fischer* ..... 393
- Characterization of Al-Zr, Al-Hf and Al-Ce-pillared vermiculites by X-ray photoelectron spectroscopy**  
Caracterización de vermiculitas pilarizadas con Al-Zr, Al-Hf y Al-Ce por espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos-X  
*Ana María Campos, Sonia Moreno, Rafael Alberto Molina* ..... 401

Ciencias  
químicas

**Reconstrucción de las concentraciones de materia orgánica y nutrientes mediante espectrometría y análisis de diatomeas en tres embalses de Antioquia**

Reconstruction of the concentrations of organic matter and nutrients using spectrometry and diatom analysis in three reservoirs in Antioquia, Colombia

*Lina Juliana Gallo-Sánchez, María Teresa Flórez-Molina, Luis Norberto Parra-Sánchez* ..... 409

**First report and significance of the staurolite metabasites associated to a sequence of calc-silicate rocks from the Silgará Formation at the central Santander Massif, Colombia**

Primer reporte y significado de las metabasitas con presencia de estaurolita asociadas a una secuencia de rocas calcosilicatadas en la Formación Silgará de la región central del Macizo de Santander, Colombia

*Carlos A. Ríos, Oscar M. Castellanos* ..... 418

**Agradecimientos**

Acknowledgements ..... 430

**Índices**

Index ..... 431

**Enfoque y alcance**

Focus and Scope ..... 437

# VARIABLES AMBIENTALES DURANTE BLANQUEAMIENTO CORALINO EN EL CARIBE COLOMBIANO

Deisy Romero-Rodríguez<sup>1,\*</sup>, Gladys Bernal<sup>2</sup>, Sven Zea<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andrés”, INVEMAR, Santa Marta, Colombia

<sup>2</sup>Departamento de Geociencias y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup>Centro de Estudios en Ciencias del Mar, CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe, Santa Marta, Colombia

## Resumen

Aunque la temperatura superficial del mar se ha considerado como la variable ambiental con mayor incidencia en el blanqueamiento coralino, se ha encontrado que otras variables también intervienen en este fenómeno, modificando la susceptibilidad de los arrecifes y generando diferencias espaciales. En el Caribe colombiano se estudiaron las variables de temperatura superficial del mar, clorofila, turbidez, caudal de ríos, vientos y nubosidad durante los blanqueamientos coralinos en cuatro localidades. Mediante análisis multivariados y de valores extremos, se encontró que los blanqueamientos han ocurrido principalmente en el segundo semestre del año a nivel de cuenca, de costa continental y local. En los arrecifes costeros, la turbidez del agua por la entrada de agua dulce ha sido determinante en el blanqueamiento, mientras que en los oceánicos lo ha sido el aumento de temperatura. Así, fenómenos macroclimáticos como La Niña influyen en la ocurrencia de los blanqueamientos cerca de la costa. Los datos muestran que es necesario monitorizar de forma más continua el blanqueamiento y que las zonas más expuestas son las Islas del Rosario y San Bernardo.

**Palabras claves:** arrecifes coralinos, blanqueamiento, Caribe.

## Environmental variables during coral bleaching in the Colombian Caribbean

### Abstract

While sea surface temperature has been considered the environmental variable with the greatest impact on coral bleaching, other variables also modify the susceptibility of reefs and generate spatial differences of this phenomenon. In four locations in the Colombian Caribbean, sea surface temperature, chlorophyll, turbidity, flow of rivers, winds and clouds were studied during coral bleaching. Using a principal components and maximum values analysis, we found that bleaching occurred mainly in the second half of the year, at three spatial levels: basin, coastal zone and local. In the coastal reefs, water turbidity by freshwater input was determinant in bleaching, while in the open ocean, temperature was the determinant variable. Thus, macroclimatic phenomena like La Niña influence the occurrence of bleaching near the coast. The data backed the need to increase the frequency of bleaching monitoring and showed that the most exposed areas are El Rosario and San Bernardo islands.

**Key words:** Reefs, bleaching, Caribbean.

## Introducción

El blanqueamiento coralino se produce cuando se trastorna la relación simbiótica entre los corales hermatípicos y las zooxantelas y estas son expulsadas, lo que deja expuesto el color blanco del esqueleto del coral (Douglas, 2003; Buddemeier, *et al.*, 2004). Los efectos conocidos del blanqueamiento incluyen la pérdida de pigmentos fotosintéticos, el incremento en la tasa de respiración y la disminución de la calcificación (Brown, 1997). La temperatura superficial del mar (TSM) ha sido considerada como la principal causa del blanqueamiento (Glynn, 1993, Wilkinson & Souter, 2008),

debido a que los corales viven cerca de su límite de tolerancia térmica (Kleypas, *et al.*, 2001). También se ha asociado el blanqueamiento con cambios en la salinidad, pues ésta modifica la función metabólica de los corales y sus algas simbiotas (Hoegh-Guldberg, 1999, True, 2012). Asimismo, el exceso de nutrientes puede producir un crecimiento acelerado de macroalgas, las cuales recubren los corales,

### \*Correspondencia:

Deisy Romero-Rodríguez, dalejandra86@gmail.com

Recibido: 22 de junio de 2014

Aceptado: 29 de octubre de 2014



generando blanqueamiento (True, 2012; Wiedenmann, *et al.*, 2013). Los eventos extremos, como los huracanes, también pueden estar indirectamente relacionados, ya que producen la fragmentación de la cobertura coralina (Van Woesik, *et al.*, 1995; Gardner, *et al.*, 2005). De otro lado, se ha sugerido que la nubosidad puede disminuir la alta radiación solar que reciben los corales (Mumby, *et al.*, 2001) y la surgencia puede retardar el recalentamiento y permitir una rápida recuperación luego del blanqueamiento (Maina, *et al.*, 2008; Bayraktarov, *et al.*, 2013).

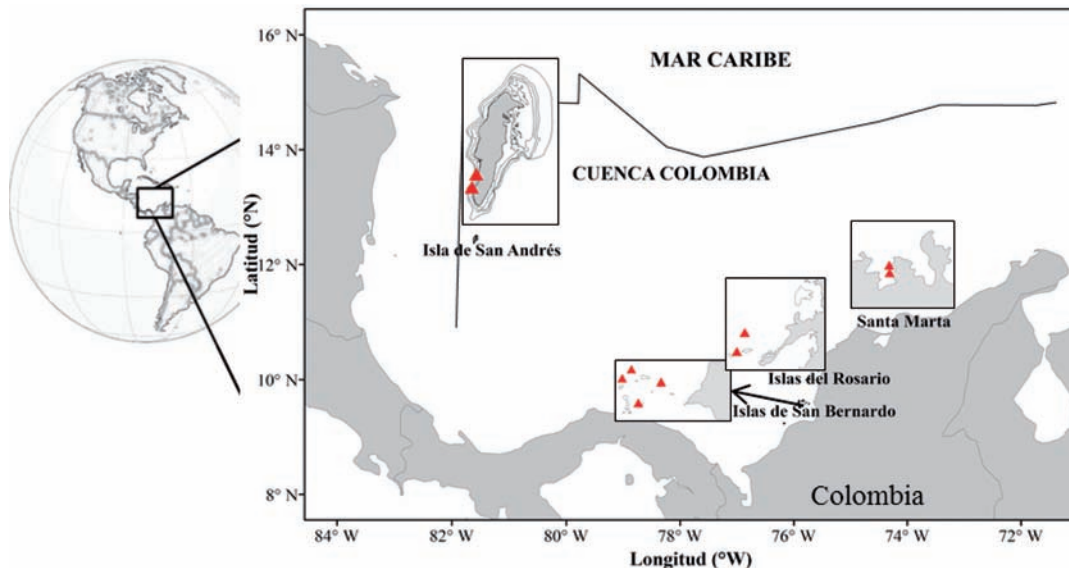
En 1997, durante El Niño, ocurrió un blanqueamiento masivo en el cual el 16 % de los arrecifes del Caribe resultaron deteriorados (Wilkinson & Souter, 2008). En 1998, se presentó blanqueamiento en la isla de San Andrés, en Santa Marta y en las islas del Rosario y, aunque la causa precisa no se determinó, este se atribuyó al incremento de la temperatura superficial del mar (TSM) (Rodríguez-Ramírez, *et al.*, 2006; Wilkinson & Souter, 2008). En el 2005, el blanqueamiento masivo en el Caribe también fue relacionado con el incremento de la TSM; en las islas del Rosario y de San Bernardo se reportó que en el 70-80 % de la cobertura de coral hubo señales de blanqueamiento (Rodríguez-Ramírez, *et al.*, 2008; Eakin, *et al.*, 2010) y en el 8 % hubo mortalidad (Gil-Agudelo, *et al.*, 2005). En Santa Marta y San Andrés, entre el 1 y 30 % del coral se blanqueó (ReefBase, 2006; Venera-Pontón, 2008; Wilkinson & Souter, 2008). En el 2010 se desencadenó otro blanqueamiento atribuido a valores anómalos de temperatura (INAP, 2010). El Sistema Nacional de Monitoreo de Arrecifes de Coral (SIMAC), programa del INVEMAR, reportó en la estación de bahía Chengue (Santa

Marta) cerca de un 18 % de corales blanqueados en ese año, por encima de los eventos de 1997 y 2005 (Rodríguez-Ramírez, *et al.*, 2008).

Debido a que en el blanqueamiento intervienen diferentes variables, es preciso establecer qué tan grave puede ser este en relación con el número de factores involucrados y sus distintos patrones espaciales (Glynn, 1993, Gil-Agudelo, *et al.*, 2005, McClanahan, *et al.*, 2007). Dicho de otro modo, las diferencias espaciales en la ocurrencia de este fenómeno pueden estar relacionadas con la interacción de variables y no únicamente con la TSM. En el Caribe colombiano los estudios se han limitado a mencionar posibles causas del blanqueamiento, sin profundizar en la combinación de las condiciones físicas asociadas (Zea & Tobón, 1989; Solano, 1994; Rodríguez-Ramírez, *et al.*, 2006; Wilkinson & Souter, 2008; Navas-Camacho, *et al.*, 2010). Ya que esta es una región donde la oceanografía marca diferencias que permiten contrastar la combinación de factores que inducen al blanqueamiento, en el presente estudio se utilizaron series históricas para evaluar algunas variables ambientales y relacionarlas con los blanqueamientos registrados a fin de entender sus causas.

### Metodología

Se seleccionaron tres áreas de arrecifes en la plataforma continental y una en la zona oceánica del Caribe colombiano (Figura 1). Existen variaciones en la oceanografía de las localidades que dependen de la climatología de la región (Andrade & Barton, 2005, Bernal, *et al.*, 2006, Bernal, *et al.*, 2010). Santa Marta está directamente influenciada por



**Figura 1.** Área de estudio. Los triángulos señalan las estaciones del programa SIMAC de las cuales se obtuvo información de blanqueamiento coralino entre 1997 y 2010.

los vientos del chorro de bajo nivel del Caribe y está sujeta a surgencias permanentes que varían en intensidad con el ciclo anual. Por su parte, la oceanografía de las islas del Rosario y de San Bernardo está dominada por el giro Panamá-Colombia. Allí se presentan aportes significativos de los ríos andinos, los cuales generan una estratificación del agua en la principal época lluviosa, lo cual aumenta el calentamiento superficial. El área de la isla de San Andrés, situada en el centro de la cuenca, está regida por la corriente del Caribe, sujeta a vientos más fuertes y expuesta al paso de huracanes (Andrade-Amaya, 2012).

Las series de tiempo de la temperatura superficial del mar (TSM), así como la información sobre la clorofila-a, el coeficiente de atenuación difusa ( $kd_{490}$ , medición indirecta de la turbidez), la velocidad del viento y la nubosidad, se obtuvieron de datos satelitales (Tabla 1). Asimismo, se adquirieron los datos del caudal de los ríos que desembocan cerca de los arrecifes bajo estudio en las estaciones del IDEAM más cercanas a la desembocadura de los ríos Piedras, Manzanares, Don Diego, Cañas y Gaira para el sector de Santa Marta; del Magdalena a través del canal del Dique para las islas del Rosario, y del Sinú para las de San Bernardo. Debido a que no hay series históricas de salinidad en la región, se usó información climatológica del *World Ocean Atlas* (WOA, 2009) y se interpretó mediante los datos de turbidez y caudal de los ríos. Estas variables se graficaron en mapas de promedio histórico, se les determinó el ciclo anual y se contrastaron con una prueba T para determinar diferencias significativas.

En cuanto al blanqueamiento, y puesto que no existen series históricas completas y la información se encuentra fragmentada, se usó una combinación de fuentes: 1) datos anuales del SIMAC sobre el porcentaje de coral vivo blanqueado desde 1998; 2) datos de ReefBase (sistema de información de arrecifes coralinos), y 3) información publicada sobre eventos de blanqueamiento en la región. Teniendo en cuenta que algunos registros de blanqueamiento (por ejemplo los de Reefbase), se clasifican según su intensidad alta, media y baja, las demás fuentes también se llevaron a estos intervalos mediante los

valores medios, mínimos, máximos y las desviaciones estándar para el caso de los porcentajes. De esta manera se obtuvo una serie única de registros de blanqueamiento para cada localidad, la cual contiene los eventos reportados en las tres fuentes entre los años de 1997 y 2010, así como su intensidad. Es posible que hayan ocurrido eventos no registrados y que, por lo tanto, no aparezcan en la serie; sin embargo, se considera que esta sería la serie más completa de registros de blanqueamiento para la región.

Se hizo una aproximación de la relación entre las variables ambientales y el blanqueamiento a partir de los coeficientes factoriales obtenidos del análisis de componentes principales (ACP). Los coeficientes se graficaron como series de tiempo y se contrastaron con las fechas de blanqueamiento. El tiempo que los blanqueamientos de intensidad media y alta tardaron en evidenciarse, se evaluó con la revisión semanal detallada de las series de tiempo desde cuatro meses antes del primer reporte encontrado; el valor de las variables se clasificó como alto o extremo con base en las desviaciones estándar +1 y +2, respectivamente; las gráficas no se muestran en este artículo, pero pueden encontrarse en Romero-Rodríguez (2013).

## Resultados

### Caracterización espacio-temporal de las variables

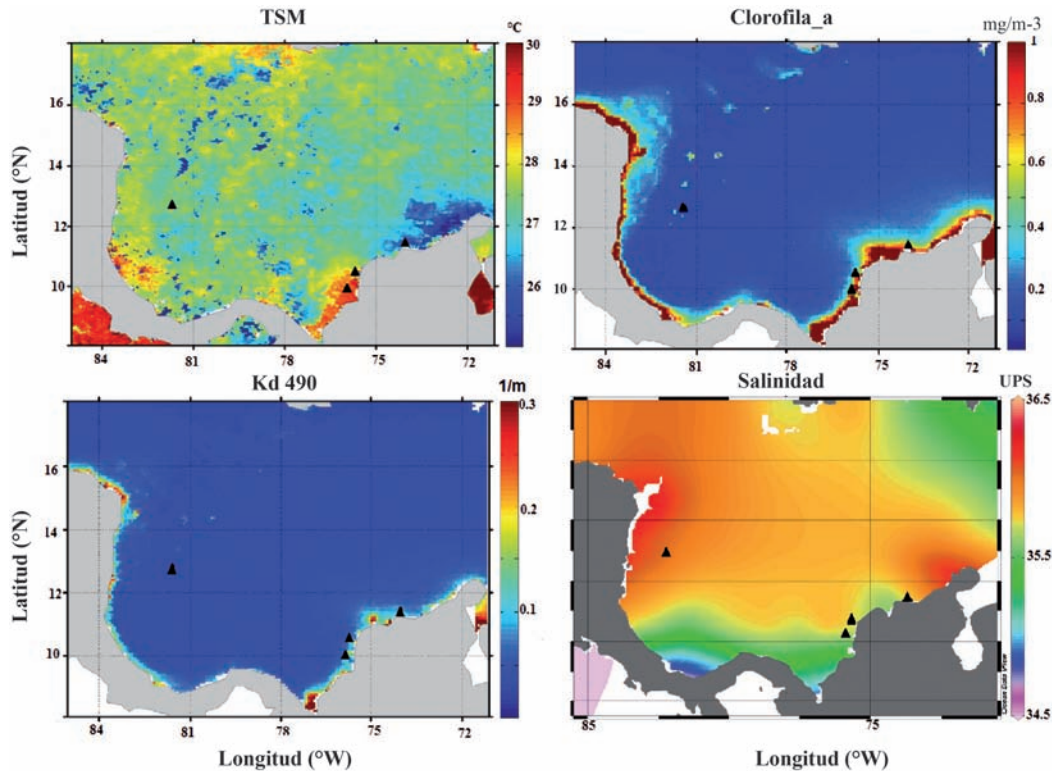
El gradiente espacial de los valores medios entre 1997 y 2010 de la TSM, la clorofila a (CLA), el  $kd_{490}$  y la salinidad se aprecia en la Figura 2. Hacia el noreste de la costa del Caribe colombiano, se identificaron las menores TSM; al sureste, en las islas del Rosario y San Bernardo, se identificaron TSM altas, y en el centro de la cuenca Colombia las aguas se caracterizaron por ser moderadamente cálidas. El borde costero se encontró mesotrófico (CLA 0,2 – 1,0 mg/m<sup>3</sup>) y con mayor  $kd_{490}$ , mientras que el centro de la cuenca Colombia se evidenció como oligotrófico (CLA <0,2 mg/m<sup>3</sup>) y con menor  $kd_{490}$ . Por su parte, la salinidad media fue menor en las localidades costeras en comparación con la zona oceánica y fue mayor en la parte noreste que en la parte sureste de la cuenca Colombia.

**Tabla 1.** Fuente y resolución de las variables ambientales utilizadas en el presente estudio, promedios semanales (septiembre de 1997 a diciembre de 2010)

Variable	Fuente	Resolución espacial	Página Web
Temperatura superficial del mar (°C)	NOAA AVHRR	4 km	<a href="http://www.nodc.noaa.gov/SatelliteData/pathfinder4km/">http://www.nodc.noaa.gov/SatelliteData/pathfinder4km/</a>
Clorofila (mg/m <sup>3</sup> ) y turbidez (m <sup>-1</sup> )	SeaWiFS	9 km	<a href="http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/">http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/</a>
Velocidad del viento (m/s)	CCMP	0,25 °	<a href="http://podaac.jpl.nasa.gov/dataset/">http://podaac.jpl.nasa.gov/dataset/</a>
Nubosidad (%)	NCEP/NCAR	2 °	<a href="http://www.esrl.noaa.gov/psd/data/gridded/data.nmc.marine.html">http://www.esrl.noaa.gov/psd/data/gridded/data.nmc.marine.html</a>
Salinidad superficial del mar	WOA2009	0,25 °	<a href="http://www.nodc.noaa.gov/OC5/WOA09/pr_woa09.html">http://www.nodc.noaa.gov/OC5/WOA09/pr_woa09.html</a>

NOAA: National Oceanic and Atmospheric Administration, AVHRR: Advanced Very High Resolution Radiometer, SeaWiFS: Sea-Viewing Wide Field-of-View Sensor, CCMP: Cross-Calibrated Multi-Platform, NCEP/NCAR: National Centers for Environmental Prediction/ National Center for Atmospheric Research, WOA= World Ocean Atlas





**Figura 2.** Valores medios de TSM ( $^{\circ}\text{C}$ ), clorofila ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ) y  $\text{kd}_{490}$  ( $\text{m}^{-1}$ ) entre 1997 y 2010, y salinidad (climatología del WOA). Los triángulos indican las localidades de estudio.

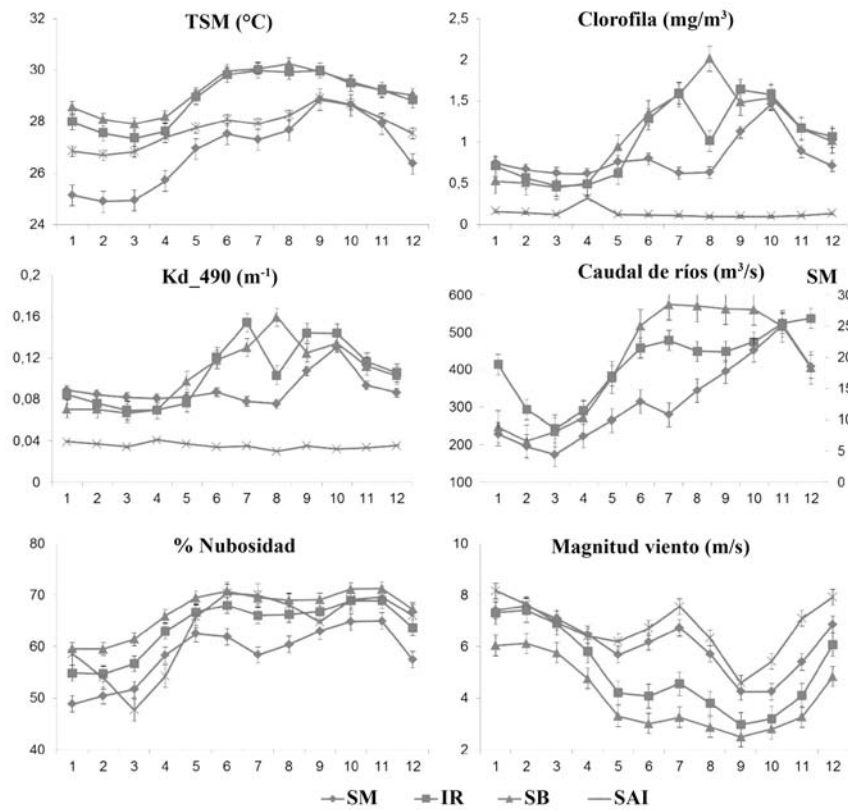
El comportamiento de las variables durante el año se muestra en la Figura 3. De diciembre a abril, la TSM, la clorofila a, el  $\text{kd}_{490}$ , el caudal de los ríos y el porcentaje de nubosidad presentaron valores bajos, mientras que los vientos fueron altos. Entre mayo y noviembre, con interrupciones en julio y agosto, las variables tuvieron valores altos, a excepción de los vientos, que fueron débiles. Los valores medios del ciclo de la TSM en las islas del Rosario y San Bernardo, no presentaron una diferencia significativa (valor  $p > 0,05$ ). Los menores valores se identificaron en Santa Marta y en la isla de San Andrés, y tampoco presentaron diferencias significativas entre sus medias. Respecto a la clorofila a, los valores más altos se identifican en los sitios costeros (Santa Marta, islas del Rosario y San Bernardo), sin diferencias significativas entre ellos. El caso contrario se presentó en la isla de San Andrés, con diferencias significativas frente a los sitios costeros (valor  $p = 0,00$ ). El caudal no presentó diferencias significativas entre las medias de San Bernardo e islas del Rosario (valor  $p = 0,9$ ), sin embargo, el de Santa Marta sí tuvo diferencias con respecto al de islas del Rosario y San Bernardo. Los vientos más intensos se registraron en la isla de San Andrés y en Santa Marta, sin diferencias significativas, así como tampoco las hubo entre San Bernardo e islas del Rosario (valor  $p = 0,12$ ).

#### ***Identificación de los blanqueamientos coralinos en el área de estudio***

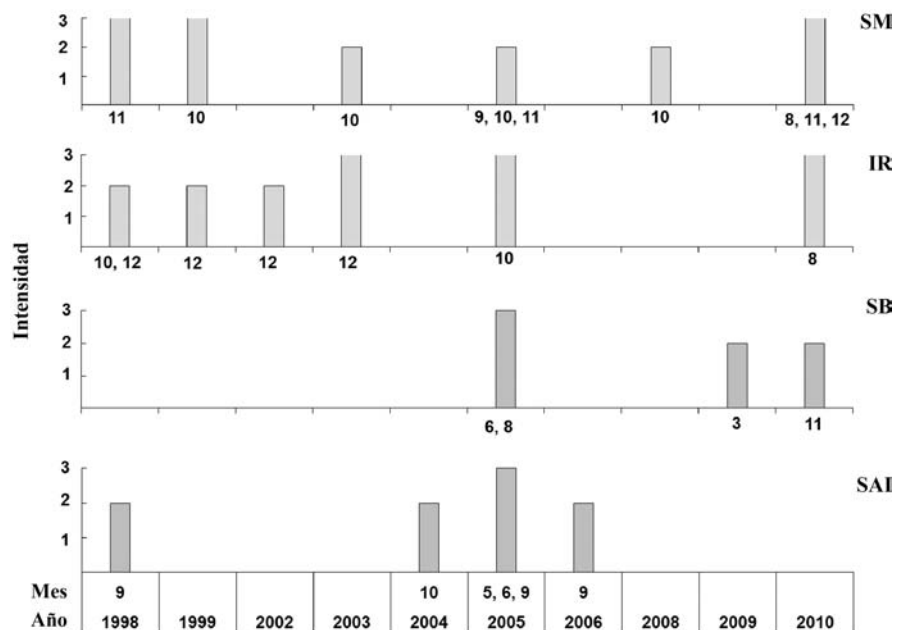
Los blanqueamientos reportados entre 1997 y 2010 se muestran en la Figura 4. En Santa Marta e islas del Rosario se presentaron tres blanqueamientos de intensidad alta y tres de intensidad media entre los meses de agosto a diciembre. En San Bernardo se identificaron dos blanqueamientos de intensidad media y uno de intensidad alta en meses diferentes (marzo y junio); no obstante, la serie de blanqueamientos de San Bernardo fue más corta, probablemente porque la cantidad de estudios realizados allí ha sido menor. En la isla de San Andrés se encontraron tres blanqueamientos de intensidad media y uno de intensidad alta entre mayo y octubre. Los blanqueamientos se dieron en tres escalas espaciales: de cuenca, en 1998 y 2005, ocurridos tanto en las áreas costeras como en la oceánica; costera, en 1999, 2003 y 2010, ocurridos en al menos dos de las tres áreas de la plataforma continental, y local, en 2002, 2004, 2006, 2008 y 2009, ocurridos solamente en una de las áreas.

#### ***Características ambientales en los blanqueamientos coralinos***

En los tres sectores costeros, la componente uno del ACP estuvo dominada por la correlación positiva con los vientos y la negativa con la temperatura, el caudal, la clorofila a y el  $\text{kd}_{490}$  (Tabla 2). En Santa Marta, los picos negativos de la serie de



**Figura 3.** Promedios mensuales de la serie temporal completa entre 1997 y 2010. TSM (PathfinderVersion 5.2); clorofila y  $kd_{490}$  (sensor SeaWiFS); caudal de ríos (IDEAM); nubosidad (NCEP/NCAR), y vientos (CCMP) SM: Santa Marta, IR: Islas del Rosario, SB: San Bernardo, SAI: Isla de San Andrés

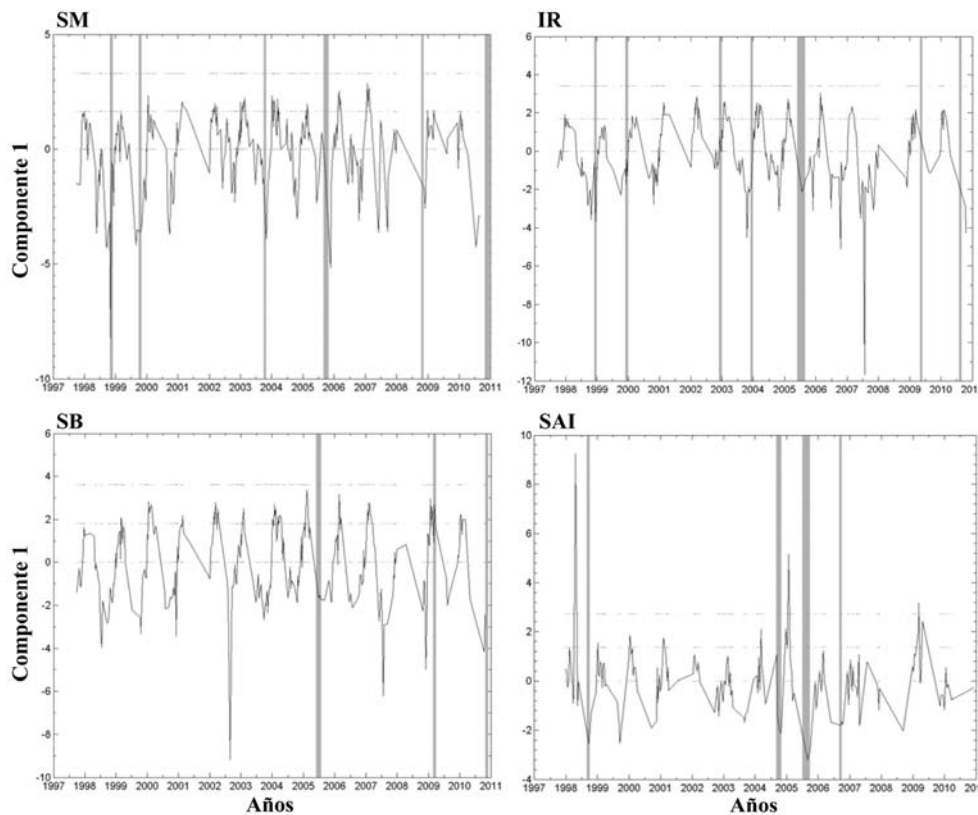


**Figura 4.** Intensidad del blanqueamiento entre 1997 y 2010 a partir de diferentes fuentes de información. Los meses en que se registró blanqueamiento se indican con números bajo las barras. SM: Santa Marta, IR: Islas del Rosario, SB: San Bernardo, SAI: Isla de San Andrés

**Tabla 2.** Coeficientes factoriales de las dos primeras componentes, las cuales explican más del 70 % de la varianza en cada sector

Variable	Santa Marta		Islas del Rosario		San Bernardo		Isla de San Andrés	
	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2
Caudal (m <sup>3</sup> /s)	-0,68	0,25	-0,61	-0,03	-0,81	0,28		
Nubosidad (%)	-0,68	0,28	-0,57	-0,45	-0,58	0,3	-0,17	0,39
TSM (°C)	-0,79	0,37	-0,67	-0,45	-0,65	0,44	0,6	0,72
Vientos (m/s)	0,80	-0,27	0,72	0,47	0,84	-0,27	0,61	-0,49
Clorofila (mg/m <sup>3</sup> )	-0,53	-0,84	-0,82	0,55	-0,76	-0,6	0,77	0,52
Kd <sub>490</sub> (m <sup>-1</sup> )	-0,49	-0,87	-0,76	0,62	-0,74	-0,62	0,73	0,56

C1: Componente 1, C2: Componente 2, del Análisis de Componentes Principales



**Figura 5.** Serie de tiempo de la componente uno del ACP en cada área de estudio. Las barras grises indican los meses en que hubo blanqueamiento de intensidad media o alta. SM: Santa Marta, IR: Islas del Rosario, SB: San Bernardo, SAI: Isla de San Andrés

tiempo de los coeficientes factoriales de la componente uno, coincidieron con los blanqueamientos de 1998, 1999, 2003, 2005 y 2008 (Figura 5), es decir que los blanqueamientos coincidieron con aumentos combinados de la TSM, el caudal, la clorofila a y el kd<sub>490</sub>. El análisis de la serie de tiempo desde cuatro meses antes indicó que en Santa Marta la TSM, la clorofila a, el kd<sub>490</sub> y el caudal fueron extremos desde por lo menos un mes antes de los blanqueamientos de intensidad alta. En las islas del Rosario, los blanqueamientos de 1998,

1999, 2003, 2005 y 2010 coincidieron con picos negativos de la componente principal (alta TSM, CLA, kd<sub>490</sub> y caudal). En este sector, la TSM, la clorofila y la turbidez fueron extremas desde por lo menos dos meses antes de cada uno de los blanqueamientos. En San Bernardo, los blanqueamientos de 2005 y 2010 estuvieron asociados con estos picos. En el blanqueamiento del 2005 la TSM, la clorofila y la turbidez fueron altas un mes antes, mientras que en el blanqueamiento del 2010 las variables fueron extremas desde por lo menos

tres meses antes. Por su parte, en la isla de San Andrés las dos primeras componentes principales representaron el 67,4 % y se relacionaron con la turbidez y la clorofila (C1) y la TSM (C2); así, los blanqueamientos de 1998, 2003, 2005 y 2006 coincidieron con una disminución de la turbidez y la clorofila y un aumento de la temperatura (Figura 5). Allí la temperatura fue extrema en todos los blanqueamientos desde por lo menos un mes antes y sólo se identificó un valor extremo de turbidez dos semanas antes del blanqueamiento de 2004.

## Discusión

La oceanografía en los cuatro sectores presenta variaciones espacio-temporales relacionadas con la estacionalidad propia de la cuenca Colombia (Mesa, *et al.*, 1997; Bernal, *et al.*, 2006; Ruiz-Ochoa, *et al.*, 2012; Bayraktarov, *et al.*, 2014). A pesar de que los datos satelitales presentan limitaciones temporales y espaciales en la captura de información, y que algunas de las variables deben ser calibradas si se quiere trabajar con valores absolutos, la información obtenida fue suficiente para identificar las diferencias entre las localidades y las condiciones relativas de las variables ambientales durante los eventos de blanqueamiento.

Por su parte, los datos de blanqueamiento deben analizarse cuidadosamente debido a la combinación de fuentes y a que la monitorización del SIMAC es anual y no siempre coincide con el momento en que ocurre el blanqueamiento (Vega-Sequeda, *et al.*, 2011). Los valores del SIMAC son indicativos de que hubo blanqueamiento en algún momento antes o durante la monitorización, pero estos datos no se pueden correlacionar directamente con los valores contemporáneos de las variables ambientales. Los blanqueamientos encontrados no son necesariamente todos los que han ocurrido en la región, por lo tanto, los intentos de relacionar los eventos de blanqueamiento con causas particulares siguen viéndose obstaculizados por la falta de métodos estandarizados para evaluar el blanqueamiento y de bases de datos continuos y de largo plazo. Por ello se propone incrementar las épocas de monitorización de los blanqueamientos por parte de las instituciones y de la propia comunidad de cada sector, que puede recibir entrenamiento con base en los manuales ofrecidos por programas como el de Reef Check (<http://reefcheckdr.org/>).

En la zona costera del Caribe colombiano la variabilidad anormal de la TSM y de las descargas continentales (agrupación de las variables de caudal, clorofila y  $kd_{490}$ ) han incidido en el blanqueamiento de los corales y en la escala espacial con que se produce. Las diferencias en la intensidad del blanqueamiento de los corales pueden estar asociadas al tiempo de exposición a valores anómalos. Cuando solo la temperatura o el caudal fueron altos, los blanqueamientos tuvieron una intensidad media, pero cuando ambas variables se mantuvieron

altas durante aproximadamente dos meses, se desencadenaron blanqueamientos de intensidad alta. También se identificaron situaciones en las que ambas variables fueron altas, pero su permanencia no excedió los dos meses y los blanqueamientos asociados fueron de intensidad media. Por otra parte, en el sitio insular la única variable asociada fue la temperatura.

En las islas del Rosario y San Bernardo la mayor turbidez (medida indirectamente por medio del  $kd_{490}$ ), se presenta durante los meses de septiembre a noviembre, lo cual expone a los arrecifes a altos niveles de sedimentos y nutrientes que podrían afectar a las especies y producir cambios en la respuesta de los organismos al blanqueamiento (Williams & Bunkley, 1990; Coles & Brown, 2003; West & Salm, 2003; McClanahan, *et al.*, 2007; Devlin, *et al.*, 2012). En estos sectores hay mayor riesgo de que ocurran blanqueamientos por estrés térmico, ya que la temperatura promedio está cercana a la temperatura umbral del blanqueamiento en los corales (29 °C) (Kleypas, *et al.*, 2001), en tanto que la región de menor probabilidad es Santa Marta, ya que la surgencia durante la época seca aumenta la salinidad y disminuye la temperatura, propiciando condiciones favorables para la salud coralina (Gil-Agudelo, 2005; Bayraktarov, *et al.*, 2013).

Los eventos macroclimáticos y los huracanes generan efectos combinados en las variables ambientales, lo que deja a los corales aún más deteriorados y expuestos (Buddemeier, *et al.*, 2004; Maina, *et al.*, 2008). En el Caribe colombiano se han reportado blanqueamientos significativos de los arrecifes coralinos localizados en el área costera durante los eventos de La Niña de 1998-2000 y 2007-2008, fase en la cual se produjo un incremento de la precipitación y los caudales en Colombia (IDEAM, 1998, 2008). No hubo blanqueamientos durante El Niño a pesar de su asociación con aumentos de la temperatura, lo que puede deberse a que la costa Caribe colombiana tiene un rezago de hasta seis meses en la respuesta de la TSM con respecto al Pacífico (Bernal, *et al.*, 2006), o a que esta no se combinó con altos caudales. De otro lado, el blanqueamiento coralino puede dejar al arrecife más expuesto a los efectos negativos de un huracán, como sucedió en el caso del huracán Lenny en 1999, el cual disminuyó la cobertura coralina de bahía Chengue en un 32 % (afectando especialmente a *Acropora palmata*), como consecuencia de los daños físicos por fragmentación, rayones y volcamiento (Garzón-Ferreira & Díaz, 2003).

## Conclusiones

En el Caribe colombiano los corales están expuestos a la presión que ejercen los eventos naturales extremos, los que combinados con los de naturaleza antropogénica, disminuyen la calidad del agua, dejando a los corales más expuestos a blanqueamientos. A pesar de las limitaciones de la información satelital, se estableció que en el sector oceánico la temperatura



juega el papel principal en el blanqueamiento, mientras que en los sitios costeros, las descargas continentales influyen de manera significativa en la intensidad.

Las condiciones ambientales más propicias para eventuales blanqueamientos coralinos se encontraron en las islas del Rosario y San Bernardo; allí se presentaron altas temperaturas, abundante entrada de agua dulce y turbidez, lo cual se puede asociar con el incremento del porcentaje de blanqueamiento desde 2005 hasta la fecha.

Los blanqueamientos a escala de la cuenca se han relacionado especialmente con el aumento en la temperatura superficial del mar, mientras que en los blanqueamientos a escala continental y local, la temperatura y el caudal han sido los principales factores, lo que involucra, igualmente, el tiempo de exposición de los corales a valores anómalos.

### Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, por la financiación del proyecto “Alianza para el estudio del impacto de los eventos extremos sobre los ecosistemas marino costeros insulares”; a Colciencias y a la Universidad Nacional de Colombia, por la financiación del proyecto “Eventos oceánicos extremos en ecosistemas costeros insulares del Pacífico y Caribe colombianos” (proyecto 1118-569-34826), al programa SIMAC del INVEMAR por los datos aportados y al Centro de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe, por la contribución en las bases de datos. Agradecemos, igualmente, al Dr. Emilio Beier del Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (Cicese), La Paz, México, por su asesoría y comentarios.

### Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

### Referencias

- Andrade-Amaya, C. A.** 2012. Oceanografía del archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina. En: *Atlas de la Reserva de Biósfera Seaflower. Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina*. Gómez-López, D. I., C. Segura-Quintero, P. C. Sierra-Correa y J. Garay-Tinoco (eds.). Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives De Andrés” -INVEMAR- y Corporación para el Desarrollo Sostenible del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina -CORALINA-. Serie de Publicaciones Especiales de INVEMAR # 28. Santa Marta, Colombia. 180 p.
- Andrade C. & Barton E.** 2005. The Guajira upwelling system. *Continental Shelf Research* **25**: 1003-1022.
- Bayraktarov, E., Pizarro, V., Eidens, C., Wilke, T., Wild, C.** 2013. Bleaching susceptibility and recovery of Colombian Caribbean corals in response to water current exposure and seasonal upwelling. *PloS one* **8** (11): e80536.
- Bayraktarov, E., & Wild, C.** 2014. Spatiotemporal variability of sedimentary organic matter supply and recycling processes in coral reefs of Tayrona National Natural Park, Colombian Caribbean. *Biogeosciences* **11** (11): 2977-2990.
- Bernal, G., Poveda, G., Roldán, P., Andrade, C.** 2006. Patrones de variabilidad de las temperaturas superficiales del mar en la costa Caribe colombiana. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **30** (115): 195-208.
- Bernal, G., Ruiz-Ochoa, M. & Beier, E.** 2010. Variabilidad estacional e interanual océano-atmósfera en la cuenca Colombia. En: *La investigación en Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Colombia. 30 años de la Biología Marina*. Campos, N.H., Acero, A., Mancera, J.E. (eds.). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Cuadernos del Caribe **14**: 49-72.
- Brown, B. E.** 1997. Coral bleaching: Causes and consequences. *Coral Reefs* **16**: S129-S138.
- Buddemeier, R.W., Kleypas J.A. & Aronson, R.B.** 2004. Coral reefs and global climate change. Potential contributions of climate change to stress on coral reef. Pew Center on Global Climate Change. Virginia, USA. 44 p.
- Coles, S. L., & Brown, B. E.** 2003. Coral bleaching-capacity for acclimatization and adaptation. *Advances in marine biology* **46**: 183-223.
- Devlin, M., Wenger, A., Da Silva, E., Álvarez Romero, J. G., Waterhouse, J., McKenzie, L.** 2012. Extreme weather conditions in the Great Barrier Reef: Drivers of change. Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium, Cairns, QLD, Australia. 5 pag.
- Eakin, C. M., Morgan, J. A., Heron, S. F., Smith, T. B., Liu, G., Álvarez-Filip, L., Quinn, N.** 2010. Caribbean corals in crisis: Record thermal stress, bleaching, and mortality in 2005. *PloS one* **5** (11): e13969.
- Douglas, A. E.** 2003. Coral bleaching –how and why? *Marine Pollution Bulletin* **46** (4): 385-392.
- Gardner, T. A., Cote, I. M., Gill, J. A., Grant, A., Watkinson, A. R.** 2005. Hurricanes and Caribbean coral reefs: Impacts, recovery patterns, and role in long-term decline. *Ecology* **86**: 174-184.
- Garzón-Ferreira, J. & Díaz, J. M.** 2003. *The Caribbean coral reefs of Colombia*. En J. Cortés (ed.). Latin American coral reefs. Elsevier Science B.V., Amsterdam, the Netherlands, pp. 275-301.
- Gil-Agudelo, D.L., Garzón-Ferreira, J., Rodríguez-Ramírez, A., Reyes-Nivia, M. C., Navas-Camacho, R., Venera-Pontón, D. E., Díaz-Pulido, G., Sánchez, J. A.** 2005. *Estado de los arrecifes coralinos en Colombia*. En: Informe del Estado de los Ambientes Marinos y Costeros de Colombia: 2005. Serie de publicaciones periódicas del INVEMAR, No. 8, Santa Marta. 360 pp.
- Glynn, P. W.** 1993. Coral reef bleaching: Ecological perspectives. *Coral Reefs* **12** (1): 1-17.



- Hoegh-Guldberg, O.** 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and fresh water research* **50** (8): 839-866.
- Kleypas, J. A., Buddemeier, R. W. & Guttuso, J.** 2001. The future of coral reefs in an age of global change. *International Journal of Earth Sciences* **90**: 426-437.
- Maina, J., Venus, V., McClanahan, T. R., Ateweberhan, M.** 2008. Modelling susceptibility of coral reefs to environmental stress using remote sensing data and GIS models. *Ecological modelling* **212** (3): 180-199.
- McClanahan, T., Ateweberhan, M., Muhando, C., Maina, J., Mohammed, J.** 2007. Effects of climate and seawater temperature variation on coral bleaching and mortality. *Monografías Ecológicas* **77** (4): 503-525.
- Mumby, P. J., Chisholm, J. R. M., Edwards, A. J., Andrefouet, S., Jaubert, J.** 2001. Cloudy weather may have saved Society Island reef corals during the 1998 ENSO event. *Marine Ecology-Progress Series* **222**: 209-216.
- Navas-Camacho, R., Gil-Agudelo, D.L., Rodríguez-Ramírez, A., Reyes-Nivia, M.C., Garzón-Ferreira, J.** 2010. Coral diseases and bleaching on Colombian Caribbean coral reefs. *Rev. Biol. Trop.* **58** (Suppl. 1): 95-106.
- Ruiz-Ochoa, M., Beier, E., Bernal, G., E.D. Barton.** 2012. Sea surface temperature variability in the Colombian Basin, Caribbean Sea. *Deep Sea Research I* **64**: 43-53.
- Solano, P. O. D.** 1994. Corales, formaciones arrecifales y blanqueamiento de 1987 en Bahía Portete, Guajira, Colombia. *Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta de Betín (Santa Marta)* **23**: 149-163.
- True, J. D.** 2012. Salinity as a structuring force for near shore coral communities. *Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium, Cairns, Australia.*
- Van Woerik, R., De Vantier, L. M. & Glazebrook.** 1995. Effects of Cyclone 'Joy' on nearshore coral communities of the Great Barrier Reef. *Series de Ecología Marina* **128**: 261-270.
- West, J.M. & Salm, R.V.** 2003. Resistance and resilience to coral bleaching: Implications for coral reef conservation and management. *Conservation Biology* **17** (4): 956-967.
- Wiedenmann, J., D'Angelo, C., Smith, E.G., Hunt, A.N., Legiret, F. E., Postle, A.D., Achterberg, E.P.** 2013. Nutrient enrichment can increase the susceptibility of reef corals to bleaching. *Nature Climate Change* **3**: 160-164.
- Wilkinson, C. & Souter, D.** 2008. Status of Caribbean coral reefs after bleaching and hurricanes in 2005. *Global Coral Reef Monitoring Network and Reef and Rainforest Research Centre, Townsville*, 152 pp.
- Williams E. H & Bunkley - Williams L.** 1990. The world-wide coral reef bleaching cycle and related sources of coral mortality. *Atoll Res Bull* **335**: 1-71.
- Zea, S. & Tobón, D.** 1989. Bleaching of reef organisms in the Santa Marta region, Colombia: 1987 Caribbean-wide event. *Trianea (Act. Cient. Técn., INDERENA)* **3**: 37-75.

## Estudio químico y etnobotánico de *Croton leptostachyus*

Daniel Andrés Pardo-Rodríguez<sup>1,2</sup>, Lesly Tatiana Ortíz-Romero<sup>1,2</sup>, Aura Lorena Tacha<sup>1,3</sup>, Elizabeth Murillo-Perea<sup>1,2,\*</sup>,  
Jhon Jairo Mendez-Arteaga<sup>1,2</sup>, Walter Murillo-Arango<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Productos Naturales, GIPRONUT, Departamento de Química,  
Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

<sup>2</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

<sup>3</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

### Resumen

En este estudio se estableció el uso tradicional que la comunidad del municipio de Gigante, Huila, da a la especie vegetal *Croton leptostachyus*, llamada comúnmente “mosquero”. Igualmente, se confrontó la información obtenida con el estudio fitoquímico de la planta. Se seleccionaron diez veredas, situadas entre los 0 y los 1.200 msnm, en las que se aplicó el instrumento estadístico y se recolectó el material vegetal utilizado en la determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios, así como de la bioactividad. Se encontró que *C. leptostachyus* bioacumula fitofenoles, saponinas y carbohidratos en sus estructuras vegetales: las hojas parecen ser centros de acopio, principalmente de compuestos de naturaleza terpénica, saponósidos y flavonoides, en tanto que la raíz es bioacumuladora de iridoideas y alcaloides. El etanol resultó ser el solvente más adecuado para extraer los fitoconstituyentes. Bajo las condiciones aplicadas, los extractos de la planta no evidenciaron actividad frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y la levadura *Candida albicans*; sin embargo, el extracto etanólico del tallo inhibió el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en un 58,6 % en 10.000 mg/l, y el de la raíz en un 97,5 %. Por otra parte, el extracto etanólico del tallo y de la raíz inhibió de manera apreciable el crecimiento radial de *Aspergillus niger*, con concentraciones inhibitorias ( $CI_{50}$ ) de  $11.883 \pm 1.132$  y de  $935 \pm 30$  mg/l, respectivamente, observándose daños incluso en las estructuras fúngicas.

**Palabras claves:** *Croton leptostachyus*, mosquero, etnobotánica, metabolitos secundarios, bioactividad.

### Chemical and ethnobotanical study of *Croton leptostachyus*

#### Abstract

In this study we established the traditional use given by the community of the municipality of Gigante, Huila, Colombia, to the plant species *Croton leptostachyus*, known by the common name of “mosquero”. We also checked the information from the phytochemical study of the plant. Ten villages located between 0 and 1200 MASL were selected to implement the statistical tool, as well as to collect plant material used in the determination of the major groups of secondary metabolites and bioactivity. We found that *C. leptostachyus* bioaccumulates phytophenols, saponins and carbohydrates in the different plant structures: Leaves appear to be collection centers mainly of terpenoid, flavonoid and saponin compounds while the root bioaccumulates iridooids and alkaloids. Ethanol was the most suitable solvent to extract the phytoconstituents. The plant extracts did not show activity against the bacteria species *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella stiphymurium*, *Staphylococcus aureus* and the yeast *Candida albicans*; however, the ethanol extract of the stem inhibited the growth of *Fusarium oxysporum* by 58.6% to 10,000 mg/L, and the root extract by 97.5%. On the other hand, the ethanol extract of the stem and root significantly inhibited the radial growth of *Aspergillus niger*, with inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) of  $11,883 \pm 1,132$  and  $935 \pm 30$  mg/L, respectively, and caused damage even in the fungal structures.

**Key words:** *Croton leptostachyus*, mosquero, ethnobotany, secondary metabolites, bioactivity.

### Introducción

El acervo de conocimientos de las comunidades resulta de gran valor científico a la hora de evaluar el patrimonio cultural de una región, así como para la consolidación del saber científico.

Los estudios etnobotánicos suelen centrarse en los grupos humanos cuya relación con la naturaleza es más directa, tales como los pueblos indígenas y las culturas rurales, cuyo acceso a la medicina tradicional se dificulta por múltiples y diferentes razones (Pardo & Gómez, 2003).

Colombia, especialmente en la zona sur, constituye un ejemplo evidente de ello, pues allí las prácticas tradicionales, costumbres y conocimientos sobre el uso de sus recursos florísticos continúa siendo parte del diario vivir. No obstante, hoy estas actividades se encuentran en riesgo de desaparecer, dado que los cambios socioculturales y el poco interés en las tradiciones que las nuevas generaciones muestran al adoptar hábitos ajenos al lugar, interrumpe la transmisión de los conocimientos, perdiéndose así gran parte de este rico patrimonio legado de nuestros antepasados (**Rodríguez-Echeverry**, 2010).

El uso de plantas medicinales sigue siendo parte importante de las investigaciones en farmacología humana y animal, puesto que estas proporcionan alternativas de bajo costo para el tratamiento de múltiples enfermedades y tienen, además, un gran potencial para el desarrollo sostenible. A ello se añade el creciente interés por el desarrollo de nuevos antisépticos y agentes antimicrobianos para el tratamiento de infecciones (**Weckesser, et al.**, 2007), lo cual ha propiciado la búsqueda de métodos alternativos, tales como la selección de razas resistentes, el uso de vacunas y extractos de plantas, y el control biológico (**Rosado-Aguilar, et al.**, 2008).

Sin embargo, se ve con preocupación que muchos de los mecanismos de control no son eficientes frente a los patógenos, de ahí el aumento de la resistencia de bacterias, parásitos e insectos a los antibióticos e ixodicidas, entre otros, lo que se ha convertido en un problema cada vez más generalizado para la industria de producción animal (**Weckesser, et al.**, 2007). Tradicionalmente, las plantas propias de cada zona geográfica se han empleado con diferentes fines medicinales. El retorno al uso de vegetales como fuente de compuestos bioactivos más seguros para el medio ambiente, los animales y la salud humana, parece inminente. A pesar de esto, del total de la masa natural que ofrece el planeta, muy pocas plantas se han evaluado, por lo que las perspectivas de la investigación en este campo son grandes (**Mansaray**, 2000).

El presente trabajo se desarrolló a partir de la información obtenida sobre la especie *Croton leptostachyus*, planta conocida comúnmente como “mosquero”, la cual es ampliamente utilizada por pequeños productores de la subregión huilense de Colombia en el tratamiento de enfermedades asociadas a bacterias y hongos. Mediante una dinámica de investigación insertada en la comunidad, se logró la identificación de conocimientos tradicionales, que luego se verificaron a través de la determinación *in vitro* de la actividad biológica antibacteriana y antifúngica de *C. leptostachyus*, así como de la cualificación de los metabolitos secundarios.

**\*Correspondencia:**

Elizabeth Murillo Perea, emurillo8@hotmail.com

**Recibido:** 12 de septiembre de 2014

**Aceptado:** 20 de noviembre de 2014

## Materiales y métodos

### Área de estudio

La recolección de la información etnobotánica y de la muestra vegetal, se hizo en el municipio de Gigante, perteneciente a la subregión centro del departamento del Huila, en la región andina colombiana, cuya posición astronómica corresponde a 2° 23' 23" de latitud norte y 75° 33' de longitud oeste (Alcaldía de Gigante, Huila). Según el censo del DANE (2005), el municipio de Gigante cuenta con 28.174 habitantes, aproximadamente, de los cuales 13.857 habitan en la zona rural, distribuidos en cinco corregimientos y 50 veredas. Para la realización de la investigación se contó con la participación activa de la comunidad de diez veredas situadas entre 0 y 1.200 msnm (en las cuales crece la planta según la Red Nacional de Jardines Botánicos, 2008). Las veredas seleccionadas fueron Gran Vía, El Tendido, Vueltas Arriba, La Guandinoso, El Rodeo-Recreo, El Mesón, Río Loro, Matambo, Potrerillo y Pueblo Nuevo. La información etnobotánica se recopiló entre octubre y noviembre de 2011; se entrevistó a un total de 180 personas (89 % correspondió a hombres y 11 % a mujeres), con edades comprendidas entre los 28 y 55 años, que se desempeñaban en labores de campo, de mayordomía, ganadería, administración y en oficios varios en las fincas visitadas. Después de obtener el consentimiento de los entrevistados, se formularon las preguntas diseñadas según los parámetros propuestos por Vålles (1996), utilizando, además, fichas etnobotánicas basadas en el estudio llevado a cabo por Gil, Mejía, Carmona y Rodríguez (2003).

El propósito de la indagación fue recolectar información acerca de las aplicaciones medicinales de la planta bajo estudio, y obtener una explicación detallada que permitiera conocer la parte vegetal utilizada, la forma de tratamiento, la dosificación y la frecuencia de uso.

### Secado y preparación de extractos

El material vegetal se recolectó en la finca Los Cauchos (31 °C, 850 msnm), localizada en el municipio de Gigante; se depositó una muestra en el herbario Toli de la Universidad del Tolima en Ibagué, bajo el número de colección 009586, para su descripción y determinación taxonómica.

El material vegetal se secó en una estufa a una temperatura de 50 °C durante 48 horas y, posteriormente, se trituró y tamizó (2 micras). Las hojas, los tallos y la raíz así tratados se pusieron separadamente en un extractor Soxhlet, utilizando como solventes de extracción agua y etanol (relación 1:10 de material vegetal/solvente) durante 8 horas; los extractos obtenidos se almacenaron a 5 °C en frascos debidamente rotulados. Cada uno de los extractos se estandarizó mediante la determinación de los índices farmacognósticos y la caracterización fitoquímica, observando los estándares de calidad (**Bruneton**, 1991; **WHO**, 1998).

### Tamizaje fitoquímico

Se siguió la metodología recomendada por **Sanabria** (1983) y **Lock** (1994), la cual consiste en una serie de técnicas de separación y purificación, y en ensayos a la gota cuyo objetivo es comprobar los principales núcleos de metabolitos secundarios presentes en los diferentes extractos.

### Actividad antimicrobiana

El efecto de los extractos en las cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium* y *S. aureus* se estableció mediante el método de pozos en agar Mueller Hinton (**Cona**, 2002). Una vez inoculado el medio con los microorganismos ( $1 \times 10^8$  UFC/ml), se dispusieron tres perforaciones en el medio sólido de 0,5 cm cada una, en las cuales se sirvieron 0,25 ml del extracto en concentraciones conocidas (500-10.000 mg/l). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, al término de las cuales se evaluaron los resultados mediante la lectura del diámetro de inhibición del halo del crecimiento (en milímetros) de los microorganismos. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

### Actividad antifúngica

Se aplicó el método de inhibición zonal en agar de papa y dextrosa (*Potato Dextrose Agar*, PDA) (**Torres**, 2005), servido en cajas de Petri previamente esterilizadas. Se probaron diferentes diluciones de los extractos con diferentes concentraciones (500-10.000 mg/l) y, posteriormente, se dispuso un disco (0,5 cm) con los micelios de las especies *F. oxysporum* y *A. niger*. Las cajas de Petri con su contenido se incubaron a 30 °C hasta que la base del hongo cubrió todo el diámetro del recipiente que contenía el control negativo (medio de cultivo), el cual fue la base de comparación en el cálculo del área de inhibición de las muestras. Con esta información se calculó la  $CI_{50}$  (mg/l). El efecto inhibitorio

sobre la levadura *C. albicans* se estableció mediante la misma metodología de pozos descrita para las bacterias, pero en agar Sabouraud a 37 °C.

### Análisis estadístico

Los resultados se analizaron a partir de la media de tres determinaciones para cada nivel de la concentración aplicada en todos los ensayos. El análisis de la varianza permitió comparar la actividad entre concentraciones y entre extractos con un nivel de confianza del 95 %. Para las comparaciones múltiples se utilizó la prueba de la mínima diferencia significativa (DSM).

### Resultados y discusión

Entre octubre y noviembre de 2011 se entrevistó a un total de 180 personas asentadas en diez veredas del municipio de Gigante, Huila, las cuales se seleccionaron de acuerdo al rango de crecimiento de la planta. El número de encuestados según las veredas fue el siguiente: en Potrerillos, 30 personas; en El Tendido, Pueblo Nuevo, Río Loro, Vueltas Arriba y La Guandinosa, 20 personas por vereda; en Gran Vía y Matambo, 15 personas en cada una, y en Rodeo-Recreo y El Mesón, 10 personas por vereda. El 89 % de los encuestados correspondió al género masculino y el 11 %, al femenino; la edad osciló entre los 28 y 55 años. Un 56 % dijo dedicarse a las labores de campo; el 28 % afirmó desempeñarse en la administración de la hacienda; un 5 % se ocupaba en oficios varios, y un 3 % manifestó dedicarse a la ganadería. Los encuestados afirmaron conocer la planta con los nombres de mosquerillo (45 %), escoba (22 %), mosquero (17 %), yerba amarga (8 %), sangregado (7 %) y montesina (1 %).

En la tabla 1 se consignan los usos más comunes dados a la planta, observándose claramente que el vegetal tiene gran aplicación en el tratamiento de enfermedades en animales

**Tabla 1.** Usos dados a *Croton leptostachyus* (mosquero) por la comunidad campesina de Gigante, Huila, Colombia

Vereda	Usos etnobotánicos					
	Alimenticio	Artesanal	En animales	Medicinal	Ornamental	Forraje
Gran Vía	-	-	4	8	3	-
El Tendido	-	-	9	7	2	2
Vueltas Arriba	-	-	5	10	5	-
La Guandinosa	-	-	11	3	5	1
Rodeo-Recreo	-	2	5	1	2	-
Potrerillos	2	-	17	8	2	1
Mesón	-	3	5	1	1	-
Río Loro	-	-	12	6	2	-
Matambo	-	-	5	5	5	-
Pueblo Nuevo	1	-	11	3	5	-
<b>Totales</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>84</b>	<b>52</b>	<b>32</b>	<b>4</b>

**Tabla 2.** Uso medicinal, parte utilizada, modo de empleo, dosificación y frecuencia de uso de *Croton leptostachyus* por parte de la comunidad campesina de Gigante, Huila, Colombia

Enfermedad	%	Parte utilizada	Modo de empleo	Dosificación	Frecuencia de uso
Úlcera gástrica (humanos)	2	Hojas	Infusión	Puñado	Anual
Sarna (bovinos, caninos)	7	Toda la planta	Maceración	Baños (5 l)	Mensual
Miasis (enfermedad parasitaria)	5	Toda la planta	Emplastos	Tanteo	Diario
Cólicos (humanos, caninos, caprinos)	3	Hojas	Infusiones	Puñado	Anual
Diabetes	2	Hojas	Decocción	Puñado	Anual
Repelente de moscas	28	Toda la planta	Maceración	Baños (5 l)	Semanal
Alopecia	2	Hojas	Zumo	Tanteo	Anual
Mezquinos, papilomas	19	Látex - hojas	Frotamiento	Tanteo	Diario
Alergias, salpullido, brotes de piel	8	Toda la planta	Maceración	Baños (500 ml)	Diario
No sabe, no responde	24	---	---	---	---

(46,6 %) y en humanos (28,8 %), aunque también es utilizado como especie ornamental (17,7 %). En la tabla 2 se agrupan los procesos aplicados para alcanzar los beneficios de la planta, la parte del vegetal que se maneja y las dosis o proporción aplicada en cada caso. En concordancia con los datos contenidos en la tabla 1, un mayor porcentaje de personas utilizaba la planta en el control de enfermedades básicas, tanto en animales como en humanos, es decir, como repelente de insectos (28 %), y para el tratamiento de cólicos, úlceras, papilomas, alergias, brotes de piel y otros (32 %).

El proceso de preparación, la dosis y la frecuencia de uso de la planta varían y parecen depender del sujeto que la aplique; no obstante, el agua como solvente y la maceración, seguida de la decocción o la preparación de una infusión suelen ser los mecanismos más frecuentes para extraer los principios activos de la especie vegetal.

De acuerdo a lo manifestado por los encuestados, los conocimientos etnoculturales les habían sido transmitidos oralmente por sus padres (35 %), y en menor proporción, de forma escrita (10 %). Sin embargo, el 55 % declaró que aprendió a utilizar la planta a través de amigos o compañeros de trabajo. El 96 % manifestó que como forma de agradecer el conocimiento adquirido, lo retransmitían a las nuevas generaciones. Dicho conocimiento ha podido persistir hasta hoy a pesar de que muchos jóvenes no muestran un interés real en el uso de prácticas complementarias en veterinaria y en las labores del campo. Se determinó que los saberes sobre la planta estaban fuertemente ligados a los hombres mayores de 25 años, quienes representaban más del 75% de los encuestados.

### Estudio fitoquímico

En la tabla 3 se pueden apreciar los resultados obtenidos mediante el tamizaje fitoquímico de los extractos de hojas, tallos y raíz. Se detectaron carbohidratos, saponinas, terpenos, esteroides y polifenoles en relativa abundancia en tallos,

hojas y raíz, aunque los carbohidratos reductores, el material saponosido y los compuestos de naturaleza terpénica o esteroide se acumularon preferiblemente en las hojas de la planta; el etanol pareció ser el solvente adecuado para extraerlos.

Los tallos y las hojas mostraron ser buenos reservorios de metabolitos de naturaleza fenólica: polifenoles en general, fenilpropanoides y flavonoides, constituyendo estos el tipo de compuestos de mayor variabilidad y abundancia en *C. leptostachyus*. A pesar de que los iridoides se detectaron en todas las partes vegetales analizadas, la mayor cantidad se encontró en la raíz. Los únicos fitocompuestos encontrados en abundancia en la raíz de la planta y bajo las condiciones del ensayo fueron los alcaloides.

Debe reconocerse, sin embargo, que establecer la presencia (no así la ausencia) de un determinado núcleo, tiene dificultades debido a que las pruebas con reactivos cromógenos pueden no ser lo suficientemente sensibles. La variación entre órganos, edad del vegetal, temporada de cosecha, ubicación geográfica y en la polaridad del solvente extractor, podría constituir una restricción adicional.

Pese a que los carbohidratos no pertenecen al grupo de metabolitos secundarios, su detección se justifica si se tiene en cuenta que desempeñan un papel ecológico importante en la relación planta-animal y porque, además, muchos de ellos se disponen en forma de glicósidos en el citoplasma (fenoles, cardiotónicos, saponinas y antocianinas, entre otros). Cuando los constituyentes activos de la planta se encuentran en esta forma, la pérdida de la fracción glicosídica afecta la bioactividad del producto vegetal (Bruneton, 1991).

Por otra parte, se han reportado los efectos benéficos de los compuestos de naturaleza fenólica (antocianinas, flavonoles, fenilpropanoides, ácidos fenólicos, etc.) en algunos padecimientos degenerativos, por ejemplo, en las enfermedades cardiovasculares (Shanmuganayagam, et al., 2007; Falchi,



**Tabla 3.** Tamizaje fitoquímico de los diferentes órganos de la planta

Metabolitos	Reactivo cromógeno	Etanol			Agua
		Tallo	Hoja	Raíz	Hoja
Carbohidratos	Molisch	+	+	+	+++
	Benedict	++	+++	+	+++
Saponinas	Rosenthaler	+	+++	++	+
Polifenoles	Folin-Ciocalteu (FC)	++	++	+	++
Taninos	Cloruro férrico	+	++	+	+++
	Gelatina-sal	+	+	ND	ND
Flavonoides	Shinoda	+	++	ND	ND
Fenilpropanos	Arnou	+	+	-	++
Antraquinonas	Bornträger	ND	ND	ND	ND
Anillo esteroidal	Lieberman-Burchard	ND	++	++	ND
Terpenos	Salkowski	+	+++	+	+
Iridoides	Vainillina metanólica	+	++	+++	+
Alcaloides	Tanred	ND	ND	++	ND
	Dragendorff	ND	ND	++	ND
	Mayer	ND	ND	++	ND
	Ehrlich	ND	ND	++	ND
	Valser	ND	ND	++	ND
Cumarinas	Fluorescencia	ND	ND	ND	ND
	Ehrlich	ND	ND	ND	ND
Lactonas terpénicas	Hidroxamato férrico	ND	ND	ND	ND
Desoxiazúcares	Keller- Kiliani	ND	ND	ND	ND

ND: no detectado por el método; +: poca cantidad; ++: cantidad media; +++: abundante cantidad

*et al.*, 2006), en ciertos tipos de cáncer (God, *et al.*, 2007; Jung, *et al.*, 2006), y en la reducción del estrés oxidativo del plasma y del envejecimiento (En-Qin, *et al.*, 2010). La bioactividad de estos metabolitos va más allá de la acción medicinal, pues también se ha detectado su actividad antimicrobial y protectora de la oxidación de alimentos (Rodríguez, *et al.*, 2007). Lo anterior daría soporte, al menos parcialmente, a algunas de las aplicaciones etnofarmacológicas empleadas por la comunidad entrevistada (alergias, brotes de piel, sarna, diabetes, etc.).

Las pruebas para la detección de saponinas y del núcleo esteroidal y terpénico coincidieron en forma notoria en las hojas de la planta (tabla 3); podría pensarse que *C. leptostachyus* posee saponósidos tanto de naturaleza terpénica (pentacíclicas o tetracíclicas) como esteroidal (espirostánicas), lo que sustentaría, en parte, algunos de los usos reportados por los habitantes de Gigante, consignados en la tabla 2, y que parecen coincidir en ciertos casos con la funcionalidad anteriormente

descrita. Sin embargo, su aparición, principalmente en las hojas, también podría interpretarse como que hacen parte principal del sistema de defensa de la planta contra patógenos y herbívoros (Cushniea, *et al.*, 2014; Bednarek, 2012).

Una discusión especial merecen los compuestos de naturaleza alcaloide detectados solamente en la raíz del mosquero. Este tipo de compuestos conforma uno de los grupos de metabolitos secundarios más diversos encontrados en los organismos vivos. Se ha encontrado que la gran diversidad de estructuras se corresponde con igual variabilidad de bioactividades (Arango, 2008). En la medicina se han empleado una gran cantidad de alcaloides, muchos de los cuales siguen siendo fármacos de importancia (Cholich, *et al.*, 2005). La presencia de estos constituyentes en la raíz del mosquero podría deberse a que actúan como una herramienta de defensa de la planta en su competencia por nutrientes en suelos nutricionalmente pobres o con abundancia de patógenos (Marcano & Hasegawa, 2002).

En cuanto a los iridoides, considerados como monoterpenos irregulares, son parte del esqueleto de los alcaloides indólicos (Marcano & Hasegawa, 2002). El mosquero los sintetiza en tallos y hojas, pero la raíz es el receptáculo escogido por el vegetal para depositarlos en cantidad, coincidiendo su abundancia y presencia con la de los alcaloides. Cabe mencionar que existe una serie de plantas empleadas por sus propiedades farmacológicas precisamente porque algunos de sus principios activos son de naturaleza iridoídica, entre las que se destacan la valeriana, la genciana y el noni, entre otros (Palacios, 2013). Por otra parte, los iridoides son precursores para la formación de alcaloides indolterpénicos, tales como la yohimbina, la ajmalicina, la strictosidina, la vindolina, la catarantina, la ibogaína, la cinconamina, la quinidina y la brucina (Zhang, et al., 2014), algunas de las cuales podrían estar presentes en la raíz de la planta.

Con el ánimo de verificar esta observación, se determinó realizar una serie de pruebas cualitativas aplicando reactivos cromógenos que permitieran evidenciar el núcleo de los alcaloides predominantes en el mosquero. La tabla 4 muestra los reactivos aplicados, las coloraciones observadas y las reportadas en la literatura especializada en el tema (Kuklinski, 2000; Domínguez, 1973). Los resultados que se muestran en la tabla justifican la profundización en el discernimiento fitoquímico del mosquero, orientado fundamentalmente al conocimiento de la naturaleza química de los alcaloides que posee la planta, principalmente a nivel de la raíz.

Cabe mencionar que un gran número de medicamentos obtenido de plantas, principalmente superiores, contienen alcaloides; entre estos son de particular importancia los de núcleo indólico, los cuales son, tal vez, los que han alcanzado los niveles más altos de reconocimiento farmacológico en cuanto al material alcaloide. De gran relevancia son los de tipo bisindólico, como la vinblastina, utilizada en el tratamiento del mal de Hodgkin, y la vincristina, empleada en el tratamiento de la leucemia (Sagui, et al., 2009).

### Actividad antibacteriana

Se utilizaron cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. stiphymurium*, *S. aureus*, para probar la bioactividad de *C. leptostachyus*; no se evidenció ningún efecto sobre estos organismos con los cuatro extractos (etanólico de hojas, raíz y tallo, y acuoso de hojas) en ninguna de las concentraciones ensayadas.

### Actividad antifúngica

Inicialmente los extractos se probaron mediante un ensayo preliminar en el que todos se prepararon con una concentración de 10.000 mg/l; los productos vegetales que mostraron la mayor actividad se seleccionaron para las pruebas más rigurosas. En ese orden de ideas, se probó la actividad de los extractos etanólicos de raíz y tallo, probados en concentraciones entre 500 y 10.000 mg/l. El extracto etanólico del tallo inhibió el crecimiento de *F. oxysporum* en un 58,6 % en 10.000 mg/l, con una  $CI_{50}$  de  $9.726 \pm 130$  mg/l, en tanto que el de raíz hizo lo propio en un 97,5 % en 10.000 mg/l, alcanzando una  $CI_{50}$  de  $1.133 \pm 56,8$  mg/l. El ketoconazol, utilizado como control positivo, inhibió en un 100 % las cepas seleccionadas en 2.000 mg/l.

En *A. niger* los extractos etanólicos provenientes del tallo y la raíz de *C. leptostachyus* alcanzaron una  $CI_{50}$  de  $11.883 \pm 1.132$  y de  $935 \pm 30$  mg/l, respectivamente, provocando daño estructural en la espora. El ketoconazol preparado en 2.000 mg/l inhibió este mismo organismo en un 98 %.

Son pocos los investigadores que han incluido en sus trabajos estudios sobre *C. leptostachyus*; en uno de ellos, Garavito, et al., (2006), llevaron a cabo pruebas con diez especies vegetales de Colombia, entre ellas *C. leptostachyus*, con el fin de determinar su actividad antimalárica. Pese a que el extracto etanólico de la planta *in vitro* fue activo contra *Plasmodium falciparum*, los autores sugirieron determinar la participación de los constituyentes bioactivos en la toxicidad manifestada por la planta.

**Tabla 4.** Determinación de alcaloides

Reactivo cromógeno	Observación	Valoración del resultado	Interpretación
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> +K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Precipitado verde	+++	El curare da color rojo a violeta; la yohimbina muestra precipitado azul, violeta o verde.
Prueba de Fröhde	Coloración azul	+++	La yohimbina produce color azul y el curare da coloración marrón.
Prueba de Mandelin	Coloraciones azules	+++	El color azul violáceo es positivo para estricnina; el color azul brillante es positivo para yohimbina, y el color violeta es positivo para curare.
FeCl <sub>3</sub> al 1 %	Coloración rojo-anaranjado	+++	La morfina da azul; la heroína no desarrolla color, y la yohimbina presenta coloración verde.
Prueba de Erhlich	Coloración azul	++	La presencia de compuestos con núcleo indólico se revela si se obtienen coloraciones entre azul y violeta en los 30 minutos siguientes del ensayo.
Prueba de Mecke	Precipitado verde	+++	La estricnina no da color; la yohimbina da coloración azul verdoso, y el curare da marrón.

Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten afirmar que la funcionalidad antibacteriana y antifúngica mostrada por la planta estaría asociada al conjunto de metabolitos encontrados, fundamentalmente a los de naturaleza alcaloide.

Cabe anotar que los alcaloides poseen un abanico amplio de actividades farmacológicas de gran interés terapéutico, y se distinguen porque dicha actividad es significativa en dosis bajas (Evans, 2000), por lo que no resulta extraño asociar la bioactividad manifestada por el mosquero con la funcionalidad biológica de este tipo de fitocompuestos, aunque sin menospreciar la participación de las saponinas, de naturaleza terpénica o esterooidal, y de los polifenoles, muchos de los cuales estarían en su forma glicosidada. En este contexto, es importante mencionar el aumento de patógenos resistentes a fármacos de importancia clínica y agrícola, lo que ha suscitado el interés de la comunidad farmacéutica y científica por investigar las plantas como nuevas fuentes de antimicrobianos.

## Conclusiones

Esta primera aproximación a la etnobotánica del mosquero reveló la existencia de un considerable acervo cultural de tratamientos etnofarmacológicos y de recursos vegetales locales para el tratamiento de enfermedades que afectan a humanos y animales. Estos conocimientos resultan de gran utilidad de cara a nuevas tendencias productivas como la ganadería ecológica. Todos los resultados obtenidos justifican, al menos en parte, el uso etnofarmacológico de la planta por parte de la comunidad campesina de Gigante, Huila, e incentivan el interés por continuar estudiándola para ahondar en el conocimiento de esta especie vegetal, por ejemplo, para verificar el grado de toxicidad de la especie y los compuestos que la producen. La presencia de fitofenoles, saponinas triterpénicas o esteroidales, así como el contenido de material alcaloide de tipo indólico hacen prever un futuro promisorio para *C. leptostachyus*.

## Agradecimientos

Al Departamento de Química, por el apoyo logístico, y a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad del Tolima, por el apoyo académico.

## Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que haya podido influir de alguna manera en la transparencia u objetividad del proceso de revisión por pares y de publicación.

## Bibliografía

**Alcaldía de Gigante – Huila.** Sitio oficial de Gigante en Huila, Colombia. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2013.

Disponible en: [http://www.gigante-huila.gov.co/informacion\\_general.shtmL](http://www.gigante-huila.gov.co/informacion_general.shtmL).

- Arango Acosta, G. J.** 2008. Alcaloides y compuestos nitrogenados. Facultad de Química Farmacéutica. UDEA.
- Bednarek, P.** 2012. Chemical warfare or modulators of defense responses – The function of secondary metabolites in plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology* **15**: 407–414.
- Bruneton, J.** 1991. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 594 p.
- Cholich, L. A., Ríos, E. J., Nelly L., Acosta, O. C.** 2005. Extracción e identificación de los alcaloides de la *Ipomoea fistulosa*. Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones científicas y tecnológicas. **13**: 1-3. Fecha de consulta: 10 de junio de 2014. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/4-Veterinaria/V-013.pdf>.
- Cona, E.** 2002. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Rev. Chil Infect.* **19** (2); S77-81.
- Cushnie, T., Cushnie, B. & Lamb, A.** 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **44**: 377-386. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- DANE.** 2005. Boletín Censo General 2005, Gigante-Huila. Fecha de consulta: 13 de noviembre de 2013. Disponible en: [https://www.dane.gov.co/files/censo2005/PERFIL\\_PDF\\_CG2005/41306T7T000.PDF](https://www.dane.gov.co/files/censo2005/PERFIL_PDF_CG2005/41306T7T000.PDF).
- Domínguez, X. A.** 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Ed. Limusa. México. 281 p.
- En-Qin, X., Gui-Fang, D., Ya-Jun, G., Hua-Bin, L.** 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* **11**: 622-646.
- Evans, W.C.** 2002. Trease and Evans' Pharmacognosy, 15th ed. Saunders, Edinburgh.
- Falchi, M., Bertelli, A., Scalzo, R.L., Morassut, M., Morelli, R., Das, S., Cui JH, Das DK.** 2006. Comparison of cardioprotective abilities between the flesh and skin of grapes. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 6613–6622.
- Garavito, G., Rincón, J., Arteaga, L., Hata, Y., Bourdy, G., Giménez, A., Pinzón, R., Deharo, E.** 2006. Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.* **107**: 460–462.
- Gil, R., Mejía, R., Carmona, J., Rodríguez, M.** 2003. Estudio etnobotánico de algunas plantas expandidas en los herbolarios de Mérida, Ejido y Tabay (Estado Mérida–Venezuela). *Revista de la Facultad de Farmacia.* **45** (1).
- God, J.M., Tate, P & Larcom, L.L.** 2007. Anticancer effects of four varieties of muscadine grape. *J. Med. Food.* **10**: 54–59.
- Jung, K., Wallig, M. & Singletary, K.** 2006. Purple grape juice inhibits 7,12-dimethylbenz- [a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Lett.* **233**: 279–288.

- Kuklinski, C.** 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ed. Omega. Barcelona, p. 528.
- Lock de Ugaz, O.** 1994. Investigación fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda Edición. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 300 pp.
- Mansaray, M.** 2000. Herbal remedies: Food or medicine? *Chemistry and Industry*. **20**: 677-678.
- Marcano, D. & Hasegawa, M.** 2002. Fitoquímica orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela. 588 pp.
- Palacios, M.** 2013. Texto digital de farmacognosia y fitoquímica. Universidad Católica Los Angeles de Chimbote. Fecha de consulta: 10 de junio de 2014. Disponible en: [http://www.academia.edu/5271729/UNIVERSIDAD\\_CATOLICA\\_LOS\\_ANGELES\\_DE\\_CHIMBOTE\\_FACULTAD\\_DE\\_CIENCIAS\\_DE\\_LA\\_SALUD\\_ESCUELA\\_PROFESIONAL\\_DE\\_FARMACIA\\_Y\\_BIOQUIMICA\\_TEXTO\\_DIGITAL\\_DE\\_FARMACOGNOSIA\\_Y\\_FITOQUIMICA](http://www.academia.edu/5271729/UNIVERSIDAD_CATOLICA_LOS_ANGELES_DE_CHIMBOTE_FACULTAD_DE_CIENCIAS_DE_LA_SALUD_ESCUELA_PROFESIONAL_DE_FARMACIA_Y_BIOQUIMICA_TEXTO_DIGITAL_DE_FARMACOGNOSIA_Y_FITOQUIMICA).
- Pardo, M. & Gómez, E.** 2003. Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. **60** (1).
- Red Nacional de Jardines Botánicos.** 2008. Fichas de especies de plantas útiles de los jardines botánicos de Colombia Kunth. Fecha de consulta: 3 de noviembre de 2013. Disponible en: <http://www.biodiversidad.co/ficha/id/1801>.
- Rodríguez-Echeverri, J.J.** 2010. Uso y manejo tradicional de plantas medicinales y mágicas en el valle de Sibundoy, Alto Putumayo, y su relación con procesos locales de construcción ambiental. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **34** (132): 309-326.
- Rodríguez-Vaquero, M.J., Alberto, M.R. & Manca-de-Nadra, M.C.** 2007. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*. **18**: 93-101.
- Rosado-Aguilar, J.A., Aguilar-Caballero, A.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R., García-Vázquez, Z., Méndez-González, M., Cáceres-Farfán M., Dorantes-Euán, A.** 2008. Actividad ixodida de extractos crudos de *Diospyros anisandra* contra larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. **8** (3): 297-301.
- Sagui, F., Chirivi, C., Fontana, G., Nicotra, S., Passarella, D., Riva, S., Danieli, B.** 2009. Laccase-catalyzed coupling of catharanthine and vindoline: An efficient approach to the bisindole alkaloid anhydrovinblastine. *Tetrahedron*. **65**: 312-317.
- Sanabria, G. A.** 1983. Análisis fitoquímico preliminar: metodología y su aplicación en la evaluación de cuarenta plantas de la familia Compositae. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de Farmacia. Santafé de Bogotá. 77 p.
- Shanmuganayagam, D., Warner, T.F., Krueger, C.G., Reed, J.D., Folts, J.D.** 2007. Concord grape juice attenuates platelet aggregation, serum cholesterol and development of atheroma in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis*. **190**: 135-142.
- Torres, N.** 2005. Métodos para la detección de resistencia a los antimicóticos. *Infectio*. **9** (4).
- Válles, J.** 1996. Los nombres populares de las plantas: método y objetivo en etnobotánica. *Monograf. Jard. Bot. Córdoba*. **3**: 7-14.
- Weckesser, K., Engel, B., Simon-Haarhaus, A., Wittmer, K., Pelz, C.M.** 2007. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*. **14**: 508-516.
- World Health Organization.** 1998. Quality control methods for medicinal plant material. Ed. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 115 p.
- Zang, D., Chen, J., Zang, L., Song, Q., Gao, K.** 2014. Bioactive alkaloids from *Palhinhaea cernua*. *Phytochemistry letters*. **10**: 76-79.

# Catálogo de polen en mieles de *Apis mellifera* provenientes de zonas cafeteras en la Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia

Paula María Montoya-Pfeiffer<sup>1, 2, \*</sup>, Daniela León-Bonilla<sup>1</sup>, Guiomar Nates-Parra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones en Abejas LABUN, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia

<sup>2</sup>Laboratorio de Abelhas, Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo

## Resumen

Se presentan las descripciones morfológicas y fotografías de los granos de polen de 122 especies distribuidas en 54 familias, correspondientes a morfotipos encontrados en miel de *Apis mellifera* producida en la Sierra Nevada de Santa Marta. Se incluye información adicional sobre nombres comunes, presencia de nectarios, rangos de abundancia en la miel y observaciones ecológicas complementarias. Las familias que aportan el mayor número de especies son las siguientes: Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Poaceae y Sapindaceae. Entre las especies nectaríferas predominantes en la miel se encuentran *Austroeupatorium inulifolium*, *Critonia morifolia*, *Bursera simaruba*, *Croton hirtus* (*Croton* spp.), *Gliricidia sepium*, *Inga oerstediana*, *Adenaria floribunda*, *Heliocarpus americanus*, *Muntingia calabura*, *Rubus urticifolius* (*Rubus* spp.), *Coffea arabica* y *Vitis tiliifolia*. Entre las especies no productoras de néctar aparecen como predominantes *Astronium graveolens*, *Carludovica palmata*, *Begonia guaduensis* (*Begonia* spp.), *Trema micrantha*, *Hediosmum racemosum*, *Doliocarpus dentatus*, *Mimosa albida*, *Mimosa pudica*, *Poulsenia armata* (*Moraceae* spp.), *Piper aduncum* (*Piper* spp.) y *Cecropia peltata*. Este trabajo se realizó con el fin de aportar una herramienta para los trabajos en melisopalinología que se vienen desarrollando en las regiones cafeteras de la Sierra Nevada de Santa Marta y otras zonas de Colombia.

**Palabras clave:** abejas, apicultura, melisopalinología, néctar, polen

**Pollen catalog for *Apis mellifera* honey from coffee regions in the Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia**

## Abstract

We present pollen grain morphological descriptions and photographs of 122 species distributed in 54 families, corresponding to morfotypes found in *Apis mellifera* honey produced in the Sierra Nevada de Santa Marta. Additional information about common names, presence of nectaries, abundance range and complementary ecological observations is included. The families with the most number of species were Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Poaceae and Sapindaceae. Preponderant nectar species were *Austroeupatorium inulifolium*, *Critonia morifolia*, *Bursera simaruba*, *Croton hirtus* (*Croton* spp.), *Gliricidia sepium*, *Inga oerstediana*, *Adenaria floribunda*, *Heliocarpus americanus*, *Muntingia calabura*, *Rubus urticifolius* (*Rubus* spp.), *Coffea arabica* and *Vitis tiliifolia*. Major nectarless species were *Astronium graveolens*, *Carludovica palmata*, *Begonia guaduensis* (*Begonia* spp.), *Trema micrantha*, *Hediosmum racemosum*, *Doliocarpus dentatus*, *Mimosa albida*, *Mimosa pudica*, *Poulsenia armata* (*Moraceae* spp.), *Piper aduncum* (*Piper* spp.) and *Cecropia peltata*. This catalog was done with the aim of providing a work tool for melisopalinological analysis undertaken in the Sierra Nevada de Santa Marta and other coffee-growing regions in Colombia.

**Key words:** Beekeeping, bees, melisopalinology, nectar, pollen.

## Introducción

Cuando las abejas van a las flores en busca de alimento, algunos granos de polen quedan adheridos a su cuerpo o permanecen inmersos en el néctar que recogen, de manera que los granos son transportados hasta las colmenas y luego pueden encontrarse en la miel cosechada y comercializada por los apicultores. El estudio de estos granos de polen, o

melisopalinología, constituye una herramienta metodológica fundamental para reconocer el origen botánico de la miel y diferenciarla según las características físicoquímicas,

### \*Correspondencia:

Paula María Montoya Pfeiffer, pmmontoyap@unal.edu.co

**Recibido:** 25 de junio de 2014

**Aceptado:** 16 de octubre de 2014



microbiológicas y sensoriales que obedecen a dicho origen (Crane, 1985). Además, en la miel se encuentran granos de polen que sirven a las abejas como fuente de proteína y que, aunque no proveen información sobre el origen botánico, sirven de indicadores del origen geográfico, el cual también representa un parámetro de diferenciación de la miel (Von der Ohe, *et al.*, 2004).

En este sentido, los catálogos polínicos facilitan en gran medida el proceso de identificación de las especies vegetales que dan origen a la miel. Si bien ya existen varios catálogos para las especies colombianas (por ejemplo los elaborados por Hooghiemstra, 1984, Jiménez & Rangel, 1997, Velásquez, 1999, Rangel & Bogotá, 2001), todavía no se ha realizado un trabajo completo enfocado en plantas melíferas que incluya tanto fotografías como descripciones morfológicas (Girón-Vanderhuck, 1995 y Giraldo, *et al.*, 2011, presentan únicamente fotografías). Con este trabajo se buscó aportar un documento de referencia para los análisis melisopalinológicos que se vienen desarrollando en las zonas cafeteras de la Sierra Nevada de Santa Marta (León-Bonilla, en preparación), además de complementar los trabajos realizados por Nates-Parra, *et al.*, (2013) y Giraldo, *et al.*, (2011). Se presenta, igualmente, información complementaria sobre nombres comunes, rangos de abundancia en la miel, presencia de nectarios y otras observaciones ecológicas que servirán para facilitar la determinación del origen botánico y geográfico de la miel de estas regiones.

### Metodología

El área de estudio comprende la vertiente occidental de la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM), entre los 500 y los 2.000 msnm, aproximadamente; la temperatura fluctúa entre 12 y 24 °C y la precipitación es de 500 a 7.000 mm<sup>3</sup>. La vegetación natural se clasifica en siete zonas de vida según Holdridge: bosque muy seco tropical (bms-T), bosque seco tropical (bs-T), bosque húmedo tropical (bh-T), bosque húmedo subtropical (bh-ST), bosque húmedo montano bajo (bh-MB), bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB) y bosque muy húmedo montano (bmh-M) (Espinal & Montenegro, 1963). Se estima que la cobertura vegetal original se ha reducido en un 70 a 80 % como resultado del desarrollo de cultivos de café principalmente, así como de la ganadería y otros cultivos menores como la caña de azúcar, el cacao y el plátano, entre otros (Anónimo, 2003).

Para realizar este catálogo se seleccionaron 122 especies que fueron identificadas a partir de los análisis melisopalinológicos llevados a cabo por Nates-Parra, *et al.*, (2013) y León-Bonilla (en preparación). Para el caso de los morfotipos identificados únicamente a nivel de familia o género, se escogió una especie que estuviera bien representada en la región con base en listados de plantas comunes de la SNSM (Anónimo, 2013) y ejemplares depositados en el Herbario Nacional Colombiano.

Se describieron los granos de polen a partir de ejemplares de referencia acetolizados (Erdtman, 1943) y depositados en las colecciones palinológicas del Laboratorio de Investigaciones en Abejas del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional (LABUN) y del Instituto de Ciencias Naturales (ICN), utilizando un microscopio óptico Leica DM500 con 1.000 aumentos, contraste de fases y reglilla micrométrica ocular. Se hicieron mediciones en diez granos de cada especie seleccionados aleatoriamente para calcular los rangos de diámetro polar (DP) y diámetro ecuatorial (DE), el grosor de exina, las dimensiones de colpos, poros, ornamentos de la exina y apocolpio. Se empleó la terminología del glosario elaborado por Punt, *et al.*, (2007), con las traducciones al español propuestas por Velásquez (1999) y las categorías de forma (basadas en la proporción DP/DE) y ámbito definidas por Erdtman (1943). Las fotografías se tomaron a 100x con una cámara Leica ICC50 HD y el programa Leica Application Suite LAS EZ versión 2.1.0.

Se recopiló información adicional de las especies relativa a los nombres comunes (Bernal, *et al.*, 2013; Anónimo, 2013), las observaciones ecológicas (tomadas de ejemplares depositados en el Herbario Nacional Colombiano), la presencia o ausencia de nectarios (revisados en su mayoría por Nicolson, *et al.*, 2007) y los rangos de abundancia en las muestras de miel: dominante (D) >45 %, secundario (S) 15 a 45 %, importante aislado (IA) 3-15 %, aislado (A) <3 % (Louveaux, *et al.*, 1970, Nates-Parra, *et al.*, 2013, León-Bonilla, en preparación).

### Resultados

A continuación se presentan las descripciones de 122 especies agrupadas en 54 familias, entre las cuales 12 (4 familias) son de la clase Liliopsida y 110 (50 familias) son de la Magnoliopsida. Las abreviaturas utilizadas en las descripciones son las siguientes: DE = distancia ecuatorial, DP = distancia polar y M.E. = muestra estudiada. Las especies que aparecen como polen dominante y secundario en la miel de la Sierra Nevada de Santa Marta (véase tabla 1) se presentan en las figuras 1 a 5, y las especies aisladas e importantes-aisladas aparecen como material suplementario en las figuras 1S a 16S.

### CLASE LILIOPSIDA O MONOCOTILEDONEAS

#### ARECACEAE

*Bactris gasipaes* var. *chichagui* (H.Karst.) A.J.Hend. (Figura 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/61/112>; No. 1)

Granos dimórficos con simetría radial o bilateral, heteropolares, monocolpados o tricotomocolpados, oblatos a esferoidales, ámbito elíptico o triangular convexo; DE: 40-47, DP: 26-45 μm. Exina: 1,5-2 μm de grosor, columelada y fosulada. M.E.: ICN 3135.

**Tabla 1.** Listado de las especies descritas con información sobre nombres comunes, rango de abundancia relativa (AR) en la muestras de miel y observaciones ecológicas

Familia	Nombre científico	Nombres comunes	AR	Observaciones ecológicas
Arecaceae	<i>Bactris gasipaes</i> var. <i>chichagu</i> *	Macana	A-IA <sup>1</sup>	Palma de bosques húmedos, entre 250 y 1.500 m
	<i>Dictyocaryum lamarekianum</i> <sup>?</sup>	Tagua, mapora	A-D	Palma de bosques húmedos, entre 800 y 1.000 m
	<i>Euterpe precatoria</i>	Maquenque	A	Palma de bosques húmedos, entre 5 y 2.000 m
	<i>Geonoma interrupta</i>	cortadera, cola de gallo	A <sup>1</sup>	Palma de bosques primarios y secundarios y sabanas, entre 0 y 1.800 m
Cyclanthaceae	<i>Carludovica palmata</i> *	Iraca, jiraca	A-D	Arbusto frecuente en bosques húmedos primarios o secundarios, entre 70 y 1.420 m
Cyperaceae	<i>Rhynchospora barbata</i> *	Pasto estrella	A-IA <sup>1</sup>	Hierba frecuente en áreas abiertas, entre 80 y 1.000 m
	<i>Scleria mitis</i> *	Cortadera	A-IA <sup>1</sup>	Hierba frecuente en márgenes de ríos y ciénagas y áreas abiertas, entre 20 y 1.000 m
Poaceae	<i>Brachiaria brizantha</i> *	Brachiaria	A-IA <sup>2</sup>	Pasto introducido y cultivado entre 0-2.000 m
	<i>Holcus lanatus</i> *	Pasto poa, pasto lanudo	A-IA <sup>2</sup>	Pasto introducido, frecuente entre 0-4.000 m
	<i>Melinis minutiflora</i> *	Pasto gordura, yaraguá	A-IA <sup>2</sup>	Pasto introducido, frecuente entre 0-3.000 m
	<i>Pennisetum purpureum</i> *	Pasto elefante	A-IA <sup>2</sup>	Pasto introducido, común en áreas abiertas entre 0-2.200 m
	<i>Zea mays</i> *	Maíz	A-IA <sup>2</sup>	Planta cultivada en todas las regiones entre 200-2.600 m
Actinidaceae	<i>Saurauia yasicae</i> *		A-IA <sup>1</sup>	Árbol de bosques primarios, secundarios o de galería, común en el borde de caminos y cultivos de café, entre 300-1.300 m
Amaranthaceae	<i>Iresine diffusa</i> *	Patepava	A	Hierba frecuente en bosques, matorrales y áreas disturbadas, entre 0-3.500 m
Anacardiaceae	<i>Anacardium excelsum</i>	Caracolí, mitabi	A-S	Árbol de bosques secos y húmedos tropicales, entre 0-1.400 m
	<i>Astronium graveolens</i> *	Gusanero, quebracho	A-D	Árbol de bosques secos y áreas intervenidas, entre 10-700 m
	<i>Mangifera indica</i>	Mango	A	Árbol introducido y cultivado entre 0-1.800 m
Aquifoliaceae	<i>Ilex kunthiana</i>	Palo mulato	A-IA <sup>1</sup>	Árbol de ecosistemas de alta montaña, entre 2.500-3.950 m
Araliaceae	<i>Oreopanax capitatus</i>	Mano de oso, tinajero	A-IA <sup>2</sup>	Árbol común en bordes de bosque, remanentes de vegetación y bordes de camino, entre 600-2.780 m
Asteraceae	<i>Acmella ciliata</i>	Botoncillo, yuyo, guaca	A-IA <sup>2</sup>	Hierba frecuente en cultivos y bordes de caminos, entre 0-2.600 m
	<i>Austro eupatorium inulifolium</i>	Salvia	A-D	Arbusto común en zonas perturbadas o en recuperación, entre 1.200-2.200 m
	<i>Baccharis trinervis</i>	Chilco, marucha	A-IA <sup>1</sup>	Arbusto frecuente en áreas abiertas, entre 0-3.000 m
	<i>Bidens pilosa</i>	Pacunga	A-IA <sup>2</sup>	Hierba común en áreas intervenidas, cultivos y bordes de caminos, entre 0-3.100 m
	<i>Clibadium surinamense</i>	Salvia amarga	A <sup>2</sup>	Arbusto común en áreas perturbadas, entre 0-2.800 m
	<i>Critonia morifolia</i>		A-D	Arbusto de bosques húmedos y secos, entre 0-2.200 m
	<i>Eirmocephala brachiata</i>	Tabaquillo, mano de tigre	A-S	Arbusto común cerca de cursos de agua, entre 100-2.200 m
	<i>Emilia sonchifolia</i>	Borlita, clavelito	A-IA	Hierba introducida, común en bordes de camino y cultivos, entre 0-2.000 m
	<i>Hypochaeris radicata</i>	Chicoria, diente de león	A-IA	Hierba introducida común en pastizales, cultivos y bordes de camino, entre 40-4.500 m
	<i>Lepidaploa canescens</i>	Aliso, varejón	A-IA <sup>2</sup>	Arbusto común en zonas perturbadas, entre 400-1.700 m
	<i>Mikania micrantha</i>	Guaco blanco	A-IA <sup>2</sup>	Bejuco común en áreas abiertas y bordes de bosques intervenidos, entre 0-2.900 m
	<i>Neurolaena lobata</i>	Contra gavilana	A-IA <sup>2</sup>	Arbusto común en áreas abiertas de zonas cálidas y húmedas, entre 0-2.000 m
	<i>Tithonia diversifolia</i>	Botón de oro	A-IA <sup>2</sup>	Arbusto común en áreas intervenidas, entre 40-2.000 m
	<i>Vernonanthura patens</i>	Indioviejo, balsilla	A-S <sup>1</sup>	Arbusto común en zonas intervenidas, matorrales y bordes de camino, entre 0-2.100 m
	Balsaminaceae	<i>Impatiens walleriana</i>	Besitos	A-IA
Begoniaceae	<i>Begonia guaduensis</i> *	Novio de monte	A-D <sup>1</sup>	Hierba de bosque húmedo premontano, entre 70-3.000 m

Bignoniaceae	<i>Tabebuia rosea</i>	Roble	A-IA <sup>2</sup>	Árbol de bosques y áreas perturbadas, entre 0-2.000 m
	<i>Cordia alba</i>	Uvito	A-IA	Árbol de zonas secas, entre 0-1.200 m
Boraginaceae	<i>Cordia alliodora</i>	Nogal	A-IA	Árbol de bosques húmedos y zonas cafeteras, entre 0-2.700 m
	<i>Cordia spinescens</i>	Verdenegro	A	Arbusto común en bordes de bosque y caminos, entre 0-2.700 m
Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i>	Indiodesnudo, almácigo	A-D	Árbol de bosques secos o áreas húmedas con microclimas secos, entre 0-1.000 m
Cannabaceae	<i>Celtis iguanaea</i> *	Tala trepador	A <sup>2</sup>	Árbol de bosque seco, entre 0-1.100 m
	<i>Trema micrantha</i> *	Majagüito	A-D	Árbol de bosques y áreas perturbadas, entre 0-2.500 m
Chloranthaceae	<i>Hedyosmum racemosum</i> *	Chiflichifli, granizo	A-D	Árbol de interior y bordes de bosques, entre 250-2.900 m
Chrysobalanaceae	<i>Chrysobalanus icaco</i>	Icaco	A-IA <sup>2</sup>	Arbusto común en litorales y bordes de bosque, entre 0-550 m
Clusiaceae	<i>Clusia multiflora</i> <sup>?</sup>	Chagualo, caucho, gaque	A <sup>1</sup>	Árbol de bosques andinos, páramos y áreas abiertas con alta humedad, entre 10-3.400 m
Convolvulaceae	<i>Ipomoea batatas</i>	Batata	A <sup>1</sup>	Planta trepadora común en áreas disturbadas, entre 0-4.500 m
	<i>Merremia umbellata</i>	Batatillo	A	Planta trepadora común en rastrojos y cultivos, entre 0-2.000 m
Cunoniaceae	<i>Weinmannia pinnata</i>	Encenillo, kokuisha (kogi)	A-S <sup>1</sup>	Arbusto o árbol de bosque húmedo, entre 1.500-3.900 m
Dilleniaceae	<i>Davilla kunthii</i> *	Bejuco tomé, bejuco Quemador,	A-S	Bejuco de bosque húmedo, entre 0-1.700 m
	<i>Doliocarpus dentatus</i> *	bejuco tomé	A-D	Arbusto de bosque húmedo, entre 10-2.000 m
Elaeocarpaceae	<i>Sloanea multiflora</i>	Achiotillo	A-IA <sup>1</sup>	Árbol de bosques secos y de galería
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum novogranatense</i>	Coca	A	Arbusto cultivado en zonas secas y húmedas, entre 150-2.000 m
Escalloniaceae	<i>Escallonia pendula</i>	Tíbar, mangle, loqueto	A-IA <sup>1</sup>	Árbol encontrado entre 1.100-3.000 m
	<i>Acalypha macrostachya</i> *	Zanquemula	A-IA	Árbol común en bordes de bosque, áreas degradadas, matorrales y potreros, entre 10-2.000 m
	<i>Alchornea latifolia</i> *	Mazamorro	A-IA <sup>1</sup>	Arbol de bosque húmedo, entre 100-5.000 m
Euphorbiaceae	<i>Croton hirtus</i>	Drago, guacamayo	A-D <sup>1</sup>	Hierba común en potreros y zonas abiertas, entre 0-1.300 m
	<i>Euphorbia hirta</i>	Lechecillo	A	Hierba común en bordes de camino y zonas disturbadas, entre 0-1.600 m
	<i>Ricinus communis</i>	Higuerilla, Higuereta, ricino	A-IA	Arbusto introducido, frecuente en zonas disturbadas, entre 20-2.750 m
	<i>Sapium glandulosum</i>	Caucho	A-IA <sup>1</sup>	Árbol de bosque secundario, entre 0-2.600 m
Fabaceae (Faboidae)	<i>Aeschynomene americana</i>	Dormidera, pegapega	A-IA	Hierba común en áreas ruderales e intervenidas, entre 0-1.900 m
	<i>Erythrina rubrinervia</i>	Chocho	A <sup>1</sup>	Árbol que habita al interior de bosques, entre 100-2.700 m
	<i>Gliricidia sepium</i>	Matarratón	A-D	Árbol ampliamente utilizado para cercas vivas, entre 0-2.000 m
	<i>Platymiscium pinnatum</i>	Guayacán trébol	A-S	Árbol de bosques húmedos y semidecíduos, entre 0-1.500 m
	<i>Trifolium repens</i>	Carretón, trébol blanco	A	Hierba introducida común en pastizales y áreas intervenidas, entre 1.100-2.300 m
	<i>Inga oerstediana</i>	Guamo	A-D	Árbol común en bosques intervenidos y cafetales, entre 100-2.300 m
Fabaceae (Mimosoidae)	<i>Mimosa albida</i> *	Zarza	A-D	Hierba común en bordes de camino y zonas disturbadas, entre 750-2.600 m
	<i>Mimosa pigra</i> *	Zarza de matorral	A-IA	Hierba o arbusto común en zonas abiertas, entre 0-1.400 m
	<i>Mimosa pudica</i> *	Dormidera	A-D	Hierba común en zonas perturbadas, entre 0-1.800 m
Hypericaceae	<i>Vismia baccifera</i>	Papamo, carate, caratillo	A	Árbol común en potreros, rastrojos altos y remanentes de bosque, entre 800-2.800 m
Icacinaeae	<i>Calatola costaricensis</i> <sup>?</sup>	Gallinazo	A	Árbol de bosque húmedo, entre 100-2.440 m
Lamiaceae	<i>Hyptis mutabilis</i>	Mastranto	A <sup>2</sup>	Arbusto común en zonas alteradas y bordes de camino, entre 100-2.700 m
	<i>Salvia occidentalis</i>	Cansaperro	A <sup>2</sup>	Hierba encontrada entre 0-1.300 m
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Aguacate	A <sup>2</sup>	Árbol cultivado entre 0-2.000 m
Lythraceae	<i>Adenaria floribunda</i>	Chaparro	A	Árbol de bosques húmedos y muy húmedos, entre 1.000-2.000 m
Malpighiaceae	<i>Stigmaphyllon columbicum</i> *		A <sup>2</sup>	Bejuco encontrado en matorrales y vegetación riparia, entre 60-1.700 m
Malvaceae (Bombacoidae)	<i>Ceiba pentandra</i>	Ceiba, bongo	A	Árbol encontrado en bosques húmedos y de galería, entre 50-220 m
	<i>Ochroma pyramidale</i>	Balso	A	Árbol de zonas cálidas, húmedas y secas, cerca de cuerpos de agua, zonas abiertas y cultivos, entre 0-1.800 m
	<i>Pseudobombax septenatum</i>	Majagua, ceibo barrigón	A-IA	Árbol de bosques húmedos, secos, costeros o dunas arenosas, entre 0-1.600 m
Malvaceae (Byttnerioidae)	<i>Melochia parvifolia</i>	Escoba blanca	A	Arbusto común en áreas perturbadas, pastizales y cultivos, entre 0-1.100 m

Malvaceae (Grewioideae)	<i>Corchorus orinocensis</i>	Escobilla negra,	A	Arbusto común en áreas perturbadas, entre 0-1.400 m
	<i>Heliocarpus americanus</i>	Balsillo	A-D	Árbol común en áreas perturbadas, entre 0-2.600 m
Malvaceae (Malvoideae)	<i>Abutilon x hybridum</i>	Abutilón	A	Arbusto introducido, usado como planta ornamental en jardines, entre 0-3.000 m
	<i>Sida acuta</i>	Escobo, escoba babosa	A <sup>1</sup>	Hierba común en áreas perturbadas, entre 0-1.800 m
Melastomataceae	<i>Conostegia icosandra</i> *		A-IA <sup>2</sup>	Árbol de bosque ripario, entre 140-1.450 m
	<i>Miconia dodecandra</i> *	Tuno, cuatrofilos	A-IA <sup>2</sup>	Árbol común en bosques secundarios, rastrojos y áreas intervenidas, entre 50-2.100 m
	<i>Miconia minutiflora</i>	Tuno, nigüito	A-IA <sup>1</sup>	Arbusto de bosque denso, siempreverde, tropical submontano, entre 0-2.400 m
	<i>Miconia serrulata</i> *	Tuno, mortiño	A-IA <sup>1</sup>	Árbol de bosque húmedo y de galería, entre 120-1.800 m
	<i>Tibouchina longifolia</i>	Lengua de buey, chiquilla	A-IA <sup>2</sup>	Hierba de bosques húmedos, secos o de galería, entre 0-3.000 m
Moraceae	<i>Poulsenia armata</i> *	Cucúa	A-D	Árbol que habita al interior de bosques húmedos, entre 0-2.300 m
	<i>Pseudolmedia laevigata</i> *	Lechichiva, guayabo	A-IA <sup>2</sup>	Árbol que habita al interior de bosques húmedos, entre 0-1.000 m
	<i>Trophis racemosa</i> *	Guáimaro	A-IA <sup>2</sup>	Árbol de bosques húmedos y secos, entre 0-1.000 m
Muntingiaceae	<i>Muntingia calabura</i>	Chitató	A-D	Árbol común en áreas perturbadas, entre 0-1.500 m
	<i>Calycolpus moritzianus</i>	Arrayán guayabo	A-IA <sup>2</sup>	Árbol común en bordes de caminos y bosques, entre 700-3.500 m
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto	A-IA	Árbol introducido, cultivado en orillas de caminos y terrenos alterados, entre 0-3.500 m
	<i>Myrcia splendens</i>	Arrayán sururo	A-IA <sup>2</sup>	Árbol de bosques húmedos secundarios, entre 200-2.800 m
	<i>Psidium guajava</i>	Guayaba	A-IA	Árbol cultivado y común en orillas de caminos, terrenos alterados y bosques secos, entre 0-2.350 m
	<i>Syzygium jambos</i>	Pomarroso	A-IA	Árbol introducido y cultivado en áreas húmedas entre 0-2.500 m
Oleaceae	<i>Fraxinus chinensis</i> *	Urapán	A-S	Árbol introducido y cultivado en áreas rurales entre 1.500-2.900 m
Phyllanthaceae	<i>Hieronyma fendleri</i> <sup>2</sup>	Motilón, candelo	A-S <sup>1</sup>	Árbol de bosques húmedos, entre 150-1.850 m
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca rivinioides</i>	Guaba	A	Hierba o arbusto común en vegetación riparia y rastrojos, entre 100-2.900 m
Piperaceae	<i>Piper aduncum</i> *	Cordoncillo	A-D <sup>1</sup>	Árbol común en bosques húmedos y secos y áreas perturbadas, entre 0-3.200 m
Polygonaceae	<i>Triplaris americana</i>	Varasanta, palosanto	A	Árbol de bosques secos y húmedos tropicales, entre 0-1.500 m
	<i>Ardisia guianensis</i>	Cadillo	A-S <sup>1</sup>	Arbusto de bosques húmedos, entre 20-2.400 m
Primulaceae	<i>Cybianthus nevadensis</i>	Cucharo	A-D <sup>1</sup>	Arbusto de bosques húmedos, entre 1.200-3.725 m
Proteaceae	<i>Roupala montana</i>	Mapurito	A-IA <sup>1</sup>	Arbusto o árbol común en áreas disturbadas, bosques de galería y sabanas, entre 300-2.000 m
Rhamnaceae	<i>Gouania polygama</i>	Limpiadientes, mascapalo	A-S	Árbol común en bosques intervenidos, entre 5-1.700 m
Rosaceae	<i>Rubus urticifolius</i>	Mora silvestre	A-D <sup>1</sup>	Arbusto común en zonas intervenidas, entre 800-2.700 m
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	Café	A-D	Arbusto introducido y ampliamente cultivado entre 700-2.000 m
	<i>Spermacoce verticillata</i>	Estilo	A-IA <sup>1</sup>	Hierba común en bordes de camino y cultivos, entre 350-3.100 m
	<i>Warszewiczia coccinea</i>	Cresta de gallo, guacamayo	A	Árbol o arbusto de tierras planas, húmedas y con semisombra, entre 0-2.100 m
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i>	Naranja	A <sup>1</sup>	Árbol introducido y cultivado entre 0-2.800 m
Salicaceae	<i>Casearia corymbosa</i>	Café del diablo, ondequera	A <sup>2</sup>	Árbol de vegetación costera, bosque seco y sabanas, entre 0-1.200 m
Sapindaceae	<i>Cupania americana</i>	Guacharaco, cariseco	A	Árbol de áreas disturbadas, bordes de carretera y caminos, entre 100-2.800 m
	<i>Melicococcus bijugatus</i>	Mamoncillo, mamón	A-S <sup>1</sup>	Árbol de bosques secos, entre 70-1.500 m
	<i>Melicococcus oliviformis</i>	Mamón cotopli	A-S <sup>1</sup>	Árbol de bosques húmedos, entre 20-800 m
	<i>Paullinia macrophylla</i>	Bejuco prieto	A-IA <sup>1</sup>	Liana común en bordes de carretera y bosques de galería, entre 120-1.250 m
	<i>Serjania paniculata</i>	Bejuco de jabón	A-IA <sup>1</sup>	Liana que habita entre 20-2.100 m
Solanaceae	<i>Brugmansia pittieri</i>	Borrachero	A <sup>1</sup>	Árbol común en zonas húmedas y disturbadas, entre 1.000-3.200 m
	<i>Solanum aturense</i>	Uña de gato, mataperro	A-IA <sup>1</sup>	Árbol que habita en bosque de galería, bosques secundarios y áreas perturbadas, entre 0-3.700 m
Urticaceae	<i>Cecropia peltata</i> *	Guarumo	A-D	Árbol de bosques primarios y secundarios, entre 0-2.000 m
Vitaceae	<i>Cissis verticillata</i>	Bejuco de agua	A	Liana que habita en ambientes naturales y alterados, entre 0-2.100 m
	<i>Vitis tiliifolia</i>	Bejuco de agua	A-D	Liana que habita en bosques húmedos, entre 0-2.000 m

\* Plantas que no producen néctar. <sup>1</sup>Abundancias relativas de las especies que fueron identificadas solo a nivel de género en las muestras de miel. <sup>2</sup>Abundancias relativas de las especies que fueron identificadas solo a nivel de familia en las muestras de miel. A: aislado, IA: importante aislado, S: secundario, D: dominante



***Dictyocaryum lamarckianum*** (Mart.) H.Wendl. (Figura 1, No. 1)

Granos con simetría bilateral, heteropolares, monocolpados, oblados a esferoidales, ámbito elíptico; DE: 15-25, DP: 15-20µm. Exina: 2µm de grosor, columelada y areolada, columelas apiladas formando grupos a manera de verrugas. M.E.: ICN 6107.

***Euterpe precatoria*** Mart. (Figura 1S, No. 2)

Granos con simetría bilateral, heteropolares, monocolpados, peroblados a oblados, ámbito elíptico; DE: 27-40, DP: 13-17µm. Exina: 1-1,5µm de grosor, escabrada. M.E.: ICN 6056.

***Geonoma interrupta*** (Ruiz & Pav.) Mart. (Figura 1S, No. 3)

Granos con simetría bilateral, heteropolares, monocolpados, oblados a suboblados, ámbito elíptico; DE: 22-28, DP: 15-

20µm. Exina: <1-1µm de grosor, microreticulada. M.E.: ICN 4429.

**CYCLANTHACEAE**

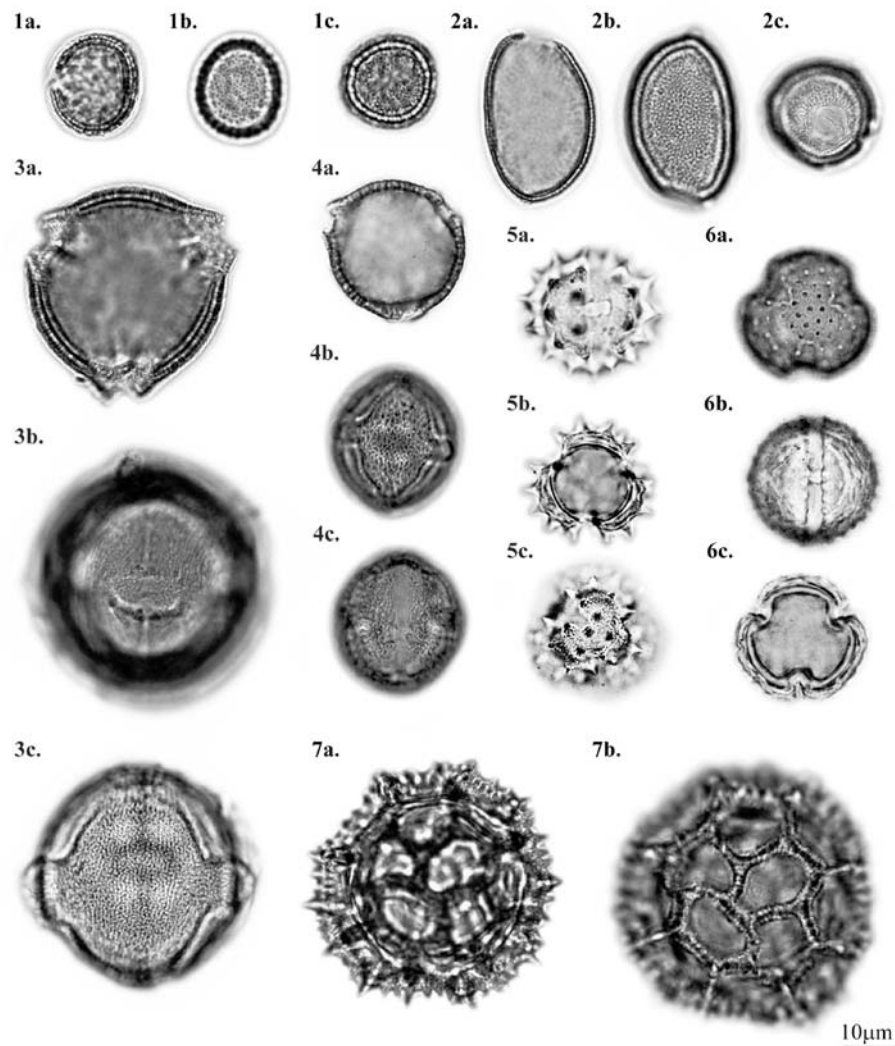
***Carludovica palmata*** Ruiz & Pav. (Figura 1, No. 2)

Granos asimétricos, apolares, monoporados, oblados, ámbito elíptico, 20-24 x 30-36µm. Exina: 1-2µm, microreticulada, granulada; retículo heterobrocado simplicolumelado. Poros circulares: 6-9µm. M.E.: ICN 6083.

**CYPERACEAE**

***Rhynchospora barbata*** (Vahl) Kunth (Figura 1S, No. 4)

Granos asimétricos, apolares, inaberturados, piriformes, oblados a suboblados, ámbito circular, 16-26 x 25-30µm. Exina: <1µm, areolada y verrugada. M.E.: ICN 3454.



**Figura 1.** ARECACEAE: 1. *Dictyocaryum lamarckianum*. CYCLANTHACEAE: 2. *Carludovica palmata*. ANACARDIACEAE: 3. *Anacardium excelsum*. 4. *Astronium graveolens*. ASTERACEAE: 5. *Austroeupatorium inulifolium*. 6. *Critonia morifolia*. 7. *Eirmocephala brachiata*.



***Scleria mitis*** P.J. Bergius (Figura 1S, No. 5)

Granos asimétricos, apolares, monoporados, forma esferoidal o trapezoidal, ámbito circular, 38-52 $\mu$ m. Exina: 1-1,5 $\mu$ m, columelada y areolada. Poro con borde irregular 7-20 $\mu$ m. M.E.: ICN 16279.

**POACEAE*****Brachiaria brizantha*** (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (Figura 1S, No. 6)

Granos asimétricos, heteropolares, monoporados, esferoidales, ámbito circular, 59-77 $\mu$ m. Exina: 1-3 $\mu$ m, escabrada-areolada. Poro circular anulado de 1-7 $\mu$ m. M.E.: LABUN 922.

***Holcus lanatus*** L. (Figura 1S, No. 7)

Granos asimétricos, heteropolares, monoporados, esferoidales, ámbito circular, 30-40 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada. Poro circular anulado de 2-5 $\mu$ m. M.E.: LABUN 519.

***Melinis minutiflora*** P.Beauv. (Figura 2S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/61/113>; No. 8)

Granos asimétricos, heteropolares, monoporados, esferoidales, ámbito circular, 71-102 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada-areolada. Poro circular anulado de 5-7 $\mu$ m. M.E.: LABUN 923.

***Pennisetum purpureum*** Schumach. (Figura 2S, No. 9)

Granos asimétricos, heteropolares, monoporados, esferoidales, ámbito circular, 62-90 $\mu$ m. Exina: 1-3 $\mu$ m, escabrada-areolada. Poro circular anulado de 2-7 $\mu$ m. M.E.: LABUN 748.

***Zea mays*** L. (Figura 2S, No. 10)

Granos asimétricos, heteropolares, monoporados, esferoidales, ámbito circular, 92-122 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada. Poro circular anulado de 5-10 $\mu$ m. M.E.: LABUN 71.

**CLASE MAGNOLIOPSIDA O DICOTILEDONEAS****ACTINIDACEAE*****Saurauia yasicae*** Loes. (Figura 2S, No. 11)

Granos radiosimétricos, apolares, tricolporados?, esferoidales, ámbito circular de 26-30 $\mu$ m. Exina: 2-3 $\mu$ m, escabrada, nexina más ancha que la sexina. Poros lalongados (3-6 x 1-6 $\mu$ m). Colporos generalmente inconspicuos y estrechos de <1 $\mu$ m. M.E.: LABUN 2091.

**AMARANTHACEAE*****Iresine diffusa*** Humb. & Bonpl. ex Willd. (Figura 2S, No. 12)

Granos asimétricos, apolares, esferoidales, periporados (16-22 poros por grano); 14-18 $\mu$ m de diámetro. Exina: 1,5-2 $\mu$ m, granulada. Poros circulares de 2-4 $\mu$ m. M.E.: LABUN 445.

**ANACARDIACEAE*****Anacardium excelsum*** (Bertero & Balb. Ex Kunth) Skeels (Figura 1, No. 3)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, subprolados a esferoidales, ámbito circular; DE: 40-48, DP: 42-55 $\mu$ m. Exina: 3-4 $\mu$ m, reticulada y estriada. Retículo homobrocado, simplicolumelado, lumen de <1 $\mu$ m; poro irregular de 4-11 $\mu$ m; sexina más delgada en los bordes del poro; colpos tan largos como los granos, de 1-2 $\mu$ m de ancho; lado apocolpio de 10-13 $\mu$ m. M.E.: LABUN 451.

***Astronium graveolens*** Jacq. (Figura 1, No. 4)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, subprolados a esferoidales, ámbito circular o hexagonal; DE: 24-30, DP: 30-39 $\mu$ m. Exina: 1,5-3 $\mu$ m, reticulada y estriada; retículo heterobrocado, más pequeño hacia los colpos, elongado y simplicolumelado, lumen de <1-2 $\mu$ m; poros lalongados (6-13 x 2-5 $\mu$ m) con bordes engrosados; colpos tan largos como los granos, de 3-6 $\mu$ m de ancho; lado apocolpio de 3-8 $\mu$ m. M.E.: LABUN 1811.

***Mangifera indica*** L. (Figura 3S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/61/114>; No. 13)

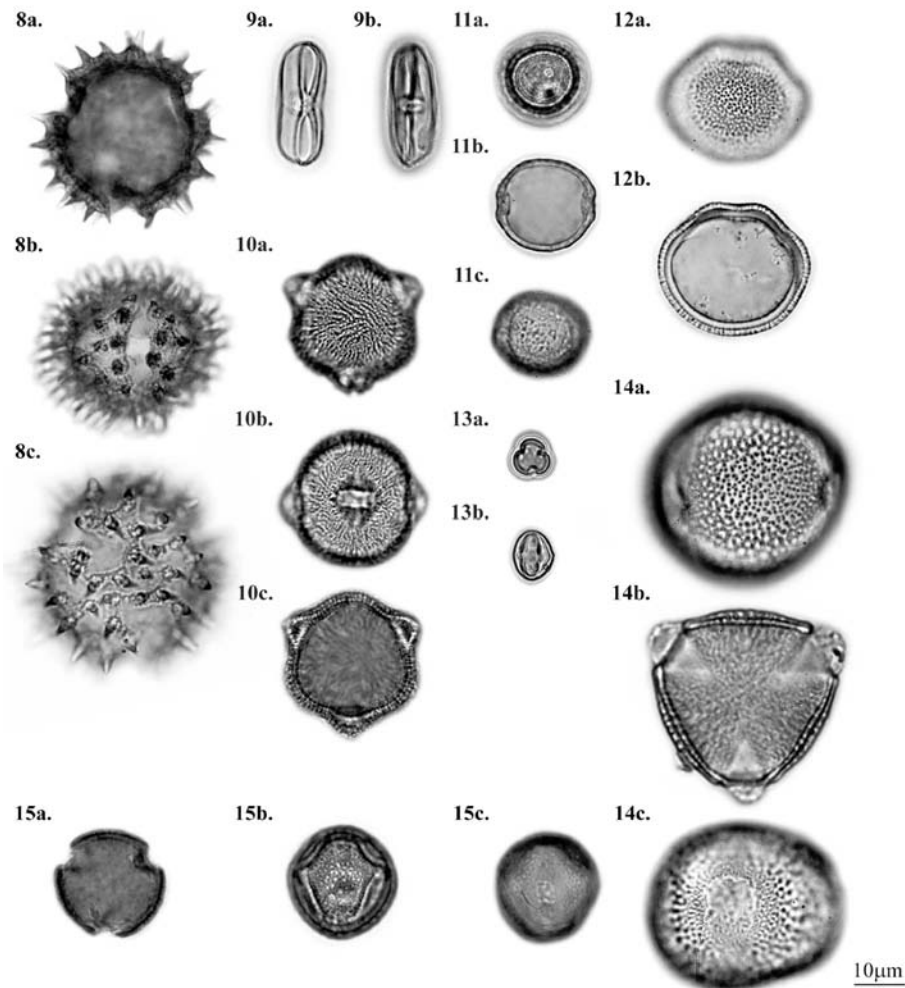
Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolado-esferoidales a subprolados, ámbito circular, DE: 28-35, DP: 34-42 $\mu$ m. Exina: 2-3 $\mu$ m, tectum reticulado-estriado, infratectum columelado; muro y lumen de <1-1 $\mu$ m. Poro lalongados y sobresalientes (5-11 x 3-8 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de <1-2 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 356.

**AQUIFOLIACEAE*****Ilex kunthiana*** Triana (Figura 3S, No. 14)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a prolados, ámbito trilobado, DE: 29-40, DP: 34-42 $\mu$ m. Exina: 3-6 $\mu$ m, clavada; clavadas de 1-3 $\mu$ m de ancho y 2-3 $\mu$ m de largo, distancia entre clavadas de <1-1 $\mu$ m. Poros lalongados (4-11 x <1-6 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 4-11 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 1813.

**ARALIACEAE*****Oreopanax capitatus*** (Jacq.) Decne. & Planch. (Figura 3S, No. 15)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados esferoidales a prolados, ámbito triangular recto o convexo; DE: 18-26, DP: 23-28 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m de grosor, reticulada. Retículo heterobrocado más pequeño hacia los colpos, muro de <1 $\mu$ m, lumen de <1-1,5 $\mu$ m. Poros lalongados y sobresalientes (5-7 x 2-5 $\mu$ m). Colpos con margo grueso, tan largos como los granos, de 1 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 6-13 $\mu$ m. M.E.: ICN 5139.



**Figura 2.** ASTERACEAE: 8. *Vernonanthura patens*. BEGONIACEAE: 9. *Begonia guaduensis*. BURSERACEAE: 10. *Bursera simaruba*. CANNABACEAE: 11. *Trema micrantha*. CHLORANTHACEAE: 12. *Hedyosmum racemosum*. CUNONIACEAE: 13. *Weinmannia pinnata*. DILLENIACEAE: 14. *Davilla kunthii*. 15. *Doliocarpus dentatus*.

**ASTERACEAE**

*Acmella ciliata* (Kunth) Cass. (Figura 3S, No. 16)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados o tetracolporados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular; DE: 27-42, DP: 31-42µm excluidas las espinas. Exina: 9-11µm, equinada y columelada; espinas puntiagudas, de tamaño variable (6-8µm de ancho en la base y 5-12µm de largo), a veces más anchas que largas. Poros lalongados (7-13 x 1-3µm). Colpos tan largos como los granos, de 1-3µm de ancho. M.E.: LABUN 697.

*Austroeupatorium inulifolium* (Kunth) R.M. King & H. Rob. (Figura 1, No. 5)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a esferoidales, ámbito circular; DE: 19-27, DP: 22-26µm excluidas las espinas. Exina: 2-6µm, equinada y escabrada,

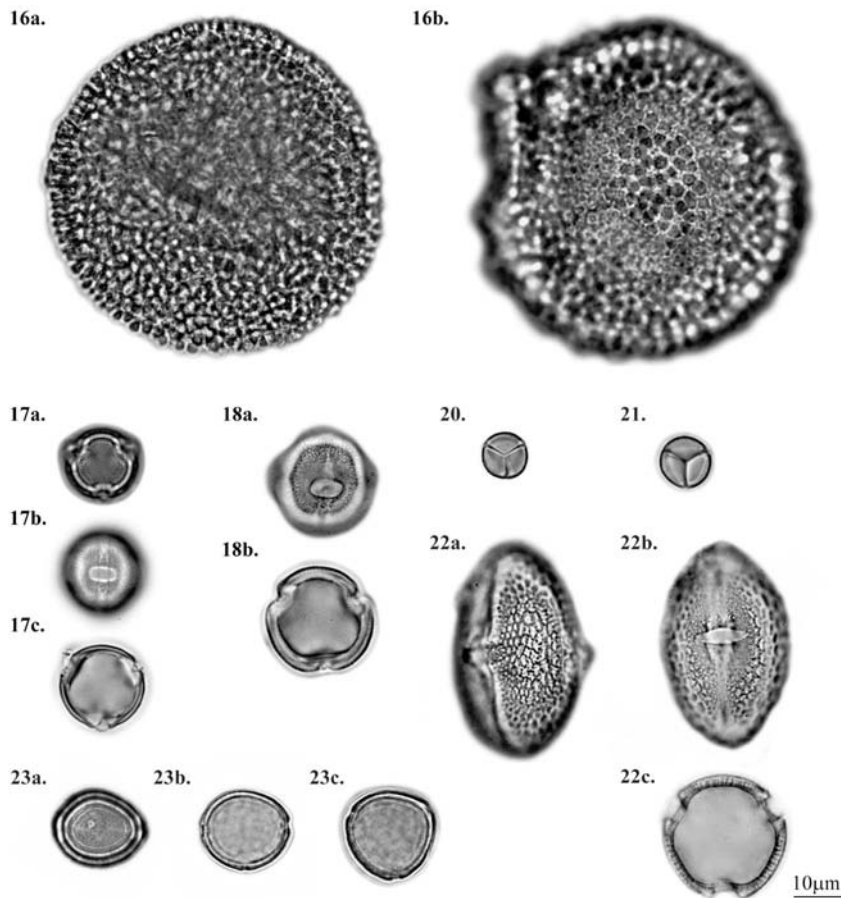
espinas de 2-4µm. Poros lalongados, a veces con constricción en el medio (6-7 x 1-3µm). Colpos tan largos como los granos, de 3-5µm de ancho. M.E.: LABUN 1673.

*Baccharis trinervis* Pers. (Figura 3S, No. 17)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a esferoidales, ámbito circular; DE: 19-24, DP: 18-22µm excluidas las espinas. Exina: 5-7µm, equinada y escabrada, espinas de 3-4µm de ancho en la base y 3-5µm de largo. Poros lalongados (4-7 x 3-5µm). Colpos tan largos como los granos, de 2-4µm de ancho. M.E.: LABUN 471.

*Bidens pilosa* L. (Figura 3S, No. 18)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a oblado-esferoidales, ámbito circular; DE: 33-39, DP: 32-35µm excluidas las espinas. Exina: 8-10µm, equinada, espinas puntiagudas de base ancha y granulada de 6-8µm.



**Figura 3.** 16. *Croton hirtus*. FABACEAE (FABOIDAE); 17. *Gliricidia sepium*. 18. *Platymiscium pinnatum*. FABACEAE (MIMOSOIDAE); 20. *Mimosa albida*. 21. *Mimosa pudica*. MALVACEAE (GREWIOIDEAE); 22. *Heliocarpus americanus*. MORACEAE; 23. *Poulsenia armata*.

Poros lalongados (8-14 x 3-5µm). Colpos tan largos como los granos, de 2-5µm de ancho. M.E.: LABUN 492.

***Clibadium surinamense* L.** (Figura 3S, No. 19)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular; DE: 27-34, DP: 27-32µm excluidas las espinas. Exina: 5-9µm de grosor, equinada y escabrada. Espinas puntiagudas con base granulada, de 4-7µm de ancho y 5-7µm de largo. Poros lalongados, a veces con constricción en el medio (7-13 x 3-5µm). Colpos tan largos como los granos, de 3-5µm de ancho. M.E.: LABUN 761.

***Critonia morifolia* (Mill.) R.M.King & H.Rob.** (Figura 1, No. 6)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esferoidales, ámbito circular o trilobado; DE: 19-25, DP: 22-29µm. Exina: 3-4µm, microequinada y escabrada. Poros lalongados (5-7 x 1-2µm). Colpos tan largos como los granos, de 1-5µm de ancho. M.E.: LABUN 448.

***Eirmocephala brachiata* (Benth.) H.Rob.** (Figura 1, No. 7)

Granos asimétricos, apolares, periporados, esferoidales, ámbito circular, 40-53µm de diámetro excluidas las espinas. Exina: 6-9µm, equinada y lofada, crestas de 3-4µm de ancho, 12 a 23 lacunas por grano (10-18µm de diámetro), espinas de 1,5-2µm de ancho en la base y 2-3,5µm de largo. Poros irregulares que pueden ser tantos y tan grandes como las lacunas. M.E.: LABUN 1437.

***Emilia sonchifolia* (L.) DC. ex DC.** (Figura 4S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/115>; No. 20)

Granos polimórficos, simétricos o asimétricos, isopolares heteropolares o apolares, tricolporados, tetracolporados, pericopados, a veces sincopados, esferoidales, ámbito circular o cuadrangular; 38- 45µm de diámetro excluidas las espinas. Exina: 7-8µm, equinada y escabrada, espinas contiguas de 3-5µm. Poros lalongados (10-13 x 1-8µm). Colpos de 1-7µm de ancho; a veces se presentan colpos latitudinales en el área polar o ecuatorial. M.E.: LABUN 474.

***Hypochaeris radicata* L.** (Figura 4S, No. 21)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a oblado-esferoidales, ámbito hexagonal; DE: 32-40, DP: 31-37µm excluidas las espinas. Exina: 6-10µm, equinada, lofada y escabrada, crestas de 4-5µm de ancho con espacios interlacunares, lacunas de 7-17µm, espinas de 1-2µm. Poros lalongados, a veces con constricción en el medio (10-12 x 4-5µm). M.E.: LABUN 557.

***Lepidoploa canescens* (Kunth) H. Rob.** Figura 4S, No. 22)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a esferoidales, ámbito circular; DE: 35-40, DP: 29-38µm excluidas las espinas. Exina: 5-7µm, equinada y lofada; crestas granuladas de 4-5µm de ancho, lacunas de 1-8µm, espinas piramidales y puntiagudas de 2-3µm de ancho en la base y 4-5µm de largo. Poros lalongados con

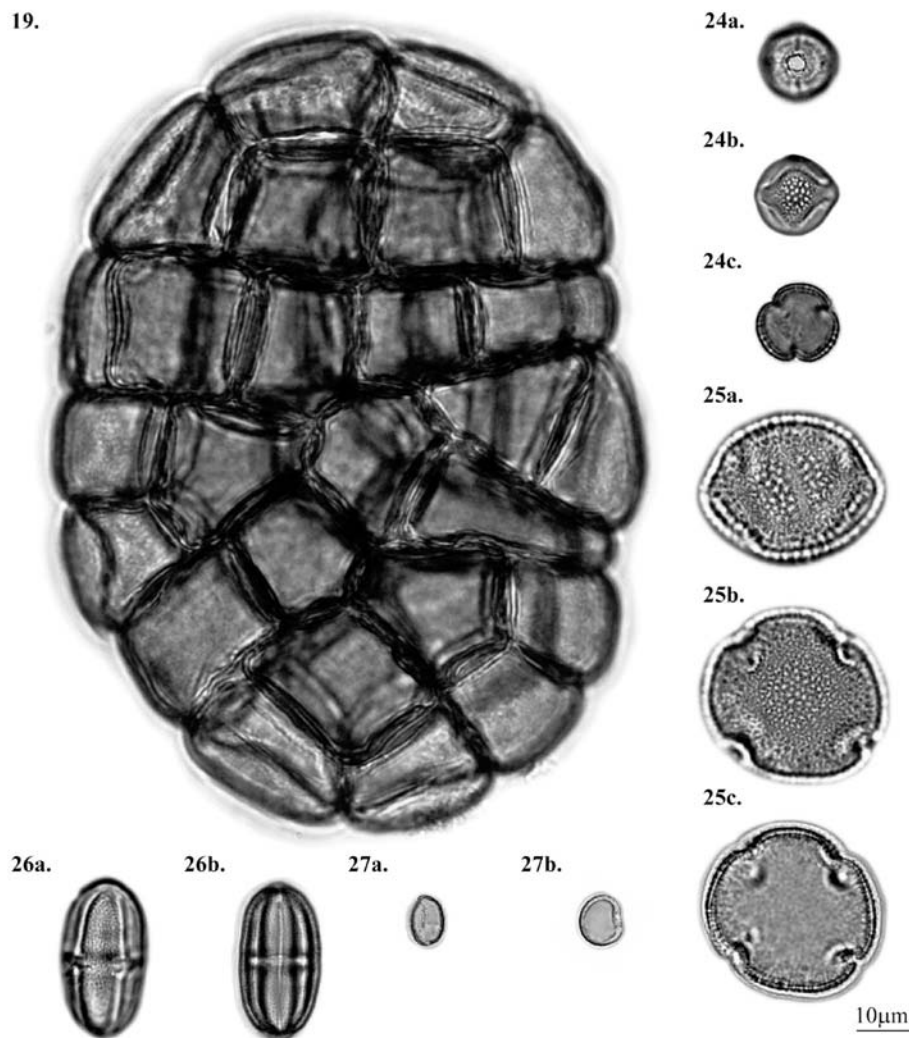
constricción en el medio (5-7 x 4-5µm). Colpos a manera de ventanas elongadas paralelas al eje polar. M.E.: LABUN 786.

***Mikania micrantha* Kunth** (Figura 4S, No. 23)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a esferoidales, ámbito circular; DE: 22-23, DP: 21-23µm excluidas las espinas. Exina: 8-10µm, equinada y escabrada, espinas puntiagudas de base ancha y columelada, de 5-6µm de ancho en la base y 6-7µm de largo. Poros lalongados, a veces con constricción en el medio (8-10 x 1-4µm). Colpos tan largos como los granos, de 4-5µm de ancho. M.E.: LABUN 1580.

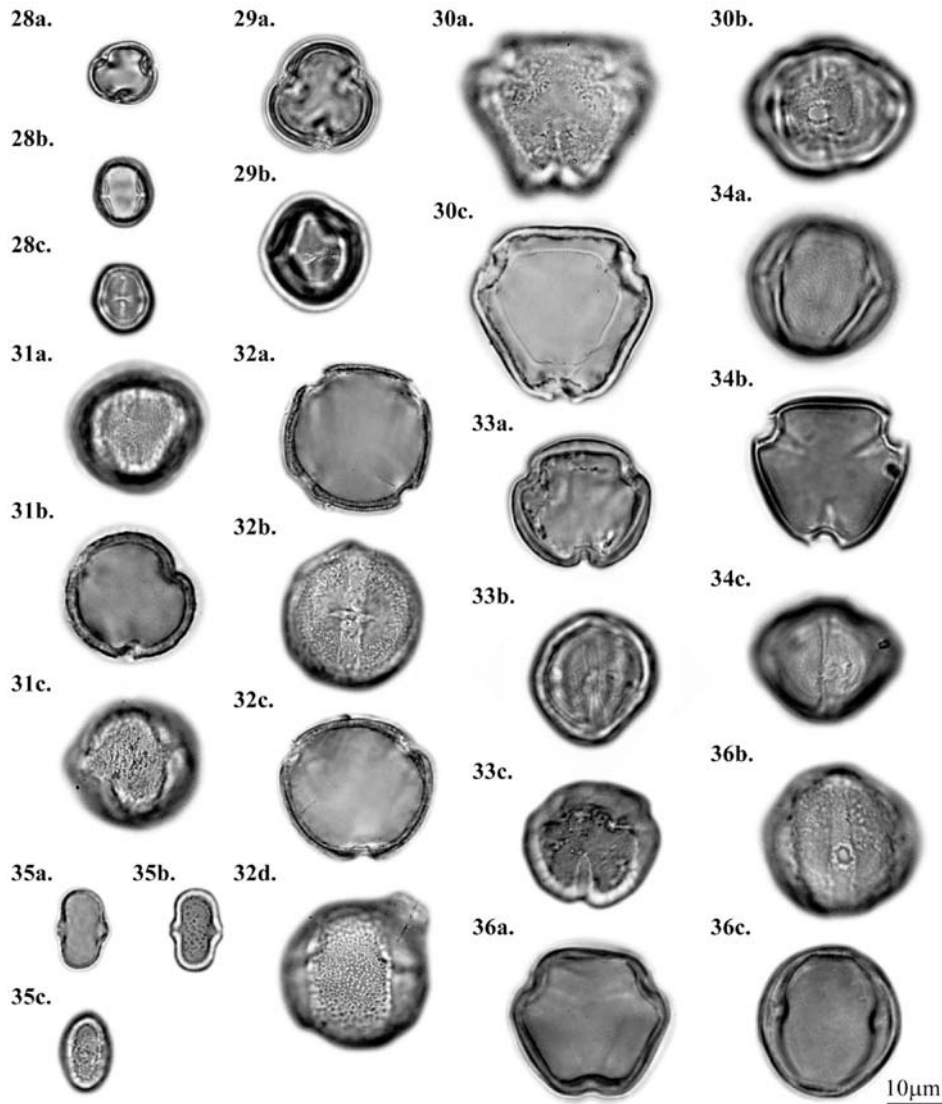
***Neurolaena lobata* (L.) R.Br. ex Cass.** (Figura 4S, No. 24)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales, ámbito circular; DE: 25-30, DP: 23-25µm



**Figura 4.** FABACEAE (MIMOSOIDAE): 19. *Inga oerstediana*. MUNTINGIACEAE: 24. *Muntingia calabura*. OLEACEAE: 25. *Fraxinus chinensis*. PHYLLANTHACEAE: 26. *Hieronyma fendleri*. PIPERACEAE: 27. *Piper aduncum*.





**Figura 5.** PRIMULACEAE: 28. *Ardisia guianensis*. 29. *Cybianthus nevadensis*. RHAMNACEAE: 30. *Gouania polygama*. ROSACEAE: 31. *Rubus urticifolius*. RUBIACEAE: 32. *Coffea arabica*. SAPINDACEAE: 33. *Melicoccus bijugatus*. 34. *Melicoccus oliviformis*. URTICACEAE: 35. *Cecropia peltata*. VITACEAE: 36. *Vitis tiliifolia*.

excluidas las espinas. Exina: 4-8µm de grosor, equinada y escabrada; espinas de tamaño variable que van desde cortas y achatadas a manera de verrugas hasta grandes y puntiagudas (3-6µm). Poros alargados y angostos (7-10 x 1-2µm). Colpos tan largos como los granos, de 2-4µm de ancho. Lado apocolpio de 10-12µm. M.E.: ICN 2861.

***Tithonia diversifolia*** (Hemsl.) A.Gray (Figura 5S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/116>; No. 25)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esféricos, ámbito circular; 35-50µm excluidas las espinas. Exina: 7-14µm, equinada y granulada; espinas de forma y tamaño

muy variable, puntiagudas o de punta redonda a manera de verrugas (2-11µm); poros inconspicuos, colpos angostos de 1-3µm de ancho. M.E.: LABUN 500.

***Vernonanthura patens*** (Kunth) H.Rob. (Figura 2, No. 8)

Granos simétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a oblado-esferoidales, ámbito circular; DE: 35-39, DP: 30-35µm excluidas las espinas. Exina: 2-5µm de grosor, equinada, lofada, crestas y lacunas de tamaño y forma variable; espinas de 2-3µm de ancho en la base y 3,5-5µm de largo; poros alargados, a veces con constricción en el medio (10-14 x 3-5µm); colpos tan largos como los granos, de 4-7µm de ancho. M.E.: LABUN 1821.



**BALSAMINACEAE**

*Impatiens walleriana* Hook.f. (Figura 5S, No. 26)

Granos con simetría bilateral, isopolares, tetracolpados, oblatos, ámbito cuadrangular; DE1: 57-66, DE2: 34-39, DP: 31 - 38 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, intactada y reticulada; retículo heterobrocado más pequeño hacia los colpos, duplicolumelado, muro de 1 $\mu$ m de ancho, lumen de 1-6 $\mu$ m. Colpos de 4-7 $\mu$ m de largo y 1-2 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 120.

**BEGONIACEAE**

*Begonia guaduensis* Kunth (Figura 2, No. 9)

Granos con radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados, ámbito trilobado; DE: 8-10, DP: 22-28 $\mu$ m. Exina: <1 $\mu$ m, psilada? Poros lalongados (3-4 x 2-3 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de <1 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 1061.

**BIGNONIACEAE**

*Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Figura 5S, No. 27)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a prolados, ámbito triangular convexo, DE: 29-53, DP: 37-56  $\mu$ m. Exina: 2-4 $\mu$ m de grosor, microreticulada, homobrocada simplicolumelada. Poros de forma irregular (7-15 x 7-15 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 3-14 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 5-11 $\mu$ m. M.E.: LABUN 499.

**BORAGINACEAE**

*Cordia alba* (Jacq.) Roem. & Schult. (Figura 6S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/117>; No. 28)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, peroblados a oblado-esferoidales, ámbito trilobado o triangular convexo; DE: 42-51, DP: 23-40 $\mu$ m. Exina: 2-3 $\mu$ m, granulada. Poros grandes e irregulares (10-15 x 8-16 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, con borde irregular y restos de membrana ectexínica (10-15 $\mu$ m de ancho). Lado apocolpio de 10-14 $\mu$ m. M.E.: LABUN 508.

*Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken (Figura 6S, No. 29)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular o trilobado, DE: 47-60, DP: 45-62 $\mu$ m. Exina: 3-4 $\mu$ m, equinada y escabrada; espinas de 1-3 $\mu$ m. Poros lalongados (9-17 x 1-5 $\mu$ m). Colpos cortos y angostos (20-40 $\mu$ m de largo y 1-2 $\mu$ m de ancho), con costa gruesa (5-7 $\mu$ m). M.E.: LABUN 981.

*Cordia spinescens* L. (Figura 6S, No. 30)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados, esferoidales, ámbito circular, 63-72 $\mu$ m de diámetro. Exina: 5-9 $\mu$ m, reticulada; retículo homobrocado, simplicolumelado, muro de 1,5-3 $\mu$ m de ancho, lumen de 2-8 $\mu$ m. Poros circulares (8-10 $\mu$ m). M.E.: LABUN 1270.

**BURSERACEAE**

*Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Figura 2, No. 10)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular; DE: 24-33, DP: 26-32 $\mu$ m. Exina: 1,5-2 $\mu$ m, microreticulada y estriada. Poros lalongados y costados (8-11 x 2-4 $\mu$ m). Colpos inconspicuos. M.E.: LABUN SA928M.

**CANNABACEAE**

*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Figura 7S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/118>; No. 31)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados o tetraporados, suboblados a oblatos esferoidales, ámbito circular, DE: 22-25, DP: 18-23 $\mu$ m. Exina: 1-1,5 $\mu$ m de grosor, escabrada. Poros circulares y anulados (2-3 $\mu$ m). M.E.: LABUN 2088.

*Trema micrantha* (L.) Blume (Figura 2, No. 11)

Granos con simetría bilateral, isopolares, diporados, suboblados a esferoidales, ámbito elíptico; DE: 17-24, DP: 15-22 $\mu$ m. Exina: 1-1,5 $\mu$ m, escabrada. Poros circulares (2-3 $\mu$ m), vestibulados. M.E.: LABUN 489.

**CHLORANTHACEAE**

*Hedyosmum racemosum* (Ruiz & Pav.) G. Don (Figura 2, No. 12)

Granos asimétricos, heteropolares, inaberturados, esferoidales, ámbito circular, 24-45 $\mu$ m de diámetro. Exina: 2,5-4 $\mu$ m, granulada; generalmente en un lado del grano se presenta un ondulamiento y engrosamiento de la nexina. M.E.: LABUN 836.

**CHRYSOBALANACEAE**

*Chrysobalanus icaco* L. (Figura 7S, No. 32)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblatos a suboblados, ámbito triangular recto o concavo, DE: 45-50, DP: 30-37 $\mu$ m. Exina: 3-5 $\mu$ m, escabrada y fosulada. Poros grandes lalongados o de forma irregular (15-20 x 10-20 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 10-20 $\mu$ m de ancho y con margo grueso de 2-3 $\mu$ m. Lado apocolpio de 10-12 $\mu$ m. M.E.: LABUN 2093.

**CLUSIACEAE**

*Clusia multiflora* Kunth (Figura 7S, No. 33)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a subprolados, ámbito circular; DE: 26-30, DP: 26-33 $\mu$ m. Exina gruesa: 2-3 $\mu$ m, fosulada y perforada. Poros lalongados inconspicuos y anulados (3-5 x 1 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 1-2 $\mu$ m de ancho. M.E.: ICN 2380.

**CONVOLVULACEAE**

*Ipomoea batatas* (L.) Lam. (Figura 7S, No. 34)

Granos asimétricos, apolares, periporados (80 poros aproximadamente), esferoidales, ámbito circular, 112-142 $\mu$  de diámetro. Exina: 16-26 $\mu$ m, equinada y granulada en el interporium y escabrada en los bordes de los poros. Espinas de 5-7 $\mu$ m de ancho y 10-14 $\mu$ m de largo. Poros circulares (4-11 $\mu$ m). Distancia entre poros: 8-10 $\mu$ m. M.E.: LABUN 42.

*Merremia umbellata* (L.) Hallier f. (Figura 8S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/119>; No. 35)

Granos radiosimétricos, isopolares, estefanocolpados (seis colpos), oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito elíptico; DE: 76-106, DP: 76-95 $\mu$ m. Exina: 4-7 $\mu$ m, baculada. Colpos tan largos como los granos, de 1-15 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 433.

**CUNONIACEAE**

*Weinmannia pinnata* L. (Figura 2, No. 13)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esferoidales a prolados, ámbito circular o trilobado; DE: 8-10, DP: 10-12 $\mu$ m. Exina: <1 $\mu$ m, microreticulada. Poros inconspicuos (1-2 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de <1 - 1 $\mu$ m de ancho. M.E.: ICN 4822.

**DILLENIACEAE**

*Davilla kunthii* A.St.-Hil. (Figura 2, No. 14)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a esferoidales, ámbito triangular convexo, 30-45 $\mu$ m de diámetro. Exina: 2-4 $\mu$ m de grosor, reticulada; retículo heterobrocado, más pequeño hacia los colpos, simplicolumelado, muro de 1 $\mu$ m de ancho, lumen de 1-4 $\mu$ m. Poros circulares con restos de membrana ectecxínica (8-11 $\mu$ m). Colpos con margo, tan largos como los granos, de 8-12 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 11-15 $\mu$ m. M.E.: ICN 704.

*Doliocarpus dentatus* (Aubl.) Standl. (Figura 2, No. 15)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular o trilobado, DE: 17-24, DP: 20-25 $\mu$ m. Exina: 1,5-2 $\mu$ m, reticulada. Retículo heterobrocado, simplicolumelado y duplicolumelado, más pequeño hacia los colpos, muro de <1-1 $\mu$ m, lumen de <1-2 $\mu$ m. Poros circulares y con restos de membrana ectecxínica (3-6 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 3-6 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 6-7 $\mu$ m. M.E.: LABUN 2094.

**ELAEOCARPACEAE**

*Sloanea multiflora* H.Karst. (Figura 8S, No. 36)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a prolados, ámbito circular, DE: 16-23, DP: 17-24 $\mu$ m.

Exina: 1-1,5 $\mu$ m, microreticulada. Poros lalongados inconspicuos, con constricción en el medio (2-3 x 1-3 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 1-3 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 3-4 $\mu$ m. M.E.: ICN 3081.

**ERYTHROXYLACEAE**

*Erythroxylum novogranatense* (D.Morris) Hieron. (Figura 8S, No. 37)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular o trilobado; DE: 34-50, DP: 35-42 $\mu$ m. Exina: 1-4 $\mu$ m, reticulada. Retículo heterobrocado, más pequeño hacia los colpos y polos, simplicolumelado a multicolumelado, muro de 0,5-1,5 $\mu$ m de ancho, lumen de <1-2 $\mu$ m. Poros lalongados (8-14 x 3-8 $\mu$ m). Colpos costados, tan largos como los granos, de 3-7 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 6-9 $\mu$ m. M.E.: LABUN 410.

**ESCALLONIACEAE**

*Escallonia pendula* (Ruiz & Pav.) Pers. (Figura 8S, No. 38)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a subprolados, ámbito trilobado; DE: 15-22, DP: 21-26 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m escabrada. Poros de forma irregular (3-5 x 1-8 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 1-5 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 4-8 $\mu$ m. M.E.: LABUN 1339.

**EUPHORBIACEAE**

*Acalypha macrostachya* Jacq. (Figura 9S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/120>; No. 39)

Granos radiosimétricos, isopolares, tetracolporados o pentacolporados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular; DE: 19-23, DP: 17-21 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada. Poros lalongados protuberantes, con fastigio y costa (4-6 x 1-3 $\mu$ m); colpos cortos, de 4-6 $\mu$ m de largo y 1-3 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 901.

*Alchornea latifolia* Sw. (Figura 9S, No. 40)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a oblado-esferoidales, ámbito circular o trilobado; DE: 19-23, DP: 16-21 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m engrosada en los colporos, psilada o escabrada; poros lalongados con fastigio ocupado por columelas largas (3-4 x 1-2 $\mu$ m); colpos operculados, tan largos como los granos, de 2-4 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 1824.

*Croton hirtus* L'Hér. (Figura 3, No. 16)

Granos radiosimétricos, apolares, inaberturados, ámbito circular; 60-80 $\mu$ m de diámetro. Exina: 4-5 $\mu$ m, intectada, clavada; clavadas de 2-3 $\mu$ m que forman rosetas. M.E.: LABUN 722.

*Euphorbia hirta* L. (Figura 9S, No. 41)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, subprolados a prolados, ámbito trilobado, DE: 17-20, DP: 24-27 $\mu$ m.

Exina: 1,5-2 $\mu$ m, más delgada hacia los polos, pilada. Poros lalongados (6-9 x 2-3 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, estrechos, de <1-1 $\mu$ m, con margo de 2-3 $\mu$ m de ancho conformado por columelas más pequeñas que en el resto de la exina. M.E.: LABUN 2103.

***Ricinus communis*** L. (Figura 9S, No. 42)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblados-esferoidales a esferoidales, ámbito circular; DE: 29-33, DP: 29-35 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, microreticulada. Retículo homobrocado, simplicolumelado. Poros lalongados (10-14 x 3-6 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, angostos, de 1 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 7-10 $\mu$ m. M.E.: LABUN 17.

***Sapium glandulosum*** (L.) Morong (Figura 9S, No. 43)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, subprolados a prolados, ámbito circular o trilobado, DE: 33-40, DP: 45-55 $\mu$ m. Exina: 1,5-3 $\mu$ m, pilada y perforada. Poros endexínicos, lalongados y costados (15-25 x 5-10 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, estrechos, de 1-3 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 2106.

#### FABACEAE (Faboideae)

***Aeschynomene americana*** L. (Figura 9S, No. 44)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados sincolpados, suboblados a esferoidales, ámbito trilobado; DE: 17-24, DP: 12-22 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, microreticulada; retículo homobrocado, simplicolumelado. Poros elípticos, lalongados o circulares (4-7 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 2-5 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 598.

***Erythrina rubrinervia*** Kunth (Figura 9S, No. 45)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados, oblados a suboblados, ámbito triangular cóncavo; DE: 43-50, DP: 31-40 $\mu$ m. Exina: 3-4 $\mu$ m, reticulada; retículo heterobrocado, más pequeño hacia los poros, muro de  $\leq$ 1 $\mu$ m, lumen de 1-8 $\mu$ m muy variable. Poros circulares cubiertos por membrana ectexínica (5-10 $\mu$ m). M.E.: LABUN 1169.

***Gliricidia sepium*** (Jacq.) Kunth ex Walp. (Figura 3, No. 17)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados-esferoidales, ámbito circular; DE: 16-20, DP: 17-20 $\mu$ m. Exina: 2 $\mu$ m, microreticulada, homobrocada. Poros elípticos lalongados (6-7 x 3-5 $\mu$ m); sexina adelgazada y nexina ligeramente engrosada en los bordes de los poros. Colpos tan largos como los granos, de 1-2 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 6-8 $\mu$ m. M.E.: LABUN 419.

***Platymiscium pinnatum*** (Jacq.) Dugand (Figura 3, No. 18)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esferoidales a subprolados, ámbito circular; DE: 20-22, DP: 21-25 $\mu$ m. Exina: 2-3 $\mu$ m, microreticulada, homobrocada,

simplicolumelada. Poro elípticos lalongados (6-10 x 3-6 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 2-4 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 501.

***Trifolium repens*** L. (Figura 10S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/121>; No. 46)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados-esferoidales a prolados, ámbito circular o trilobado; DE: 22-31, DP: 30-35 $\mu$ m. Exina: 2-3 $\mu$ m, fosulada. Poros lalongados cóncavos (6-10 x 3-5 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 2-3 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 1180.

#### FABACEAE (Mimosoideae)

***Inga oerstediana*** Benth. Ex Seem. (Figura 4, No. 19)

Poliadas elípticas de 32 a 44 granos, 170-200 x 130-150 $\mu$ m de diámetro. Granos asimétricos, apolares, periporados (4-10 poros), de 35-50 $\mu$ m. Exina: 3-7 $\mu$ m, areolada. Poros circulares (6-9 $\mu$ m) cubiertos por membrana ectexínica. M.E.: LABUN 783.

***Mimosa albida*** Humb. & Bonpl. ex Willd. (Figura 3, No. 20)

Tétradas esféricas de 9-11 $\mu$ m de diámetro. Granos asimétricos, apolares, inaberturados. Exina: <0,5 $\mu$ m, microreticulada. M.E.: LABUN 647.

***Mimosa pigra*** L. (Figura 10S, No. 47)

Tétradas elípticas de 14-18 x 22-25 $\mu$ m de diámetro. Granos asimétricos, apolares, inaberturados, de 10-14 $\mu$ m. Exina: <1-1 $\mu$ m, microreticulada. M.E.: ICN 5537.

***Mimosa pudica*** L. (Figura 3, No. 21)

Tétradas esféricas de 11-12 $\mu$ m de diámetro. Granos asimétricos, apolares, inaberturados. Exina: <0,5 $\mu$ m, escabrada. M.E.: LABUN 334.

#### HYPERICACEAE

***Vismia baccifera*** (L.) Triana & Planch. (Figura 10S, No. 48)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esferoidales a subprolados, ámbito circular; DE: 23-28, DP: 25-34 $\mu$ m. Exina: 2-3 $\mu$ m, reticulada. Retículo heterobrocado, más pequeño hacia los polos y colpos, simplicolumelado a pluricolumelado, muro de  $\leq$ 1-2 $\mu$ m de ancho, lumen de 1-3 $\mu$ m. Poros lalongados a circulares anulados (4-7 x 3-4 $\mu$ m). Colpos con margo, tan largos como los granos, de 2-4 $\mu$ m de ancho. Lado apocolpio de 6-11 $\mu$ m. M.E.: LABUN 809.

#### ICACINACEAE

***Calatola costaricensis*** Standl. (Figura 10S, No. 49)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a esferoidales, ámbito circular, 13-17 $\mu$ m de diámetro. Exina:

1,5-2µm, microreticulada. Poros lalongados, con fastigio, (3 x 1µm). Colpos cortos y angostos, de 4-8µm de largo, <1-1µm de ancho. M.E.: ICN 4219.

## LAMIACEAE

*Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. (Figura 10S, No 50)

Granos radiosimétricos, isopolares, estefanocolpados (seis colpos), oblados a oblado-esferoidales, ámbito elíptico; DE: 33-42, DP: 26-37µm. Exina: 2-3µm, reticulada. Retículo heterobrocado, más pequeño en los polos, simplicolumelado, muro de <1µm de ancho, lumen de 1-6µm. Colpos con restos de membrana ectexínica, tan largos como los granos, de 5-8µm de ancho. Lumen con elementos ectexínicos. M.E.: LABUN 645.

*Salvia occidentalis* Sw. (Figura 10S, No. 51)

Granos radiosimétricos, isopolares, estefanocolpados (seis colpos), oblados a oblado-esferoidales, ámbito elíptico; DE: 39-49, DP: 25-40µm. Exina: 2-3µm, reticulada. Retículo homobrocado, simplicolumelado, muro de <1µm de ancho, lumen de ≤1-2µm. Colpos tan largos como los granos, de 1-5µm de ancho. M.E.: LABUN 484.

## LAURACEAE

*Persea americana* Mill. (Figura 10S, No. 52)

Granos asimétricos, apolares, inaberturados, esferoidales, ámbito circular, de 37-50µm de diámetro. Exina: 1µm, microequinada. M.E.: LABUN 713.

## LYTHRACEAE

*Adenaria floribunda* Kunth (Figura 10S, No. 53)

Granos con simetría radial, isopolares, tricolporados, prolados a esferoidales, ámbito circular o trilobado; DE: 14-24, DP: 13-27µm. Exina: 1,5-3µm, fosulada-perforada; poros circulares anulados, a veces con constricción en el medio (3-6µm); colpos tan largos como los granos, de 2-4µm de ancho; lado apocolpio de 4-8µm. M.E.: LABUN 1277.

## MALPIGHIACEAE

*Stigmaphyllon columbicum* Nied. (Figura 11S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/122>; No. 54)

Granos asimétricos, apolares, colpados extraporados, esferoidales, ámbito circular, 38-56µm de diámetro. Exina: 4-6µm, rugulada en áreas distantes y microfosulada en áreas cercanas a colpos y poros. Poros circulares de 8-12µm, generalmente, 6, aunque pueden variar entre 5 y 8. Colpos bifurcados y de tamaño variable. M.E.: LABUN 741.

## MALVACEAE (Bombacoideae)

*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (Figura 11S, No. 55)

Granos radiosimétricos, isopolares, brevitricolporados, oblados esferoidales, ámbito triangular convexo; DE: 52-60, DP: 42-50µm. Exina: 2-4µm, reticulada. Retículo homobrocado, simplicolumelado, columelas de tamaño variable y dispersas en el lumen, muro de 1µm de ancho, lumen de 3-10µm. Poros circulares y anulados (7-8 x 2-3µm). Colpos costados (15-20 x 2-3µm). M.E.: ICN 5366.

*Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. (Figura 11S, No. 56)

Granos radiosimétricos, isopolares, brevitricolporados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito triangular convexo; DE: 77-95, DP: 70-80µm. Exina: 4-5µm, reticulada. Retículo heterobrocado, simplicolumelado a duplicolumelado, muro de 2µm de ancho, lumen de 6-18µm. Poros elípticos lalongados y costados (10-14 x 8-10µm). Colpos (14-25 x 3-8µm). M.E.: LABUN 1312.

*Pseudobombax septenatum* (Jacq.) Dugand (Figura 11S, No. 57)

Granos radiosimétricos, isopolares, brevitricolporados, peroblados a oblados, ámbito triangular recto o cóncavo; DE: 52-62, DP: 27-35µm. Exina: 2-3µm, más ancha en los polos, reticulada. Retículo heterobrocado, más pequeño en los intercolpios, simplicolumelado, muro de 1µm de ancho, lumen de 1-7µm. Colpos costados (15-20 x 2-4µm). M.E.: ICN 5131.

## MALVACEAE (Byttnerioideae)

*Melochia parvifolia* Kunth (Figura 12S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/123>; No.58)

Granos dimórficos, radiosimétricos, isopolares, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular. Exina: 2-3µm; poros lalongados, sobresalientes y con costa prominente. Morfotipo 1: tricolporado (35-50µm); exina reticulada. Retículo heterobrocado, más pequeño hacia los colpos, simplicolumelado, muro de <1µm, lumen de <1-3µm, columelas visibles en el lumen. Poros (6-10 x 4-8µm). Colpos (30-40, 1-3µm). Morfotipo 2: tricolporado, tetracolporado, 50-60µm, exina microequinada, poros (10-12 x 6-8µm). Colpos 25-30 x 1-3µm. M.E.: LABUN 515.

## MALVACEAE (Grewioideae)

*Corchorus orinocensis* Kunth (Figura 12S, No. 59)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados, ámbito circular o trilobado; DE: 28-38, DP: 46-55µm. Exina: 2,5-3µm, reticulada y con columelas visibles en el lumen; retículo heterobrocado, elongado, simplicolumelado, más pequeño hacia los colpos, muro de <1µm, lumen de 1-4µm. Poros lalongados (10-20 x 5-13µm). Colpos tan largos como los granos, de 1-6µm de ancho, con costa. M.E.: LABUN 431.



***Heliocarpus americanus* L.** (Figura 3, No. 22)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados, ámbito circular; DE: 25-31, DP: 42-50 $\mu$ m. Exina: 3-5 $\mu$ m, reticulada. Retículo heterobrocado, elongado, simplicolumelado, más pequeño hacia los colpos, muro de <1 $\mu$ m, lumen de <1-3  $\mu$ m. Poros lalongados (11-15 x 2-6 $\mu$ m); nexina engrosada en los poros; colpos con margo, tan largos como los granos, de 2-7 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 460.

**MALVACEAE (Malvoideae)*****Abutilon x hybridum* Voss** (Figura 12S, No. 60)

Granos radiosimétricos, isopolares, brevitricolporados, suboblados a esferoidales, ámbito circular; DE: 56-78, DP: 50-73 $\mu$ m. Exina: 8-12 $\mu$ m, equinada y granulada. Espinas de 4-5 $\mu$ m de ancho x 5-6 $\mu$ m de largo, con columelas prominentes en la base y punta redondeada. Poro circular de 7-12 $\mu$ m, con anillo de 4 $\mu$ m de ancho. Colpos (10-15 x 1-2 $\mu$ m). M.E.: LABUN 1167.

***Sida acuta* Burm.f.** (Figura 13S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/61/124>; No. 61)

Granos asimétricos, apolares, periporados (<10 poros), esferoidales, ámbito circular, 71-92 $\mu$ . Exina: 8-12 $\mu$ m, equinada. Espinas de 4-5 $\mu$ m, puntiagudas con base columelada. Poros circulares anulados, de 5-7 $\mu$ m. M.E.: LABUN 341.

**MELASTOMATACEAE**

***Conostegia icosandra* (Sw. ex Wikstr.) Urb.** (Figura 12S, No. 62)

Granos radiosimétricos, isopolares, heterocolpados, oblados esferoidales a prolados esferoidales, ámbito hexalobado; DE: 16-18, DP: 15-18 $\mu$ m. Exina: <1-1 $\mu$ m, escabrada. Poro lalongados, conspicuos (5-7 x 2-4 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 1-5 $\mu$ m de ancho. M.E.: ICN 0062.

***Miconia dodecandra* Cogn.** (Figura 13S, No. 63)

Granos radiosimétricos, isopolares, heterocolpados, oblado-esferoidales a prolados, ámbito hexalobado; DE: 19-29, DP: 25-35 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m escabrada y fosulada. Poros lalongados (6-10 x 2-4 $\mu$ m). Colpos tan largos como los granos, de 1-2 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 493.

***Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC.** (Figura 13S, No. 64)

Granos radiosimétricos, isopolares, heterocolpados, prolado-esferoidales a prolados, ámbito hexalobado; DE: 12-20, DP: 19-25 $\mu$ . Exina: 1-2 $\mu$ m, psilada o con ornamentación poco visible. Poros lalongados, inconspicuos (<1-2 $\mu$ m). Colpos más cortos que los colporos, de <1-1 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 646.

***Miconia serrulata* (DC.) Naudin** (Figura 13S, No. 65)

Granos radiosimétricos, isopolares, heterocolpados rara vez sincolpados, esferoidales a prolados, ámbito hexalobado; DE: 16-23, DP: 20-27 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada o microrreticulada. Poro lalongados a veces inconspicuos (2-7 x 1-5 $\mu$ m). Colpos más cortos que los colporos, de <1-1 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 781.

***Tibouchina longifolia* (Vahl) Baill.** (Figura 13S, No. 66)

Granos radiosimétricos, isopolares, heterocolpados, esferoidales a prolados, ámbito hexalobado; DE: 14-21, DP: 17-22 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada. Poros lalongados (2-4 x <1-3 $\mu$ m). Colpos más cortos que los colporos, de <1-2 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 667.

**MORACEAE**

***Poulsenia armata* (Miq.) Standl.** (Figura 3, No. 23)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados, suboblados a oblado-esferoidales, ámbito circular, DE: 18-22, DP: 15-17 $\mu$ m. Exina: 1 $\mu$ m, escabrada. Poros circulares y vestibulados (1,5-2 $\mu$ m). M.E.: ICN 4368.

***Pseudolmedia laevigata* Trécul** (Figura 13S, No. 67)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados o tetraporados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular, DE: 17-19, DP: 14-17 $\mu$ m. Exina: <1 $\mu$ m, ligeramente escabrada. Poros circulares (1-2 $\mu$ m). M.E.: ICN 2311.

***Trophis racemosa* (L.) Urb.** (Figura 13S, No. 68)

Granos radiosimétricos, isopolares, diporados pocas veces triporados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular; DE: 19-23, DP: 17-21 $\mu$ m. Exina: <1 $\mu$ m, ligeramente escabrada. Poros circulares y vestibulados (1,5-2 $\mu$ m). M.E.: ICN 977.

**MUNTINGIACEAE**

***Muntingia calabura* L.** (Figura 4, No. 24)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular o trilobado; DE: 13-18, DP: 12-18 $\mu$ m. Exina: 1-1,5 $\mu$ m, microrreticulada; retículo heterobrocado simplicolumelado, más pequeño hacia los colpos y poros. Poros lalongados a circulares (4-5 x 1-5 $\mu$ m); colpos tan largos como los granos, de 1-5 $\mu$ m de ancho, a veces con constricción ecuatorial; lado apocolpio de 3-5 $\mu$ m. M.E.: LABUN 444.

**MYRTACEAE**

***Calycolpus moritzianus* (O.Berg) Burret** (Figura 13S, No. 69)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, peroblados a suboblados, ámbito triangular convexo; DE: 19-27, DP: 12-17 $\mu$ m. Exina: 1-2 $\mu$ m, escabrada. Poros lalongados e inconspicuos (3-5 x <1-1 $\mu$ m). Colpos de 1-3 $\mu$ m de ancho. M.E.: LABUN 477.



*Eucalyptus globulus* Labill. (Figura 14S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/61/125>; No. 70)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados parasincolpados, peroblados a oblados, ámbito triangular cóncavo; DE: 31-41, DP: 12-22µm. Exina: 2-3µm, psilada. Poros lalongados (6-9 x 1-5µm); sexina engrosada en los poros. Colpos de 1-2µm de ancho. Lado apocolpio de 8-10µm. M.E.: LABUN 579.

*Myrcia splendens* (Sw.) DC. (Figura 14S, No. 71)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblados, ámbito triangular convexo; DE: 17-20, DP: 9-14µm. Exina: <1-1µm, escabrada. Poro lalongados con fastigio (4-7 x <1-1µm). Colpos de 1µm de ancho. M.E.: LABUN 331.

*Psidium guajava* L. (Figura 14S, No. 72)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblados a suboblados, ámbito triangular convexo, DE: 19-22, DP: 11-15µm. Exina: 1-2µm, escabrada o rugulada. Poros lalongados con fastigio (5-7 x 1-2µm). Colpos de 1-2µm de ancho. M.E.: LABUN 19.

*Syzygium jambos* (L.) Alston (Figura 14S, No. 73)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados parasincolpados, peroblados a oblados, ámbito triangular convexo; DE: 25-36, DP: 10-19µm. Exina: 2µm, psilada. Poros lalongados con fastigio (8-10 x 1-4µm); sexina engrosada en los poros. Colpos de 1-5µm de ancho. Lado apocolpio de 4-5µm. M.E.: LABUN 1767.

## OLEACEAE

*Fraxinus chinensis* Roxb. (Figura 4, No. 25)

Granos radiosimétricos, isopolares, estefanocolpados (cuatro a cinco colpos), oblados a oblado-esferoidales, ámbito circular, tetralobado o pentalobado; DE: 33-40, DP: 26-30µm. Exina: 2-3µm, reticulada. Retículo homobrocado, simpli-columelado, muro de <1µm de ancho, lumen de <1-2µm. Colpos (7-17 x 1-3µm). M.E.: LABUN BY142M.

## PHYLLANTHACEAE

*Hieronyma fendleri* Briq. (Figura 4, No. 26)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolados a perprolados, ámbito circular o trilobado; DE: 12-18, DP: 20-35µm. Exina: 1-2µm, microreticulada columelada. Poros lalongados (6-9 x 1-2µm); nexina engrosada en los poros. Colpos tan largos como los granos, de 1-3µm de ancho. M.E.: LABUN 1789.

## PHYTOLACCACEAE

*Phytolacca rivinoides* Kunth & C.D.Bouché (Figura 14S, No. 74)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular, DE: 26-35, DP: 27-33µm. Exina: 1-3µm, granulada. Poro lalongados, aveces inconspicuos (7-11 x 3-5µm). Colpos tan largos como los granos, de 3-5µm de ancho, con borde irregular y restos de membrana ectexínica. Lado apocolpio de 8-14µm. M.E.: LABUN 2087.

## PIPERACEAE

*Piper aduncum* L. (Z 4, No. 27)

Granos con simetría bilateral, isopolares, monocolpados, oblados a esferoidales; DE: 7-10, DP: 8-12µm. Exina: <1µm, aparentemente microrreticulada. M.E.: LABUN 375.

## POLYGONACEAE

*Triplaris americana* L. (Figura 14S, No. 75)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esferoidales a subprolados, ámbito circular; DE: 30-39, DP: 36-45µm. Exina: 3-5µm, rugulada o verrugada; verrugas de tamaño variable, de 1-5µm de ancho. Poros lalongados (4-6 x 1-5µm). Colpos tan largos como los granos, de 1 - 4µm. Lado apocolpio de 5-9µm. M.E.: LABUN 507.

## PRIMULACEAE

*Ardisia guianensis* (Aubl.) Mez (Figura 5, No. 28)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, prolado-esferoidales a subprolados, ámbito circular o trilobado; DE: 10-13, DP: 12-15µm. Exina: 1-2µm, microrreticulada. Poros lalongados (3 x 1µm); nexina ensanchada en los bordes de los poros. Colpos tan largos como los granos, de 1µm de ancho. M.E.: ICN 4609.

*Cybianthus nevadensis* (Mez) G.Agostini (Figura 5, No. 29)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a subprolados, ámbito trilobado, DE: 18-22, DP: 20-23µm. Exina: 1-2µm, psilada o ligeramente escabrada. Poros lalongados, aveces con constricción ecuatorial (6-10 x 1-3µm). Colpos tan largos como los granos, de 3-4µm de ancho. Lado apocolpio de 4-7µm. M.E.: LABUN 2101.

## PROTEACEAE

*Roupala montana* Aubl. (Figura 14S, No. 76)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados, oblados a suboblados, ámbito triangular recto; DE: 30-35, DP: 18-24µm. Exina: 1,5-2µm, escabrada fosulada. Poros circulares (3-6µm). M.E.: ICN L61.

## RHAMNACEAE

*Gouania polygama* (Jacq.) Urb. (Figura 5, No. 30)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a oblado-esferoidales, ámbito angular; DE: 25-35, DP:

25-31µm. Exina: 2µm, escabrada; poros lalongados (8-10 x 2-5µm). Colpos tan largos como los granos, de 4-5µm de ancho; margo con escabras más grandes; lado apocolpio de 7-9µm. M.E.: LABUN 811.

## ROSACEAE

*Rubus urticifolius* Poir. (Figura 5, No. 31)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a prolados, ámbito circular o trilobado; DE: 22-30 µm, DP: 23-30µm. Exina: 2µm, estriada microrreticulada; poros lalongados o irregulares (8 x 1-7µm). Colpos con márgenes irregulares, tan largos como los granos, de 1-5µm de ancho. Lado apocolpiode 6-11µm. M.E.: LABUN 459.

## RUBIACEAE

*Coffea arabica* L. (Figura 5, No. 32)

Granos polimórficos radiosimétricos, isopolares o heteropolares, tricolporados, estefanocolporados (cuatro colpos) o pericolporados, a veces sincolpados, oblado-esferoidales a prolado-esferoidales, ámbito circular o cuadrangular; DE: 32-40µm, DP: 30-38µm. Exina: 2µm, granulada, perforada, foveolada, fosulada, areolada o reticulada (en la Figura 5 No. 32 aparece ornamentación reticulada, fosulada); poros lalongados, irregulares o circulares, a veces anulados (2-8 x 3-11µm). Colpos con márgenes irregulares y de longitud variable, de 3-7µm de ancho; a veces se presentan colpos latitudinales en el área polar o ecuatorial. M.E.: LABUN M1C01.

*Spermacoce verticillata* L. (Figura 14S, No. 77)

Granos radiosimétricos, isopolares, estefanocolpados (seis a siete colpos), suboblados a oblado-esferoidales, ámbito circular; DE: 32-41, DP: 30-37µm. Exina: 2-4µm, columelada. Colpos cortos (6-8 x 1-3µm). M.E.: LABUN 703.

*Warszewiczia coccinea* (Vahl) Klotzsch (Figura 15S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/126>; No. 78)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, suboblados a subprolados, ámbito circular o trilobado; DE: 19-28, DP: 19-29µm. Exina: 2-4µm, reticulada. Retículo homobrocado, simplicolumelado, muro de 1µm de ancho, lumen de 2-4µm. Poros circulares anulados (3-5µm). Colpo ecuatorial de 5-6µm de ancho. Colpos tan largos como los granos, de 3-5µm de ancho. Lado apocolpio de 5-9µm. M.E.: LABUN 672.

## RUTACEAE

*Citrus aurantium* L. (Figura 15S, No. 79)

Granos radiosimétricos, isopolares, estefanocolporados (cuatro colpos), oblados a prolado-esferoidales, ámbito circular o tetralobado; DE: 26-37, DP: 26-40µm. Exina: 2-4µm, reticulada en el mesocolpio y columelada en el apocolpio.

Retículo heterobrocado, más pequeño en los polos, simplicolumelado o duplicolumelado, muro de 1-2µm de ancho, lumen de 1-2µm. Poros lalongados (6-12 x 2-6µm). Colpos tan largos como los granos, de 1-4µm de ancho. Lado apocolpio de 7-12µm. M.E.: LABUN 287.

## SALICACEAE

*Casearia corymbosa* Kunth (Figura 15S, No. 80)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, esferoidales a subprolados, ámbito circular; DE: 20-27, DP: 22-29µm. Exina: 1µm, perforada. Poro lalongados (7-10 x 3-5µm). Colpos (20-26 x 1-4µm), con margo. M.E.: ICN 5230.

## SAPINDACEAE

*Cupania americana* L. (Figura 15S, No. 81)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados parasincolpados, peroblados a oblados, ámbito triangular recto o concavo; DE: 36-41, DP: 18-22µm. Exina: 1-4µm, escabrada columelada. Poros lalongados (3-4 x 1-3µm). Colpos de 1-2µm. Lado apocolpio de 1-5µm. M.E.: LABUN 366.

*Melicoccus bijugatus* Jacq. (Figura 5, No. 33)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblado-esferoidales a prolados, ámbito circular o trilobado; DE: 17-23, DP: 20-27µm. Exina: 1-2µm, psilada. Poros lalongados (3-5 x 1-2µm), costados. Colpos tan largos como los granos, de 1-2µm de ancho. Lado apocolpio de 5-9µm. M.E.: LABUN 408.

*Melicoccus oliviformis* Kunth (Figura 5, 34)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, oblados a oblado-esferoidales, ámbito triangular convexo, DE: 26-31, DP: 20-26µm. Exina: 1-2µm, escabrada y estriada. Poros compuestos, mesoapertura circular lalongada (5-8 x 4-6µm), exoapertura lalongada (6-9 x 1µm). Colpos tan largos como los granos, de 4-7µm de ancho, lado apocolpio de 4-9µm. M.E.: LABUN 2086.

*Paullinia macrophylla* Kunth (Figura 15S, No. 82)

Granos radiosimétricos, isopolares, triporados, oblados, ámbito triangular recto o convexo, DE: 38-50, DP: 23-32µm. Exina: 2-3µm, columelada y perforada. Poros circulares o lalongados con borde irregular (4-12µm). M.E.: LABUN 2097.

*Serjania paniculata* Kunth (Figura 15S, No. 83)

Granos radiosimétricos, heteropolares, tricolporados sincolpados, peroblados a oblados, ámbito triangular, DE: 37-48, DP: 20-26µm. Exina: 1,5µm, columelada y perforada. Poros vestibulados de forma irregular (1-4µm). Colpos angostos, visibles solo por un hemisferio, de <1µm de ancho. M.E.: LABUN 2095.

## SOLANACEAE

***Brugmansia pittieri*** (Saff.) Moldenke (Figura 16S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/61/127>; No. 84)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados zonorados, suboblados a prolado-esferoidales, ámbito circular; DE: 56-72, DP: 50-64µm. Exina: 2,5-10µm, estriada en el mesocolpio, rugulada en el apocolpio, muro de 1-2µm de ancho, lumen de <1-1µm. Poros circulares (4-10µm), anulados. Colpos inconspicuos, cortos y costados. Colpo ecuatorial de 6-10µm de ancho. M.E.: ICN 5099.

***Solanum aturense*** Dunal (Figura 16S, No. 85)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados zonorados, ámbito circular; DE: 20-31, DP: 27-33µm. Exina: 1-2µm, escabrada. Poros alargados y sobresalientes (11-21 x 4-81-2µm). Colpos tan largos como los granos, de 4-8µm de ancho. Colpo ecuatorial presente. M.E.: LABUN 614.

## URTICACEAE

***Cecropia peltata*** L. (Figura 5, No. 35)

Granos con simetría bilateral, isopolares, diporados pocas veces triporados, subprolados a prolados, ámbito circular o triangular en los triporados; DE: 8-12µm, DP: 12-17µm. Exina: <1µm, escabrada. Poros circulares de 1µm de diámetro. M.E.: LABUN 727.

## VITACEAE

***Cissus verticillata*** (L.) Nicolson & C.E.Jarvis (Figura 16S, No. 86)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, subprolados a prolados, apiculados, ámbito trilobado; DE: 30-45, DP: 52-62 µm. Exina: 2-3µm, granulada perforada. Poros alargados (8-14 x 2-7µm). Colpos tan largos como los granos, de 1-4 µm de ancho. Lado apocolpio de 3-5µm. M.E.: LABUN 726.

***Vitis tiliifolia*** Humb. & Bonpl. ex Schult. (Figura 5, No. 36)

Granos radiosimétricos, isopolares, tricolporados, subprolados a prolado-esferoidales, ámbito hexagonal; DE: 20-30µm, DP: 21-36µm. Exina: 1,5-2µm, microrreticulada en el apocolpio y escabrada en el mesocolpio. Poros circulares con borde engrosado (2-4µm). Colpos tan largos como los granos, de 1-2µm de ancho. Lado apocolpio de 5-8µm; margo psilado. M.E.: LABUN 1814.

## Conclusiones

Presentamos las descripciones polínicas de 122 especies, con la certeza de que 59 aparecen en la miel de *A. mellifera* producida en la Sierra Nevada de Santa Marta. Entre las restantes se encuentran las especies afines a los morfotipos que únicamente se identificaron a nivel de género o familia (**Nates Parra, et al.**, 2013, **León-Bonilla**, en preparación), pues su morfología polínica no permite identificarlas con un mayor grado de resolución mediante microscopía óptica únicamente. Algunos ejemplos de las familias con granos de polen menos diferenciables son Poaceae, Asteraceae, Melastomataceae, Moraceae y Myrtaceae, entre otras (**Roubik & Moreno**, 1991; **Palacios-Chávez, et al.**, 1991). En la tabla 1 aparecen las especies que corresponden a los morfotipos no identificados a nivel de especie, así como información sobre los nombres comunes, la oferta de néctar y los rangos de abundancia en la miel, además de algunas observaciones ecológicas relativas al hábito, el origen geográfico y la distribución altitudinal.

Las especies descritas se distribuyen en 54 familias, entre las cuales las más abundantes en especies son Asteraceae, con 14, Fabaceae, con 9, Malvaceae, con 8, Euphorbiaceae, con 6, y Melastomataceae, Myrtaceae, Poaceae y Sapindaceae, con 5 cada una. Las principales especies nectaríferas que aparecen como polen dominante en la miel son *A. inulifolium*, *C. morifolia*, *B. simaruba*, *C. hirtus* (*Croton* spp.), *G. sepium*, *I. oerstediana*, *A. floribunda*, *H. americanus*, *M. calabura*, *R. urticifolius* (*Rubus* spp.), *C. arabica* y *V. tiliifolia*. Las especies no productoras de néctar que también aparecen como polen dominante son *A. graveolens*, *C. palmata*, *B. guaduensis* (*Begonia* spp.), *T. micrantha*, *H. racemosum*, *D. dentatus*, *M. albida*, *M. pudica*, *P. armata* (*Moraceae* spp.), *P. aduncum* (*Piper* spp.) y *C. peltata*. El 50 % de las especies son árboles, 21 % corresponde a arbustos, 21 % a hierbas y 7 % a bejucos; 59 % son frecuentes en áreas intervenidas y 13 % son exóticas.

La mayoría de las especies aquí descritas son plantas comunes también visitadas por *A. mellifera* en otras zonas cafeteras de Colombia (**Castaño & Fonnegra**, 1981, **Echeverry**, 1984, **Girón-Vanderhuck**, 1995, **Sánchez**, 1995, **Giraldo, et al.**, 2011, **Velandia, et al.**, 2012, **Nates-Parra, et al.**, 2013), de tal manera que este catálogo no solo servirá como herramienta para los análisis melisopalinológicos de la Sierra Nevada de Santa Marta sino también para otras regiones similares del país.

---

## Información suplementaria

---

**Figura 1S.** ARECACEAE: 1. *Bactris gasipaes* var. *Chichagu*. 2. *Euterpe precatoria*. 3. *Geonoma interrupta*. CYPERACEAE:

4. *Rhynchospora barbata*. 5. *Scleria mitis*. POACEAE: 6. *Brachiaria brizantha*. 7. *Holcus lanatus*.

**Figura 2S.** POACEAE: 8. *Melinis minutiflora*. 9. *Pennisetum purpureum*. 10. *Zea mays*. ACTINIDACEAE: 11. *Saurauia yasicae*. AMARANTHACEAE: 12. *Iresine diffusa*.

**Figura 3S.** ANACARDIACEAE: 13. *Mangifera indica*. AQUIFOLIACEAE: 14. *Ilex kunthiana*. ARALIACEAE: 15. *Oreopanax capitatus*. ASTERACEAE: 16. *Acmella ciliata*. 17. *Baccharis trinervis*. 18. *Bidens pilosa*. 19. *Clibadium surinamense*.

**Figura 4S.** ASTERACEAE: 20. *Emilia sonchifolia*. 21. *Hypochaeris radicata*. 22. *Lepidaploa canescens*. 23. *Mikania micrantha*. 24. *Neurolaena lobata*.

**Figura 5S.** ASTERACEAE: 25. *Tithonia diversifolia*. BALSAMINACEAE: 26. *Impatiens walleriana*. BIGNONIACEAE: 27. *Tabebuia rosea*.

**Figura 6S.** BORAGINACEAE: 28. *Cordia alba*. 29. *Cordia alliodora*. 30. *Cordia spinescens*.

**Figura 7S.** CANNABACEAE: 31. *Celtis iguanaea*. CHRYSOBALANACEAE: 32. *Chrysobalanus icaco*. CLUSIACEAE: 33. *Clusia multiflora*. CONVOLVULACEAE: 34. *Ipomoea batatas*.

**Figura 8S.** CONVOLVULACEAE: 35. *Merremia umbellata*. ELAEOCARPACEAE: 36. *Sloanea multiflora*. ERYTHROXYLACEAE: 37. *Erythroxylum novogranatense*. ESCALLONIACEAE: 38. *Escallonia pendula*.

**Figura 9S.** EUPHORBIACEAE: 39. *Acalypha macrostachya*. 40. *Alchornea latifolia*. 41. *Euphorbia hirta*. 42. *Ricinus communis*. 43. *Sapium glandulosum*. FABACEAE (FABOIDEAE): 44. *Aeschynomene americana*. 45. *Erythrina rubrinervia*.

**Figura 10S.** FABACEAE (FABOIDEAE): 46. *Trifolium repens*. FABACEAE (MIMOSOIDEAE): 47. *Mimosa pigra*. HYPERICACEAE: 48. *Vismia baccifera*. ICACINACEAE:

49. *Calatola costaricensis*. LAMIACEAE: 50. *Hyptis mutabilis*. 51. *Salvia occidentalis*. LAURACEAE: 52. *Persea americana*. LYTHRACEAE: 53. *Adenaria floribunda*.

**Figura 11S.** MALPIGHIACEAE: 54. *Stigmaphyllon columbicum*. MALVACEAE (BOMBACOIDEAE): 55. *Ceiba pentandra*. 56. *Ochroma pyramidale*. 57. *Pseudobombax septenatum*.

**Figura 12S.** MALVACEAE (BYTTNERIOIDEAE): 58. *Melochia parvifolia* (a-b: morfotipo 1, c-d: morfotipo 2). MALVACEAE (GREWIOIDEAE): 59. *Corchorus orinocensis*. MALVACEAE (MALVOIDEAE): 60. *Abutilon x hybridum*. MELASTOMATAACEAE: 62. *Conostegia icosandra*.

**Figura 13S.** MALVACEAE (MALVOIDEAE): 61. *Sida acuta*. MELASTOMATAACEAE: 63. *Miconia dodecandra*. 64. *Miconia minutiflora*. 65. *Miconia serrulata*. 66. *Tibouchina longifolia*. MORACEAE: 67. *Pseudolmedia laevigata*. 68. *Trophis racemosa*. MYRTACEAE: 69. *Calycolpus moritzianus*.

**Figura 14S.** MYRTACEAE: 70. *Eucalyptus globulus*. 71. *Myrcia splendens*. 72. *Psidium guajava*. 73. *Syzygium jambos*. PHYTOLACCACEAE: 74. *Phytolacca rivinoides*. POLYGONACEAE: 75. *Triplaris americana*. PROTEACEAE: 76. *Roupala montana*. RUBIACEAE: 77. *Spermacoce verticillata*.

**Figura 15S.** RUBIACEAE: 78. *Warszewiczia coccinea*. RUTACEAE: 79. *Citrus aurantium*. SALICACEAE: 80. *Casearia corymbosa*. SAPINDACEAE: 81. *Cupania americana*. 82. *Paullinia macrophylla*. 83. *Serjania paniculata*.

**Figura 16S.** SOLANACEAE: 84. *Brugmansia pittieri*. 85. *Solanum aturense*. VITACEAE: 86. *Cissus verticillata*.

## Agradecimientos

A Colciencias, al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, ICTA, y al Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, por el apoyo logístico y financiero al proyecto “Identificación de marcadores para la miel de abejas originaria de cultivos de café orgánico en la Sierra Nevada de Santa Marta”, (código QUIPU 201010017326). A los profesores Luis Carlos Jiménez y Carlos Parra, por permitir el ingreso al Herbario Nacional Colombiano y a la colección palinológica del ICN, a Marta Quicazán y Consuelo Díaz, por su apoyo, y al equipo del Laboratorio de Investigaciones en Abejas, LABUN, por su colaboración en los procedimientos palinológicos.

## Bibliografía

- Anónimo** (2013). Biodiversidad: Comunidades vegetales. Fundación Pro Sierra Nevada de Santa Marta. Fecha de consulta: 7 de octubre de 2013. Disponible en: [http://www.prosierra.org/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=94](http://www.prosierra.org/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=94).
- Anónimo** (2003). Consolidación de la gestión y el ordenamiento territorial en la ecorregión de la Sierra Nevada de Santa Marta, Barranquilla: Ministerio del Medio Ambiente, Consejo Ambiental Regional de la Sierra Nevada de Santa Marta. Corporación Melquíades. p.76.
- Bernal, R., Galeano, G., Rodríguez, A., Sarmiento, H., Gutiérrez, M.** (2013). Nombres Comunes de las Plantas de Colombia. Fecha de consulta: 3 de octubre de 2013. Disponible en: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/nombrescomunes/>.



- Castaño, S. I. & Fonnegra R.** (1981). Análisis polínico en miel de abejas de algunas regiones de Antioquia. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*. **3** (3): 100–110.
- Crane, E.** (1985). *El libro de la miel*. Breviarios, 349. México: Fondo de Cultura Económica. p. 289.
- Echeverry, E. R.** (1984). *Flora apícola colombiana*. Bogotá: Presidencia de la República de Colombia. p. 283.
- Erdtman, G.** (1943). *An introduction to pollen analysis*. Waltham Mass.: Chronica Botanica Co. p. 239.
- Espinal, S. & Montenegro, G.** (1963). Formaciones vegetales de Colombia: memoria explicativa sobre el mapa ecológico. Bogotá D.E.: Instituto Geográfico Agustín Codazzi. p. 238.
- Giraldo, C., Rodríguez, A., Chamorro, F., Obregón, D., Montoya, P., Ramírez, N., Solarte, V., Nates-Parra, G.** (2011). *Guía Ilustrada de polen y plantas nativas visitadas por abejas*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia. p. 230.
- Girón Vanderhuck, M.** (1995). Análisis palinológico de la miel y la carga de polen colectada por *Apis mellifera* en el suroeste de Antioquia, Colombia. *Bol. Mus. Ent. Univ. Valle*. **3** (2): 35–54.
- Hooghiemstra, H.** (1984). Vegetational and climatic history of the high plain of Bogotá, Colombia. *Dissertationes Botanicae*, **79**: p. 368.
- Jiménez, L.C. & Rangel, J.O.** (1997). Atlas Palinológico de la Amazonia Colombia II. Familia Asteraceae. *Caldasia*. **19** (1–2): 29–39.
- León-Bonilla, D.** (2014) Análisis polínico de mieles de cultivos orgánicos y convencionales de la Sierra Nevada de Santa Marta. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Manuscrito en preparación.
- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G.** (1970). Methods of melissopalynology. *Bee World*. **51** (3): 125-138.
- Nates-Parra, G., Montoya, P.M., Chamorro, F., Ramírez, N., Giraldo, C., Obregón, D.** (2013). Origen geográfico y botánico de mieles de *Apis mellifera* (Apidae) en cuatro departamentos de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. **18** (3): 427-238.
- Nicolson, S. W., Nepi, M. & Pacini, E.** (2007). *Nectaries and nectar*. Dordrecht: Springer. p. 395.
- Palacios-Chávez, R., B. Ludlow-Wiechers, R., & Villanueva G.** (1991). Flora palinológica de la reserva de la biosfera de Sian Kaán, Quintana Roo, México. Chetumal, Quintana Roo: Centro de Investigaciones de Quintana Roo. p. 321.
- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S., Le Thomas, A.** (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*. **143**: 1-81.
- Rangel, J.O. & Bogotá, R.G.** (2001). Atlas Palinológico de la Amazonia Colombiana IV. Familia Arecaceae. *Caldasia*. **23** (1): 281–300.
- Roubik, D. W. & Moreno J. E.** (1991). *Pollen and spores of Barro Colorado Island*. Monographs in Systematic Botany. St. Louis, Montana, United States: Missouri Botanical Garden. p. 270.
- Sánchez, D.** (1995). Calendarios apícolas para el suroeste antioqueño. *Miscelanea Sociedad Colombiana de Entomología*. **32**: 1–40.
- Velandia, M., Restrepo, S. Cubillos, P., Aponte, A., Silva, L.M.** (2012). Catálogo fotográfico de especies de flora apícola en los departamentos de Cauca, Huila y Bolívar. Bogotá: Instituto Humboldt. p. 84.
- Velásquez, C.** (1999). Atlas palinológico de la flora vascular paramuna de Colombia: Angiospermae. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. p. 173.
- Von der Ohe, W., Persano-Oddo, L., Piana, M.L., Morlot, M., Martin, P.** (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*. **35**: S18-S25.



# Evaluación de la comunidad desnitrificante tipo *nosZ* en la columna de agua de Isla del Sol, embalse de Prado, Tolima

Maribeb Castro-González

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima

## Resumen

En este trabajo se evaluó la diversidad genética de las comunidades desnitrificantes relacionadas con el reciclaje del gas invernadero óxido nitroso ( $N_2O$ ) en la columna de agua de Isla del Sol, en el embalse de Prado, mediante el análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción terminal del gen funcional *nosZ*, que codifica para la reducción de  $N_2O$  a  $N_2$  durante la desnitrificación. Este es el primer reporte que demuestra la presencia de microorganismos desnitrificantes tipo *nosZ* en un ecosistema acuático colombiano. Los resultados indicaron que la digestión con la enzima *MspI* generó un mejor perfil de la comunidad *nosZ* (expresado en una mayor riqueza de fragmentos de restricción terminal, FRT), que el obtenido con la enzima *HhaI*. Además, la comunidad de tipo *nosZ* presentó mayor riqueza y diversidad (índice de Shannon -  $H'=0,9$ ) de FRT en la profundidad (9m) a la cual se encontraron condiciones subóxicas (1,1 mg/l de  $O_2$ ) y altos niveles de nitrato (0,78 mg/l), lo cual podría favorecer la reducción de  $N_2O$  a  $N_2$ . Estos resultados son la base para el desarrollo de investigaciones futuras que permitan establecer la funcionalidad y significancia de estas comunidades en la regulación de las emisiones de  $N_2O$  desde esta hidroeléctrica.

**Palabras clave:** desnitrificación, embalse, gen funcional, suboxia, hipolimnion.

## Evaluation of the *nosZ*-type denitrifier community in Isla del Sol water column, Prado reservoir, Tolima

### Abstract

In the present study the genetic diversity of denitrifying communities related to the recycling of greenhouse gas nitrous oxide ( $N_2O$ ) in Isla del Sol water column, Prado dam (Tolima), was analyzed using the terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the *nosZ* functional gene, which encodes the  $N_2O$  reduction to  $N_2$  during denitrification. This is the first report demonstrating the presence of *nosZ*-type denitrifying microorganisms in a Colombian aquatic ecosystem. The results indicated that digestion with the *MspI* enzyme generated a better *nosZ* community profile (expressed in an increase of terminal restriction fragments - TRF) than the *HhaI* enzyme. Besides, the *nosZ* community had a higher TRF richness and diversity (Shannon index -  $H'=0.9$ ) at the depth (9m) where suboxic conditions (1.1 mg/L  $O_2$ ), as well as high nitrate levels (0.78 mg/L) were found, which could favoured  $N_2O$  reduction to  $N_2$ . These results are the base for future studies on the functionality and significance of such communities for the regulation of  $N_2O$  emissions from this dam.

**Key words:** Denitrification, reservoir, functional genes, suboxia, hypolimnion.

## Introducción

La desnitrificación (canónica y quimiolitotrófica) y la oxidación de amonio anaeróbico (*anaerobic ammonium oxidation*, anammox) son los principales procesos microbianos que producen  $N_2$  a partir de la remoción del nitrógeno fijado en diversos hábitats acuáticos, incluidos los lagos (Hulth, et al., 2005, Schubert, et al., 2006, Harrison, et al., 2009, Bai, et al., 2012, Wen, et al., 2012, Wenk, et al., 2013) y los embalses (Deemer, et al., 2011; Beaulieu, et al., 2014). Sin embargo, solo la desnitrificación puede generar  $N_2O$  durante la reducción del nitrato a gas dinitrógeno (Zumft & Kroneck,

2007) con niveles bajos de  $O_2$ . Existe una amplia variedad de grupos taxonómicos en los dominios de *Bacteria* y *Archaea* (Zumft, 1997) que llevan a cabo este proceso. La reducción de nitrito a óxido nítrico distingue las bacterias desnitrificantes de otras que respiran nitrato. Esta reacción es catalizada por dos reductasas de nitrito diferentes: una citocromo  $Cd^{-1}$  codificada por el gen *nirS*, y una enzima que contiene cobre codificada

### Correspondencia:

Maribeb Castro-González, mcastro@ut.edu.co

Recibido: 10 de octubre de 2014

Aceptado: 2 de diciembre de 2014

por el gen *nirK*. La reducción de óxido nitroso ( $N_2O$ ), último paso de la desnitrificación, es catalizada por la reductasa de óxido nitroso codificada por el gen *nosZ*. Esta enzima se encuentra en todas las bacterias desnitrificantes que reducen nitrato a dinitrógeno y también en unas pocas bacterias no desnitrificantes como *Wolinella (Vibrio) succinogenes*, que usa el  $N_2O$  como un aceptor terminal de electrones (Zumft, 1997, Zumft & Kroneck, 2007).

En condiciones naturales, y dependiendo del nivel de  $O_2$  imperante, la columna de agua puede presentar hipoxia ( $\leq 1,4$  ml/l  $O_2$ ), suboxia ( $\leq 0,1$  ml/l  $O_2$ ), o anoxia (0 ml/l  $O_2$ ) (Naqvi, et al., 2010), lo que incide en diferentes aspectos de la desnitrificación como el incremento en la abundancia de bacterias desnitrificantes productoras de  $N_2O$  en la interfase óxica-anóxica; el consumo de  $N_2O$  por desnitrificación en aguas subóxicas y anóxicas; la producción de  $N_2O$  por desnitrificación o la oxidación de  $NH_4^+$  en aguas hipóxicas y óxicas de embalses (Deemer, et al., 2011; Beaulieu, et al., 2014), y la desnitrificación en microambientes anóxicos en aguas oxigenadas (Brettar & Höfle, 1993; Naqvi, et al., 2000). Además, en varios estudios se ha analizado la composición de la comunidad desnitrificante en relación con la variación del oxígeno, el nitrato, el nitrito, los gradientes redox y la disponibilidad de materia orgánica (Castro-González, et al., 2005; Hallin, et al., 2007; Baxter, et al., 2012, Baxter, et al., 2013), considerándolos como factores clave en la regulación de la desnitrificación y del reciclaje de  $N_2O$  en ecosistemas acuáticos y terrestres (Zumft, 1997).

Los lagos, embalses y ríos son sitios de desnitrificación activos y contribuyen en ~20 % a la remoción del nitrógeno global (Seitzinger, et al., 2006). Algunos modelos indican que los embalses o reservorios contribuyen más a la remoción de nitrógeno que los lagos (Harrison, et al., 2009), y que tienen gran importancia en el balance global del  $N_2O$  (St. Louis, et al., 2000). Desde 1990 se sabe que los lagos artificiales y embalses hidroeléctricos emiten gases de efecto invernadero (Rudd, et al., 1993), y actualmente se estima que contribuyen con cerca del 7 % a las emisiones originadas por la acción del hombre en áreas tropicales (St. Louis, et al., 2000). Aunque se han hecho estudios en algunos embalses sobre la producción y consumo de  $N_2O$  por desnitrificación (Deemer, et al., 2011; Beaulieu, et al., 2014) y sobre los flujos de  $N_2O$  en hidroeléctricas, principalmente en Brasil (Goldenfum, 2012), muy poco se conoce sobre la diversidad genética de las comunidades microbianas desnitrificantes de tipo *nosZ* encargadas de su reducción; de ahí la importancia de iniciar estudios en esta área.

El estudio de la diversidad de las comunidades desnitrificantes en diversos ecosistemas acuáticos ha implicado el uso y el desarrollo de la genómica funcional, ya que estas constituyen un grupo polifilético (Hallin, et al., 2007). Los genes que codifican para la reductasa de nitrito (*nirS* y *nirK*)

y la reductasa de óxido nitroso (*nosZ*) han permitido el análisis de la diversidad de las bacterias (Jones, et al., 2013) y las arqueobacterias desnitrificantes (Rusch, 2013) en ecosistemas acuáticos mediante el análisis de los fragmentos de restricción terminal y la secuenciación convencional de clones (Castro-González, et al., 2005); la electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (*denaturing gradient gel electrophoresis*, DGGE) (Throbäck, et al., 2004), la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (Dong, et al., 2009) y, más recientemente, la pirosecuenciación (Palmer, et al., 2012, Bowen, et al., 2013). La técnica de análisis de los fragmentos de restricción terminal se basa en la variación de la posición del sitio de restricción entre secuencias de una comunidad bacteriana, la cual genera diferentes fragmentos de restricción terminal (FRT) que son detectados por la emisión de fluorescencia en secuenciadores automáticos durante la electroforesis en gel de alta resolución. Esta técnica tiene ventajas frente a los demás métodos por su facilidad de manejo en el laboratorio y porque genera datos cuantitativos y precisos (tamaño en pares de bases e intensidad de la fluorescencia de cada FRT), lo que permite la diferenciación de comunidades microbianas en diversos ambientes con base en la riqueza y la abundancia relativa de los FRT estimados en el análisis (Dumbar, et al., 2001).

Teniendo en cuenta que el embalse de Prado en el sur del Tolima se caracteriza por ser un embalse eutrofizado, estratificado térmica y químicamente, con bajos niveles de oxígeno y gran cantidad de materia orgánica (Márquez & Guillot, 1988), es probable que allí ocurran diversos procesos microbianos, entre ellos, la desnitrificación. Sin embargo, aunque la represa es considerada como una de las más grandes e importantes de Colombia, solo recientemente se viene abordando el estudio de la composición de las comunidades desnitrificantes, los ciclos biogeoquímicos y la producción de gases invernadero como el  $N_2O$  en ella. Con respecto a este último aspecto, en algunos estudios recientes se han encontrado niveles elevados de  $N_2O$  (36,5-46,3  $\mu M$ ) en la columna de agua de Isla del Sol (Castro-González & Torres-Valdés, 2014), lo que ha generado inquietudes sobre si hay comunidades microbianas portadoras del gen *nosZ* con potencial para reducir el  $N_2O$  a  $N_2$  que ayuden a disminuir las eventuales emisiones de este gas invernadero desde el embalse hacia la atmósfera. Por lo anterior, los objetivos de esta investigación fueron comparar la composición de la comunidad desnitrificante de tipo *nosZ* en aguas superficiales (2m) y de fondo (9m) en el área de Isla del Sol, y analizar las diferencias en la estructura de dicha comunidad con relación a los parámetros ambientales prevalentes.

## Metodología

El muestreo se realizó en septiembre de 2012 en el embalse de Prado, ubicado en el sur del Tolima, a 365 msnm, específicamente en el área de Isla del Sol, localizada a 03°45'N y

04°51'O. En este punto se determinó previamente el perfil vertical de oxígeno, la temperatura y el pH entre 0 y 10 m de profundidad con un equipo multiparámetro Oakton®, con el fin de establecer a qué profundidad se tomarían las muestras para el análisis molecular y de nutrientes. Con base en estos parámetros se tomaron las muestras de agua (5 litros) con botella vertical a 2 y 9 metros de profundidad, dado que entre esos dos niveles se observó contraste en la concentración de O<sub>2</sub>. A continuación se filtraron 100 ml de agua en membranas con poros de 0,22 µm de tamaño y se congelaron a -20 °C para el posterior análisis de nitrógeno amoniacal mediante el método de Kjeldahl, y de nitrato y nitrito a 220-275 nm y 510 nm, respectivamente, mediante técnicas espectrofotométricas y siguiendo los métodos descritos en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1999) para análisis de nutrientes en aguas, todo lo cual se hizo en el correspondiente laboratorio de la Universidad del Tolima. El agua restante se refrigeró y se guardó en la oscuridad hasta su filtración consecutiva en membranas con poros de 20, 8 y 0,22 µm de tamaño. Las membranas de 0,22 µm se congelaron en viales de congelación con tampón de lisis (400 Mm NaCl, 0,75 M sucrosa, 50 Mm Tris p H 9) a -20 °C hasta realizar la extracción de ADN.

La extracción de ADN de los microorganismos recolectados sobre las membranas de 0,22 µm se hizo siguiendo el método descrito por **Castro-González, et al.**, (2005), consistente en digestión con lisozima (1mg/ml) y proteinasa K (10 mg/ml), lisis celular por choque térmico, extracción con fenol, cloroformo y alcohol isoamílico (25:24:1) y precipitación con etanol frío. La concentración y la pureza de las muestras se cuantificó por espectrofotometría a 260/280 nm utilizando un NanoDrop™ 2000.

La amplificación del gen funcional de la reductasa de óxido nitroso (*nosZ*) se hizo usando el par de cebadores *nosZ1188F-nosZ1869R* descritos por **Kloos, et al.**, (2001) para generar un amplicon de 700 pb. El cebador *nosZ1188F* se marcó con 6-carboxifluoresceína. La mezcla de reacción (25µl) incluyó 1µl de ADN (10 ng/µl), 2,5 µl de cada cebador (10 µM), 0,5µl de polimerasa REDAccuTaq® (Sigma), 2,5 µl del tampón de reacción de la enzima, 0,5 µl de la mezcla de dNTP (200 µM) y 2,5 µl de albumina de suero bovino (4 µg/ml) (Fermentas). La amplificación se estandarizó bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94 °C durante 1 minuto, alineamiento durante los primeros 10 ciclos con *touchdown* de 0,5 °C comenzando a 57 °C y manteniendo los restantes 25 ciclos a 56 °C, y una extensión final de 1 minuto a 72 °C. Los productos de amplificación se tiñeron con bromuro de etidio (0,5 mg/l) y se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 2 %. Los productos de tres réplicas de PCR se combinaron y posteriormente se eluyeron del gel usando el estuche Wizard®SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Mannheim, Germany).

Los amplicones del *nosZ* purificados (100 ng) se digirieron con 5U de las enzimas *HhaI* y *MspI* en sus respectivos tampones de reacción siguiendo las instrucciones del proveedor, y los productos digeridos se limpiaron en columnas Autoseq G-50 (Amersham Biosciences), ajustándose a las instrucciones del proveedor. Se mezclaron alícuotas de 2 µl del producto digerido con 12 µl de formamida desionizada (Applera, Darmstadt, Germany) y 0,2 µl del ADN de peso molecular estándar interno (X-Rhodamine map MarkerR 50-1000 bp; BioVentures, Murfreesboro, TN). Los fragmentos de restricción terminal (FRT) se separaron en un secuenciador ABI 310 (Applied Biosystems). Este análisis se hizo por triplicado para cada muestra con el fin de verificar la reproducibilidad de los FRT detectados, así como la fluorescencia relativa de cada uno de acuerdo a lo sugerido por **Dunbar, et al.**, (2001). El largo (pb) de los FRT marcados con fluorescencia se determinó por comparación con el ADN estándar interno usando el programa Gene Scan 3.71 (Applied Biosystems).

Para el análisis de los FRT se escogieron los picos que presentaron >50 unidades de fluorescencia y >45 pb. Los patrones obtenidos en cada profundidad se normalizaron en las mismas unidades de fluorescencia total usando el procedimiento de estandarización iterativa de **Dunbar, et al.**, (2001). El porcentaje de abundancia relativa de cada FRT se determinó calculando la proporción entre la altura del pico dado y la altura total de los picos normalizados en cada profundidad.

Para el análisis de los datos se estimó el índice de diversidad de Shannon y Simpson, así como el índice de similitud de Bray Curtis, usando el programa Biodiversity Pro 2.0 (**McAleece**, 1997).

## Resultados y discusión

### Parámetros fisicoquímicos

El área de Isla del Sol se caracterizó por presentar condiciones óxicas (4,1mg/l de O<sub>2</sub>) a 2 metros de profundidad e hipoxia (1,1mg/l de O<sub>2</sub>) a 9 m. La temperatura presentó una variación de 4 °C entre los 2 y los 9 metros. El nivel de nitrato y de nitrógeno amoniacal incrementó hacia los 9 metros de profundidad, mientras que el pH disminuyó y el nivel de nitrito fue muy bajo y cercano al límite de detección en ambas profundidades (Tabla 1).

Los datos de nutrientes, pH y temperatura superficiales concuerdan con los de estudios previos que han reportado un alto nivel de nitrógeno amoniacal (0,316 mg/l), y bajos niveles de nitratos (0,206 mg/l) y nitritos (0,003 mg/l), así como temperaturas altas y pH neutro en el embalse (**Márquez & Guillot**, 1988; **Canosa & Pinilla**, 2007). Dichos estudios han reportado también niveles elevados de sólidos suspendidos (20,7 mg/l) y de nitrógeno total (7,8 mg/l), además de bajos niveles de conductividad (53,2 µS/cm) y de alcalinidad (13,0).



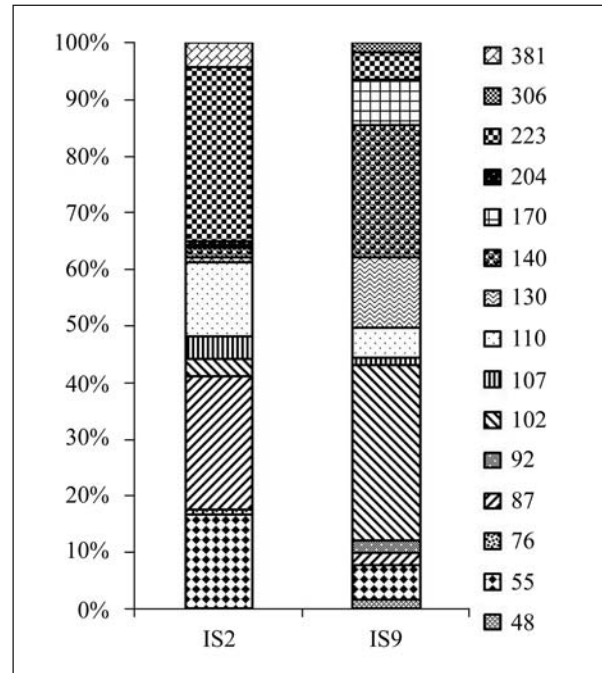
**Tabla 1.** Parámetros ambientales y concentración de ADN obtenidos en cada profundidad de muestreo en la columna de agua en la estación de Isla del Sol del embalse de Prado

Profundidad (m)	O <sub>2</sub> (mg/L)	Temperatura °C	pH	Nitrógeno amoniacal (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	ADN (ng/μl)
2	4,1	30,3	7,5	0,41	0,23	<0,05	398,4
9	1,1	26,4	6,2	0,59	0,78	<0,05	359,5

Por otra parte, el fuerte cambio fisicoquímico observado a los 9 m concuerda con los datos de estudios previos que indican la estratificación térmica y química del embalse con una fuerte oxiclina entre superficie y fondo, lo que genera anoxia por debajo de los 8 m en la mayor parte de la hidroeléctrica (Márquez & Guillot, 1988). Estos datos complementan la información reportada en el área por la empresa Sodeic Ltda. (1993) y sugieren que las condiciones de estabilidad de la columna de agua y los procesos biológicos probablemente han llevado a la disminución de los niveles de oxígeno disuelto, creando condiciones hipóxicas, subóxicas y anóxicas a lo largo de la columna de agua que favorecen la presencia de los microorganismos desnitrificantes.

**Análisis molecular**

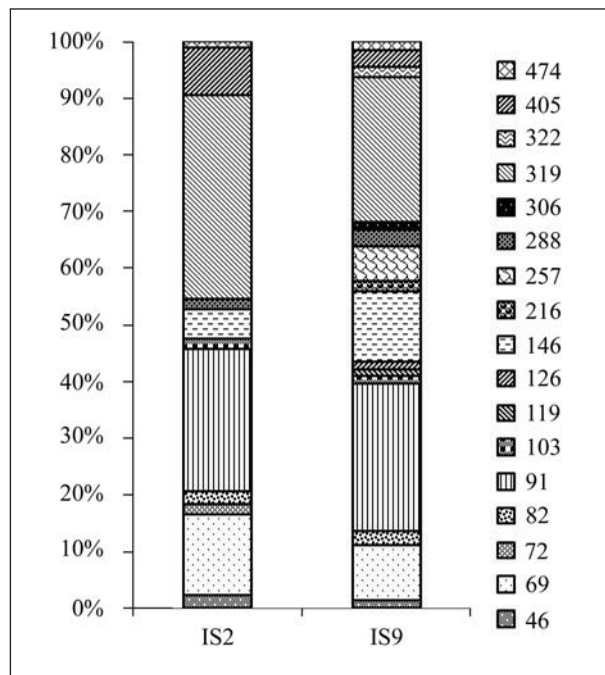
A partir del ADN obtenido se amplificó por PCR específicamente el gen funcional *nosZ* con un amplicon de 700 pb. Al cortar el amplicon del gen *nosZ* de la comunidad desnitrificante se obtuvieron 15 fragmentos de restricción terminal diferentes con la enzima *MspI* (Figura 1) y 17 con la enzima *HhaI* (Figura 2), lo que indica su riqueza en la columna de agua. La riqueza de los FRT fue igual a los 2 y los 9 m de profundidad con la enzima *MspI*, en tanto que con la enzima *HhaI* se observó una mayor riqueza de FRT (16) a los 9 m de profundidad (Tabla 2). Se observó que la comunidad desnitrificante de tipo *nosZ* digerida con *HhaI* fue más homogénea en su estructura a los 2 y a los 9 m, ya que la mayoría de los FRT observados a los 2 m (46, 69, 82, 91, 103, 146, 288, 319, 405, 474) también estaban presentes a los 9 m y con la misma abundancia relativa; sin embargo, los FRT únicos (119, 126, 216, 257, 306, 322), poco abundantes, se encontraron solamente a los 9 m de profundidad. En contraste, la estructura de la comunidad desnitrificante *nosZ* digerida con *MspI* se mostró un poco más heterogénea al comparar ambas profundidades, ya que hubo una menor abundancia de las diferentes especies comunes representadas en los FRT 55, 87, 102, 107, 110, 223 (con excepción de los FRT 130 y 140, los cuales incrementaron) a los 9 m de profundidad. De igual manera, con la enzima *MspI* se detectaron más FRT únicos tanto a los 2 m (76, 204, 223, 381) como a los 9 m (48, 92, 170, 306) de profundidad, lo que sugiere que con esta enzima se obtuvo una mejor resolución de la riqueza de FRT de la comunidad desnitrificante de tipo *nosZ* en Isla del Sol.



**Figura 1.** Abundancia relativa de los fragmentos de restricción terminal obtenidos con la enzima de restricción *MspI* representativos de la comunidad desnitrificante de tipo *nosZ* encontrados en Isla del Sol, embalse de Prado, a 2 m (IS2) y 9 m de profundidad (IS9). Los números en la leyenda indican el tamaño de cada fragmento (pares de bases).

Aunque se ha reportado que una tercera parte de las bacterias desnitrificantes presentes en el ambiente están genéticamente inhabilitadas para reducir el N<sub>2</sub>O, dado que carecen del gen *nosZ* (Jones, et al., 2008), los resultados del presente trabajo demuestran que en el área de Isla del Sol del embalse de Prado existe una comunidad desnitrificante rica y diversa que posee el gen *nosZ*, el cual codifica para la reducción de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) a N<sub>2</sub> tanto en condiciones hipóxicas en el fondo como en la superficie bajo condiciones óxicas, como en el fondo. Los resultados muestran que la riqueza de los FRT hallados en la columna de agua de Isla del Sol es similar a la reportada en sedimentos de arroyos (Baxter, et al., 2012) y en estuarios (Fortunato, et al., 2009), donde se han observado cambios espacio-temporales en la riqueza y en la abundancia relativa de FRT, con la diferencia de que en





**Figura 2.** Abundancia relativa de los fragmentos de restricción terminal obtenidos con la enzima de restricción *HhaI*, representativos de la comunidad desnitrificante de tipo *nosZ* encontrados en Isla del Sol, embalse de Prado, a 2 m (IS2) y 9 m (IS9) de profundidad. Los números en la leyenda indican el tamaño de cada fragmento (pares de bases).

**Tabla 2.** Índices de diversidad, similitud y número de fragmentos de restricción terminal (FRT) obtenidos con las enzimas de restricción *MspI* y *HhaI* de las comunidades desnitrificantes de tipo *nosZ* presentes a 2 m (IS2) y 9 m (IS9) de profundidad en la columna de agua de Isla del Sol, embalse de Prado

	Enzima <i>MspI</i>		Enzima <i>HhaI</i>	
	IS2	IS9	IS2	IS9
Índice de diversidad				
Shannon H'	0,80	0,87	0,78	0,93
Simpson 1/D	5,0	5,5	4,5	6,0
Índice de similitud de Bray Curtis	24 %	-	77 %	-
Número de FRT	11	12	11	16

dichos sedimentos las concentraciones de nutrientes, nitrógeno total y materia orgánica tienden a ser mayores que las que usualmente se encuentran en la columna de agua.

Los resultados de esta investigación respaldan lo verificado en otros estudios en el sentido de que herramientas moleculares como los FRT, la clonación y, más recientemente, la pirosecuenciación (Hallin, et al., 2007; Magalhaes, et al., 2008; Fortunato, et al., 2009; Bai, et al., 2012; Eiler, et al., 2012; Wang, et al., 2012; Baxter, et al., 2012; Jones,

et al., 2013; Bowen, et al., 2013), han ayudado a develar la diversidad de los microorganismos desnitrificantes en los ecosistemas acuáticos de agua dulce, aunque esta siga siendo mucho menor que la encontrada en los ecosistemas terrestres (Braker & Conrad, 2011). Sin embargo, se debe tener presente que aunque la técnica de FRT se ha usado ampliamente para el estudio de comunidades microbianas, pues permite obtener un perfil de las comunidades de manera reproducible y exacta, también está sujeta a las limitaciones propias de la amplificación por PCR (la concentración del segmento de ADN, el número de ciclos de la PCR, la amplificación preferencial de segmentos de ADN específico de acuerdo a los cebadores usados), y a errores en el proceso de digestión con enzimas (debidos a una digestión incompleta o a la presencia de diferentes sitios de restricción terminal en la misma especie como resultado de las múltiples copias del gen en estudio), como lo han sugerido Egert & Friedrich (2003), lo que puede impedir la detección de especies con muy poca abundancia o que poseen secuencias características, o en el caso contrario, conducir a la sobreestimación de la diversidad por la presencia de fragmentos de restricción terminal falsos y de pseudo fragmentos, si no se analizan correctamente los datos.

**Análisis de diversidad y similitud**

Los índices de diversidad de Shannon (H') y Simpson (1/D) (Tabla 2) mostraron que la comunidad digerida con *MspI* y *HhaI* a los 9 m era un poco más diversa (H'~0,9) que la comunidad a los 2 m de profundidad (H'~0,8). También se observó que la similitud de las comunidades desnitrificantes de tipo *nosZ* entre los 2 y los 9 m fue de un 77 % al analizarlas mediante la digestión con *HhaI* y de solo 24 % al analizar los FRT con *MspI* (Tabla 2). Estos resultados revelaron diferencias en la composición de las comunidades de tipo *nosZ* entre las dos profundidades y evidenciaron que la diversidad de la comunidad de tipo *nosZ* encontrada en la columna de agua de Isla del Sol es menor que la reportada para sedimentos de estuarios (H'=1,5-2,6) y sedimentos de lagos eutróficos (H'=2,5) por Fortunato, et al., (2009) y Wang, et al., (2012a). Estas diferencias son lógicas teniendo en cuenta que los sedimentos usualmente poseen mayor cantidad de materia orgánica y de nutrientes que la columna de agua. Sin embargo, y habida cuenta de que no hay estudios similares en embalses para poder comparar, sí se debe tener en cuenta que se ha reportado mayor diversidad de bacterias y arqueobacterias en la represa de Three Gorges en China en dos casos: el primero, cuando los niveles de nutrientes, de carbono orgánico disuelto y de turbidez eran altos, y el segundo, cuando se estudiaron las bacterias asociadas a la fracción particulada (Wang, et al., 2012). Además, otros autores también han hecho referencia al hecho de que pueden darse variaciones en la estructura de las comunidades de tipo *nosZ* debidas a su interacción con las bacterias nitrificantes

(Deemer, *et al.*, 2011) y las bacterias anammox (Wenk, *et al.*, 2013), así como a los factores que regulan la expresión del gen *nosZ* y la actividad de su reductasa (Baxter, *et al.*, 2012).

Por otra parte, los resultados de similitud entre comunidades sugieren que el análisis de FRT realizado con la enzima *MspI* permitió una mejor resolución de la comunidad de tipo *nosZ* en ambas profundidades, lo que se reflejó en una baja similitud entre las comunidades a los 2 y los 9 m de profundidad (24 %) y la presencia de mayor número de FRT únicos que los observados con la enzima *HhaI*. Estos datos concuerdan con lo reportado en varios estudios en los cuales se hace referencia a que la selección adecuada de la enzima para generar los FRT, así como del procedimiento de análisis de los FRT, es de suma importancia en el análisis de la composición de las comunidades microbianas (Dunbar, *et al.*, 2001).

### **Composición de la comunidad de tipo *nosZ* y su relación con el ambiente**

El análisis de los FRT mostró una mayor diversidad de la comunidad de tipo *nosZ* en Isla del Sol a los 9 m de profundidad, donde probablemente se registra una mayor tasa de reducción de  $N_2O$  a  $N_2$  debido a las condiciones hipóxicas (1,1 mg/l de  $O_2$ ), de acidez (pH=6,2) y de disponibilidad de nitrato (0,78 mg/l) y de  $N_2O$  (~40 nM), según recientes cuantificaciones a esta profundidad (Castro-González & Torres-Valdés, 2014). Asimismo, en el embalse se observó que las bacterias desnitrificantes de tipo *nosZ* se encuentran en la columna de agua a partir de los 2 m de profundidad bajo condiciones óxicas (4 mg/l de  $O_2$ ), neutras (pH=7,5) y de bajo nitrato (0,23 mg/l), lo que sugiere su versatilidad metabólica ante diferentes concentraciones de  $O_2$ , pH y nutrientes; sin embargo, se requieren más estudios que permitan determinar si la óxido nítrico reductasa es activa bajo estas condiciones óxicas o está inhibida. En general, son varios los estudios que al igual que este muestran cómo los filotipos, las unidades taxonómicas operacionales (UTO) o los FRT de comunidades desnitrificantes de tipo *nirS*, *nirK* y *nosZ* están presentes a lo largo de gradientes fisicoquímicos en la columna de agua de océanos (Castro-González, *et al.*, 2005; Qian, *et al.*, 2011; Ganesh, *et al.*, 2013) y de lagos (Wen, *et al.*, 2012), así como en sedimentos tanto de estuarios (Abell, *et al.*, 2010,) como de lagos (Bai, *et al.*, 2012; Wang, *et al.*, 2012a;), lo que indica la capacidad facultativa de las bacterias desnitrificantes en ambientes con alta variabilidad ambiental. En este sentido, Magalhaes, *et al.* (2008) reportaron variación en la abundancia relativa de FRT tipo *nosZ* con relación a la disponibilidad de nitrato y las tasas de desnitrificación en sedimentos; Bai, *et al.* (2012) reportaron cambios espacio-temporales en la abundancia relativa de los FRT y en la abundancia de genes *nosZ* detectada por PCR cuantitativa en sedimentos del lago Dianchi; Baxter, *et al.* (2013) reportaron cambios en la abundancia de genes *nosZ*

relacionados con la temperatura y el porcentaje de materia orgánica del sedimento en diferentes arroyos, y Castro-González, *et al.* (2005) reportaron una mayor riqueza de FRT y mayor diversidad de las comunidades desnitrificantes (*nirS*) asociadas a la variación en los niveles de oxígeno, nitrato y óxido nítrico en aguas oceánicas subóxicas.

Si bien los resultados de este estudio indican que hay comunidades desnitrificantes que poseen el gen *nosZ* y que su abundancia relativa, riqueza y diversidad está relacionada con algunas de las características estudiadas en la columna de agua, el siguiente paso en la investigación deberá orientarse a determinar aspectos como la variación espacio-temporal de esta comunidad y de las comunidades desnitrificantes de tipo *nirS*, *nirK*, y la comunidad anammox, la cual también ha sido reportada en lagos (Schubert, *et al.*, 2006; Penton, *et al.*, 2006; Wenk, *et al.*, 2013) y que, por consiguiente, puede estar presente en el embalse y contribuir a la generación de  $N_2$ . Además, habría que determinar la funcionalidad de la  $N_2O$  reductasa en el área, teniendo en cuenta que: 1) esta es inhibida reversiblemente por los niveles elevados de oxígeno; 2) algunos microorganismos desnitrificadores, aunque poseen el gen *nosZ*, no reducen el  $N_2O$  a  $N_2$  (Wang, *et al.*, 2012a); 3) se ha reportado una relación negativa entre la abundancia de genes *nosZ* y la proporción de  $N_2O$  que se reduce a  $N_2$  en sedimentos de lagos eutróficos (Wang, *et al.*, 2012a), y 4) en recientes trabajos se ha cuantificado una saturación excesiva de  $N_2O$  (~200 %) en la columna de agua del embalse, lo cual sugiere un eflujo de este gas invernadero hacia la atmósfera (Castro-González & Torres-Valdés, 2014).

### **Conclusiones**

Este es el primer trabajo de investigación en Colombia en que se demuestra la existencia de comunidades desnitrificantes de tipo *nosZ* en la estación de Isla del Sol en el embalse de Prado mediante el estudio molecular de su gen funcional. El análisis de la composición de dicha comunidad en la columna de agua de esta estación mostró una alta diversidad de FRT en comparación con la reportada en otros ambientes acuáticos, además de cambios en su composición (abundancia relativa y riqueza) entre la superficie y el fondo. La mayor diversidad de la comunidad y el mayor número de FRT únicos se detectaron a los 9 m de profundidad bajo condiciones hipóxicas, punto en el que probablemente se requiere una mayor tasa de reducción de  $N_2O$  a  $N_2$  para favorecer el proceso de la desnitrificación.

### **Conflicto de intereses**

La autora declara que no tiene ningún conflicto de intereses.

### **Agradecimientos**

A la oficina de investigaciones y desarrollo científico de la Universidad del Tolima por la financiación de esta investigación a través del proyecto # 500110, al Ministerio del

Medio Ambiente que, a través del “Contrato de acceso a recursos genéticos y productos derivados para investigación científica sin interés comercial No. 90”, autorizó el acceso y el uso del ADN bacteriano ambiental requerido para este estudio, y a A. Castro y M. Pacheco por su apoyo en campo y en el laboratorio.

## Bibliografía

- Abell, G.C.J., Revill, A.T., Smith, C., Bissett, A.P., Volkman, J.K., Stanley, S.R.** 2010. Archaeal ammonia oxidizers and *nirS*-type denitrifiers dominate sediment nitrifying and denitrifying populations in a subtropical macrotidal estuary. *ISME Journal* **4**: 286-300.
- APHA.** 1999. Standard methods for the examination of water and wastewater. Twentieth edition. Baltimore, Maryland. 1220 pp.
- Bai, Y., Shi, Q., Wen, D., Li, Z., Jefferson, W.A., Feng, Ch., Tang, X.** 2012. Bacterial communities in the sediments of Dianchi Lake, a partitioned eutrophic water body in China. *PLoS ONE* **7** (5): e37796.
- Baxter, A.M., Johnson, L., Royer, T., Leff, L.G.** 2013. Spatial differences in denitrification and bacterial community structure of streams: Relationships with environmental conditions. *Aquatic Science* **75**: 275-284.
- Baxter, A.M., Johnson, L., Edgerton, J., Royer, T., Left, L.G.** 2012. Structure and function of denitrifying bacterial assemblages in low-order Indiana streams. *Freshwater Science* **31** (2): 304-317.
- Beaulieu, J.J., Smolensky, R.L., Nietch, C.T., Townsend-Small, A., Elovitz, M.S., Schubauer-Berigan, J.P.** 2014. Denitrification alternates between a source and sink of nitrous oxide in the hypolimnion of a thermally stratified reservoir. *Limnology and Oceanography* **59** (2): 495-506.
- Bowen, J.L., Bymes, J.E.K., Wisman, D., Colaneri, C.** 2013. Functional gene pyrosequencing and network analysis: An approach to examine the response of denitrifying bacteria to increase nitrogen supply in salt marsh sediments. *Frontiers in Microbiology* **4**: 1-12.
- Braker, G. & Conrad, R.** 2011. Diversity, structure, and size of N<sub>2</sub>O producing microbial communities in soils. What matters for their functioning? *Advances in Applied Microbiology* **75**: 33-70.
- Brettar, I. & Höfle, M.G.** 1993. Nitrous oxide producing heterotrophic bacteria from the water column of the central Baltic: Abundance and molecular identification. *Marine Ecology Progress Series* **94**: 253-265.
- Canosa, A. & Pinilla, G.** 2007. Relaciones entre las abundancias del bacterioplancton y del fitoplancton en tres ecosistemas lenticos de los Andes Colombianos. *Revista de Biología Tropical* **55** (1): 135-146.
- Castro-González, M. & Torres-Valdés, V.** (2014). Microbial process involved in the distribution and N<sub>2</sub>O cycling in the water column in a tropical hydroelectric reservoir, south east Colombia. 15<sup>th</sup> International Symposium on Microbial Ecology. ISME-Microbes.org. Seoul, South Korea.
- Castro-González, M., Braker, G., Farías, L., Ulloa, O.** 2005. Communities of *nirS*-type denitrifiers in the water column of the oxygen minimum zone in the eastern South Pacific. *Environmental Microbiology* **7** (9): 1298-1306.
- Deemer, B.R., Harrison, J.A., & Whitling, E.W.** 2011. Microbial dinitrogen and nitrous oxide production in a small eutrophic reservoir: An in situ approach to quantifying hypolimnetic process rates. *Limnology and oceanography* **56** (4): 1189-1199.
- Dong, L.F., Smith, C.J., Papaspyrou, S., Stott, A., Osborn, A.M., Nedwell, D.B.** 2009. Changes in benthic denitrification, nitrate ammonification and anammox process rates and nitrate and nitrite reductase gene abundances along an estuarine nutrient gradient (The Colne Estuary, United Kingdom). *Applied and Environmental Microbiology* **75** (10): 3171-3179.
- Dunbar, J., Ticknor, L.O. & Kuske, C.H.R.** 2001. Phylogenetic specificity and reproducibility and new method for analysis of terminal restriction fragment profiles of 16S rRNA genes from bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology* **67** (1): 190-197.
- Egert, M. & Friedrich M.W.** 2003. Formation of pseudo-terminal restriction fragments, a PCR-related bias affecting terminal restriction fragment length polymorphism analysis of microbial community structure. *Applied and Environmental Microbiology* **69** (5): 2555-2562.
- Eiler, A., Heinrich, F. & Bertilsson, S.** 2012. Coherent dynamics and association networks among lake bacterioplankton taxa. *The ISME Journal* **6**: 330-342.
- Fortunato, C.S., Carlini, D.B., Ewers, E., Bushaw-Newton, K.L.** 2009. Nitrifier and denitrifier molecular operational taxonomic unit compositions from sites of a freshwater estuary of Chesapeake Bay. *Canadian Journal of Microbiology* **55**: 333-346.
- Ganesh, S., Parris, D.J., Delong, E.F., Stewart, F.J.** 2013. Metagenomic analysis of size-fractionated picoplankton in a marine oxygen minimum zone. *The ISME Journal* **1**: 1-25.
- Goldenfum, J.A.** 2012. Challenges and solutions for assessing the impact of freshwater reservoir on natural GHG emissions. *Ecology and Hydrobiology* **12** (2): 115-122.
- Hallin, S., Braker, G. & Philippot L.** 2007. Molecular tools to assess the diversity and density of denitrifying bacteria in their habitats. In: *Biology of the nitrogen cycle*. Edited by H. Bothe, SJ Ferguson and WE Newton. Elsevier BV. 40 p.
- Harrison, J.A., Maranger, R.J., Alexander, R.B., Giblin, A.E., Jacinthe, P.-A., Mayorga, E., Seitzinger, S.P., Sobota, D.J., Wollheim, W.M.** 2009. The regional and global significance of nitrogen removal in lakes and reservoirs. *Biogeochemistry* **93**: 143-157.
- Hulth, S., Aller, R.C., Canfield, D.E., Dalsgaard, T., Engstrom, P., Gilberte, F., Sundback, K., Thamdrup, B.O.** 2005. Nitrogen removal in marine environments:



- Recent findings and future research challenges. *Marine Chemistry* **94**: 125–145.
- Jones, C.M., Stres, B., Rosenquist, M., Hallin, S.** 2008. Phylogenetic analysis of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide respiratory enzymes reveal a complex evolutionary history for denitrification. *Molecular Biology and Evolution* **25**: 1955-1966.
- Jones, C.M., Graf, D.R.H., Bru, D., Philippot, L., Hallin, S.** 2013. The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: A potential nitrous oxide sink. *The ISME Journal* **7**: 417-426.
- Kloos, K., Mergel, A., Rosch, C., Bothe, H.** 2001. Denitrification within the genus *Azospirillum* and other associative bacteria. *Australian Journal Plant Physiology* **28**: 991-998.
- Mc Aleece, N.** 1997. BioDiversity Professional Beta 2.0. The Natural History Museum.
- Magalhaes, C., Bano, N., Wiebe, W.J., Bordalo, A.A., Hollibaugh, J.T.** 2008. Dynamics of nitrous oxide reductase genes (*nosZ*) in intertidal rocky biofilms and sediments of the Duoro River estuary (Portugal), and their relation to N-biogeochemistry. *Microbial Ecology* **55**: 259-269.
- Márquez, G. & Guillot, G.** 1988. Proyecto estudios ecológicos de embalses colombianos. Etapa Prospectiva, Informe Final, Fondo FEN. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, 242 p.
- Naqvi, S.W.A., Bange, H.W., Farías, L., Monteiro, P.M.S., Scranton, M.I., Zhang, J.** 2010. Marine hypoxia/anoxia as a source of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O. *Biogeosciences* **7**: 2159–2190
- Naqvi, S.W.A., Jayakumar, D.A., Narvekar, P.V., Naik, H., Sarma, V.V.S.S., D'Souza, W., Joseph, S., George, M.D.** 2000. Increased marine production of N<sub>2</sub>O due to intensifying anoxia on the Indian continental shelf. *Nature* **408**: 346-349.
- Palmer, K., Biasi, C. & Horn, M.A.** 2012. Contrasting denitrifier communities relate to contrasting N<sub>2</sub>O emission patterns from acidic peat soils in Arctic tundra. *The ISME Journal* **6**: 1058-1077.
- Penton, C.R., Devol, A.H., Tiedje, J.M.** 2006. Molecular evidence for the broad distribution of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in freshwater and marine sediments. *Applied and environmental microbiology* **72** (10): 6829-6832.
- Qian, P.Y., Wang, Y., Lee, O.O., Lau, S.C.K., Yang, J., Lafi, F.F.** 2011. Vertical stratification of microbial communities in the Red Sea revealed by 16S rDNA pyrosequencing. *The ISME Journal* **5**: 507-518.
- Rudd, J.W.M., Harris, R., Kelly, C.A., Hecky, R.E.** 1993. Are hydroelectric reservoirs significant sources of greenhouse gases? *Ambio* **22**: 246–248.
- Rusch, A.** 2013. Molecular tools for the detection of nitrogen cycling Archaea. *Archaea*. Article ID 676450, 10 pages. doi:10.1155/2013/676450.
- Seitzinger, S., Harrison, J.A., Böhlke, J.K., Bouwman, A.F., Lowrance, R., Peterson, B., Tobias, C., Van Dreche, G.** 2006. Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis. *Ecology Applied* **16**: 2064-2090.
- Schubert, C.J., Durish-Kaiser, E., Wehrli, B., Thamdrup, B., Lam, P., Kuypers, M.M.M.** 2006. Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika). *Environmental Microbiology* **8**: 1857-1863.
- Sodeic Ltda.** 1993. Plan de manejo de la cuenca del río Prado. Informe Final de Consultoría. 3 Tomos.
- St Louis, V., Kelly, L.C.A., Duchemin, E., Rudd, J.W.M., Rosenberg, D.M.** 2000. Reservoir surfaces as sources of greenhouse gases to the atmosphere: A global estimate. *BioScience* **50**: 766-775.
- Taipale, S., Jones, R.I. & Tiitola, M.** 2009. Vertical diversity of bacteria in an oxygen-stratified humic lake, evaluated using DNA and phospholipid analyses. *Aquatic Microbial Ecology* **55**: 1-16.
- Throbäck, I.N., Enwall, K., Jarvis, A., Hallin, S.** 2004. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiology and Ecology* **49**: 401-417.
- Wang, S., Dong, R.M., Dong, C.Z., Huang, L., Jiang, H., Wei, Y., Feng, L., Liu, D., Yang, G., Zhang, Ch., Dong, H.** 2012. Diversity of microbial plankton across the Three Gorges dam of the Yangtze River, China. *Geoscience Frontiers* **3** (3): 335-349.
- Wang, C., Zhu, G., Wang, Y., Wang, S., Yin, Ch.** 2012a. Nitrous oxide reductase gene (*nosZ*) and N<sub>2</sub>O reduction along the littoral gradient of a eutrophic freshwater lake. *Journal of Environmental Sciences* **25** (1): 44-52.
- Wen, D.H., Bai, Y.H., Shi, Q., Li, Z.X., Sun, Q.H., Sun, R.H., Feng, C.P., Tang, X.Y.** 2012. Bacterial diversity in the polluted water of the Dianchi Lakeshore in China. *Annals of Microbiology* **62** (2): 715-723.
- Wenk, C.B., Bles, J., Zopfi, J., Veronesi, M., Bourbonnais, A., Schubert, C.J., Niemann, H., Lehmann, M.F.** 2013. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria and sulfide-dependent denitrifiers coexist in the water column of a meromictic south-alpine lake. *Limnology and Oceanography* **58** (1): 2013, 1–12.
- Zumft, W.G.** 1997. Cell Biology and Molecular Basis of Denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **61** (4): 533–616.
- Zumft, W. & Kroneck, P.** 2007. Respiratory transformation of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) to dinitrogen by Bacteria and Archaea. *Advances in Microbiology and Physiology* **52**: 107-227.



# Effect of waterlogging stress on the growth, development and symptomatology of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants

Fernando Aldana<sup>1</sup>, Pedro Nel García<sup>1</sup>, Gerhard Fischer<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Agronomy, Faculty of Agricultural Sciences, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

## Abstract

Climate change has altered normal rainfall cycles; causing the flooding of arable land and, thus, affecting agricultural production in Colombia. Two-month-old cape gooseberry plants, propagated by seeds, were subjected to different durations of continuous waterlogging in a greenhouse: 0, 2, 4, 6 and 8 days, with evaluations up to 50 days. The plants were placed in ditches covered with polyethylene and filled with water up to 5 cm above the substrate surface of the pots. The parameters evaluated were: plant height, leaf area, stem diameter, dry weight of the aerial part, root and reproductive organs, and general symptoms following a wilting scale. The 6 and 8-day-waterlogged plants were the most affected by the flooding conditions, presenting the lowest values for all the measured variables. Due to the oxygen stress in the root zone, the plants showed yellowing, epinasty, necrosis and abscission of the leaves, more so in the 8-day-waterlogged plants.

**Key words:** Hypoxia, leaf area, dry weight, symptoms.

**Efecto del estrés por anegamiento sobre el crecimiento, desarrollo y sintomatología de plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.)**

## Resumen

El cambio climático ha alterado el ciclo normal de las lluvias, inundando así las tierras arables y afectando la producción agrícola en Colombia. Plantas de uchuva, de 2 meses de edad, y propagadas por semilla, fueron sometidas bajo invernadero a diferentes duraciones de anegamiento continuo: 0, 2, 4, 6 y 8 días y evaluaciones hasta 50 días. Las plantas se colocaron en zanjas cubiertas con polietileno que se llenaron con agua hasta 5 cm por encima de la superficie del sustrato contenido en las macetas. Los parámetros evaluados fueron: altura de planta, área foliar, diámetro del tallo, pesos secos de parte aérea, raíz y órganos reproductivos y escala de síntomas generales de marchitamiento. Las plantas anegadas durante 6 y 8 días presentaron los valores más bajos para todas las variables evaluadas. Debido al estrés por falta de oxígeno en la rizósfera las plantas mostraron amarillamiento, epinastia, necrosis y abscisión de hojas, sobre todo en las de 8 días anegadas.

**Palabras clave:** hipoxia, área foliar, peso seco, síntomas.

## Introducción

Abiotic stress from waterlogging and flooding affects large areas of the world (Martínez-Alcántara *et al.*, 2012). In Colombia, since 2007, climate change has caused heavy rains even in the “summer” periods” and the “La Niña Phenomenon” has brought about major flooding, affecting up to 19 departments with large-scale decreases in agricultural production, especially near rivers and on flat lands, while, globally, floods have increased 7.4% per year on average for the last 10 years (Agudelo, 2009).

Waterlogging of the soil and deeper submergence cause stress in plants, characterized by Jackson and Colmer (2005) as one of the major abiotic constraints on growth, development,

distribution of species and productivity of agricultural crops. This stress is caused by reduced O<sub>2</sub> availability for plant cells, induced by waterlogging or soil compactation (Bailey-Serres and Voisenek, 2008). Flood water fills soil pores, thereby reducing oxygen availability, and the diffusion of dissolved O<sub>2</sub> in stagnant water is so slow that only a thin layer of soil near the surface contains oxygen (Taiz and Zeiger, 2010).

## \*Correspondencia:

Gerhard Fischer, gerfischer@gmail.com, gfischer@unal.edu.co

Recibido: 9 de septiembre de 2014

Aceptado: 16 de diciembre de 2014

Prolonged flooding conditions may result in crop losses >10% (**Bange et al.**, 2004), >40% in severe cases (**Hodgson and Chan**, 1982). As a result of the disturbance of the physiological functioning of plants, the vegetative and reproductive growth is negatively affected (**Gibbs and Greenway**, 2003). **Das** (2012) reported large differences in plant tolerance to flooding and insufficient aeration of root media among herbaceous species.

The first symptom of flooding damage is stomatal closure, which affects not only gas exchange, but also decreases the passive absorption of water, which is also negatively influenced by anaerobic conditions in the rhizosphere (**Kozłowski and Pallardy**, 1997). A decrease in transpiration leads to leaf wilting and early senescence; finally resulting in foliar abscission (**Ashraf**, 2012; **Kozłowski and Pallardy**, 1997).

The respiration of roots in waterlogged soils that are poorly (hypoxia) or not at all aerated (anoxia), in which gas diffusion is severely inhibited (**Armstrong et al.**, 1994), changes from aerobic to anaerobic conditions, being very detrimental to the development of plants.

In soils with a severely reduced O<sub>2</sub> partial pressure, the availability of nutrients for plants is strongly decreased (**Blom and Voeselek**, 1996). When the availability of oxygen in the soil is reduced, anaerobic microorganisms dominate, creating strongly reducing conditions in the rhizosphere in which Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>S, sulfides, lactic acid, and butyric acid, among others, increase to toxic concentrations (**Larcher**, 2003).

The cape gooseberry (*Physalis peruviana* L., Solanaceae), an Andean fruit species that has gained immense importance in Colombia due to its potential for export as fresh fruit (**Fischer et al.**, 2007), is easily adapted to a wide range of ecological conditions and grows as a wild and semi-wild plant from Chile to Colombia (**Fischer**, 2000). In Colombia, commercial crops are found between 1,800 and 2,800 m a.s.l., with an average temperature between 13 and 16°C, well-distributed rainfall from 1,000 to 1,800 mm per year, and a requirement for an average relative humidity from 70 to 80% (**Fischer and Miranda**, 2012).

The cape gooseberry is an herbaceous plant with a large vegetative development, achieving a height of 1 to 1.5 m without trellis (**Fischer and Miranda**, 2012). Most roots are fibrous and are between 10 to 15 cm in depth (**Fischer**, 2000); the branched root system extends up to a radius of 60 cm (**Galindo and Pardo**, 2010) with an effective rooting depth of 60 cm (**Angulo**, 2005); while the formation of adventitious roots at the lower nodes of vegetative basal stems can be observed (**Galindo and Pardo**, 2010). The cape gooseberry thrives well in soils with a granular structure that allows for good aeration and drainage of the roots (**Angulo**, 2005), with water tables deeper than 1 m (**Fischer and Miranda**, 2012).

Six-day-waterlogging affected the potted cape gooseberry plants through a reduction in root growth, leaf area and, consequently, a diminished biomass production (**Villareal**, 2014). In another solanaceous plant, the tomato, waterlogging reduced stem growth, leaf area, fruit set and fruit yield (**Lopez and Rosario**, 1983). **Ezin** (2010) observed leaf yellowing (senescence), wilting and adventitious root formation in 8-day-flooded tomato genotypes as symptoms of tolerance to flooding.

Because the technological cultivation of the cape gooseberry relies mostly on empirical knowledge (**Fischer and Miranda**, 2012) and the damage caused by waterlogging and flooding in Colombia in recent years is high, the objective of this research was to study the effect of short-term waterlogging, 2 to 8 days, on the growth and development of this plant species.

## Materials and methods

The research was conducted at the Faculty of Agricultural Sciences, National University of Colombia, Bogota, located at 2,556 m. a.s.l., in a plastic greenhouse with an average temperature of 15.3°C and relative humidity of 64%. The plant material used consisted of cape gooseberry seedlings (*Physalis peruviana* L.), ecotype 'Colombia' with an age of 30 days after emergence (dae). These seedlings were left in an adaptation phase of 1 month in the greenhouse, still in the juvenile growing phase, before being transplanted into 10 L plastic pots (22 cm diameter by 20 cm high), using as substrate the greenhouse soil (pH 5.78; CO 4.47%; N 0.39%; Ca 9.6, Mg 2.16, Na 0.21, K 182, Al 0.09, H 0.07, and CIC 22.4 meq/100 g; P 264.1, Mn 11.15, Zn 21.2, Fe 713, Cu 1.90, and B 0.55 mg kg<sup>-1</sup>; with a loam texture), disinfected by solarization. To simulate the conditions of waterlogging on the plants, four ditches in the soil, 30 cm deep, 30 cm wide and 7 m long, were used, which were covered with caliber-6 black polyethylene plastic, these ditches were filled with potable water from the local aqueduct to a depth of 25 cm.

When the plants reached an age of 90 dae, the waterlogging treatments started, placing the pots in the water filled ditches, 15 plants per ditch, for 2, 4, 6 and 8 days. The control plants were placed next to the corresponding ditch without dipping into the water. Triple 15 (NPK) was applied at a dose of 5 g per 1-month dae plant, and, at 2-months dae a complete fertilizer was applied (mg/L per plant): N 100.0, P 25.0, K 80.0, Ca 50.0, Mg 40.0, S 28.0, Fe 6.0, Mn 3.0, Cu 0.7; Zn 1.5, B 0.3.

## Experimental design

The experimental design consisted of randomized complete blocks: the four blocks corresponded to the flooded ditches; and the five treatments were: 0, 2, 4, 6 and 8 d of waterlogging. The experimental units (or replications) were the plants growing in pots, 15 per block and 12 per treatment, *i.e.* a total of 60 plants for the whole experiment.

**Measurements of growth and development**

Before starting the treatments, an initial measurement (0 days) of plant height and leaf area was taken. One week after finishing the waterlogging treatments, plant height and leaf area were recorded weekly, as well as the number of reproductive units (flower buds, flowers and fruits). In addition to these measurements, a modified scale of **Yeboah et al.** (2008) with values of 0-5 was used to assess weekly symptoms generated by the waterlogging stress. Also, a photographic record of five plants, representing the different durations of waterlogging, was kept weekly.

At the end of the trial (50 days after the waterlogging treatments started), the diameter was recorded at the base of the stem (3 cm above the root collar) and the dry weights of the aerial parts (stems and leaves), the root system, and the reproductive parts (flower buds, flowers and fruits) were determined. For this, the samples were placed in an oven at a temperature of 70°C until the weight remained constant (3 days); the weights were measured with an electronic balance with an accuracy of 0.01 g.

To calculate the leaf area of the plants, several leaf samples were taken and by means of a scanner, their silhouettes were digitized using the program ImageJ, version 1.45, and the leaf area was calculated.

**Statistical analysis**

The collected data were subjected to variance analysis using the Statistical Analysis System (SAS version 9.1) to determine differences among the treatments. The means were compared using the Tukey HSD (honestly significant difference) test at  $P \leq 0.05$ .

**Results and discussion**

**Plant height**

Treatments of 0 and 2 days of waterlogging showed a very similar plant height without significant differences ( $P > 0.05$ ), while the 4-day-waterlogged plants decreased growth at 15 and 22 d ( $P \leq 0.05$ ), with subsequent recovery (Table 1). In

the 6-day-waterlogged cape gooseberry, the stem elongation was nearly paralyzed and, in the 8-day-waterlogged plants, it decreased with the onset of plant death from day 25 after the waterlogging treatments started.

The significantly larger longitudinal growth of the 0 to 4 days waterlogged plants as compared to the 6 to 8 days waterlogged plants may be related to the sufficient supply of the phytohormones cytokinins and gibberellins, which are synthesized in the root system, which was not affected by the lack of oxygen in these treatments, because **Bradford and Yang** (1981) observed a reduction of these hormones in xylem sap of flooded tomato plants. Furthermore, according to **Shiu et al.** (1998), the dramatic reduction in the longitudinal growth of the 6 to 8 days treated plants may have been influenced by ethylene, since, under conditions of hypoxia, ethylene biosynthesis is increased, due to the synthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in the roots and its fast transport to the stem. Once in the leaves, ACC is converted by ACC oxidase to ethylene, which is associated with the inhibition of stem growth, leaf wilting and curling, typical plant responses to flooded conditions (**Lorbiecke and Sauter**, 1999). On the other hand, **Jordan and Casaretto** (2006) attributed this effect to an inhibitory action of abscisic acid (ABA), which is best expressed in terms of lack of oxygen; ABA is able to inhibit stem elongation rather than roots. On the other hand, waterlogging reduces the absorption of nutrients such as N, P and K (**Kozlowski and Pallardy**, 1997), among which, in the case of the cape gooseberry, N deficiency has the greatest effect on longitudinal stem growth (**Martínez et al.**, 2009). The same reduction in stem length was observed by **Baracaldo et al.** (2014) in 2-month-old chonto tomato plants waterlogged for 4, 8 and 12 days, from 16 days after treatment initiation.

**Leaf area**

As in the case of plant height, the cape gooseberry waterlogged for 0, 2 and 4 days showed no significant differences in leaf area during the evaluation period (Table 2). The 6-day-waterlogged plants developed a significantly lower

**Table 1.** Plant height of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) subjected at an age of 2 months to waterlogging of different durations.

Duration of waterlogging (days)	Plant height (cm)						
	Days after waterlogging started						
	0	15	22	29	36	43	50
0	56.92 a	71.67 a	79.50 a	88.75 a	94.13 a	97.33 a	105.17 a
2	56.92 a	71.25 a	78.67 a	89.50 a	95.17 a	96.92 a	107.92 a
4	56.92 a	62.25 b	65.17 b	72.83 ab	76.84 ab	80.75 ab	89.67 ab
6	56.92 a	57.42 b	58.42 bc	58.25 b	58.20 b	58.33 b	61.45 bc
8	56.92 a	53.75 b	52.25 c	26.92 c	28.15 c	31.08 c	34.17 c

Means with different letters in the same column indicate a significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 2.** Leaf area of the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants subjected at an age of 2 months to waterlogging of different durations.

Duration of waterlogging (days)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )						
	Days after waterlogging started						
	0	15	22	29	36	43	50
0	2059.3 a	2924.9 a	3016.3 a	3433.1 a	3681.8 a	3786.5 a	3828.4 a
2	2059.3 a	2486.7 ab	2542.9 ab	2820.7 ab	2996.5 ab	3098.0 ab	3179.8 ab
4	2059.3 a	2026.1 ab	2055.0 abc	2317.9 ab	2725.8 ab	2996.1 ab	3149.6 ab
6	2059.3 a	1891.0 ab	1709.7 bc	1725.8 bc	1748.7 bc	1745.6 c	1720.3 bc
8	2059.3 a	1512.7 b	1015.8 c	879.7 c	896.5 c	1014.2 c	1284.0 c

Means with different letters in the same column indicate a significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ).

leaf area ( $P \leq 0.05$ ) than the control plants from day 22 on, but without difference ( $P > 0.05$ ) with those waterlogged for 8 days, which had marked leaf area reductions. At the end of the trial, the waterlogged plants, between 0 and 4 d, had more than twice the number of leaves, as compared with the 6 and 8 days treatments (data not shown).

Also **Casierra-Posada and Vargas** (2007) found that flooded strawberry plants reached only 36.8% of the leaf area of plants kept under normal soil humidity conditions. These authors attributed this finding, among other reasons, to an inhibition of the expansion of the leaf due to the reduction of the extensibility of the cell walls, a determinant growth factor under hypoxic root conditions (**Smit et al.**, 1989).

The marked leaf area decrease in the cape gooseberry plants waterlogged for 6 and 8 days can be attributed to a reduction in the photosynthetic rate, as observed in solanaceous species such as the tomato (**Walter et al.**, 2004), due to stomatal closure (**Kozłowski and Pallardy**, 1997) and the adverse effects of this stress on the photosynthetic capacity (**Bradford and Yang**, 1981), which **Kozłowski and Pallardy** (1997) associated with changes in enzyme carboxylation, reduced chlorophyll content and lower leaf area as caused by an inhibited formation, expansion, injury, and abscission of leaves.

The decrease in the rate of leaf CO<sub>2</sub> exchange under waterlogging stress conditions was also reported by **Davies and Flore** (1986) in the blueberry (*Vaccinium ashei*), accompanied by a reduced stomatal conductivity, and **Jackson** (1990) in the tomato, observing a stomatal closure with increasing levels of abscisic acid in the leaves. In studies with flooded tomatoes that applied chlorophyll fluorescence, **Ezin et al.** (2010) and **Kläring and Zude** (2009) observed that the reduction in photosynthetic rates is related to limitations in the PSII reaction center.

Six- and 8-day-waterlogged plants showed abscission of the lower leaves (**Das**, 2012; **Kozłowski and Pallardy**, 1997), which were accentuated in the 8-day-waterlogged plants from day 22 of our experiment (Tab. 2).

### Diameter of the stem base

At 50 days of the evaluation, the diameter of the stem base did not differ ( $P > 0.05$ ) in the 0- to 4-day-submerged plants, while in the plants waterlogged for 6 days, as compared with those of 2 days and the control, the stem diameter was significantly reduced (Table 3). The stem of the 8-day-stressed plants was significantly thinner ( $P \leq 0.05$ ) as compared with the 4-day and less waterlogged plants.

The lower stem diameter growth of the 6- and 8-day-waterlogged cape gooseberry indicates that these plants had a reduced rate of photosynthesis (**Kozłowski and Pallardy**, 1997) and, consequently, a lower translocation of photoassimilates to this organ as compared with the shorter stress time, considering that the cape gooseberry accumulates the second largest amount of reserve sugars (starch and sucrose), after the roots, at the base of the vegetative stem (unpublished data by G. Fischer). Furthermore, we observed that the optimal radial stem growth of the long-time-waterlogged plants was affected by the onset of fungal rot, confirming the studies of **Villareal** (2014) that showed that a waterlogging of 6 days increased the susceptibility of cape gooseberry to *Fusarium oxysporum*.

**Table 3.** Diameter of the stem base of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants subjected at an age of 2 months to waterlogging of different durations 50 days after treatments started.

Duration of waterlogging (days)	Diameter of the stem base (mm)
0	19.56 a
2	19.32 a
4	16.68 ab
6	11.76 bc
8	6.60 c

Means with different letters indicate a significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ).



**Number of reproductive organs**

With an increased number of waterlogging days, the number of flowers and fruits constantly decreased, while the treatments of 0 to 2 days developed the most reproductive organs (Table 4). The treatments of 6 and 8-day-waterlogging, from day 22, developed significantly less reproductive organs as compared to the shorter treatments.

**Kozłowski and Pallardy** (1997) reported that, in flooded conditions, the formation of flower buds, anthesis, formation and growth of fruit in non-waterlogging-tolerant plants are inhibited. Thus, the flooded plants between 4 and 8 days showed a delay in growth and development as compared with a shorter stress time (Tables 1 and 2), so the onset of flowering was delayed, considering that the cape gooseberry produces

**Table 4.** Number of flower buds, flowers and fruits of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.), subjected at an age of 2 months to waterlogging of different durations.

Days after waterlogging started		Number of reproductive units				
		Duration of waterlogging (days)				
		0	2	4	6	8
15	Flower buds	12.1 a	11.6 ab	9.0 bc	7.4 c	6.7 c
	Flowers	2.3 a	2.2 ab	1.6 ab	1.0 ab	0.8 b
	Fruits	0.3 a	0.8 a	0.3 a	0.2 a	0.2 a
	<b>Total</b>	<b>14.7 a</b>	<b>14.5 a</b>	<b>10.8 ab</b>	<b>8.6 b</b>	<b>7.7 b</b>
22	Flower buds	22.6 a	21.3 a	14.3 b	10.9 bc	9.3 c
	Flowers	4.2 a	4.3 a	3.1 ab	2.0 b	1.6 b
	Fruits	2.8 ab	3.0 a	1.8 ab	0.8 b	0.8 b
	<b>Total</b>	<b>29.5 a</b>	<b>28.5 a</b>	<b>19.2 b</b>	<b>13.7 bc</b>	<b>11.7 c</b>
29	Flower buds	26.8 a	24.6 a	15.6 b	10.8 bc	4.8 c
	Flowers	5.3 a	4.7 a	3.6 a	1.3 b	1.3 b
	Fruits	6.8 ab	8.5 a	6.0 abc	3.6 bc	2.3 c
	<b>Total</b>	<b>38.9 a</b>	<b>37.8 a</b>	<b>25.2 b</b>	<b>15.6 bc</b>	<b>8.4 c</b>
36	Flower buds	33.0 a	27.5 ab	21.8 ab	12 c	6.3 c
	Flowers	7.0 a	6.5 ab	4.4 ab	2.4 bc	1.7 c
	Fruits	25.0 a	21.0 a	14.8 b	8.3 bc	3.8 c
	<b>Total</b>	<b>65.0 a</b>	<b>55.0 a</b>	<b>41 b</b>	<b>22.7 c</b>	<b>11.8 c</b>
43	Flower buds	39.0 a	32.4 a	27.4 b	13.9 bc	7.9 c
	Flowers	9.0 a	8.3 ab	5.0 b	3.5 bc	2.0 c
	Fruits	36.1 a	33.0 a	20.3 b	12.6 bc	6.4 c
	<b>Total</b>	<b>84.0 a</b>	<b>73.7 a</b>	<b>52.7 b</b>	<b>30 bc</b>	<b>16.3 c</b>
50	Flower buds	43.9 a	39.0 a	31.2 a	15.8 b	9.8 b
	Flowers	11.3 a	10.1 ab	6.3 bc	3.4 c	2.2 c
	Fruits	43.1 a	40.2 a	25.5 b	13.0 bc	7.9 c
	<b>Total</b>	<b>98.3 a</b>	<b>89.3 ab</b>	<b>63 bc</b>	<b>32.3 c</b>	<b>19.8 c</b>

Means with different letters in the same row indicate a significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ).

one flower at each node of the reproductive shoots (**Fischer, 2000**). Also, **Ezin et al.** (2010) found a reduction in the number of flowers and fruits and in the fruit size and weight in the tomato, attributing these results to the inhibition of photosynthesis and the adverse effects of flooding conditions.

Reproductive processes require a lot of energy (**Fischer et al., 2012**), which may be deficient in plants waterlogged between 4 and 8 days due to a lack of oxygen and consequent hormonal imbalance (**Bradford and Yang, 1981**). In addition, the low production of photoassimilates, negatively affected, among other factors, by the reduced leaf area (Table 2), stomatal closure and wilted leaves (Figure 1), may have contributed to the early abscission of flowers and fruits (**Tadeo and Gómez-Cadenas, 2008**).

**Dry weight of organs**

Nevertheless, as for the treatments of 0 and 2 days, no significant differences ( $P > 0.05$ ) in terms of dry weight (DW) of the plant organs were observed; the 4-day-waterlogging significantly decreased ( $P \leq 0.05$ ) plant biomass (Table 5), with drastic reductions when the plants were waterlogged for 8 days. This longer duration of stress reduced the total plant DW by 66.51%, while the stem and leaves had only 40.74% DW, roots 24.41% DW, and reproductive organs only 17.01% of DW as compared to the non-waterlogged plants.

This high negative effect on the biomass production of the reproductive plant organs, was supposed to be due to the lack of energy sources (ATP) (**Bailey-Serres and Voesenek, 2008**) and hormonal imbalance (**Bradford and Yang, 1981**) for the induction of metabolic processes. The drastic reduction in root biomass means that excess water limits the growth and functioning of this organ (**Das, 2012**). This type of stress displaces air from the non-capillary pore space of soils, causing oxygen deficiency and, consequently, the death of many roots (**Armstrong and Drew, 2002**). Also, **Bennet**

**Table 5.** Dry weight of stems and leaves, reproductive organs (floral buds, flowers and fruits) and roots of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) subjected at an age of 2 months to waterlogging of different durations at 50 d after waterlogging started.

Duration of waterlogging (days)	Dry weight (g)			
	Stems and leaves	Reproductive organs	Roots	Total
0	52.093 a	7.818 a	27.437 a	87.347 a
2	49.788 a	7.503 a	26.205 a	83.497 a
4	35.543 b	4.308 b	12.983 b	52.834 b
6	26.591 c	2.493 bc	10.013 b	39.097 bc
8	21.226 c	1.330 c	6.698 b	29.254 c

Means with different letters in the same column indicate a significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ).

(2003) stated that anoxic conditions prevent root growth and send signals to the aerial part of the plant to reduce shoot growth and, finally, plant productivity. An increased proportion of root dry mass (DM) in waterlogged plants was not observed (8-day and 6-day stressed plants accumulated only 22.98 and 25.61% of their total DM in roots, as compared to the 31.41% of the control plants); however, **Casierra-Posada and Gómez** (2008) reported an adaptation to the lack of oxygen in the root medium.

The decrease in longitudinal growth (Table 1) and leaf area (Table 2) affected plant biomass production of the stems and leaves and, consequently, the production of photoassimilates for these organs as the foliar apparatus is highly affected by waterlogging (stomatal closure, wilting, burn and abscission of leaves; **Kozłowski and Pallardy**, 1997; **Das**, 2012). The reduction of total DW indicates that photosynthetic capacity is strongly inhibited under conditions of waterlogging (**Casierra-Posada and Gómez**, 2008), and that the cape gooseberry has little tolerance to this kind of stress.

**General stress symptoms due to waterlogging**

According to the stress scale of **Yeboah et al.** (2008), the 0- and 2-day-waterlogged cape gooseberry plants did not differ on the symptoms scale during the assessment time (Table 6). The 4-day-waterlogged plants showed signs of stress, such as crinkling and foliar turgor loss, after 15 days, but recovered by the end of the experiment (Figure 1, Table 6). The re-establishment of normoxia-like plant appearance and turgency 43 days after drainage (Table 6) indicates the plant’s ability to cope with hypoxia if normoxic conditions are adjusted in a suitable amount of time (**Kläring and Zude**, 2009).

The cape gooseberries waterlogged for 6 days, and especially those for 8 days, showed the most severe symptoms of stress in the test with 75-100% curled leaves (without their margins connecting) (Figure 1). Curling, or epinasty, is caused by the greater growth of the adaxial portion rather than the abaxial portion of the leaf, thereby minimizing the interception of light and transpiration loss (**Armstrong and Drew**, 2002).

This reaction is found within the chain of symptoms caused by hypoxia in the rhizosphere, which directly affects the roots and indirectly affects the stem, finally causing the cessation of growth, epinasty and wilting of the leaves, with stomatal closure (inhibiting photosynthesis and respiration) as well as senescence and abscission (**Tadeo and Gómez-Cadenas**, 2008). The epinasty of leaves takes place as a result of high concentration of ethylene in ethylene responsive cells of leaves (the precursor of ethylene, ACC, induced by hypoxia conditions in roots, is transported from xylem sap to leaves). Also, an oxygen shortage in roots stimulates the production of abscisic acid (ABA) and the movement of ABA to leaves can account for the stomatal closure response (**Dwivedi and Dwivedi**, 2012). In the pea (*Pisum sativum*), after 4 days of flooding, it was found that the abscisic acid (ABA) level increased in the roots, causing complete closure of stomata, with enhanced ABA concentrations in the leaves (**Zhang and Davies**, 1987).

At 50 days after onset of the treatments, the leaves of the 8-day-waterlogged plants had significantly lower chlorophyll contents ( $P \leq 0.05$ ), registered as an SPAD index (measured

**Table 6.** Values of general symptoms of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) subjected at an age of 2 months to waterlogging of different durations.

Duration of waterlogging (days)	Symptom scale values					
	Days after waterlogging started					
	15	22	29	36	43	50
0	5	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	5	5
4	3	4	4	4	5	5
6	2	3	3	3	2	2
8	2	2	2	2	2	1

0 = dead plant, 1 = 75-100% of leaves completely curled throughout the plant, 2 = 75-100% of leaves curling without their margins connecting in the entire plant, 3 = leaf turgor loss from the base to the middle of the plant and leaves with curling upwards from the middle of the plant to the apex, 4 = loss of leaf turgor from the base to the middle of the plant, 5 = green plant without signs of stress.



**Figure 1.** Appearance of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants subjected at an age of 2 months to different durations (0 (control), 2, 4, 6 and 8 days) of waterlogging at 50 days after the treatments started.

with a Minolta SPAD 502) of 17.48, as compared with the control (35.85); this drastic drop in the chlorophyll content began at day 29 (data not shown). The older leaves senesced prematurely (Figure 1) because of the reallocation of phloem-mobile elements (N, P, and K) to younger leaves (**Kläring and Zude**, 2009), while the reduced permeability of the roots to water led to a decline in the leaf water potential and wilting (**Dwivedi and Dwivedi**, 2012). Additionally, in the 6- and 8-day-waterlogged plants, the leaf yellowing resulted from poisoning due to toxic substances (e.g. nitrites and sulphides) moving up from the dying roots (**Ezin et al.**, 2008). These substances might be evacuated from dying cells or formed by microorganisms on the roots or in the soil (**Dwivedi and Dwivedi**, 2012). Generally, an excess of water, in quantity and time, can cause lethal conditions for roots, taking into consideration that plants, as aerobic organisms, require oxygen availability in the rhizosphere for nutrient uptake (**Iacona et al.**, 2012).

The plants waterlogged for 8 days showed the first necrotic leaves in the basal part, from 15 d after the onset of the treatment, which affected the entire plants on day 43 (Figure 1).

## Conclusions

The most severe reductions in growth and morphological variables were seen in the plants subjected to continuous waterlogging for 6 and 8 days and it was observed that these differences from the control plants began at 15 days after the treatments were initiated and the negative effects intensified as time passed.

Under the conditions of the experiment, the cape gooseberry easily resisted 2 days of waterlogging, but 4 days under these conditions slowed growth (biomass) and development, which led to a lower induction of floral organs and fruits over time.

The plants can withstand a waterlogging of 4 days with respect to height, leaf area and observed stress symptoms.

The severest stress symptoms of the 8-day-waterlogged plants, with marked reductions in root growth and death of the plants, can be supposed to be the result of hypoxic conditions in the rhizosphere and the consequent production of ethylene and abscisic acid, as well as the reduction of the photosynthetic rate.

These results are the first to be reported for waterlogging in cape gooseberry plants in Colombia, where the terrain is highly affected by global climate change.

## References

**Agudelo, O.** 2009. Inundaciones en Colombia: un desastre que no es natural. UN Periódico 121, p. 18-19.

**Angulo, R.** (ed.). 2005. Uchuva. El cultivo. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá.

**Armstrong, W., R. Brändle & M.B. Jackson.** 1994. Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Bot. Neerl.* 43, 307-358.

**Armstrong, W. & M.C. Drew.** 2002. Root growth and metabolism under oxygen deficiency. pp. 729-761. In: Waisel, Y., A. Eshel, and U. Kafkafi (eds.). *Plant roots. The hidden half.* 3<sup>rd</sup> ed. Marcel Dekker, New York, NY.

**Ashraf, M.A.** 2012. Waterlogging stress in plants: A review. *Afr. J. Agr. Res.* 7, 1976-1981.

**Bailey-Serres, J. & L.A. Voesenek.** 2008. Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 313-339.

**Bange, M.P., S.P. Milroy & P. Thongbai.** 2004. Growth and yield of cotton in response to waterlogging. *Field Crops Res.* 88, 129-142.

**Bennet, J.** 2003. Opportunities for increasing water productivity of CGIAR crops through plant breeding and molecular biology. pp. 103-126. In: Kijne, J.W., R. Barker, and D. Molden (eds.). *Water productivity in agriculture: limits and opportunities for improvement.* CABI Publishing, Wallingford, UK.

**Blom, C.W.P.M. & L.A.C.J. Voesenek.** 1996. Flooding: the survival strategies of plants. *Tree* 11, 290-295.

**Bradford, K.J. & S.F. Yang.** 1981. Physiological responses of plants to waterlogging. *HortScience* 16, 25-30.

**Casierra-Posada, F. & N.E. Gómez.** 2008. Crecimiento foliar y radical en plantas de fique (*Furcraea castilla* y *F. macrophylla*) bajo estrés por encharcamiento. *Agron. Colomb.* 26, 381-388.

**Casierra-Posada, F. & Y.A. Vargas.** 2007. Crecimiento y producción de fruta en cultivares de fresa (*Fragaria* sp.) afectados por encharcamiento. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.* 1, 21-32.

**Das, H.P.** 2012. Agrometeorology in extreme events and natural disasters. BS Publikations, Hyderabad, India.

**Dwivedi, P. & R.S. Dwivedi.** 2012. Physiology of abiotic stress in plants. Agrobios, Jodhpur, India.

**Davies, F.S. & J.A. Flore.** 1986. Short-term flooding effects on gas exchange and quantum yield of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). *Plant Physiol.* 81, 289-292.

**Ezin, V., R. de la Pena & A. Ahanchede.** 2010. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. *Braz. J. Plant Physiol.* 22, 131-142.

**Fischer, G.** 2000. Crecimiento y desarrollo. pp. 9-26. In: Fischer, G., V.J. Florez, and A.D. Sora (eds.). *Producción, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia.* Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

**Fischer, G., G. Ebert & P. Lüdders.** 2007. Production, seeds and carbohydrate contents of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits grown at two contrasting Colombian altitudes. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 81, 29-35.

**Fischer, G. & D. Miranda.** 2012. Uchuva (*Physalis peruviana* L.). pp. 851-873. In: Fischer, G. (ed.). *Manual para el cultivo de frutales en el trópico.* Produmedios, Bogotá.

- Galindo, J.R. & L.M. Pardo.** 2010. Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Producción y manejo poscosecha. Produmedios, Bogotá.
- Gibbs, J. & H. Greenway.** 2003. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. *Funct. Plant Biol.* 30, 1-47.
- Hodgson, A.S. & K.Y. Chan.** 1982. The effect of short term waterlogging during furrow irrigation of cotton in a cracking grey clay. *Aust. J. Agr. Res.* 33, 109-116.
- Iacona, C., M. Cirilli, A. Zega, E. Frioni, C. Silvestri & R. Muleo.** 2013. A somaclonal myrobalan rootstock increases waterlogging tolerance to peach cultivar in controlled conditions. *Sci. Hortic.* 156, 1-8.
- Jackson, M.B.** 1990. Hormones and developmental change in plants subjected to submergence or soil waterlogging. *Aquatic. Bot.* 38, 49-72.
- Jackson, M.B. & T.D. Colmer.** 2005. Response and adaptations by plants to flooding stress. *Ann. Bot.* 96, 501-505.
- Jordán, M. & J. Casaretto.** 2006. Hormonas y reguladores del crecimiento: etileno, ácido abscísico, brasinoesteroides, poliaminas, ácido salicílico y ácido jasmónico. In: Squeo, F.A. and L. Cardemil (eds.). *Fisiología vegetal*. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile.
- Kläring, H.-P. & M. Zude.** 2009. Sensing of tomato plant response to hypoxia in the root environment. *Sci. Hortic.* 122, 17-25.
- Kozlowski, T.T. & S.G. Pallardy.** 1997. *Physiology of woody plants*. Academic Press, San Diego, CA.
- Martínez-Alcántara, B., S. Jover, A. Quiñones, M.A. Forner-Giner, J. Rodríguez-Gamir, F. Legaz, E. Primo-Millo & D.J. Iglesias.** 2012. Flooding affects uptake and distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings. *J. Plant Physiol.* 169, 1150-1157.
- Martínez, F.E., J. Sarmiento, G. Fischer & F. Jiménez.** 2009. Síntomas de deficiencia de macronutrientes y boro en plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agron. Colomb.* 27, 169-178.
- Larcher, W.** 2003. *Physiological plant ecology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Lopez, M.V. & D.A. del Rosario.** 1983. Performance of tomatoes under waterlogged conditions. *Philippine J. Crop Sci.* 8, 75-80.
- Lorbiecke, R. & M. Sauter.** 1999. Adventitious root growth and cell-cycle induction in deepwater rice, *Plant Physiol.* 119, 21-29.
- Shiu, O.Y, J.H. Oetiker, W.K. Yip & S.F. Yang.** 1998. The promoter of LE-ACS7, an early flooding-induced 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene of the tomato, is tagged by a Sol3 transposon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 10334-10339.
- Smit, B., M. Stachowiak & E. Van Volkenburgh.** 1989. Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic root stress. *J. Exp. Bot.* 40, 89-94.
- Tadeo, F.R. & A. Gómez-Cadenas.** 2008. Fisiología de las plantas y el estrés. pp. 577-597. In: Azcón-Bieto, J. and M. Talón (eds.). *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
- Taiz, L. & E. Zeiger.** 2010. *Plant physiology*. 5<sup>th</sup> ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA.
- Villareal, A.d.P.** 2014. Evaluación fisiológica de plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.), en la respuesta al estrés por anegamiento e infección de *Fusarium oxysporum*. M.Sc. thesis. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Walter, S., H. Heuberger & W.S. Schnitzler.** 2004. Sensibility of different vegetables of oxygen deficiency and aeration with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the rhizosphere. *Acta Hort.* 659, 499-508.
- Yeboah, M.A., C. Xuehao, C.R. Feng, M. Alfandi, G. Liang & M. Gu.** 2008. Mapping quantitative trait loci for waterlogging tolerance in cucumber using SRAP and ISSR markers. *Biotech.* 7, 157-167.
- Zhang, J. & W.J. Davies.** 1987. ABA in roots and leaves of flooded pea plants. *J. Exp. Bot.* 38, 649-659.



# Characterization of Al-Zr, Al-Hf and Al-Ce-pillared vermiculites by X-ray photoelectron spectroscopy

Ana María Campos<sup>1</sup>, Sonia Moreno<sup>2</sup>, Rafael Alberto Molina<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup>Estado Sólido y Catálisis Ambiental, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

## Abstract

X-ray photoelectron spectroscopy was used to establish the relative concentration and the chemical environment of modifying species in a series of vermiculites pillared with mixed precursors of Al-Zr, Al-Hf and Al-Ce. The binding energies observed provided evidence that zirconium and hafnium are most likely found as Zr-O(H)- and/or Zr-Si- and HfO<sub>2</sub>, displaying a larger dispersion on the vermiculite surface compared with cerium species (Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), which are mainly found inside clay aggregates. On the one hand, the chemical analysis showed that with Al-Hf and Al-Zr solutions, the introduction of hafnium and zirconium was complete within the range of 0.5 - 2 mmol g<sup>-1</sup> of clay, but the efficiency was reduced with larger quantities. On the other hand, the introduction of cerium in the Al-Ce solutions can be considered to be complete within the range assessed.

**Key words:** Pillared vermiculite, zirconium, hafnium, cerium, XPS.

## Caracterización de vermiculitas pilarizadas con Al-Zr, Al-Hf y Al-Ce por espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos-X

### Resumen

Se utilizó la espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos-X para establecer la concentración relativa y el ambiente químico de las especies introducidas en una serie de vermiculitas pilarizadas con precursores mixtos de Al-Zr, Al-Hf y Al-Ce. Las energías de enlace observadas evidenciaron que es más probable encontrar zirconio y hafnio como Zr-O(H) - o Zr-Si- y HfO<sub>2</sub>, y que estos exhiben, además, una mayor dispersión en la superficie de la vermiculita en comparación con las especies de cerio (Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), las cuales se encuentran principalmente en el interior de las láminas de arcilla. Por un lado, el análisis químico mostró que con las soluciones de Al-Hf y Al-Zr, la introducción de hafnio y de zirconio era completa dentro del rango de 0,5 a 2 mmol g<sup>-1</sup> de arcilla, pero que la eficacia se reducía con cantidades más grandes. Por otro lado, la introducción de cerio en las soluciones de Al-Ce pudo considerarse completa dentro del rango evaluado.

**Palabras clave:** vermiculita pilarizada, zirconio, hafnio, cerio, XPS.

## Introduction

Research carried out in the past few years regarding the pillaring of clay minerals with high interlayer charge has special interest in the study of new processes that allow for the control of physical-chemical properties, with an emphasis on the development of the acidity in these materials (Vicente, *et al.*, 2013; del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000a; del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000b; del Rey-Pérez-Caballero, *et al.*, 2000c; Jiménez, *et al.*, 2005; Cristiano, *et al.*, 2005). A characteristic feature of these materials is their efficiency as catalysts in proton-catalyzed reactions, as they possess a large number of substitutions in the tetrahedral sheet (Si-OH-Al bonds) (del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000; del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000b; del

Rey-Pérez-Caballero, *et al.*, 2000; Jiménez, *et al.*, 2005; Cristiano, *et al.*, 2005; Chmielarz, *et al.*, 2007; Hernández, *et al.*, 2007; Hernández, *et al.*, 2008; Campos, *et al.*, 2007).

In this sense, vermiculite is an attractive clay, with a large number of these substitutions as well as a high thermal stability (Suvorov & Skurikhin, 2003; Campos, *et al.*, 2008; Purceno, *et al.*, 2012). In fact, the acidic properties expected from pillared vermiculites have been highlighted due to their great activity and selectivity in reactions such as octane (del

### \*Corresponding author:

Rafael Alberto Molina, Molinaramolinag@unal.edu.co

Recibido: 23 de Julio de 2014

Aceptado: 10 de diciembre de 2014

Rey-Pérez-Rodríguez, *et al.*, 2000c), heptane (Cristiano, *et al.*, 2005) and decane hydroconversion (Campos, *et al.*, 2007; Suvorov & Skurikhin, 2003; Campos, *et al.*, 2008; Campos, *et al.*, 2008b).

The pillaring of mixed systems of metal cations has proven to be a very useful process to increase and enhance the acidic properties in vermiculites. Aluminum is usually employed as the main cation, as it is expected that two of its main characteristics, i.e., its thermal stability and total acidity, will be enhanced through the addition of small molar fractions of a second cation due to the increase in active sites in some types of mixed oxides (Valášková, *et al.*, 2013; Trombetta, *et al.*, 2000). The characteristics of cations that may cause an increase in acidity are based on some elementary aspects of their chemistry in aqueous solution (Jolivet, *et al.*, 1994), which may result in an important increase of the acidity in the final oxide (Tanabe, *et al.*, 1989). Through this approach, vermiculites pillared with aluminum (del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000; del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000b; del Rey-Pérez-Caballero, *et al.*, 2000; Jiménez, *et al.*, 2005; Cristiano, *et al.*, 2005; Chimieler, *et al.*, 2007; Hernández, *et al.*, 2007; Hernández, *et al.*, 2008), with Al-Zr (Cristiano, *et al.*, 2005; Campos, *et al.*, 2008) and with Al-Ce (Campos, *et al.*, 2007; Campos, *et al.*, 2008) have been reported. The modifications carried out have evidenced that the addition of strong acid cations to the aluminum polymer solution significantly promotes the acidic properties of materials compared with the simple aluminum systems (Cristiano, *et al.*, 2005; Campos, *et al.*, 2008). However, the studies on the behavior of pillaring species in vermiculites do not provide details about the chemical state and the environment of these species either on the outer surface or between the layers of clay minerals.

In this sense, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) is an ideal characterization technique. Given that electrons originate from a depth between 1 and 10 nm (Weckhuysen, *et al.*, 2000), XPS is appropriate to study structural ions on clay 2:1, even for species located in the interlayer region (He, *et al.*, 2007; Pandolfi, *et al.*, 2008). In fact, the analysis on the clay surface may be extended to the structural analysis because of the thickness of the layers comprising these solids (Gier & Johns, 2000). This extension has been confirmed by several studies regarding the depth of analysis on these materials (Cool, *et al.*, 1997; Johns & Gier, 2001), and results have shown a good correlation with elemental chemical analysis. However, differences approaching 10% in the relative concentration of the ions making up the layers have also been reported with respect to mass content, while the difference in the relative concentration of interlayer ions oscillated between 20 and 30% (González, *et al.*, 1988). These differences have been associated with XPS surface sensitivity and with factors such as the density of the

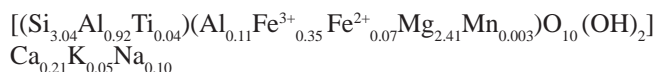
sample and its morphology (Johns & Gier, 2001). Hence, a discussion about the structural properties is possible only if the composition of the most external layers is representative of its mass composition.

In this context, the present study assessed the composition, distribution and chemical state of the modifying species in vermiculite pillared with Al-M solutions, where M corresponds to an acidic metal (M= zirconium - Zr, cerium - Ce, and hafnium - Hf) added to the aluminum pillaring solution. X-ray diffraction (XRD), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), X-ray fluorescence (XRF), inductive plasma spectrometry emission (ICPS) and adsorption of nitrogen were used as characterization techniques.

## Experimental process

### Materials

The starting vermiculite (labeled V) corresponded to a clay mineral with a high laminar charge from the Santa Marta region in Colombia:



Modifications were made to the fraction with a particle size less than 150  $\mu\text{m}$ , which was separated from the raw vermiculite through sieving, with no prior purification, and had a cationic exchange capacity of 1.10 meq  $\text{g}^{-1}$  (Campos, *et al.*, 2009).

### Charge reduction treatment

Natural vermiculite was submitted to hydrothermal treatment, aiming its charge reduction at 400 °C under a partial water vapor pressure of 75% in nitrogen, according to conditions established previously (Cristiano, *et al.*, 2005). This solid was used as a starting material in the synthesis and labeled as H400V75.

With the purpose of achieving more efficiency during the process of inserting the pillaring species within the clay layers, H400V75 was then homoionized with sodium by adding a 3 M sodium chloride solution to a suspension of the solid at 5% p/v under constant magnetic stirring for one hour at 80°C. Finally, the clays were washed with distilled water and dried in air at 60°C.

### Modification with Al-Zr, Al-Hf and Al-Ce

The polymeric solutions of Al-M (where M=Zr, Hf or Ce) were prepared to supply 12 mmol of Al+M per gram of clay (del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000a). A 0.1 M solution of M was slowly added to a 0.1 M solution of  $\text{AlCl}_3$  (Aldrich, anhydrous, powder, 99.999%) for the addition of Zr or Hf, or  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  (Aldrich, ACS reagent,  $\geq 98\%$ ) for the addition of Ce, starting from aqueous solutions of  $\text{ZrOCl}_2$

(Sigma-Aldrich reagent grade, 98%),  $\text{HfCl}_4$  (Aldrich, 98%) or  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  (Aldrich, 99.99% trace metals basis), respectively, under constant magnetic stirring at room temperature.

When the temperature of the Al-M solution increased to 60°C, a 0.2 M solution of NaOH (Sigma-Aldrich  $\geq 98\%$  pellets (anhydrous)) was added in a drip under vigorous stirring using the necessary volume to attain a molar ratio  $\text{OH}/(\text{Al}+\text{M})$  of 2. At the end of the addition, the solution remained at the same temperature for 2 h. The pH of the solutions was 3.5-4.

After aging the pillaring solution for 36 h at room temperature, we slowly added it to a clay suspension (2% wt) with constant stirring. During the exchange the temperature was 80°C, preserved for an additional 4 h after the end of the addition. The final clay suspension was aged for 12 h at room temperature. Afterward, excess salt was removed by rinsing with distilled water. Finally, the materials were dried at 60°C and calcinated at 400°C (5°C min<sup>-1</sup>) for 2 h in air.

The metal ratios were selected according to the optimal value of 12 mmol of metal/g of clay for the pillaring of vermiculite through aluminum (**del Rey-Pérez-Caballero & Poncelet, 2000a**) making sure that the concentration of the second metal was not too high to prevent changes in the optimal conditions for the formation of the Al polymer (**Bottero, et al., 1980**).

The materials were labeled with the name of the second metal added to the aluminum polymeric solution, followed by the amount added (0.5, 1, 1.5, 2 and 4 mmol). Thus, Zr0.5 corresponds to vermiculite modified with an Al-Zr solution containing 11.5 mmol of Al and 0.5 mmol of Zr per gram of clay.

### Characterization

X-ray diffraction (XRD) spectra of powder samples was measured on a Phillips PW1710 spectrometer with copper anticathode. Nitrogen adsorption isotherms were taken at 77K in a Micrometrics Tristar 3000 instrument on samples previously outgassed at 200°C for 6 h.

XPS analyses were performed on a Kratos Axis Ultra spectrometer (Kratos Analytical – Manchester – UK) equipped with a monochromatized aluminum X-ray source (powered at 10 mA and 15 kV) and an eight channeltrons detector. The sample powders were pressed into small stainless steel troughs mounted on a multi-specimen holder. The pressure in the analysis chamber was approximately 10<sup>-6</sup> Pa. The angle ( $\theta$ ) between the normal to the sample surface and the direction of photoelectrons collection was approximately 0°. The pass energy of the hemispherical analyzer was set at 160 eV for the wide scan and 40 eV for narrow scans. In the latter conditions, the full width at half maximum (FWHM) of the  $\text{Ag}3d_{5/2}$  peak of a standard silver sample was approximately

0.9 eV. The hybrid lens magnification mode was used with the slot aperture and the iris drive set at 0.5" resulting in an analyzed area of 700  $\mu\text{m}$  x 300  $\mu\text{m}$ . Charge stabilization was achieved using the manufacturer's device. The following sequence of spectra was recorded: Survey spectrum, C1s, O1s, Mg2s, Si2p, Al2p, Fe2p, C1s, and Zr3d or Hf4f or Ce3d. Finally, C1s was performed again to check for charge stability as a function of time and the absence of degradation of the sample during the analyses. The C-(C, H) component of the C1s peak of carbon was fixed to 284.8 eV to set the binding energy scale.

Molar fractions (%) were calculated using peak areas normalized on the basis of acquisition parameters after a linear background subtraction, experimental sensitivity factors (**Wagner, 1990**) and transmission function provided by the manufacturer.

Elemental analysis of both the starting mineral and Zr was performed by means of X-ray fluorescence (XRF) using the Philips FRX 2400 equipment. The Hf and Ce contents were determined by ICP spectroscopy.

### Results and discussion

The XRD results, surface area ( $S_{\text{BET}}$ ) and microporous volume ( $V_{\text{micro}}$ ) are summarized in Table 1. In general, all solids showed a substantial change with respect to the starting vermiculite H400V75, highlighting the successful pillaring procedure.

**Table 1.** Characterization of pillared vermiculites and the starting vermiculite (H400V75)

Sample	$d_{(001)}$ (nm)	$S_{\text{BET}}$ (m <sup>2</sup> /g)	$V_{\text{Micro}}$ (cm <sup>3</sup> /g)
Zr 0.5	1.8	104	0.040
Zr 1	1.8	127	0.049
Zr 1.5	1.8	117	0.043
Zr 2	1.8	100	0.040
Zr 4	1.4	91	0.032
Hf 0.5	1.8	81	0.032
Hf 1	1.8	100	0.040
Hf 1.5	1.8	92	0.036
Hf 2	1.8	105	0.041
Hf 4	1.4	71	0.029
Ce 0.5	1.4-1.8	80	0.033
Ce 1	1.4-1.8	91	0.038
Ce 1.5	1.4-1.8	80	0.033
Ce 2	1.4-1.8	79	0.033
Ce 4	1.5	27	0.010
V	1.4	7	0.001
H400V75	1.4	44.6	0.016

The XRD analysis of modified clays revealed the introduction of the metal polyhydroxocation and the resulting formation of oxides or oxyhydroxides due to the cations employed in the interlayer spacing of the material. The shifting of d001 basal spacing from 1.38 nm (H400V75) to 1.78-1.82 nm confirmed the modification via pillaring.

The values of the surface area agreed with the results of the X-ray diffraction revealing an increase of the BET areas, which evidenced the successful pillaring of the clay and the consequent formation of microporous structures.

While the best characteristics corresponded to the series modified with Zr, they were less pronounced for the series modified with Ce. For example, the clay modified with 4 mmol of Ce (Ce4) presented a considerable reduction in surface area with respect to other solids of the same series, as well as a low micropore volume, thus explaining the absence of a characteristic pillar signal in the XRD.

When the addition of the second cation for the series of Al-Zr and Al-Hf amounted to 4 mmol g<sup>-1</sup> of clay, a notable reduction in surface area and micropore volume were also observed, although not as marked as in the case of Ce4. Such behavior may be related to the distortion of the polymeric structure of aluminum pillars, as it has been previously observed (Bottero, *et al.*, 1980), leading to the generation of oligomers of smaller size, and/or to the generation of aggregates that may obstruct the porosity generated during the modification.

#### Al-Zr vermiculites

The results of elemental characterization by means of the XPS technique in vermiculites pillared with Al-Zr solutions are shown in Table 2. The five solids assessed did not show significant variations in the binding energy (BE) of the Zr3d<sub>5/2</sub> peak, which indicates that the same type of exchanged Zr species was obtained independently from the metal content.

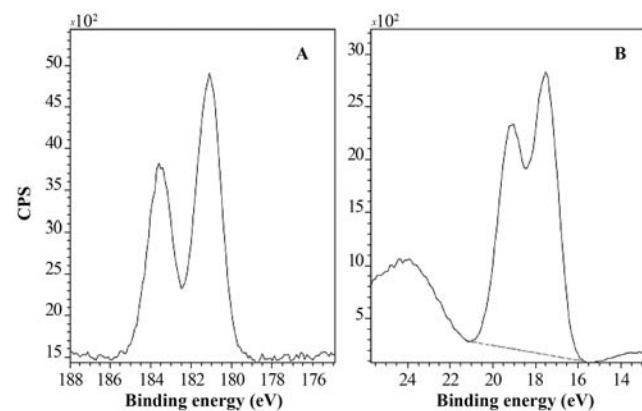
Likewise, our results suggest the existence of interactions between the metal and the mineral. To elucidate the type of species and interaction, BE variations of the clay mineral must be taken into account before (H400V75) and after its modification with Al-Zr solutions and/or the formation of species such as Zr-Ox-, Zr-Si- and/or Zr-Al. As shown in Table 2, differences in the mineral before and after its modification were not very significant except for O1s and Si2p binding energy, which was ~0.4 to 0.8 eV lower in Zr samples. The discrepancy was slightly greater with the lower content of Zr (Zr0.5). These significant differences of BE suggest changes in the chemical surroundings of O and Si from vermiculite layers caused by the insertion of the Al-Zr pillaring species. In five of the clays assessed, the Zr3d<sub>5/2</sub> peak of the Zr3d doublet was at 182.8 eV (Figure 1A).

**Table 2.** Binding energies (BE in eV) for several elements in pillared vermiculites and starting material (H400V75)

Sample	O 1s	Si 2p	Al 2p	Fe 2p <sub>3/2</sub>	Mg 2s	M <sup>a</sup>
H400V75	532.3	103.1	74.5	712.5	89.3	
Zr 0.5	531.5	102.3	74.5	712.1	88.8	182.7
Zr 1	531.8	102.7	74.6	712.2	89.0	182.8
Zr 1.5	531.9	102.6	74.7	711.9	89.1	182.8
Zr 2	531.6	102.6	74.5	712.4	88.8	182.8
Zr 4	531.6	102.5	74.4	712.0	88.9	182.8
Hf0.5	531.7	102.6	74.6	711.6	88.6	17.5
Hf1	531.8	102.5	74.8	712.0	88.9	17.5
Hf1.5	531.6	102.6	74.6	711.6	89.0	17.4
Hf2	531.8	102.7	74.6	712.2	88.9	17.5
Hf4	531.5	102.6	74.4	711.7	89.0	17.5
Ce0.5	531.9	102.7	74.8	712.2	88.9	bdl
Ce1	531.8	102.5	74.6	712.1	88.9	bdl
Ce1.5	531.8	102.8	74.7	712.4	88.7	bdl
Ce2	531.8	102.5	74.6	712.2	88.8	bdl
Ce4	531.7	102.5	74.2	711.8	89.0	886.3

<sup>a</sup>M= Zr 3d<sub>5/2</sub>, Hf 4f<sub>7/2</sub> or Ce 3d<sub>5/2</sub>

bdl: Below detection limit



**Figure 1.** XPS (A) Zr-3d and (B) Hf-4f doublets recorded for vermiculite modified with Al-Zr and Al-Hf solutions

As regards the AlZrO<sub>x</sub>-type materials, binding energies of 182.6 eV and 182.7-183.1 eV have been reported for the Zr3d<sub>5/2</sub> signal (Damyanova, *et al.*, 2003). However, such values should be supported by variations in the Al2p BE in modified vermiculites as compared to H400V75, which were not observed in this case. The 0.8 eV difference in the binding energy of the Zr found in the modified vermiculite compared with pure ZrO<sub>2</sub> (182.0 eV) (Awate, *et al.*, 2004) should be related to the formation of Zr(IV) species bound to more electron attractive species, which brings about a larger binding energy shift (Younes, *et al.*, 2003).



Among the different possibilities, one is the presence of hydrogen associated with oxygen, as has been reported for Zr pillared montmorillonites, in which the formation of Zr-associated OH groups was suggested, with a binding energy of 182.8 eV for  $Zr3d_{5/2}$  (Awate, *et al.*, 2004). Another possibility is the presence of silicon, as the BE value for Zr (182.8 eV) was similar to the one reported for zirconium oxides supported on silica (Fuentes, *et al.*, 2006), which indicates that the interaction of Zr on the silica surface may induce a shift in the binding energy of up to 182.9 eV.

In contrast, an increase in Al and Zr concentrations after the modifications made to the vermiculite was evident (Table 3). The introduction of aluminum in the vermiculites clearly induced a drastic reduction of the Si/Al ratio (between 1.7 and 2.1) compared to that observed in H400V75 (3.9) (Table 3).

Zr content as indicated by XPS and XRF (Table 3) did not exhibit a linear tendency with respect to the amount added to the pillaring solution. However, the introduction of a second metal to the pillared solid may be considered complete within the range of 0.5 - 2 mmol  $g^{-1}$  of clay, while with larger

quantities (4 mmol  $g^{-1}$  of clay) the efficiency in the insertion, as calculated from the XRF-measured Zr and the Zr added to the pillaring solution, dropped to 69% (Table 3).

In the five synthesized solids, the relative Zr concentrations measured by XPS were markedly higher than those measured by XRF (Table 3), which could be explained by the preferential location of Zr outside the clay layers.

#### Al-Hf vermiculites

The five solids did not show any significant variation in the binding energy of the  $Hf4f_{7/2}$  peak (Table 2), indicating that the same type of Hf species is found in the clay, independently of the metal content. The most significant differences between the mineral before and after modification were registered in O1s BE, and in Si2p peaks. A small shift of 0.3 to 0.9 eV was observed in the  $Fe2p_{3/2}$  peak of the modified clays: 0.5 to 0.6 eV for the O1s peak and 0.5 to 0.6 eV for the Si2p peak. Consequently, a change in the chemical surroundings of these elements caused by the insertion of species of the Al-Hf pillaring solution may have occurred.

The  $Hf4f_{7/2}$  peak (Figure 1B), at approximately 17.5 eV, was attributed to interactions of Hf with elements other than oxygen; for the  $HfO_2$ , the  $Hf4f_{7/2}$  peak is located at approximately 16.8 eV (Yakamoto, *et al.*, 2002). The formation of  $HfSiO-$  was discarded because this would have caused a shift of the  $Hf4f_{7/2}$  peak to a binding energy of more than 1 eV as compared with that of  $HfO_2$  (Renault, *et al.*, 2003; Deshpande, *et al.*, 2006). In contrast, the formation of  $HfAlO-$  species cannot be discarded because the corresponding  $Hf4f_{7/2}$  peak has also been reported to be approximately 17.5 eV (Lee, *et al.*, 2003).

Al introduction in Hf-vermiculites is clearly indicated by the drastic reduction of the Si/Al ratio (between 2.0-2.3, Table 3) compared to H400V75 (3.9 in Table 3).

Regarding the quantities of Hf used in the synthesis, the introduction of this element was complete in the range between 0.5 and 2 mmol  $g^{-1}$  of clay, but in larger quantities (4 mmol) the efficiency of the introduction was reduced to 45% compared with the initial nominal quantity. Although there was no linear tendency with respect to the Hf added and the one found in the solids, a linear increase was clearly identified in catalysts Hf0.5 to Hf1.5, while for catalysts Hf2 and Hf4 the metal content was reduced in the bulk (Table 3).

Hf content was larger on the surface (XPS) than in the bulk (ICPS), and the same was observed for Zr (Table 3), which suggests the preferential presence of these elements outside the clay layers.

#### Al-Ce vermiculites

As shown in Table 2, the most significant difference between the starting mineral and the clays after modification concerned

**Table 3.** Surface XPS values (molar fractions in %) and metal content for pillared vermiculites

Sample	M <sup>a</sup> (%)	M (%)	Ratio	Ratio	Ratio
	XPS	Bulk <sup>b</sup>	XPS/Bulk	Si/Al <sup>c</sup>	M/Si <sup>d</sup>
H400V75	-	-	-	3.9	-
Zr 0.5	1.6	0.19	8.3	1.7	0.1
Zr 1	2.2	0.25	8.9	1.8	0.2
Zr 1.5	1.9	0.20	9.5	2.0	0.1
Zr 2	2.7	0.23	11.8	2.0	0.2
Zr 4	2.2	0.25	8.8	2.1	0.1
Hf 0.5	1.2	0.20	5.8	2.2	0.1
Hf 1	1.4	0.24	5.8	2.3	0.1
Hf 1.5	2.8	0.39	7.2	2.0	0.2
Hf 2	1.7	0.35	4.9	2.1	0.1
Hf 4	1.5	0.33	4.6	2.2	0.1
Ce 0.5	bdl	0.12	-	1.8	-
Ce 1	bdl	0.16	-	2.0	-
Ce 1.5	bdl	0.27	-	2.1	-
Ce 2	bdl	0.29	-	1.9	-
Ce 4	0.75	0.56	1.3	2.3	0.02

<sup>a</sup> M= Zr, Hf or Ce

bdl: Below detection limit

<sup>b</sup> Total metal content: Zr by XRF, Hf and Ce by ICPS

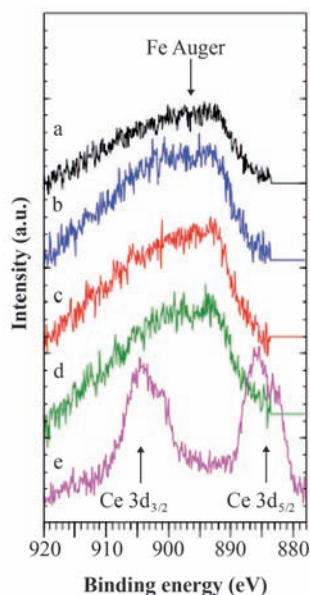
<sup>c,d</sup> Element ratio (XPS)

( ) = % Efficiency on metal adding on vermiculite = % M assessed / %M in solution x 100

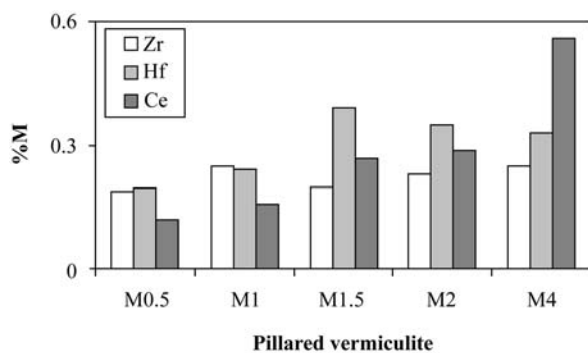
the BE of the O1s, Si2p and Mg2s peaks. In modified clays those peaks were shifted to a lower BE than that of the respective peak in H400V75: between 0.4 and 0.6 eV for the O1s signal; between 0.3 and 0.6 eV for the Si2p signal, and between 0.3 and 0.6 eV for the Mg2s signal. These shifts suggested an eventual effect of cerium on the mineral surface, but Ce was detectable only in the Ce4 sample and not in the other samples. The Ce3d doublet overlapped with the  $\text{FeL}_{2,3}\text{M}_{2,3}\text{L}_{2,3}$  Auger peak, which was situated between the two peaks of the Ce3d doublet (Figure 2). The Ce4 sample had the lowest iron concentration, which explains why the Ce3d doublet, although overlapped with Fe Auger, could be detected. However, the measured concentration of Ce may have been overestimated due to the presence of this Fe Auger peak. Consequently, compared to the two other metals Ce cannot be quantified reliably from the Ce3d peak despite its high cross section (Scofield, 1976).

The characteristic feature of the Ce3d spectrum of  $\text{Ce}^{4+}$  is the existence of a high BE satellite at ~916 eV (Mamede, *et al.*, 2004; Hashimoto, *et al.*, 1997), which is absent from the Ce3d spectrum of  $\text{Ce}^{3+}$  (Hashimoto, *et al.*, 1997). In our case, the satellite was absent from the Ce3d spectrum recorded for Ce4 (Figure 2), and, therefore, there was only  $\text{Ce}^{3+}$  and no  $\text{Ce}^{4+}$ .

Regarding the total bulk concentration of Ce registered in the ICPS (Table 3), a linear tendency was observed with respect to the nominal quantity used in the synthesis within the evaluated range. Given that the ICPS quantification of Ce demonstrated its incorporation into the five modified



**Figure 2.** XPS Ce3d doublet recorded for vermiculite modified with Al-Ce solutions: (a) Ce0.5, (b) Ce1, (c) Ce1.5, (d) Ce2, (e) Ce4



**Figure 3.** Total metal content (M=Zr, Hf or Ce) assessed for pillared vermiculites with Al-Zr (Zr), Al-Hf (Hf) and Al-Ce (Ce) solutions

solids (Figure 3), and that it could not be detected by XPS, it may have been located inside the clay aggregates in solids Ce0.5 to Ce2. Additionally, in Ce4, the Ce/Si ratio (0.02) was very low compared to that in Zr4 and Hf4 (0.15 and 0.11, respectively), although Ce content in bulk was larger, which indicates that Ce was present in the aluminum polymer solution, but its interaction with the clay during the modification process was different from that of Zr and Hf.

Such behavior of Ce in the vermiculites is similar to the one previously reported in pillared montmorillonites modified with mixed Ce-Zr (Mishra & Rao, 2003) and Ce-Al species (Mishra & Rao, 2005), in which it has been proposed that starting from the UV-VIS diffuse reflectance analysis, the  $\text{Ce}^{3+}$  ions were located preferentially in the exchange sites of clays or that they were associated to the pillaring generated micropores.

In contrast, our results showed that Zr and Hf most likely precipitated as oxides on the outer surface of clay particles because these ions precipitate at pH=1 while  $\text{Ce}^{3+}$  species exist up to a pH=7 level (Jolivet, *et al.*, 1994).

## Conclusions

The total content of the metals added to the aluminum solution for the pillaring process showed that the introduction of Ce was complete in the range of 0.5 - 4 mmol  $\text{g}^{-1}$  of clay, whereas for Hf and Zr, it was in the range of 0.5-2 mmol  $\text{g}^{-1}$  of clay.

The peak binding energies of  $\text{Zr}3d_{5/2}$ ,  $\text{Hf}4f_{7/2}$ ,  $\text{Ce}3d_{5/2}$  indicated that these metals were found as  $\text{Zr}^{4+}$ ,  $\text{Hf}^{4+}$  and  $\text{Ce}^{3+}$ , respectively.

The low XPS signal observed in the Ce4-vermiculite and the absence of the 3d signals in other clays modified with Ce indicate that probably Ce is preferentially located in the internal regions of clay aggregates. In contrast, our results showed that Zr and Hf were preferentially located at the outer surface of clay particles.

## Bibliography

- Awate S., Waghmode S., Agashe M.** (2004). Synthesis, characterization and catalytic valuation of zirconia-pillared montmorillonite for linear alkylation of benzene. *Catal. Commun.* **5**: 407-411.
- Bottero J., Cases J., Flessinger F., Poirier J.** (1980). Studies of hydrolyzed aluminum chloride solutions. Nature of aluminum species and composition of aqueous solutions. *J. Phys. Chem.* **84**: 2933-2939.
- Campos A., Gagea B., Moreno S., Jacobs P., Molina R.** (2007). Hydroisomerization of decane on Pt/Al,Ce-pillared vermiculites. *Stud. Surf. Sci. Catal.* **170**: 1405-1409.
- Campos A., Moreno S., Molina R.** (2008a). Relationship between hydrothermal treatment parameters as a strategy to reduce layer charge in vermiculite, and its catalytic behavior. *Catal. Today.* **133-135**: 351-356.
- Campos A., Gagea B., Moreno S., Jacobs P., Molina R.** (2008b). Decane hydroconversion with Al-Zr, Al-Hf, Al-Ce-pillared vermiculites. *Appl. Catal. A.* **345**: 112-118.
- Campos A., Moreno S., Molina R.** (2009). Characterization of vermiculite by XRD and spectroscopic techniques. *Earth Sci. Res. J.* **13**: 108-118.
- Chmielarz L., Kus'trowski P., Michalik M., Dudek B., Piwowska Z., Dziembaj R.** (2007). Vermiculites intercalated with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pillars and modified with transition metals as catalysts of DeNOx process. *Catal. Today.* **137**: 242-246.
- Cool P., Clearfield A., Mariagnanam V., Ellistrem L., Crooks R., Vansant E.** (1997). Self-assembly of aluminium-pillared clay on a gold support. *J. Mater. Chem.* **7**: 443-448.
- Cristiano D., Campos A., Molina R.** (2005). Charge reduction in a vermiculite by acid and hydrothermal methods: A comparative study. *J. Phys. Chem B.* **109**: 19026-19033.
- Damyanova S., Petrov L., Grange P.** (2003). XPS characterization of zirconium-promoted CoMo hydrodesulfurization catalysts. *Appl. Catal. A.* **239**: 241-252.
- Deshpande A., Inman R., Jursich G., Takoudis C.** (2006). Characterization of hafnium oxide grown on silicon by atomic layer deposition: Interface structure. *Microelectron. Eng.* **83**: 547-552.
- Fuentes D., Santamaría J., Mérida J., Rodríguez F., Jiménez A., Maireles P., Moreno R., Mariscal R.** (2006). Evaluation of the acid properties of porous zirconium-doped and undoped silica materials. *J. Solid State Chem.* **179**: 2182-2189.
- González A., Espinòs J., Munuera G., Sanz J., Serratos J.** (1988). Bonding-state characterization of constituent elements in phyllosilicate minerals by XPS and NMR. *J. Phys. Chem.* **92**: 3471-3476.
- Hernández W., Moreno S., Molina R.** (2007). Modificación y caracterización de una vermiculita colombiana con especies de titanio, zirconio y sulfato. *Rev. Col. Quím.* **36**: 73-91.
- Hernández W., Centeno M., Odriozola J., Moreno S., Molina R.** (2008). Acidity characterization of a titanium and sulfate modified vermiculite. *Mater. Res. Bull.* **43**: 1630-1640.
- Jhons W. & Gier S.** (2001). X-ray photoelectron spectroscopic study of layer charge magnitude in micas and illite-smectite clays. *Clay Miner.* **36**: 355-367.
- Jiménez M., Pérez-Rodríguez J., Poyato J., Pérez-Maqueda L., Ramírez V., Justo A., Lerf A., Wagner F.** (2005). Effect of ultrasound on preparation of porous materials from vermiculite. *Appl. Clay Sci.* **30**: 11-20.
- Jolivet J., Henry M., Livage J.** (1994). De la solution á l'oxyde. *Intermédiations, Paris*, p. 68.
- Gier S. & Johns W.** (2000). Heavy metal-adsorption on micas and clay minerals studied by X-ray photoelectron spectroscopy. *Appl. Clay Sci.* **16**: 289-299.
- Hashimoto K., Matzuo K., Kominami H., Kera Y.** (1997). Cerium oxides incorporated into zeolite cavities and their reactivity. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **93**: 3729-3732.
- He H., Zhou Q., Frost R., Wood B., Duong L., Klopogge J.** (2007). A X-ray spectroscopy study of HDTMAB distribution within organoclays. *Spectrochim. Acta, Part A.* **66**: 1180-1188.
- Lee P., Dai J., Wong K., Chan H., Choy C.** (2003). Growth and characterization of Hf-aluminate high-*k* gate dielectric ultrathin films with equivalent oxide thickness less than 10 Å. *J. Appl. Phys.* **93**: 3665-3667.
- Mamede A., Payen E., Grange P., Poncelet G., Ion A., Alifanti M., Pârvulescu V.** (2004). Characterization of WO<sub>x</sub>/CeO<sub>2</sub> catalysts and their reactivity in the isomerization of hexane. *J. Catal.* **223**: 1-12.
- Mishra B. & Rao G.** (2003). Influence of synthesis conditions and cerium incorporation on the properties of Zr-pillared clays. *J. Porous Mater.* **10**: 93-103.
- Mishra B. & Rao G.** (2005). Cerium containing Al- and Zr-pillared clays: Promoting effect of cerium (III) ions on structural and catalytic properties. *J. Porous Mater.* **12**: 171-181.
- Pandolfi L., Cafarelli P., Kasiulis S., Tomlinson A.** (2008). XPS analysis of several zeolites and clay-based nanoporous materials for C<sub>4</sub> hydrocarbon conversions. *Microporous Mesoporous Mater.* **110**: 64-71.
- Purceno A., Teixeira A., Souza A., Ardisson J., Mesquita J., Lago R.** (2012). Ground vermiculite for the Fenton reaction. *Appl. Clay Sci.* **69**: 87-92.
- Renault O., Samour D., Rouchon D., Holliger P., Papon A., Blind D., Marthon S.** (2003). Interface properties of ultrathin HfO<sub>2</sub> films grown by atomic layer deposition on SiO<sub>2</sub>/Si Thin Solid Films. **428**: 190-194.
- del Rey-Pérez-Caballero F. & Poncelet G.** (2000a). Microporous 18 Å Al-pillared vermiculites: Preparation and characterization. *Microporous Mesoporous Mater.* **37**: 313-327.

- del Rey-Pérez-Caballero F. & Poncelet G.** (2000b). Preparation and characterization of microporous 18 Å Al-pillared structures from natural phlogopite micas. *Microp. Mesop. Mater.* **41**: 169-181.
- del Rey-Pérez-Caballero F., Sánchez M., Poncelet G.** (2000c). Hydroisomerization of octane on Pt/Al-pillared vermiculite, and comparison with zeolites. *Stud. Surf. Sci. Catal.* **130**: 2417-2422.
- Scofield J.** (1976). Hartree-Slater subshell photoionization cross-sections at 1254 and 1487 eV. *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **8**: 129-137.
- Suvorov D. & Skurikhin V.** (2003). Vermiculite: A promising material for high-temperature heat insulators. *Refract. Ind. Ceram.* **44**: 186-193.
- Tanabe K., Misono M., Ono Y., Hattori H.** (1989). New Solids Acids and Bases: Their Catalytic Properties. *Stud. Surf. Sci. Catal.*, Elsevier, Amsterdam, **51**: 108.
- Trombetta M., Lenarda M., Storaro L., Gonzerla R., Piovesan L., Jiménez A., Alcántara M., Rodríguez E.** (2000). Solid acid catalysts from clays: Evaluation of surface acidity of mono- and bi-pillared smectites by FT-IR spectroscopy measurements, NH<sub>3</sub>-TPD and catalytic tests. *Appl. Catal. A.* **193**: 55-69.
- Valášková, M., Tokarský, J., Hundáková, M., Zdráalková, J., Smetana, B.** (2013). Role of vermiculite and zirconium-vermiculite on the formation of zircon-cordierite nanocomposites. *Appl. Clay Sci.* **75-76**: 100-108.
- Vicente, M. A., Gil, A., Bergaya, F.** (2013). Chapter 10.5 - Pillared Clays and Clay Minerals. *Developments in Clay Science*. B. Faïza and L. Gerhard (editors?) Elsevier. **5**: 523-557.
- Wagner C.** (1990). *Practical Surface Analysis*. Second edition. J. Wiley and Sons (Eds). (¿Ciudad? ¿Páginas?).
- Weckhuysen B., Van Der Voort P., Catana G.** (2000). *Spectroscopy of Transition Metal Ions on Surfaces*. Leuven University Press. Belgium.
- Yakamoto K., Hayashi S., Kubota M., Niwa M.** (2002). Effect of Hf metal predeposition on the properties of sputtered HfO<sub>2</sub>/Hf stacked gate dielectrics *Appl. Phys. Lett.* **81**: 2053-2056.
- Younes M., Ghorbel A., Rives A., Hubaut R.** (2003). Comparative study of the acidity of sulphated zirconia supported on alumina prepared by sol-gel and impregnation methods. *J.Sol-Gel Sci. Technol.* **26**: 677-680.



# Reconstrucción de las concentraciones de materia orgánica y nutrientes mediante espectrometría y análisis de diatomeas en tres embalses de Antioquia

Lina Juliana Gallo-Sánchez<sup>1\*</sup>, María Teresa Flórez-Molina<sup>1</sup>, Luis Norberto Parra-Sánchez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de investigación en Modelación y Gestión Ambiental-GAIA, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Medellín, Colombia

## Resumen

Las técnicas de espectrometría y el análisis de las diatomeas permitieron excelentes ajustes para la estimación de la variación de las concentraciones de materia orgánica mediante el método de pérdida por ignición y la determinación de fósforo total y nitrógeno total Kjeldahl durante el tiempo de operación de los embalses de La Fe (37 años), Riógrande II (21 años) y Porce II (9 años), localizados en Antioquia, Colombia. Los cambios en la paleo-geoquímica de los embalses no se acercaron al comportamiento esperado en los lagos, es decir, a una disminución exponencial en relación con la profundidad, lo cual se debe, en parte, a factores como la diagénesis tardía del sedimento y a la operación o manejo de los embalses. Sin embargo, las diatomeas presentes en el sedimento, así como la diversidad y el promedio anual del pH en la columna de agua, mostraron cambios significativos con respecto al llenado inicial del embalse y hasta el 2010 (año de recolección de los datos). En los embalses de La Fe y Riógrande II se observó una disminución en la buena calidad inicial del agua, mientras que en Porce II estos indicadores mostraron una permanente eutrofización del sistema.

**Palabras clave:** materia orgánica, nitrógeno, fósforo, espectroscopia en el infrarrojo cercano, sedimentos.

## Reconstruction of the concentrations of organic matter and nutrients using spectrometry and diatom analysis in three reservoirs in Antioquia, Colombia

### Abstract

We present the results of a multiproxy reconstruction of the variation of organic matter using the loss-on-ignition method, and total phosphorus and Kjeldahl nitrogen during the operation of La Fe (37 years), Riógrande II (21 years) and Porce II (9 years) reservoirs in Antioquia, Colombia, based on the analysis of diatoms and using near-infrared spectroscopy. Changes in reservoir paleo-geochemistry did not approach the expected behavior for lakes, i.e., an exponential decrease with depth, due in part to factors such as a late diagenesis and the management of the reservoirs. However, diatoms present in the sediment, along with diversity and the annual average pH of the water column, showed significant changes from the initial filling of the reservoirs until 2010 (year in which the data were collected). In La Fe and Riógrande II reservoirs, a decrease in water quality was observed, whereas in Porce II reservoir these indicators showed the continuing eutrophication of the system.

**Key words:** Organic matter, nitrogen, phosphorus, spectroscopy, near-infrared spectroscopy, sediment.

## Introducción

Los sedimentos son compartimientos de almacenamiento de información de los ecosistemas acuáticos (Rosenberg, *et al.*, 1998), incluidos los embalses, que ayudan a entender su historia, ya que pueden analizarse desde el punto de vista biológico (evaluando, por ejemplo, el polen, las crisofíceas y las diatomeas), así como físico y químico. De esta manera es posible determinar el papel de estos sistemas acuáticos como fuente o sumidero de nutrientes y contaminantes, estudiar la

calidad del material degradado, o monitorizar su respuesta a la remediación o recuperación natural del estrés antropogénico (Malley, *et al.*, 2000). Los sedimentos también influyen en el estado trófico del sistema y en la biodiversidad (Nürnberg, 1984; Søndergaard, *et al.*, 2003), debido a que intercambian

### \*Correspondencia:

Lina Juliana Gallo Sánchez, julianaga2003@yahoo.com

Recibido: 26 de junio de 2014

Aceptado: 25 de noviembre de 2014

iones con el cuerpo de agua. En comparación con muchos lagos naturales, los embalses acumulan sedimentos de forma rápida (Clark & Wasson, 1986), lo que permite una mejor resolución en los estudios paleolimnológicos (Tibby, *et al.*, 2010).

Las diatomeas (Bacillariophyceae) integran uno de los grupos biológicos más ampliamente usados en estudios paleolimnológicos (Stoermer & Smol, 1999; Battarbee, *et al.*, 2001) debido a su sensibilidad a los cambios en la calidad del agua, por lo que son buenos indicadores de las condiciones pasadas de pH (Battarbee, *et al.*, 1999) y de las concentraciones de nutrientes (Hall & Smol, 1999).

La producción, el aporte y la descomposición de la materia orgánica en el agua y en el sedimento influyen en la composición química de la columna de agua, en la distribución de fauna y flora y en las características geoquímicas del fondo, permitiendo así la comparación de la productividad en el embalse a lo largo del tiempo y del espacio. Los análisis de nitrógeno y fósforo se requieren para entender los principales ciclos de nutrientes, y en los estudios paleolimnológicos, para conocer tanto la perturbación antropogénica como la historia de la eutrofización (Malley, *et al.*, 2000).

Los métodos tradicionales para la caracterización química de los sedimentos son laboriosos y costosos, por lo que su análisis llega a ser un factor limitante de la investigación y de los programas de monitorización ambiental. Además, la cantidad de muestras de núcleos de sedimento que se recuperan, en muchas ocasiones, es insuficiente para los análisis físicos y químicos, en cuyo reemplazo, la técnica de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (*near-infrared spectroscopy*, NIRS), es un método de análisis químico

rápido, alternativo o complementario, que no es destructivo ni contaminante (Malley, 1998). Esta tecnología ha sido ampliamente usada en la industria durante los últimos tres decenios para análisis cuantitativos y cualitativos (Batten, *et al.*, 1995; Davies & Williams, 1996), al tiempo que se ha demostrado su éxito en los análisis de carbono, nitrógeno y fósforo en sedimentos (Malley, *et al.*, 1996, 1999; Rosén, *et al.*, 2000<sup>a</sup>, 2000b, 2001, 2005), y metales pesados (Malley & Williams, 1997). En Colombia solo se ha utilizado en la industria agrícola (Larrahondo & Palau, 2001; Vásquez, *et al.*, 2004; Vásquez & Mayorga, 2005; Bastidas & Carbonell, 2008; Botero, *et al.*, 2009). La técnica de NIRS combina la espectroscopia, la estadística y la computación para generar modelos matemáticos que relacionan la composición química (presencia de grupos químicos activos) con los cambios de energía en la región correspondiente al rango infrarrojo cercano en tres pasos principales: calibración, validación y aplicación del modelo en muestras de concentración desconocida.

El objetivo de esta investigación fue establecer, a partir de núcleos de sedimento recuperados en cada uno de los embalses, los cambios en la concentración de la materia orgánica (LOI), el fósforo total y el nitrógeno desde el inicio del llenado hasta el 2010. Nuestro modelo de predicción se construyó con la ayuda de la técnica NIRS y del análisis de las diatomeas como organismos de control de dichas predicciones.

## Materiales y métodos

Los embalses de La Fe, Riógrande II y Porce II se localizan en la parte central del departamento de Antioquia (Figura 1) y sus principales características se presentan en la Tabla 1. En cada uno de los embalses se tomaron al azar 70 muestras de sedimento superficial con una draga Eckman, y se retiró la

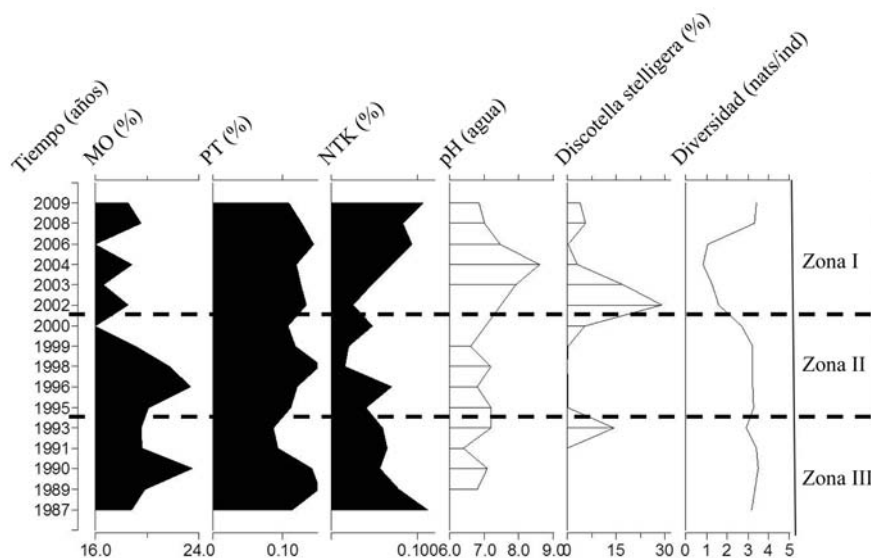


Figura 1. Ubicación de los embalses La Fe, Riógrande II y Porce II y localización de los puntos de muestreo

**Tabla 1.** Características principales de los embalses La Fe, Riógrande II y Porce II

Embalse	Ubicación		Altura m.s.n.m	Área (ha)	Profundidad máxima (m)	Llenado (año)	Uso
	Norte	Oeste					
La Fe	6°06'07"	75°29'44"	2.255	173 Km <sup>2</sup>	20-25	1973, cuenco norte; 1987, cuenco sur	Abastecimiento del sistema de acueducto y recreación
Riógrande II	6°30'15"	75°32'9,3"	2.200	1.041	47,2	1991	Generación hidroeléctrica, mejoramiento ambiental y abastecimiento del sistema de acueducto
Porce II	6°44'57"	75°09'14"	870	10	96,5	2002	Generación hidroeléctrica

capa más superficial del sedimento (primeros 3 cm, aproximadamente). Además, en la zona profunda y lejana de la pluma de los sedimentos de los tributarios más importantes en cada embalse, se recuperó un núcleo de sedimento con la ayuda de un nucleador de gravedad UWITEC. Los núcleos fueron seccionados al centímetro y a cada muestra se le determinó su espectro de infrarrojo cercano (*near-infrared*, NIR).

Las muestras de sedimento superficial se homogeneizaron y cuartearon en el laboratorio para determinar las concentraciones de materia orgánica (MO), fósforo total (PT) y nitrógeno total Kjeldahl (NTK) mediante química convencional, y el material restante se dejó para el análisis espectrofotométrico. En las muestras superficiales, el contenido de MO se determinó mediante pérdidas por ignición (LOI) a 550 °C (Dean, 1974). El NTK se realizó en húmedo mediante digestión ácida, 4500 Norg-B (APHA-AWWA-WEF, 2005), y el PT se analizó en seco con el método colorimétrico del ácido ascórbico, 4500-P-B (APHA-AWWA-WEF, 2005).

Para las determinaciones espectrofotométricas, las muestras de sedimento se llevaron al horno a 105 °C durante 24 horas, al cabo de las cuales se trituraron una a una en un mortero eléctrico de ágata hasta obtener polvo fino. Posteriormente, el polvillo se colocó sobre un porta-muestras de cuarzo para su análisis en un espectrofotómetro marca Buchi (modelo NIR Master 500 con programa de adquisición Nirware 1.4), con el cual se obtuvo la reflectancia espectral cada 2,5 nm en el rango entre 1.000 y 2.500 nm (Osborne & Fearn, 1986).

Los espectros de las muestras del sedimento superficial se utilizaron para la calibración del modelo predictivo utilizando los espectros NIRS, y la concentración de MO, PT y NTK de las muestras se empleó como grupo de variables explicativas; el modelo se obtuvo mediante técnicas estadísticas de regresión de mínimos cuadrados parciales (*partial least squares regression*, PLSR) implementadas en el lenguaje R (CRAN, 2009). Los espectros obtenidos de las muestras de los núcleos se utilizaron para estimar las concentraciones de MO, PT y NTK por medio del modelo predictivo. Las diatomeas y los cambios históricos en el pH se emplearon para contrastar de forma independiente los valores estimados.

Las diatomeas, elegidas con base en el perfil de nitrógeno estimado (nutriente limitante en los tres sistemas), se contaron en diferentes profundidades de los núcleos. Para dicha elección se estimó la media móvil y luego se seleccionaron los grupos con concentraciones similares; a partir de estos se eligió el número y las muestras a contar, teniendo en cuenta, además de la estratigrafía, que el número de muestras en cada grupo no fuera inferior al 30 %. Para este análisis se trabajó con la especie de diatomea que mejor indicara el cambio del estado trófico.

Los datos sobre cambios históricos en el pH de las aguas de los embalses fueron suministrados por Empresas Públicas de Medellín y se comparó el promedio anual de los valores con las fechas equivalentes de los núcleos. Dado que los núcleos alcanzaron el fondo o basamento, y se conocía la fecha de inicio del llenado de los embalses, se pudo estimar la fecha del piso y del techo de cada núcleo. A los segmentos intermedios de un centímetro se les estimó una fecha con ayuda de la tasa lineal promedio de sedimentación, asumiendo que los posibles efectos de compactación y diagénesis hubieran sido constantes.

Además, debido a que en términos volumétricos el sedimento de los tres embalses es predominantemente mineral y con pocas variaciones en sus características sedimentológicas, se asumió que esto estaba relacionado con los aportes inorgánicos de la cuenca y que la aplicación de un modelo de sedimentación lineal para establecer la edad de la sucesión estratigráfica de los núcleos era razonable. Este presupuesto se respaldó por la adecuada coincidencia entre las fechas estimadas y las fechas reales de eventos históricos evidenciados en el sedimento, tales como los fenómenos de El Niño y La Niña. Los perfiles gráficos de MO y nutrientes, diatomeas y pH se obtuvieron en el programa C2 versión 1.7.2 (Juggins 2003-2011).

## Resultados

La calibración del modelo predictivo se hizo mediante la regresión de los mínimos cuadrados parciales (PLSR), con la librería PLS y la función PLSR y el análisis de validación cruzada. Para establecer la precisión del modelo construido se aplicó el criterio de “dejar uno por fuera” (*Leave One Out*,

LOO). Además, se evaluaron diferentes pre-tratamientos espectrales para establecer un modelo por variable con escaso número de componentes o variables latentes, un error bajo en la predicción de la validación cruzada (*standard error of cross validation*, SECV) y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) lo más cercano posible a 1 (Botero, et al., 2009). De todos los pre-tratamientos, la dirección correcta de la señal (*direct orthogonal signal correction*, DOSC) fue el que cumplió con los requisitos mencionados, como se aprecia en la Tabla 2. Una vez se eligió el mejor modelo de predicción para cada variable y embalse, se calculó el estadístico RPD para evaluar la precisión y exactitud de las ecuaciones de predicción y constatar que fueran superiores a 3 (Williams & Norris, 1987; Malley, et al., 2002).

Los modelos obtenidos para las variables analizadas en cada embalse mostraron que con solo dos variables latentes fue posible obtener un coeficiente de determinación superior al 80 %, valor que se considera aceptable para la estimación de las concentraciones de MO, PT y NTK en muestras de sedimento de concentración desconocida (Cozzolino, 2002; Malley, et al., 2002) (Tabla 2). Con base en la MO, el PT y el NTK estimados y en las diatomeas más representativas, los núcleos se dividieron en tres zonas de comportamientos distintos en cada uno de los embalses.

En el embalse La Fe, la zona I, que comprendía los años del 2001 al 2009, presentó una LOI que osciló entre 16,01 (2006) y 19,54 % (2008), con una media de 18,02 %, mientras que el PT varió entre 0,11 (2009) y 0,13 % (2002 y 2003), con un valor medio de 0,13 %, en tanto que el NTK varió entre 0,03 (2002) y 0,11 % (2009), con media de 0,07 % (Figura 1). La diversidad varió entre 0,85 nats/ind (2004) y 3,40 nats/ind (2009), con una media de 1,92 nats/ind. La diatomea

Central *Discostella stelligera* varió entre 0,22 (2006) y 29,11 % (2002), con una media de 9,87 %. El pH en la columna de agua presentó una media de 7,6 (Figura 2).

La zona II, que comprendía los años entre 1994 y 2001, presentó una LOI que varió entre 16,02 (2000) y 23,33 % (1996), con una media de 20,07 %, mientras que el PT varió entre 0,11 (1995 y 2000) y 0,15 % (1998), con una media de 0,12, y el NTK osciló entre 0,02 (1999 y 1998) y 0,07 % (1996), con un valor medio de 0,04 % (Figura 1). La diversidad varió entre 2,71 nats/ind (2000) y 3,28 nats/ind (1995), con una media de 3,11 nats/ind. *D. stelligera* presentó frecuencias entre 0 y 5,44 % y una media de 1,24 % (Figura 2). El pH en la columna de agua registró una media de 6,9 (Figura 2).

La zona III, que comprendía los años de 1987 (llenado del cuenco sur) a 1995, presentó valores de MO (estimados mediante la LOI) entre 18,85 (1987) y 23,48 % (1990) ( $\bar{x}$  = 20,26 %). El PT fluctuó entre 0,09 (1991 y 1993) y 0,15 % (1989), con un valor medio de 0,12 %, mientras que el NTK osciló entre 0,06 (1990,1991 y 1993) y 0,11 % (1987), con una media de 0,07 % (Figura 1). La diversidad en esta zona osciló entre 2,93 nats/ind (1993) y 3,49 nats/ind (1990), con una media de 3,24 nats/ind. *D. stelligera* presentó frecuencias relativas de 0 (1989, 1990,1991) a 14,56 % (1993) y una media de 2,93 % (Figura 2). En esta zona el pH en la columna de agua registró una media de 6,88 (Figura 2).

Al descender estratigráficamente, la MO entre las zonas I y III registró un aumento, al igual que la diversidad y el pH, mientras que variables como el PT y la frecuencia relativa de *D. stelligera* disminuyeron. Por su parte, el NTK presentó en la zona intermedia una disminución conspicua en la concentración.

En el embalse Riógrande II, la zona I, que comprendía los años entre 2001 y 2010, presentó valores de LOI que oscilaron entre 22,85 (2010) y 24,75 % (2005), con una media de 23,97 %, mientras que el PT varió entre 0,13 (2005 y 2010) y 0,25 % (2003), con un valor medio de 0,17 %. El NTK varió entre 0,01 (2008) y 0,28 % (2001), con una media de 0,14 % (Figura 3). La diversidad fluctuó entre 0,32 nats/ind (2003) y 1,30 nats/ind (2001), con una media de 0,83 nats/ind. La frecuencia relativa de *Fragilaria familiaris* varió entre 13,11 (2001) y 47,22 % (2003), con una media de 32,80 % (Figura 3). El pH medio en la columna de agua fue de 6,88 (Figura 3).

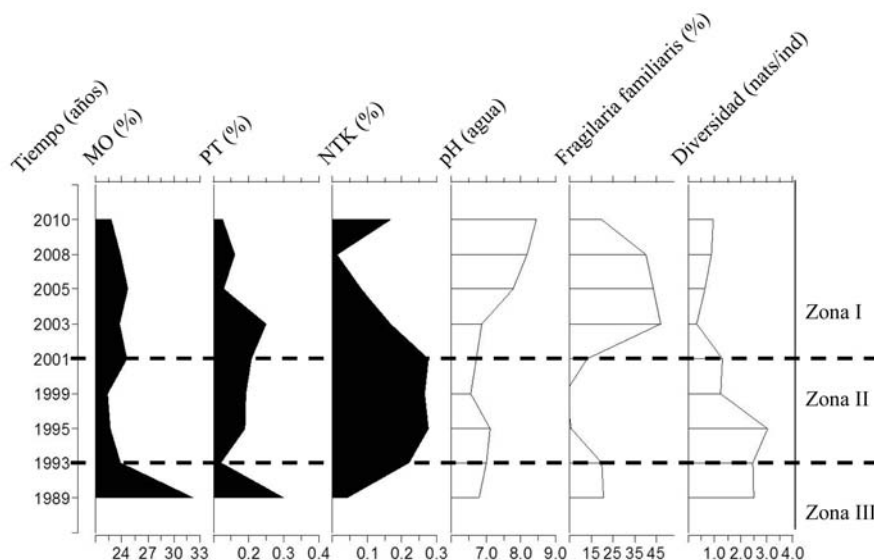
La zona II, que comprendía los años de 1993 a 2001, tuvo una LOI entre 22,40 (1999) y 23,84 % (1993) ( $\bar{x}$  = 22,40 %), mientras que el PT varió entre 0,12 (1993) y 0,19 % (1995 y 1999), con una media de 0,17 %, y el NTK entre 0,22 (1993) y 0,28 % (1995) ( $\bar{x}$  = 0,25 %) (Figura 2). La diversidad varió entre 1,25 nats/ind (1999) y 3,06 nats/ind (1995), con una media de 2,27 nats/ind. La frecuencia relativa de *F. familiaris*

**Tabla 2.** Valores de los indicadores producto de la calibración y validación de las diferentes variables mediante la técnica NIRS en cada uno de los embalses

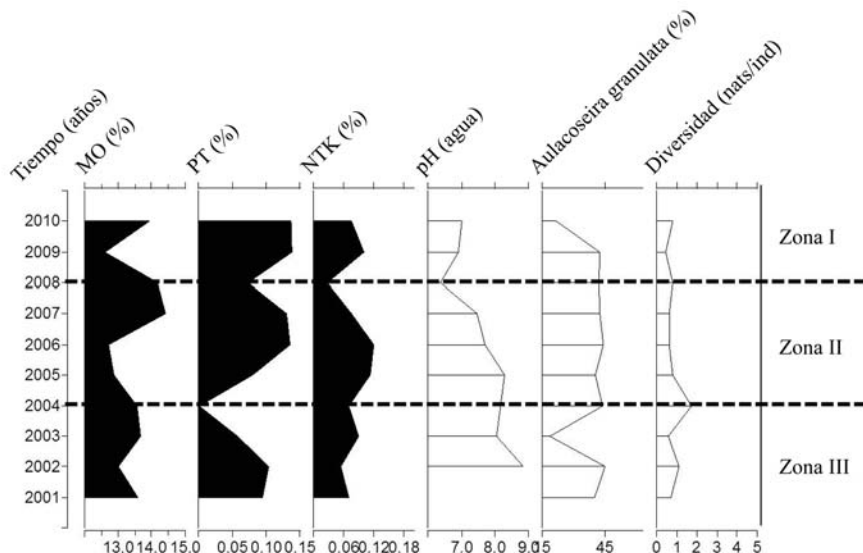
Embalse	Variable	Número de componentes	SECV	R <sup>2</sup>	RPD
La Fe	MO		1,17	0,88	3,15
	PT		65,55	0,96	4,93
	NTK		73,66	0,97	5,40
Riógrande II	MO	2	1,01	0,96	3,00
	PT		126,4	0,93	5,76
	NTK		196,6	0,96	5,99
Porce II	MO		0,63	0,87	3,48
	PT		76,29	0,97	7,26
	NTK		57,54	0,98	7,55

MO: materia orgánica; PT: fósforo total; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; SECV: error estándar de validación cruzada; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación de la validación cruzada; RPD: desviación estándar de los datos de referencia (DS)/error estándar de la validación cruzada (SECV).





**Figura 2.** De izquierda a derecha, valores estimados de materia orgánica (MO), fósforo total (PT), nitrógeno total (NTK), frecuencia relativa (%) de la diatomea Central *Discostella stelligera* y valores de diversidad (nats/ind) en el núcleo del embalse La Fe



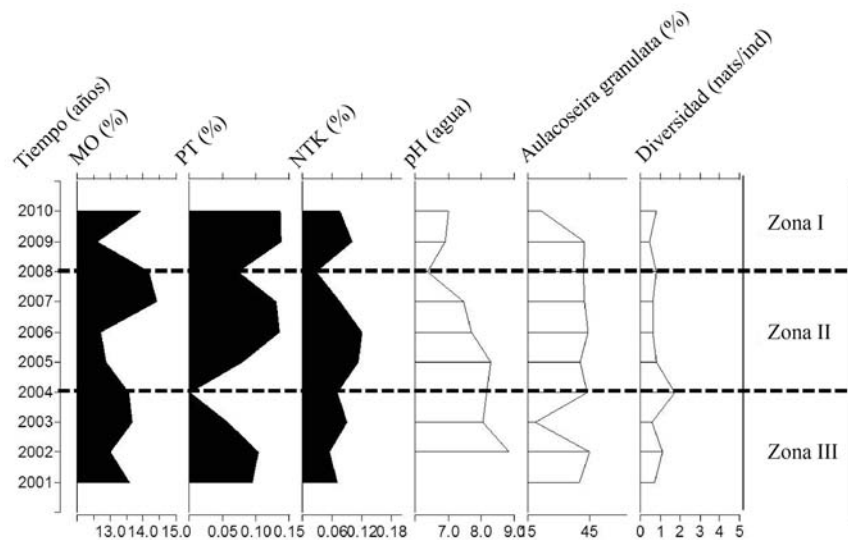
**Figura 3.** De izquierda a derecha, valores estimados de materia orgánica (MO), fósforo total (PT), nitrógeno total (NTK), frecuencia relativa (%) de la diatomea Pennada *Fragilaria familiaris* y valores de diversidad (nats/ind) en el núcleo del embalse Río grande II

osciló entre 3,44 (1999) y 19,89 % (1993), con una media de 9,78 % (Figura 3). El pH medio en la columna de agua fue de 6,89 (Figura 3).

La zona III, que comprendía los años de 1989 a 1993, tuvo un valor medio de MO (estimado por LOI) de 32,21 %, el de PT fue de 0,30 % y el de NTK, de 0,04 % (Figura 2). La diversidad fue de 2,51 nats/ind, mientras que la frecuencia relativa de *F. familiaris* fue de 20,89 % (Figura 3). El valor medio del pH en la columna de agua fue de 6,80 (Figura 3).

Entre las zonas I y III del embalse Río grande II se encontró que, al igual que en el embalse La Fe, el PT y la diversidad aumentó, pero lo contrario ocurrió con el NTK, el pH en la columna de agua y la frecuencia relativa de *F. familiaris*.

En el embalse Porce II, la zona I, que comprendía los años de 2008 a 2010, presentó valores de MO (estimados mediante la LOI) entre 12,62 (2009) y 14,99 % (2010) ( $\bar{x}$  = 13,40 %). El PT varió entre 0,09 (2008) y 0,14 % (2008 y 2009), con una media de 0,13 %. El NTK osciló entre 0,05 (2008) y 0,10



**Figura 4.** De izquierda a derecha, valores estimados de materia orgánica (MO), fósforo total (PT), nitrógeno total (NTK), frecuencia relativa (%) de la diatomea Central *Aulacoseira granulata* y valores de diversidad (nats/ind) en el núcleo del embalse Porce II

(2009), con una media de 0,08 % (Figura 4). La diversidad fue muy baja y varió entre 0,44 nats/ind (2008) y 1,03 nats/ind (2009), con una media de 0,77 nats/ind, mientras que la frecuencia relativa de *Aulacoseira granulata* osciló entre 1,56 (2010) y 46,33 % (2008), con una media de 34,16 % (Figura 3). El pH en la columna de agua registró un valor medio de 6,76 (Figura 4).

La zona II, que comprendía los años de 2004 a 2008, registró una LOI entre 12,30 (2005) y 15,63 % (2007;  $\bar{x} = 13,69$ ), mientras que el PT varió entre 0,00 (2004) y 0,17 % (2007) ( $\bar{x} = 0,10$  %), y el NTK entre 0,01 (2008) y 0,13 % (2005) ( $\bar{x} = 0,10$ ) (Figura 3). La diversidad varió entre 0,43 nats/ind (2005) y 1,73 nats/ind (2004), con una media de 0,77 nats/ind, mientras que la frecuencia relativa de *A. granulata* osciló entre 34,22 (2005) y 43,78 % (2004), con una media de 42,60 % (Figura 4). El pH en la columna de agua registró un valor medio de 7,82 (Figura 4).

La zona III, que comprendía los años de 2001 a 2004, tuvo una LOI que osciló entre 12,76 (2002) y 14,43 % (2001), con una media de 13,47 %. EL PT varió entre 0,06 (2001) y 0,13 % (2002), con un valor medio de 0,09%, mientras que el NTK varió entre 0,05 (2001) y 0,09 % (2002 y 2003), con una media de 0,07 %. En relación con los descriptores de la comunidad a través del núcleo, se observaron valores altos de dominancia debidos principalmente a *A. granulata*. La diversidad varió entre 0,51 y 1,09 nats/ind en el año 2002, con una media de 0,77 nats/ind, mientras que la frecuencia relativa de *A. granulata* osciló entre 19,00 (2003) y 45,33 % (2001), con una media de 36,08 % (Figura 4). El pH en la columna de agua registró un valor medio de 8,44 (Figura 4).

Los datos mencionados muestran que al descender estratigráficamente, en el embalse Porce II los valores de PT y de NTK disminuyeron, mientras que los valores de pH en la columna de agua y la diversidad aumentaron. Por su parte, la frecuencia relativa de *A. granulata* y la LOI presentaron un pico máximo en la zona intermedia.

Al analizar las líneas de tiempo en los tres embalses, se encontró que en La Fe y Riógrande II se registró una gran coincidencia con tres eventos de El Niño: 1994-1995, 1997-1998 y 2000-2003, y con dos eventos de La Niña: 1995-1996 y 1998-1999. En contraste, en el embalse Porce II solo se registró el último de los eventos de El Niño (Ideam, 2010). Los eventos de El Niño quedaron reflejados en los sedimentos como limos grumosos o fibrosos, finamente estratificados, con capas de entre 1 y 2 cm de espesor, de color pardo amarillento oscuro y pardo oscuro, probablemente relacionados con condiciones episódicas de reducción-oxidación, siendo los minerales y los silicofósiles los microcomponentes dominantes, mientras que durante los eventos de La Niña el sedimento se mostró limoso o limo arenoso, con un aumento conspicuo de partículas orgánicas (grumos, coágulos y resinas) y fragmentos minerales de <0,03 mm de diámetro, lo que probablemente refleja una alta denudación en las cuencas que surten los embalses.

## Discusión

Las ecuaciones de calibración indicaron que los modelos hallados pueden utilizarse para hacer predicciones confiables y precisas de MO (o LOI), PT y NTK en muestras de sedimento con una concentración desconocida. Utilizando la NIRS se han hallado resultados similares para estas variables en lagos de Norteamérica y Europa (Korsman, *et al.*, 1999; Malley, *et al.*, 1999, 2000; Birks, 2001, 2005).

En lagos se esperaría que el perfil vertical de PT, NTK y MO exhibieran un decrecimiento exponencial con la profundidad, ya que algunas especies de fósforo, nitrógeno y carbono podrían, bajo condiciones naturales, decaer en el tiempo y, en consecuencia, generar concentraciones bajas en los sedimentos más profundos y antiguos (Machain & Ruiz, 2006; Reitzel, *et al.*, 2007; Trolle, *et al.*, 2007). Un patrón análogo se esperaba para los embalses, pero este patrón no se encontró, posiblemente debido a factores como las condiciones de operación del sistema, los procesos diagenéticos y las variaciones en el potencial redox, que pueden producir cambios en el registro sedimentario y hace más difícil estimar el estado trófico solo con los análisis geoquímicos. Además, variables como la materia orgánica medida en sedimentos de lagos tropicales al parecer rara vez reflejan la productividad del sistema (Esteves, 1998).

Sin embargo, para el caso del embalse La Fe, el aumento en la frecuencia relativa de la diatomea Central planctónica *D. stelligera* y la disminución de la diversidad de la comunidad de diatomeas al descender estratigráficamente, se han asociado con el enriquecimiento de nutrientes (Stoermer & Kreis, 1978; Stoermer, *et al.*, 1985; Morales & Salazar, 2012). Esta inferencia se ve respaldada por la asociación de *D. stelligera* con ambientes eutróficos (Lowe, 1974; Taylor, *et al.*, 2007).

Machain & Ruiz (2006) sugieren que bajo condiciones de estrés ambiental la diversidad disminuye debido a que ocurre lo mismo con el número de especies tolerantes. Si la cantidad de alimento no es una limitante, estas tienden a desarrollarse en grandes cantidades debido a la falta de competencia. Además, el pH en la columna de agua también aumentó, lo que sugiere el deterioro en la calidad del agua. Este es el caso, por ejemplo, del lago Ambazari (Nagpur, Maharashtra), donde un pH >7 se ha asociado con condiciones de eutrofia (Humane, *et al.*, 2010). De aquí se infiere que entre los años 1985 y 2009, el embalse La Fe sufrió un proceso de eutrofización.

En el embalse Riógrande II se observó que la diatomea Pennada *F. familiaris*, muy abundante hoy, un aumento en el perfil de sedimento desde el llenado, excepto para la zona II donde disminuye. No obstante, la diversidad de la comunidad de diatomeas disminuyó entre las zonas III y I, lo que indica que, al igual que en el embalse La Fe, se ha producido un cambio desfavorable de las condiciones ambientales del sistema. Además, *F. familiaris* se ha asociado a sistemas eutróficos (Carneiro, 2007), por lo que en la actualidad es un taxón dominante en el embalse. Como sucedió en el embalse La Fe, el valor medio anual del pH en la columna de agua aumentó entre las zonas III y I.

En el embalse Porce II, *A. granulata*, indicadora de ambientes eutróficos (Taylor, *et al.*, 2007), ha dominado el sistema desde el inicio hasta la actualidad, como se pudo apreciar en

el estudio; prueba de ello es la baja diversidad que se encontró en todo el registro sedimentario y que no ha variado mucho desde el llenado de embalse hasta hoy, indicando que en el sistema han prevalecido condiciones ambientales desfavorables debido a que el embalse recibe las aguas del río Medellín, el cual presenta una alta carga de contaminantes y nutrientes, pues recibe las aguas servidas tanto de los hogares como de las industrias del Valle de Aburrá.

## Conclusiones

Utilizando la PLSR y el DOSC como pre-tratamientos, los modelos obtenidos en el presente estudio mediante la técnica NIRS para materia orgánica (LOI), fósforo total y nitrógeno total Kjeldahl en muestras de sedimento de los embalses objeto de estudio cumplieron las condiciones necesarias para emplearse en la estimación de tales compuestos en perfiles verticales de sedimento, lo cual no hubiese sido posible con los métodos convencionales, ya que las cantidades de muestras que usualmente se obtienen de los núcleos son muy pequeñas para ello.

La geoquímica por NIRS, las diatomeas y el pH permitieron, en conjunto, establecer las variaciones de la MO, el PT y el NTK de cada embalse desde el llenado hasta la época reciente. Se observó que los tres sistemas presentan en la actualidad condiciones de eutrofización.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Empresas Públicas de Medellín; al doctor Jaime Palacio, coordinador del proyecto embalses, y al Posgrado de Biología de la Universidad de Antioquia; al doctor Orlando Ruíz, del laboratorio de suelos de la Universidad Nacional-Sede Medellín, y al doctor Kenneth Roy Cabrera.

## Referencias

- APHA-AWWA-WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21<sup>st</sup> Ed. Maryland (USA): Port City Press.
- Battarbee, R.W., Charles, D.F., Dixit, S.S., Renberg, I. 1999. Diatoms as indicators of surface water acidity. In E.F. Stoermer & J.P. Smol (eds.). The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences. (pp. 85-127). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Battarbee, R.W., Jones, V.J., Flower, R.J., Cameron, N.G., Bennion, H., Carvalho, L., Juggins, S. 2001. Diatoms Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 3. Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators. In J.P. Smol, H.J.B. Birks & W.M. Last (eds.). (pp. 155-202). Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Bastidas, E. & Carbonell, J.A. 2008. La espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIR) para caracterizar el patrón espectral en los suelos. En Memorias del XIV Congreso

Colombiano de la Ciencia del Suelo. Manejo del Suelo para la Mitigación del Cambio Climático. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Villavicencio (Colombia).

- Batten, G.D., Flinn, P., Welsh, L.A., Blakeney, A. B.** 1995. Leaping Ahead with Near-infrared Spectroscopy. In the Sixth International Conference on Near-infrared Spectroscopy, Lorne, Victoria, Australia.
- Botero, J., Parra L.N. & Roy, K.** 2009. Determinación del nivel de nutrición foliar en banano por espectrometría de reflectancia. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía*. **62** (2): 5089-5098.
- Carneiro, L.A.** 2007. Fragilariophyceae (Ochrophyta) de águas doces do estado de São Paulo. (Tese Doutorado). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, Brazil.
- Clark, R.L. & Wasson, R.J.** 1986. Reservoir sediments. In P. De-Deckker & Williams, W.D., (eds). *Limnology in Australia*. (pp. 497–507). CSIRO: Melbourne.
- Cozzolino, D.** (2002). Uso de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimentos para animales. *Agrociencia*. **VI** (2): 25-32.
- Davies, A.M. & Williams, P.** 1996. Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. In *The Seventh International Conference on Near Infrared Spectroscopy*. Chichester, West Sussex, UK.
- Dean, W.E Jr.** 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology*. **44**: 242–248.
- Esteves, E.** 1998. *Fundamentos de Limnología*. (II ed.). Finep, Río de Janeiro: Editorial Interciencia.
- Hall, R.I. & Smol, J.P.** 1999. Diatoms as indicators of lake eutrophication. In E.F. Stoermer & J.P. Smol (eds.). *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. pp. 128–168.
- Humane, S.K., Bokade, P.R., Humane, S.S., Wankhade, A.S.** 2010. Trophic status and ecological studies of the Ambazari Lake, Nagpur, Maharashtra, based on sedimentary diatoms. *Current Science*. **99** (6): 816-822.
- Korsman, T., Nilsson, M.B., Landgren, K., Renberg, I.** 1999. Spatial variability in surface sediment composition characterized by near-infrared (NIR) reflectance spectroscopy. *Journal of Paleolimnology*. **21**: 61–71.
- Larrahondo, J.E. & Palau, F.** 2001. Espectroscopia de infrarrojo cercano NIR. Principios generales [serie Procesos Industriales, N° 1]. Cali, Colombia: Cenicaña.
- Low, R.L.** 1974. Environment requirements and pollution tolerance of freshwater diatoms. Cincinnati, Ohio, USA: U.S.: Environmental Protection Agency.
- Machain, M.L. & Ruiz, C.** 2006. Indicadores biofísicos en sedimentos acuáticos. En *Especies, Espacios y Riesgos*, cap. 13. 1 edición. México: Instituto Nacional de Ecología.
- Malley, D.F., Williams P.C., Hauser, B.W., Hall, J.** 1996. Prediction of organic carbon, nitrogen and phosphorus in freshwater sediments using near infrared reflectance spectroscopy. In A.M. Davies & Williams, P. (eds). *Near Infrared Spectroscopy. The Future Waves*. Chichester, U.K: NIR Publications. pp. 691–699.
- Malley, D.F. & Williams, P.C.** 1997. Use of near-infrared reflectance spectroscopy in prediction of heavy metals in freshwater sediment by their association with organic matter. *Environmental Science of Technology*. **31**: 3461–3467.
- Malley, D.F.** 1998. Near-infrared spectroscopy as a potential method for routine sediment analysis to improve rapidity and efficiency. *Water Science and Technology*. **37**: 181-188.
- Malley, D.F., Rönicke, H., Findlay, D.L., Zippel, B.** 1999. Feasibility of using near-infrared reflectance spectroscopy for the analysis of C, N, P, and diatoms in lake sediments. *Journal of Paleolimnology*. **21**: 295–306.
- Malley, D.F., Lockhart, L., Wilkinson, P., Hauser, B.** 2000. Determination of carbon, carbonate, nitrogen, and phosphorus in freshwater sediments by near-infrared reflectance spectroscopy: Rapid analysis and a check on conventional analytical methods. *Journal of Paleolimnology*. **24**: 415–425.
- Malley, D.F., McClure, C., Martin, P. D., Firlotte, N., Goldsborough, G., Sheppard, M.** 2002. Evaluation of Near-infrared Spectroscopy as a Rapid Method for Estimating the Carbon Stored per Unit Area in a Wetland. Winnipeg: PDK Projects, Inc.
- Morales, S. & Salazar, M.** 2012. Diatomeas perifíticas de lagos con diferente estado trófico en el departamento del Cauca (Colombia). *Luna Azul*. **35**: 10-27.
- Nürnberg, G.K.** 1984. The prediction of internal phosphorus load in lakes with anoxic hypolimnia. *Limnology and Oceanography*. **29**: 111-124.
- Osborne, B.G. & Fearn, F.** 1986. *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis*. New York: John Wiley.
- Reitzel, K., Ahlgren, J., DeBrabandere, H., Waldebäck, M., Gogoll, A., Tranvik, L., Rydin, E.** 2007. Degradation rates of organic phosphorus in lake sediment. *Biogeochemistry*. **82**: 15-28.
- Rosén, P., Dåbakk, E., Renberg, I., Nilsson, M., Hall, R.** 2000. Near-infrared spectrometry (NIRS), a new tool to infer past climatic changes from lake sediments. *The Holocene*. **10**: 161–66.
- Rosén, P., Hall, R., Korsman, T. & Renberg, I.** 2000. Diatom transfer-functions for quantifying past air temperature, pH and total organic carbon concentration from lakes in northern Sweden. *Journal of Paleolimnology*. **24**: 109–23.
- Rosén, P., Segerstro, U.L.F., Eriksson, L., Renberg, I, Birks, H.J.B.** 2001. Holocene climatic change reconstructed from diatoms, chironomids, pollen and near-infrared spectroscopy at an alpine lake (Sjuodjijjure) in northern Sweden. *The Holocene*. **11** (5): 551–562.



- Rosén, P.** 2005. Total organic carbon (TOC) of lake water during the Holocene inferred from lake sediments and near-infrared spectroscopy (NIRS) in eight lakes from northern Sweden. *Biogeochemistry*. **76**: 503–516.
- Rosenberg, D.M., Reynoldson T.B., Day, K.E., Resh, V.H.** 1998. Role of abiotic factors in structuring benthic invertebrate communities in freshwater ecosystems. In C. G Ingersoll., T. Dillon & G. R. Biddinger (eds.). *Ecological Risk Assessment of Contaminated Sediments*, chapter 10. FL, USA: SETAC Press, Pensacola. pp. 135–155.
- Søndergaard, M., Jensen, J.P., & Jeppesen, E.** 2003. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia*. **506**: 135-145.
- Stoermer, E.F. & Kreis, R.G Jr.** 1978. Preliminary checklist of diatoms (Bacillariophyta) from the Laurentian Great Lakes. *Journal Great Lakes Research*. **4**:149-169.
- Stoermer, E.F., Wolin, J.A., Schelske, L., Conley, D.J.** 1985. An assessment of ecological changes during the recent history of Lake Ontario based on siliceous microfossils preserved in the sediments. *Journal of Phycology*. **21**: 257-27.
- Stoermer, E.F. & Smol, J.P.** 1999. *The Diatoms. Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Taylor J.C., Harding, W.R., & Archibald, G.M.** 2007. An illustrated guide to some common diatom species from South Africa. WRC Report TT 282/07. Pretoria: Water Research Commission.
- Trolle, D., Hamilton, D. P. & Pilditch, C.A.** 2010. Evaluating the influence of lake morphology, trophic status and diagenesis on geochemical profiles in lake sediments. *Applied Geochemistry*. **25**: 621.632.
- Tibby, J., Gell, P., Hancock, G. & Clark, M.** 2010. Complex reservoir sedimentation revealed by an unusual combination of sediment records, Kangaroo Creek Reservoir, South Australia. *Journal of Paleolimnology*. **43**: 535–549.
- Vásquez, D., Abadía, B. & Arreaza, L.C.** 2004. Aplicación de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto Guinea y del grano de maíz. *Revista Corpoica*. **5** (1): 49-55.
- Vásquez, D. & Mayorga, O.L.** 2005. Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (Nirs) para la cuantificación rápida y precisa de triptófano en maíces. *Revista Corpoica*. **6** (1): 48-51.
- Williams, P.C. & Norris, K.H.** 1987. *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists Inc.

# First report and significance of the staurolite metabasites associated to a sequence of calc-silicate rocks from the Silgará Formation at the central Santander Massif, Colombia

Carlos A. Ríos<sup>1,\*</sup>, Oscar M. Castellanos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Geología Básica y Aplicada (GIGBA), Escuela de Geología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>2</sup>Grupo de Investigación en Geofísica y Geología (PANGEA), Programa de Geología, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia

## Abstract

The Silgará Formation metamorphic rocks have been affected by a Barrovian-type of metamorphism, which has occurred under medium-pressure and high-temperature conditions. Scarce intercalations of metabasites from millimeter up to centimeter scale occur in reaction bands observed in the gradational contact between garnet-bearing pelitic and calc-silicate rocks. In this study, we report for the first time the presence of staurolite metabasites in the Santander Massif (Colombian Andes), which is of particular interest since it is an unusual occurrence, taking into account that staurolite is most commonly regarded as an index mineral in metapelites and is not very well known from other bulk compositions and pressure and temperature conditions. Staurolite metabasites contain plagioclase, hornblende and staurolite, suggesting a history of prograde metamorphism up to amphibolite facies conditions. The origin of staurolite can be associated to aluminium-rich metabasites and, therefore, it is strongly affected by bulk rock chemistry. Taking into account mineral assemblages and geothermobarometric calculations in pelitic rocks, we suggest that the staurolite + hornblende association can be formed at least at 400 to 600 °C and 6 kbar at the peak of prograde metamorphism. Retrograde reactions suggest that these rocks experienced nearly isobaric cooling accompanied by retrograde metamorphism.

**Key words:** Staurolite, amphibolite, Silgará Formation, metamorphism, central Santander Massif.

**Primer reporte y significado de las metabasitas con presencia de estaurolita asociadas a una secuencia de rocas calcosilicatadas en la Formación Silgará de la región central del Macizo de Santander, Colombia**

## Resumen

Las rocas metamórficas de la Formación Silgará fueron afectadas por un metamorfismo tipo barroviense en condiciones de presión media y alta temperatura. Las intercalaciones de anfibolitas en escala milimétrica a centimétrica son escasas en las bandas de reacción del contacto gradacional entre rocas pelíticas con granate y rocas calcosilicatadas. En el presente trabajo se reporta por primera vez la presencia de metabasitas con estaurolita en el Macizo de Santander (Andes colombianos), lo cual es de particular interés por lo inusual de su ocurrencia y porque la estaurolita comúnmente se considera más como un mineral índice en metapelitas y no se conoce muy bien a partir de otras rocas de diferente composición y condiciones de presión y temperatura. Las metabasitas con estaurolita contienen plagioclasa, hornblende y estaurolita, lo que sugiere una historia que abarca desde el metamorfismo prógrado hasta las condiciones de la facies anfibolita. El origen de la estaurolita puede asociarse a metabasitas ricas en aluminio, por lo cual está fuertemente afectada por el quimismo de la roca. Teniendo en cuenta las paragénesis minerales y los cálculos geotermobarométricos en rocas pelíticas, los autores proponen que la asociación estaurolita + hornblenda puede formarse al menos a 400-600 °C y 6 kbar en el pico de metamorfismo prógrado. Las reacciones retrógradas sugieren que estas rocas experimentaron un enfriamiento casi isobárico acompañado de metamorfismo retrógrado.

**Palabras clave:** estaurolita, anfibolita, Formación Silgará, metamorfismo, región central del Macizo de Santander.

## Introduction

Staurolite occurs almost exclusively as a typical product of regional metamorphism in rocks of pelitic composition; however, it has been recorded as a rare constituent in

metamorphic rocks of mafic composition (Selverstone, *et al.*, 1984). The occurrence of staurolite in metabasites has been reported by several authors: Miyashiro (1973), in metabasites of the Sambagawa metamorphic belt, Japan; Jan, *et al.* (1971), in amphibolite of the Timurgara ultramafic complex, Pakistan;

**Demange** (1976), in epidote amphibolite of the Ovale Sequence, Gabon; **Gibson** (1979), in sheets of interlayered amphibolite and hornblendite in the metamorphosed gabbroic anorthosite of the Upper Seaforth River, Central Fiordland, New Zealand; **Selverstone, et al.** (1984), in amphibolites from the Mara Rosa volcano-sedimentary sequence, central Brazil; **Purtscheller & Mogessie** (1984), in garnet amphibolite from Sölden, Ötztal Old Crystalline Basement, Austria; **Helms, et al.** (1987), in amphibolites of the Laurel Greece mafic-ultramafic complex, northeastern Georgia Blue Ridge, U.S.A.; **Enami & Zang** (1988), in metabasic eclogites from Jiangsu Province, East China; **Moeen** (1991), in amphibolites in the Vinjamum area of the Nellore granite-greenstone terrain of India; **Soto & Azañón** (1993), in amphibolites from the Beltic Cordillera, Spain; **Kuyumjian** (1998), in ortho-amphibolites from the Chapada region, Goiás, central Brazil; **Tsujimori & Liou** (2004), in epidote-amphibolites from the Early Palaeozoic Oeyama belt, SW Japan; **Faryad & Hoinkes** (2006), in Al-rich metabasites from the Speik Complex in the Eastern Alps. However, the literature contains little reference to staurolite metabasites of igneous origin. In this study, we report and discuss data concerning these unusual staurolite metabasites at the central Santander Massif (CSM) region with the aim of determining whether these rocks resulted from unusual bulk rock composition or from unusual physical conditions.

### Geological setting

Several studies have been published on the geology of the Santander Massif since the first work undertaken by **Julivert** (1958), which was followed by those by **Ward, et al.** (1969a, 1969b, 1970, 1973). Structural geologic studies have been carried out by **Julivert** (1970), **Forero** (1990) and **Kammer** (1993). **Ward, et al.** (1973) divide the pre-Devonian crystalline basement of the Santander Massif into the following three deformed and metamorphosed rocks: Bucaramanga Gneiss Complex, Silgará Formation and Orthogneiss, all of which are cut by Paleozoic–Jurassic intrusive bodies (**Goldsmith, et al.**, 1971; **Banks, et al.**, 1985; **Boinet, et al.**, 1985; **Dörr, et al.**, 1995; **Restrepo-Pace**, 1995; **Ordoñez**, 2003; **Ordoñez & Mantilla**, 2004) and smaller Cretaceous intrusive bodies. However, **Mantilla, et al.** (2009) reported U-Pb ages in zircons of  $8.4\text{--}9.0\pm 0.2$  Ma from riodicite porphyry bodies in the central part of the Santander Massif, which evidences a magmatic phase during the Late Miocene (Tortonian) that took place during the Andean Orogeny. New evidences on this Miocece magmatism have been recently reported by **Mantilla, et al.** (2011), who determined U-Pb ages in zircons of  $10.9\pm 0.2$  Ma (from porphyritic andesite)

and  $10.1\pm 0.2$  Ma (from porphyritic granodiorite). Well-exposed sections of the Silgará Formation crop out at the Santander Massif, which has been recognized as a classic area for the study of rock metamorphism and deformation caused by continental collision during the Caledonian orogeny (**Ríos, et al.**, 2008a). This metamorphic unit has been studied by **Ríos, et al.** (**Ríos**, 1999, 2001, 2005; **Ríos & Takasu**, 1999; **Ríos & García**, 2001; **Castellanos**, 2001; **Ríos, et al.**, 2003a, 2003b, 2008a, 2008b, 2010; **García, et al.**, 2005; **Castellanos, et al.**, 2004, 2008), mostly focusing their research during the last two decades on the estimation of metamorphic conditions, taking into account that the CSM represents a natural laboratory to understand the geotectonic evolution of the northwestern margin of South America. The Lower Paleozoic Silgará Formation at the CSM crops out into two N-S trending strips, locally interrupted by the presence of dykes and sills of orthoamphibolites with banded to gabbroic structures (Figure 1). It is mainly composed by metapelitic rocks with minor intercalated psammitic, semipelitic, metabasic and metacarbonate rocks, which were affected by a metamorphism to upper amphibolite facies regional grade during the Caledonian orogeny, and reveals a very complex tectonic and metamorphic history. **Ríos, et al.** (2008b) described in detail the metacarbonate and associated rocks that occur in the contact between marble and pelite layers, displaying a broad spectrum of physical conditions varying from greenschist facies to amphibolite facies; a non-economic mineralization “reaction calcic exoskarn” (except by the exploitation of marble) for the metacarbonate and related rocks that form part of the metamorphic sequence of the Silgará Formation at the CSM has been suggested by these authors based on the composition and texture of the resulting skarn, as well as on the available terminology for these rocks, among other aspects. The rocks of interest in this study correspond to the staurolite metabasites of the Silgará Formation, which were not reported by these authors.

### Field sampling and analytical methods

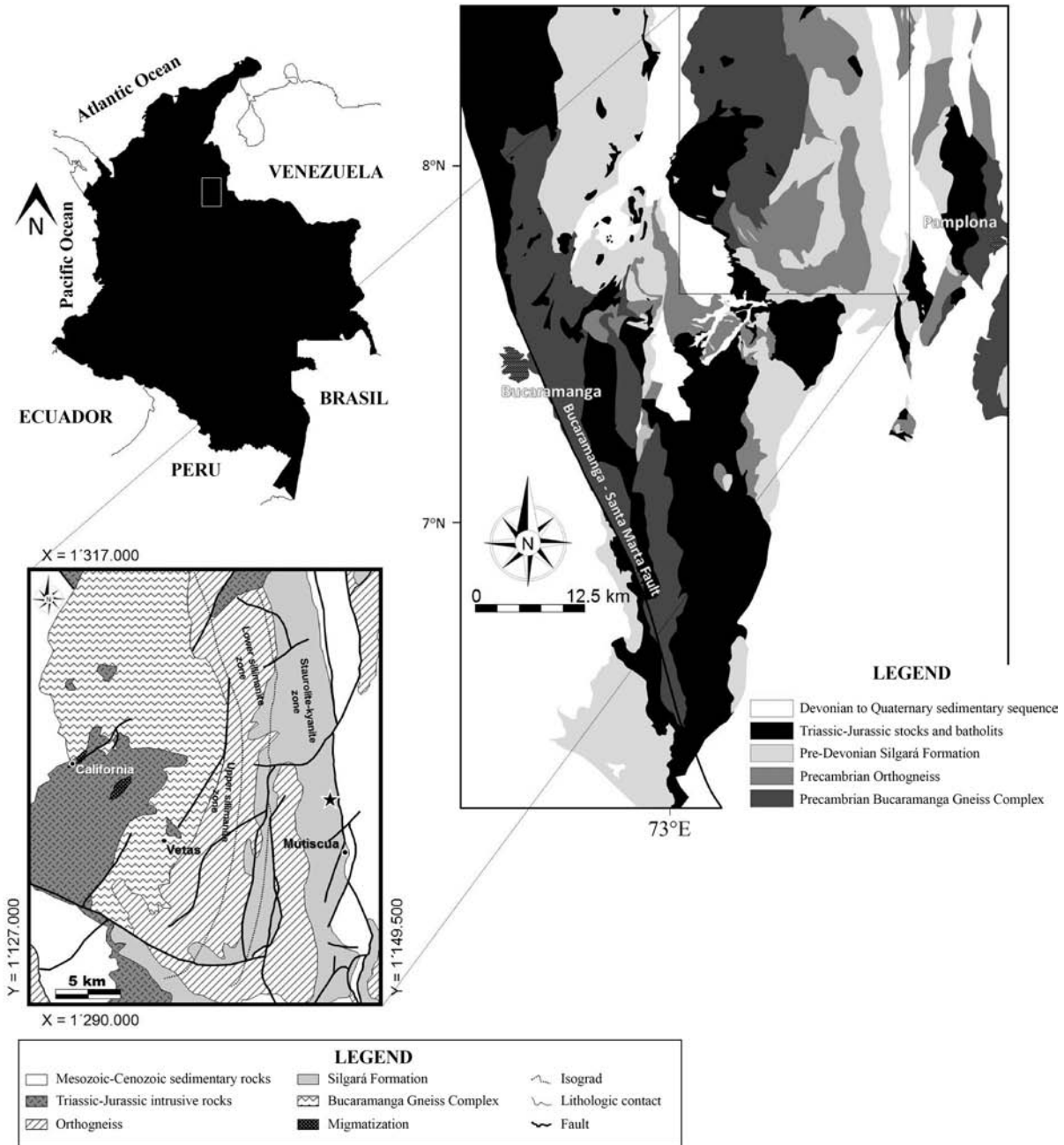
A research team from Universidad Industrial de Santander carried out reconnaissance fieldwork in the Santander Massif, primarily focused on localities presenting amphibolites in the reaction bands observed in the gradational contact between garnet-bearing pelitic and calc-silicates rocks. The team took samples containing reaction bands close to marbles from several outcrops. The metabasites for the study were collected in one outcrop close to the Curpaga marble quarry, and belong to the staurolite-kyanite metamorphic zone. The thin section for microscopic analysis was performed at the Sample Preparation Laboratory of the School of Geology; the mineralogical and petrographic analysis of the sample was performed in a Nikon (Labophot2-POL) transmitted light microscope with trinocular viewing to establish the modal

#### \*Corresponding author:

Carlos A. Ríos, carios@uis.edu.co

Recibido: 24 de julio de 2014

Aceptado: 9 de diciembre de 2014



**Figure 1.** Above, location of the Santander Massif and its corresponding geologic sketch map (modified after **Ward, et al., 1973**), showing the CSM and the distribution of its basement metamorphic and igneous rocks. Below, geologic map of the CSM (modified after **Ward, et al., 1970**), showing the distribution of metamorphic isograds of **García, et al. (2005)**. The black star indicates the location of the staurolite metabasites.

percentage of mineral constituents and mineral assemblages, with emphasis on textural relationships between mineral phases; photographs were taken with a NIKON AFX-DX microphotographic system at the Research Group in Basic and Applied Geology of the School of Geology. Mineral abbreviations are after **Kretz (1983)**. SEM-BSE/EDS imaging

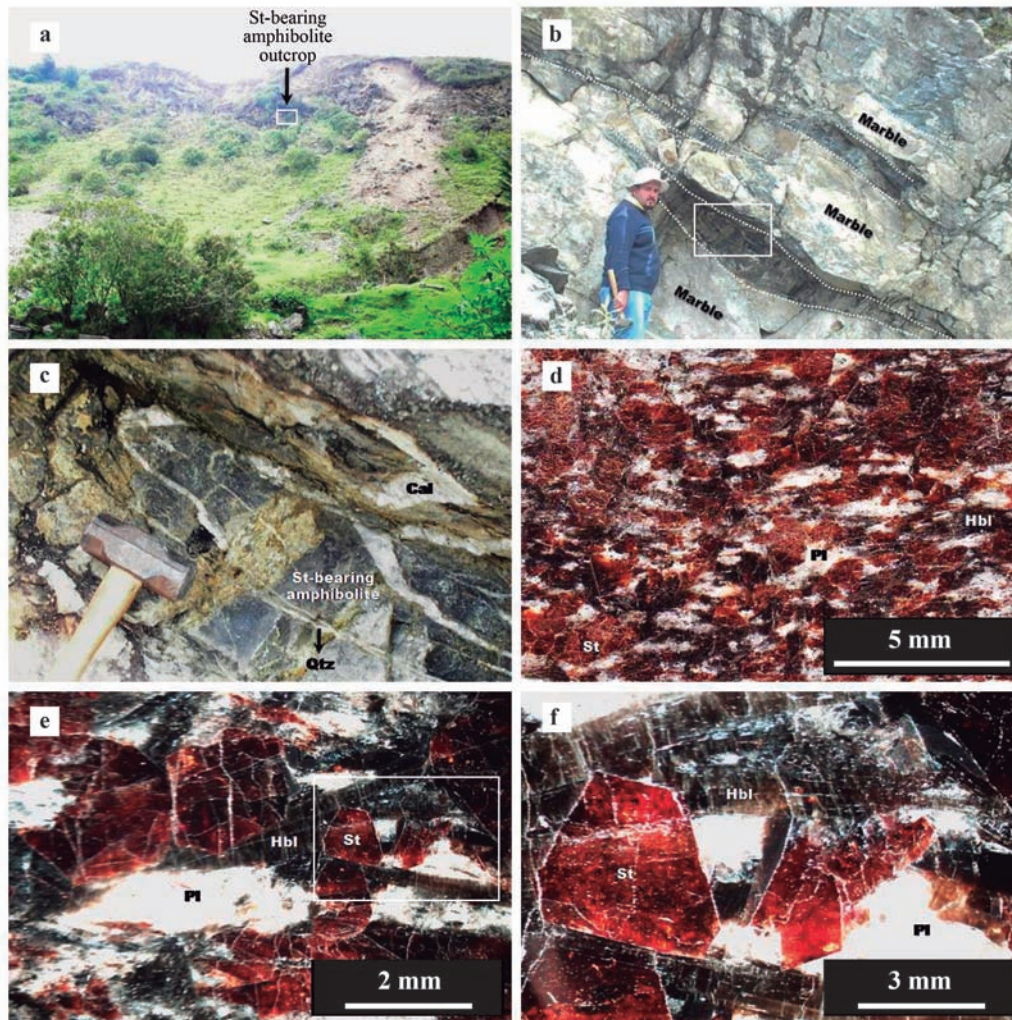
and analysis were carried out by environmental scanning electron microscopy (FEI Quanta 650 FEG) to examine textures and cross-cutting relationships in the mineral phases in the staurolite metabasites under the following analytical conditions: magnification = 100-800x, WD = 9,9 mm, HV = 20 kV, signal = Z CONT, detector = BSED.



**Field occurrence**

Metacarbonate and associated rocks occur as scarce intercalations of variable morphology (with sharp contacts) and thickness, developing discontinuous bands and lenticular bodies within the metamorphic sequence of the Silgará Formation at the CSM. According to **Ríos, et al.** (2008b), marbles show a transition into carbonate-silicate rocks, which, in turn, pass into calc-silicate and carbonate-bearing silicate rocks; finally, when carbonate tends to disappear in calc-silicate and carbonate-bearing silicate rocks, they pass into metapelitic and metamafic rocks. These rocks show a very complex mineralogy and appear most commonly as green reaction zones along the contact between marbles or carbonate-silicate rocks and pelitic layers of millimeter to centimeter scale, and their regional proportion is difficult to assess due to exposure limitations. The banding is characterized by the alternation of carbonate-rich layers with pelitic

and/or calc-silicate layers. The reaction zones are parallel to the main foliation and in many cases have been folded with it. Gradational contacts between garnet-bearing pelitic and calc-silicate rocks were also observed, which are especially abundant in strongly deformed rocks where calc-silicate zones may have a very irregular shape and variable thickness. The outcrop of interest in this study reveals the occurrence of scarce layers of staurolite metabasites from millimeter up to centimeter scale belonging to the reaction zones that show a gradational contact from garnet-bearing pelitic rocks to marbles, as reported by **Ríos, et al.** (2008b). The general features of the staurolite metabasites at field and hand-specimen scale are shown in Figure 2. The outcrop where the staurolite metabasites occurred was found close to a marble quarry characterized by an abrupt topography (Figure 2a). Figure 2b displays the occurrence of interbedded marble (light color) and staurolite metabasite (dark color) bands. A close-up of the staurolite metabasites (dark color)



**Figure 2.** Field and hand-specimen photographs of the staurolite metabasites of the Silgará Formation at the Central Santander Massif



is shown in Figure 2c, where folded calcite veins concordant with the regional foliation quartz veins are observed. Figure 2d shows a hand-specimen of these metabasites, displaying the banding and mineral alignment. The main foliation of the rock is defined by the preferred orientation of staurolite and hornblende. Figures 2e-f illustrate close-ups of the mineral phase relationships and texture features in the staurolite metabasites. The reddish-brown mineral is staurolite, which displays typical elongate and six sided crystals.

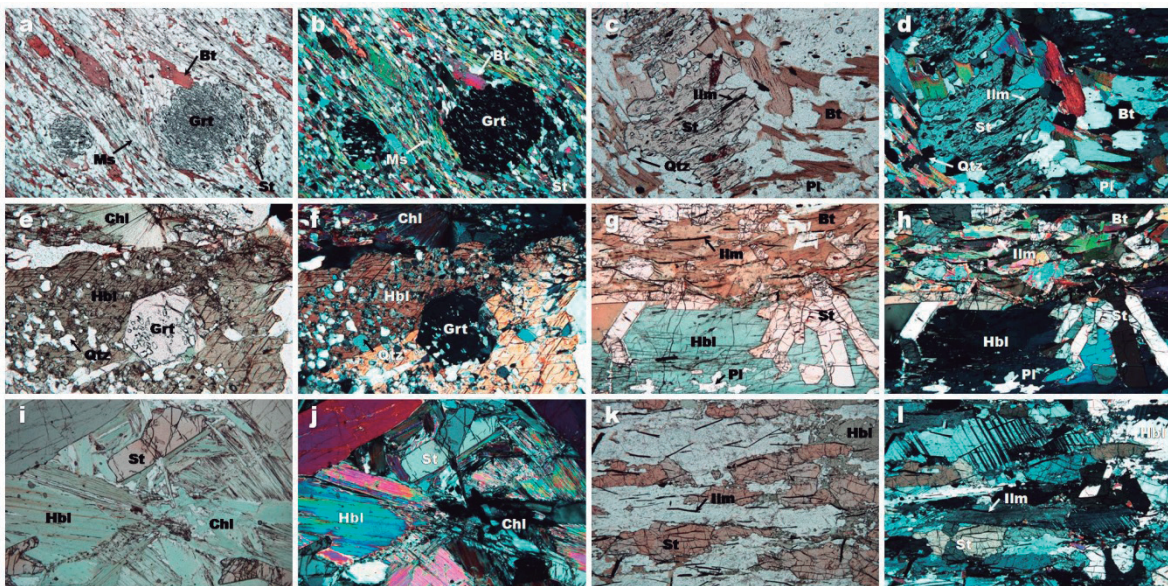
### Petrography

The contact zone between garnet-staurolite pelitic schists and staurolite metabasites reveals interesting features, which are illustrated in Figure 3. A typical garnet-staurolite pelitic schist with garnet porphyroblasts displaying a sigmoidal pattern of inclusions due to rotation in a matrix, and mainly composed of muscovite, biotite and quartz, is illustrated in Figures 3a-b. Staurolite porphyroblasts in garnet-staurolite pelitic schists commonly display a pattern of inclusions of quartz and ilmenite, which is discordant with the main foliation of the rock defined by biotite flakes (Figures 3c-d). Garnet amphibolites can be found close to the contact zone (Figures 3e-f). Figures 3g-h illustrate the contact between a staurolite-bearing biotite schist in the top and a staurolite metabasite in the bottom. A detail of the occurrence of the

staurolite metabasites is shown in Figures 3i-j. Staurolite metabasites are characterized by alternating nematoblastic bands composed of hornblende and staurolite (with penetration twinning) and granoblastic bands composed of quartz and plagioclase (Figures 3k-l).

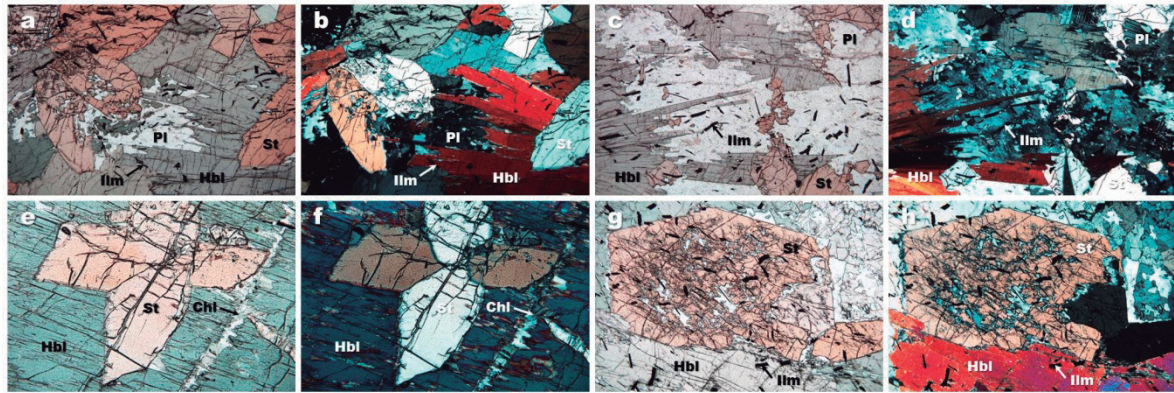
Staurolite metabasites show an inequigranular texture with staurolite and hornblende randomly distributed developing intergrowth. They are mainly composed by staurolite, hornblende and plagioclase, with minor opaque minerals (ilmenite). Accessory minerals are titanite and rutile, whereas chlorite and sericite are the common secondary minerals. Of special interest is the coexistence of staurolite + hornblende + plagioclase, a mineral association not commonly reported in the literature regarding metabasites. The results of the mineralogical and petrographic analysis of this sample are described below.

Figure 4 illustrates the main petrographical aspects of the staurolite metabasites under study. Staurolite occurs as large and defined lozenge-shaped porphyroblasts randomly oriented. In some cases it shows a simple interpenetrating twin. It can be partly included in hornblende. Hornblende occurs as prismatic (with a diamond-shaped basal cross section) nematoblasts in various orientations, which can be observed as few inclusions in staurolite. Plagioclase shows

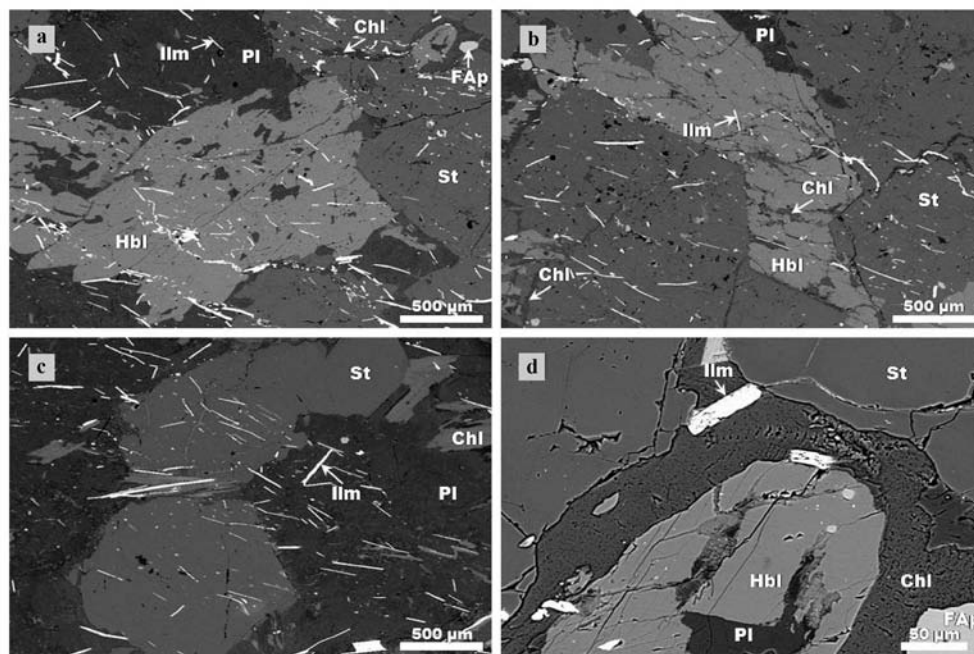


**Figure 3.** Microtextural relations of metamorphic minerals in the contact zone between garnet-staurolite pelitic schists and staurolite metabasites from the Silgará Formation at the CSM. **a - b.** Sigmoidal pattern of inclusions in garnet porphyroblasts in garnet-staurolite pelitic schist. Note the occurrence of a staurolite around garnet in the right side. **c - d.** Staurolite porphyroblasts with a pattern of inclusions of quartz and ilmenite discordant to the main foliation. Note the granoblastic domains composed of quartz and plagioclase. Garnet is not shown. **e - f.** Garnet amphibolites close to the contact zone. **g - h.** Contact zone between a staurolite-bearing biotite schist and a staurolite metabasite. **i - j.** Occurrence of the staurolite metabasites, with randomly orientation of hornblende, which has been partially replaced by chlorite. **k - l.** Alternating nematoblastic bands of hornblende and staurolite and granoblastic bands of quartz and plagioclase in the staurolite metabasites. Note the orientation not only of these bands but also of the ilmenite laths.





**Figure 4.** Photomicrographs showing representative textural relationships between staurolite and hornblende and associated mineral phases in staurolite metabasites



**Figure 5.** SEM photomicrographs of the staurolite metabasites

a tabular or lath-like shape and may appear cloudy due to incipient alteration to sericite. It occurs as a matrix phase and also as inclusions in hornblende and staurolite. Ilmenite laths, usually randomly oriented locally, tend to develop an oriented trend and are observed as inclusions in staurolite, hornblende and plagioclase. Chlorite occurs as an alteration mineral along irregular fractures in staurolite and hornblende. The staurolite metabasites show interesting textural relationships between staurolite and hornblende. Staurolite displays 90° cruciform twins and included in hornblende with incipient alteration to chlorite. A pseudohexagonal staurolite crystal with an inclusion (quartz)-rich core and inclusion-poor rim

is surrounded by large hornblende individuals. Ilmenite laths are randomly distributed. Large staurolite individuals with numerous ilmenite inclusions are closely related to hornblende and plagioclase. Staurolite can be included in hornblende, whereas plagioclase sometimes is partly included in staurolite.

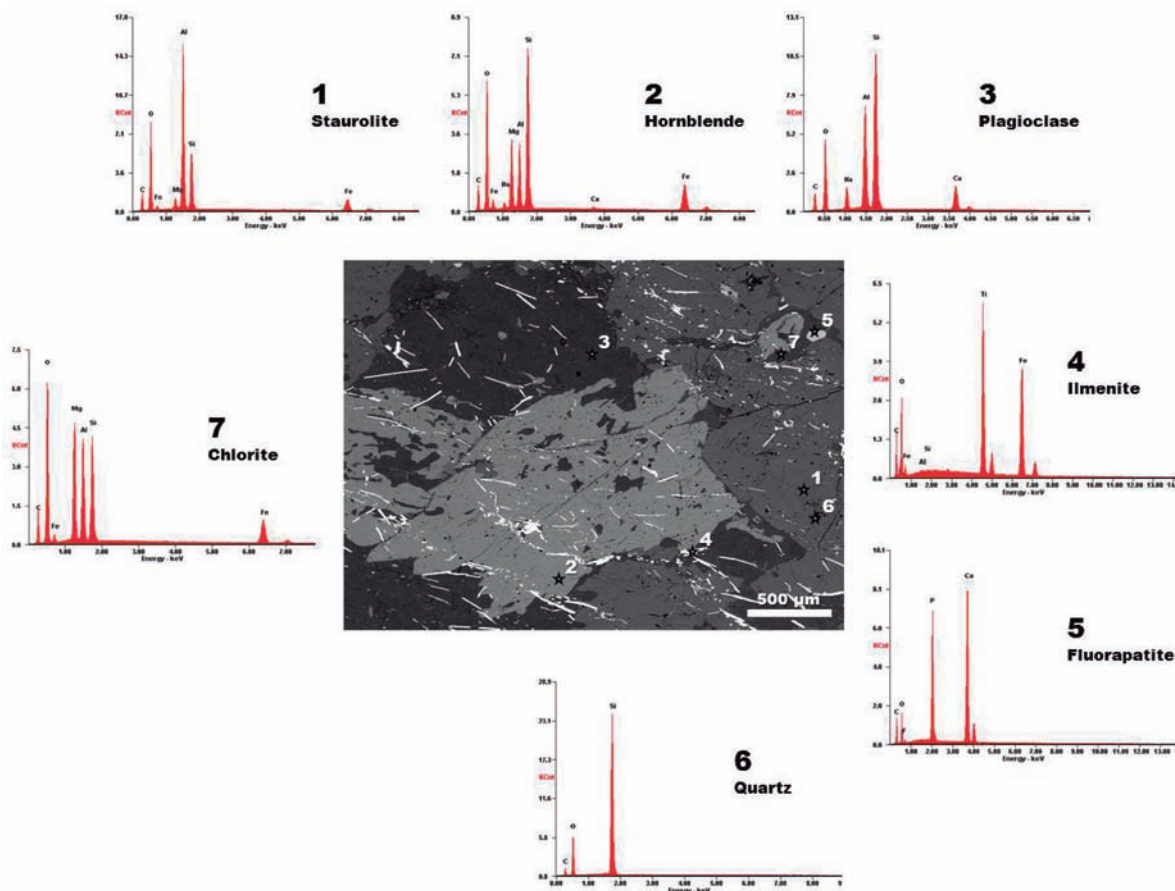
Figure 5 reveals some interesting relationships between staurolite and associated mineral phases in the analyzed sample. Figures 5a and 5b display the relationships between staurolite and hornblende, showing incipient alteration to chlorite that usually appears along irregular fractures.

Both minerals contain numerous inclusions of ilmenite laths randomly oriented. Staurolite also contains inclusions of hornblende and fluorapatite, whereas plagioclase and quartz are included in hornblende. Figure 5c illustrates numerous ilmenite laths which tend to show an orientation across the matrix. Figure 5d shows a detail of the occurrence of chlorite along an irregular fracture in staurolite, which contains an inclusion of hornblende.

The SEM image in Figure 6 shows the textural relationships between staurolite and hornblende, as well as associated mineral phases with semi-quantitative energy dispersive spectrum (EDS) analysis at different points. Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) allowed to identify those particular elements and their relative proportions in the mineral phases that constitute the staurolite metabasites. The EDS spectrum of staurolite (1) revealed that it mainly consists of O, Al, Si and Fe elements. The mass ratios of O:Al:Si:Fe were 31.11:27.96:13.29:9.21. The EDS spectrum of hornblende (2) showed that it is mainly composed of O, Si, Fe, Mg and Al elements, with mass ratios of O:Si:Fe:Mg:Al of

30.07:21.22:14.26:8.49:9.26. The EDS analysis of plagioclase (3) indicated the presence of O, Si, Al, Ca and Na elements (mass ratios of O:Si:Al:Ca:Na of 27.94:14.69:6.36:4.10). Very strong Ti, Fe and O peaks (mass ratios of Fe:Ti:O = 39.23:28.17:21.53) were observed in the EDS spectrum of ilmenite (4). The EDS spectrum of fluorapatite (5) revealed the presence of Ca, O, P and minor F elements (mass ratios of Ca:O:P:F = 39.68:21.07:19.46:2.01). The presence of quartz (6) was confirmed in the EDS spectrum, which showed very high intensity peaks for Si and O (mass ratios of Si:O = 48.98:34.27). The EDS analysis of chlorite (7) indicated an alteration of mineral high intensity peaks for O, Si, Mg, Al and low intensity peaks for Fe (mass ratios of O:Si:Mg:Al:Fe = 33.40:13.01:12.91:12.44:11.20). The EDS spectra agreed with literature data (<http://www.sfu.ca/~marshall/sem/mineral.htm>).

X-rays generated by scanning electron microscopy can be used to produce EDS mapping, which in addition to the BSE image provides a meaningful picture of the elemental distribution of the mineral phases from staurolite metabasites by using X-ray elemental mapping of the selected thin section,



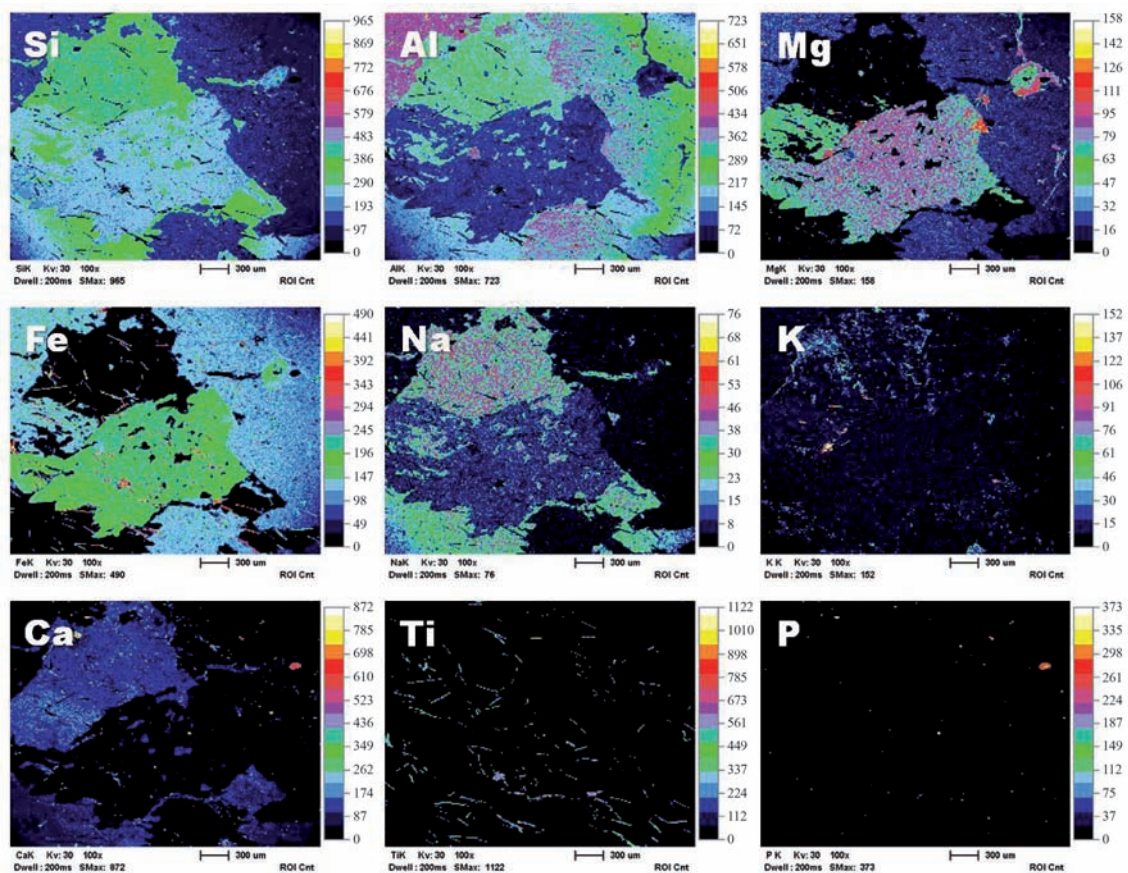
**Figure 6.** SEM photomicrograph and EDS spectra at the marked stars on the image of the mineral phases in staurolite metabasites. The appearance of C element is attributed to the carbon coating on the sample before SEM analysis



also confirming the abundance of the staurolite-hornblende pair. In Figure 7, the different phases shown on the BSE image (Figure 6) can be identified by elemental mapping, which, however, will only give a qualitative image of the distribution of elements. Figure 7 shows elemental maps corresponding to Si, Al, Mg, Fe Na, K, Ca, Ti and P contents. Note the contrast between Si and Al contents, with staurolite showing the lowest Si content with respect to hornblende and plagioclase. Staurolite shows the highest Al contents followed by plagioclase; hornblende has the lowest Al content. Mg chemical zoning can be observed in hornblende, with Mg content increasing where it is replaced by chlorite. Mg distribution in staurolite is more homogeneous. The Fe content in both staurolite and hornblende is homogeneous. Note the Na and Ca chemical zoning in plagioclase, with Na-rich core and Ca-rich rim. Plagioclase reveals distinct regions of high K content, which can be associated closely with its incipient alteration to sericite. The corresponding maps derived from the X-ray peaks for Ti reveal the compositional identity of Ti oxides (ilmenite), which show a high Ti content. Note the high P regions, which correspond to fluorapatite.

### Petrologic significance

Metabasites from the amphibolite facies consist mainly of hornblende, plagioclase and quartz; however, they may also contain combinations of chlorite, garnet, epidote-group minerals, and, more unusually, staurolite, among other mineral phases. Therefore, these mineral assemblages in metabasites can provide tighter constraints on the pressure and temperature conditions of metamorphic terranes that have experienced a very complex tectonic and metamorphic history, such as the Santander Massif. Because of the high variance of most of the mineral assemblages in amphibolites, their phase relationships depend on PT conditions, bulk rock chemistry and fluid composition, with Al content being critical in controlling the occurrence of assemblages involving hornblende with Al-rich minerals, such as staurolite (Arnold, *et al.*, 2000). However, taking into account that Fe and Mg contents in metabasites are strongly related to the bulk rock chemistry, we consider that they also play a very important role in the formation of staurolite in the Silgará Formation metabasites. It is well known that the Fe/Mg and Na/Ca (to a lesser extent) ratios determine which of the aluminous



**Figure 7.** Si, Al, Mg, Fe Na, K, Ca, Ti and P compositional maps of the staurolite metabasites. Light colors show areas of high concentration while dark colors represent areas of low concentration (black is very low concentration).

minerals occur under particular PT conditions. According to the chemical data provided by the EDS spectrum of staurolite, it is Fe-rich with an Fe/Mg ratio of 5.12, which indicates that the staurolite metabasites contain mineral assemblages of Fe-rich metabasites, typically dominated by staurolite-bearing assemblages, thus explaining why their Mg-rich counterparts containing cordierite do not occur in the Silgará Formation metabasites. The development of staurolite metabasites can be attributed to the aluminous and siliceous pelitic rocks in contact with them. On the other hand, the poor K<sub>2</sub>O content inhibits the development of K-feldspar producing reactions. Therefore, the Al content in plagioclase and the high Fe content in metabasites promoted the growth of staurolite. A renewed interest in staurolite petrogenesis has led to the report of unusual high-P staurolite assemblages, among which staurolite-hornblende has been reported only in some few studies (Jan, *et al.*, 1971; Selverstone, *et al.*, 1984; Moeen, 1991; Tsujimori & Liou, 2004). It is well known that amphibolites as a consequence of metasomatic exchange can be observed in the interfase between pelitic and calc-silicate rocks. The textural relations of minerals observed in the staurolite metabasites from the Silgará Formation, which represent an unusual example not only for the CSM but also at world level, reveal equilibrium conditions between staurolite and hornblende at peak PT conditions, characterizing a history of prograde metamorphism that reached the amphibolite facies probably under high-P conditions, similar to what has been reported in the literature. However, according to Mohammad, *et al.* (2011), staurolite cannot form in equilibrium with minerals from the amphibolite facies in metabasites. The presence of mineral assemblages with staurolite and hornblende in amphibolites is usually known in metabasites having a mixture of argillaceous or Ca-rich metasediments (Selverstone, *et al.*, 1983; Ward, 1984; Humphreys, 1993; Kuhns, *et al.*, 1994). Textural evidence reveals that staurolite grew subsequently across chlorite and hornblende in the staurolite metabasites of interest in this study, which form part of a sequence of calc-silicate rocks from the Silgará Formation at the CSM that can be interpreted as reaction zones of diffusion metasomatic origin, formed by interaction between original thin limestone layers and adjacent pelitic rocks, which are characterized by the development of narrow, multi-layered, reaction zones with different high-variance mineral assemblages. Ríos, *et al.* (2008b) described in detail these metasomatic reaction zones, which are similar to those described by other researchers (Thompson, 1975; López & Soto, 1999). However, in the staurolite metabasites reported in this work there are scarce mineral phases. Therefore, we consider that they do not have an igneous origin, which has been attributed to a few occurrences of staurolite + hornblende assemblages reported in metabasites derived from mafic rocks (Purtscheller & Mogessie, 1984; Helms, *et al.*, 1987; Kuyumjian, 1998).

The occurrence of staurolite + hornblende in mafic rocks has been interpreted as a result of either different bulk composition (Spear, 1982) or specific PT conditions (Selverstone, *et al.*, 1984; Helms, *et al.*, 1987). The textural and phase relationships of minerals from the staurolite metabasites of the Silgará Formation reveal equilibrium between staurolite and hornblende at peak PT conditions (high-P amphibolites facies), which are consistent with data reported in the literature. In this study, we report scarce staurolite inclusions only in the rim of hornblende adjacent to plagioclase, similar to what has been reported by Gibson (1978), and chemical zoning of plagioclase (a stable coexisting phase in the rock according to Selverstone, *et al.*, 1984) with Na-rich core and Ca-rich rim. According to Arnold, *et al.* (2000), the X<sub>Fe</sub> strongly determines which (if any) of the Al-rich minerals occur under particular PT conditions, and where these mineral phases occur in amphibolites, the PTX dependence of their phase relationships is remarkably similar to that in metapelitic rocks. The mineral assemblages occurring in the Silgará Formation staurolite metabasites are characterized by the unusual presence of staurolite + hornblende. In general, the staurolite + hornblende association is characteristic of intermediate- or high-P (~ 5 kbar) and intermediate T (500-650 °C) of metamorphism (Grew & Sandiford, 1985). Arnold, *et al.* (2000) constrained pseudosections for staurolite-bearing assemblages with plagioclase in excess, indicating that in amphibolites with Al-rich staurolite, this mineral can be formed at temperatures higher than 550 °C, and hornblende at temperatures higher than 595 °C. However, a pseudosection constructed by Faryad & Hoinkes (2006) revealed that staurolite in such rocks may originate at 570 °C and 0.7-0.8 GPa with plagioclase. Theoretical considerations also suggest a high-P origin of staurolite + hornblende relative to more usual amphibolite-facies assemblages (Grew & Sandiford, 1985). However, it is not clear if the high Al content in the bulk rock chemistry is of primary origin or if it is the result of hydrothermal alteration of the rock before amphibolite facies metamorphism (Faryad & Hoinkes, 2006). Froese & Hall (1983) constructed a reaction grid for quartz-bearing mafic rocks in which the reaction chlorite + garnet + plagioclase = staurolite + hornblende takes place with an increase in pressure conditions. This reaction extends to higher pressure from an invariant point, the existence of which is supported by the assemblage chlorite + garnet + hornblende + gedrite + staurolite proposed by Spear (1982), who estimated that this assemblage crystallized at 5-6 kbar, providing, therefore, a minimum pressure for the stability field of staurolite + hornblende proposed by Froese & Hall (1983). Selverstone, *et al.* (1984) proposed that the reaction would produce staurolite + hornblende in the presence of quartz is plagioclase + chlorite + epidote = hornblende + staurolite ± kyanite ± paragonite (garnet may also be a reactant), which would proceed at a minimum pressure of 6

kbar in mafic rocks of relatively aluminous composition; however, in typical metabasites, pressures required for this reaction would exceed 6 kbar. The formation of staurolite + hornblende appears to involve dehydration, and, therefore, water activity may be an important factor controlling the pressure conditions of formation (Selverstone, *et al.*, 1984; Froese & Hall, 1983). Host rock Fe<sup>2+</sup>/Mg and Fe<sup>3+</sup>/Al ratios may also be critical (Grew & Sandiford, 1985). Therefore, taking into consideration mineral assemblages and geothermobarometric calculations (400-600 °C and 4.0-6.5 kbar) reported by Castellanos, *et al.* (2008) in pelitic rocks, we suggest that the staurolite + hornblende association can be interpreted to have formed at least between 400-600 °C and 6 kbar at the peak of prograde metamorphism. On the other hand, there is no doubt that two processes should be considered here: decarbonation of marbles and dehydration of pelitic rocks. Therefore, prograde reactions and CO<sub>2</sub> loss probably occurred in the marble layers within the Silgará Formation metamorphic sequence in response to infiltration of H<sub>2</sub>O from dehydration of surrounding pelitic rocks (Hewitt, 1973; Ague, 2000) or advection-driven infiltration of a H<sub>2</sub>O-rich fluid external to the metasedimentary sequence (Ague, 2002). We consider an external H<sub>2</sub>O-rich fluid that evolved from syn-metamorphic magmas, which can be associated to the emplacement of orthogneiss masses at the lowest structural levels of the Silgará Formation, penetrating mainly along tectonic discontinuities and lithologic contacts. However, it is difficult to establish if cation diffusion dominates with respect to the fluid flow, as in the mechanism of mass transfer suggested by Thompson (1975), taking into account that the Silgará Formation metamorphic rocks reveal very important evidence of a fluid circulation with strong influence on the development of hydrothermal veins within calc-silicate reaction zones. Nevertheless, it is very important to undertake future research on the calc-silicate reaction zones to determine in detail their geometry, mineral assemblages and bulk rock chemistry and distinguish between diffusion and flow fluid processes to develop a model for a metasomatic phenomenon. Retrograde reaction textures, including partial replacement of chlorite after staurolite and hornblende along fractures and rims or sericite after plagioclase, suggest that the Silgará Formation experienced nearly isobaric cooling accompanied by retrograde metamorphism, as suggested by rehydration reactions that often do not terminate, with extensive deformation that promoted anisotropy planes in depth and circulation of fluids in the system. The chemical reactions that relate prograde and retrograde mineral assemblages involve transitions between the stability fields of the reactants and those of the products, including a movement from high-PT to low-PT conditions along a nearly isobaric cooling. Taking into account that the staurolite metabasites show lower variance, although without well-developed reaction textures, their mineral assemblages contain

important petrogenetic evidences for constraining equilibrium conditions, reaction history and PT conditions to elucidate the tectono-metamorphic evolution of the Silgará Formation at the CSM. Therefore, we suggest performing mineral chemistry and bulk rock analyses of metabasites and associated rocks to contribute to the understanding of the phase relationships of these rocks as a function of PT conditions and bulk rock chemistry.

## Conclusions

Staurolite metabasites of the Silgará Formation at the CSM represent a rare amphibolite facies type. On the basis of field and laboratory observations, the staurolite + hornblende assemblage can provide tighter constraints on the PT evolution of this metamorphic unit than is usually possible from metabasites. We suggest that the staurolite + hornblende assemblage is stable in mafic compositions at least at 400-600 °C and 6 kbar at the peak of prograde metamorphism. The fact that the staurolite metabasites occur very closely associated with pelitic and calc-silicate rocks, makes the hypothesis of metamorphism of metasomatised layers at the origin of these metabasites more likely than considering the staurolite-hornblende paragenesis as a result of unusual physical conditions. Retrograde textural reactions suggest that these rocks experienced nearly isobaric cooling accompanied by retrograde metamorphism.

## Acknowledgments

We are most grateful to the Universidad Industrial de Santander and the Universidad de Pamplona for the logistic support provided in the fieldwork. We also want to thank the Laboratory of Transmitted Light Microscopy of the Research Group in Basic and Applied Geology and the Laboratory of Microscopy of the Guatiguará Technological Park and their professional staff for their assistance with SEM data acquisition. We express our thanks as well to the anonymous reviewers for their helpful comments and suggestions on the manuscript.

## Conflicts of interest

None declared.

## Bibliography

- Ague J. (2000). Release of CO<sub>2</sub> from carbonate rocks during regional metamorphism of lithologically heterogeneous crust. *Geology*, **28**: 1123-1126.
- Ague J. (2002). Gradients in fluid composition across carbonate layers of the Wepawaug Schist, Connecticut, USA. *Contributions to Mineralogy and Petrology*, **143**: 38-55.
- Arnold J., Powell R. & Sandiford M. (2000). Amphibolites with staurolite and other aluminous minerals: Calculated mineral equilibria in NCFMASH. *Journal of Metamorphic Geology*, **18**(1): 23-40.



- Banks P., Vargas R., Rodríguez G.I., Shagam, R.** (1985). Zircon U-Pb ages from orthogneiss, Pamplona, Colombia. VI Congreso Latinoamericano de Geología, Bogotá, Resúmenes.
- Boinet T., Bourgois J., Bellon H., Toussaint J.** (1985). Age et repartition du magmatisme pré-mésozoïque des Andes de Colombie. Comptes rendus hebdomadaires des séances de L'Académie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles. **300**: 445-450.
- Castellanos O.M.** (2001). Chemical composition of the rock-forming minerals in the Silgará formation and P-T conditions in the Mutiscua area, Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombia. Unpublished Master Thesis, Shimane University, Matsue (Japan), 146 pp.
- Castellanos, O.M., Ríos, C.A. & Takasu A.** (2004). Chemically sector-zoned garnets in the metapelitic rocks of the Silgará Formation in the central Santander Massif, Colombian Andes: occurrence and growth history, *Boletín de Geología*. **26**: 91-18.
- Castellanos O.M., Ríos C.A. & Takasu A.** (2008). A new approach on the tectonometamorphic mechanisms associated with PT paths of the Barrovian-type Silgará formation at the Central Santander Massif, Colombian Andes. *Earth Sciences Research Journal*. **12**(2): 125-155.
- Demange M.** (199). Une paragenese a staurotite et tschermakite d'Ovala (Gabon). *Bulletin de la Société Française de Mineralogie et de Cristallographie*. **99**: 379-402.
- Dörr W., Grösser J., Rodríguez G., Kramm U.** (1995). Zircon U-Pb age of the Páramo Rico tonalite-granodiorite, Santander Massif (Cordillera Oriental, Colombia) and its geotectonic significance. *Journal of South American Earth Sciences*. **8**: 187-194.
- Enami M. & Zang Q.** (1988). Magnesian staurolite in garnet-corundum rocks and eclogite from the Donghoi district, Jiangsu Province, east China. *American Mineralogist*. **73**: 48-58.
- Faryad S.W. & Hoinkes G.** (2006). Reaction textures in Al-rich metabasite; implication for metamorphic evolution of the eastern border of the Middle. *Lithos*. **90**: 145-157.
- Forero A.** (1990). The basement of the Eastern Cordillera, Colombia: An allochthonous terrain in northwestern South America. *Journal of South American Earth Sciences*. **3**: 141-151.
- Froese E. & Hall R.D.** (1983). A reaction grid for potassium-poor pelitic and mafic rocks. In: *Current Research, Part A, Gea I. Survey Canada, Paper 83-1A*: 121-124.
- García C.A., Ríos C.A. & Castellanos O.M.** (2005). Medium-pressure metamorphism in the central Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes: Constraints for a collision model. *Boletín de Geología*. **27**: 43-68.
- Gibson G.M.** (1978). Staurolite in amphibolite from the Upper Seaforth River, central Fiordland, New Zealand. *Mineralogical Magazine*. **42**: 153-154.
- Gibson G.M.** (1979). Margarite in kyanite- and corundum-bearing anorthosite, amphibolite, and hornblende from central Fiordland, New Zealand. *Contributions to Mineralogy and Petrology*. **68**: 171-179.
- Goldsmith R., Marvin R. & Mehnert H.** (1971). Radiometric ages in the Santander Massif, eastern Cordillera, Colombian Andes, U.S. Geological Survey Professional Paper. **750-D**: D41-D49.
- Grew E.S. & Sandiford M.** (1985). Staurolite in a garnet-hornblende-biotite schist from the Lanterman Range, northern Victoria Land, Antarctica. *Neues Jahrbuch für Mineralogie*. Vol?: 396-410.
- Helms T.S., McSween H.Y., Laolka T.C., Jarosewich F.E.** (1987). Petrology of a Georgia Blue Ridge amphibolite unit with hornblende-gedrite-kyanite-staurolite. *American Mineralogist*. **72**: 1086-1096.
- Hewitt D.A.** (1973). The metamorphism of micaceous limestones from south-central Connecticut. *American Journal of Science*. **273-A**: 444-469.
- Humphreys H.S.** (1993). Metamorphic evolution of amphibole-bearing aluminous gneisses from the Eastern-Namaqua Province, South Africa. *American Mineralogist*. **78**: 1041-1055.
- Jan M.Q., Kempe D.R.C. & Tahirkheli R.A.K.** (1971). Corundum, altering to margarite, in amphibolites from Dir, West Pakistan. *Mineralogical Magazine*. **38**: 106-109.
- Julivert M.** (1958). La morfoestructura de la zona de mesas al SW de Bucaramanga. *Boletín de Geología*. **1**: 7-44.
- Julivert M.** (1970). Cover and basement tectonics in the Cordillera Oriental of Colombia, South America, and a comparison with some other folded chains. *Geological Society American Bulletin*. **81**: 3623-3643.
- Kammer A.** (1993). Steeply dipping basement faults and associated structures of the Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes. *Geología Colombiana*. **18**: 47-64.
- Kretz R.** (1983). Symbols for rock-forming minerals. *American Mineralogist*. **68**: 277-279.
- Kuyumjian R.M.** (1998). Kyanite-staurolite ortho-amphibolite from the Chapada region, Goiás, central Brazil. *Mineralogical Magazine*. **62**: 501-507.
- Kuhns R.J., Sawkin F.J. & Ito E.** (1994). Magmatism, metamorphism and deformation at Helmo, Ontario, and the timing of Au-Mo mineralization in the golden mine. *Economic Geology and the Bulletin of the Society of Economic Geologists*. **89**: 720-756.
- López V. & Soto J.** (1991). Metamorphism of calc-silicate rocks from the Alboran Basement. Zahn, R., Comas, M., and Klaus, A. (Eds.). *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*. **161**: 251-259.
- Mantilla L.C., Valencia V.A., Barra F., Pinto J., Colegial J.D.** (2009). Geocronología U-Pb de los cuerpos porfiríticos del Distrito Aurífero de Vetás-California (Dpto. de Santander, Colombia). *Boletín de Geología*. **31**: 31-43.



- Mantilla L.C., Mendoza H., Bissig, T., Craig H.** (2011). Nuevas evidencias sobre el magmatismo Miocénico en el Distrito Minero de Vetas-California (Macizo de Santander, Cordillera Oriental, Colombia). *Boletín de Geología*. **33**: 43-48.
- Miyashiro A.** (1973). *Metamorphism and Metamorphic Belts*. George Allen and Unwin, London, 492p.
- Moeen S.** (1991). Staurolite from a metabasite and its paragenesis. *Mineralogical Magazine*. **55**: 140-142.
- Mohammad Y.O, Cornell D.H., Danielsson E., Hehardt E.A., Anczkiewicz R.** (2011). Mg-rich staurolite and kyanite inclusions in metabasic garnet amphibolite from the Swedish Eastern Segment: Evidence for a Mesoproterozoic subduction event. *European Journal of Mineralogy*. **23**: 609-631.
- Ordóñez J.** (2003). Petrology and geochemistry of the granitoids at the Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes, Unpublished Master Thesis, Shimane University, Matsue (Japan), 150pp.
- Ordóñez J. & Mantilla L.** (2004). Significance of an early Cretaceous Rb-Sr age in the Pescadero Pluton, Santander Massif. *Boletín de Geología UIS*. **26**(43): 115-126.
- Purtscheller F. & Mogessie A.** (1984). Staurolite in garnet amphibolite from Sölden, Ötztal Old Crystalline Basement, Austria. *Tschermaks Mineralogische und Petrographische Mitteilungen*. **32**: 223-233.
- Restrepo-Pace P.** (1995). Late Precambrian to Early Mesozoic tectonic evolution of the Colombian Andes, based on new geochronological, geochemical and isotopic data. Unpublished PhD Thesis, University of Arizona, 195p.
- Ríos C.A.** (1999). Chemical compositions of the constituent minerals and P-T conditions of the low-grade Silgará Formation metamorphic rocks in the Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes. Master Thesis. Shimane University, Matsue (Japan), 207pp.
- Ríos C.A. & Takasu, A.** (1999). Chemical zoning of garnet from the low-grade metamorphic rocks of the Silgará Formation, Santander Massif, Eastern Cordillera (Colombian Andes). *Geosciences Reports of Shimane University*. **18**: 97-107.
- Ríos C.A.** (2001). Occurrence, chemical composition and genetic significance of the biotite in the Silgará Formation metamorphic rocks, southwestern Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes. *Boletín de Geología*. **23**(38): 41-49.
- Ríos C.A. & García C.A.** (2001). First occurrence of the three  $Al_2SiO_5$  polymorphs in the Silgará Formation metapelitic rocks, southwestern Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes. *Boletín de Geología*. **23**(38): 51-59.
- Ríos C.A., García C.A. & Takasu, A.** (2003a). Tectono-metamorphic evolution of the Silgará Formation metamorphic rocks in the southwestern Santander Massif, Colombian Andes. *Journal of South American Earth Sciences*. **16**: 133-154.
- Ríos C.A., Gelvez J. & Márquez R.** (2003b). Kinetics of the nucleation and growth garnet in the Silgará Formation metapelitic rocks, southwestern Santander Massif, *Boletín de Geología*. **25**: 23-38.
- Ríos C.A.** (2005). Cation substitutions governing the chemistry of amphibole in the Silgará Formation metabasites at the southwestern Santander Massif. *Boletín de Geología*. **27**(2): 13-30.
- Ríos C.A., Castellanos O.M. & Takasu A.** (2008a). A new interpretation for the garnet zoning in metapelitic rocks of the Silgará Formation, southwestern Santander Massif, Colombia. *Earth Sciences Research Journal*. **12**: 7-30.
- Ríos C.A., Castellanos O.M., Gómez S.I., Avila G.** (2008b). Petrogenesis of the metacarbonate and related rocks of the Silgará Formation, central Santander Massif, Colombian Andes: An overview of a "reaction calcic exoscarn". *Earth Sciences Research Journal*. **12**: 72-106.
- Ríos C.A., Castellanos O.M. & Takasu A.** (2010). X-ray color maps of the zoned garnets from Silgará Formation metamorphic rocks, Santander Massif, Eastern Cordillera (Colombia). *Earth Sciences Research Journal*. **14**: 161-172.
- Selverstone J., Spear F.S., Franz G., Morteani G.** (1984). P-T-t paths for hornblende + kyanite + staurolite gabbros: High-pressure metamorphism in the western Tauern Window, Australia. *Journal of Petrology*. **25**: 501-531.
- Soto J.I. & Azañón J.M.** (1993). The breakdown of Zn-rich staurolite in a metabasite from the Betic Cordillera (SE Spain). *Mineralogical Magazine*. **57**: 530-533.
- Spear F.S.** (1982). Phase equilibria of amphibolites from the Post Pond Volcanics, Mt. Cube quadrangle, Vermont. *Journal of Petrology*. **23**: 383-426.
- Thompson A.** (1975). Calc-silicate diffusion zones between marble and pelitic schist. *Journal of Petrology*. **16**: 314-346.
- Tsujimori T. & Liou J.G.** (2004). Metamorphic evolution of kyanite-staurolite-bearing epidote-amphibolite from the Early Palaeozoic Oeyama belt, SW Japan. *Journal of Metamorphic Geology*. **22**: 301-313.
- Ward D., Goldsmith R., Jimeno V., Cruz B., Restrepo H., Gómez R.** (1969a). Mapa Geológico del Cuadrángulo H-12, Bucaramanga, Colombia. Ingeominas
- Ward D., Goldsmith R., Cruz B., Tellez I., Jaramillo C.** (1969b). Mapa Geológico de San Gil y Málaga (parte de los Cuadrángulos I-12 y I-13), Colombia. Ingeominas
- Ward D., Goldsmith R., Cruz B., Jaramillo C., Vargas L.** (1970). Mapa Geológico del Cuadrángulo H-13, Pamplona, Colombia. Ingeominas
- Ward D., Goldsmith R., Cruz B., Jaramillo C., Restrepo H.** (1973). Geología de los Cuadrángulos H-12, Bucaramanga y H-13, Pamplona, Departamento de Santander. US Geological Survey e Ingeominas. *Boletín Geológico*. **XXI**: 1-132.
- Ward C.M.** (1984). Magnesium staurolite and green chromian staurolite from Fiordland, New Zealand. *American Mineralogist*. **69**: 531-540. <http://www.sfu.ca/~marshall/sem/mineral.htm> Mineral Energy Dispersive Spectra (EDS). Accessed on 15 February, 2013.

## Agradecimientos - Acknowledgements

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales  
Volumen 38, números 146, 147, 148, 149 y suplemento.

---

El comité editorial de la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales expresa sincero agradecimiento a los revisores que han participado durante el año 2014, en la valoración crítica de los artículos presentados a la revista, por su valiosa contribución, esfuerzo y tiempo dedicado.

---

Alejandro Montoya  
Álvaro Duarte Ruiz  
Armando Espinosa  
Arlette Gil  
Bernardo Gómez Moreno  
Carmen María Romero  
Carmenza Duque  
Carlos Alberto Vargas Jiménez  
Catalina Arévalo  
Claudia Isabel Brieva Rico  
Claudia Paulina González Cuervo  
Daniel Barragán  
Diego Gil  
Diógenes Campos Romero  
Edgar E. González  
Enrique Forero  
Enrique Moreno  
Fabián Parada Alfonso  
Fausto R. Méndez de la Cruz  
Fernando Castro Herrera  
Fredy Ramos  
Gabriel Roldán

Gloria Toro  
Guillermo Páramo  
Hernando Alberto Camargo García  
Hilda del Carmen Dueñas Gómez  
Hansjürgen Meyer  
Hernando Quevedo  
Hugo Mantilla  
Hugo Monsalve Jaramillo  
Humberto Rodríguez  
Jaime Escobar  
Javier Méndez Narváez  
Joaquín Proenza  
José Luis Fernández Alonso  
José María González Jiménez  
Jorge Quintero  
Jorge Robles Camargo  
José Sierra Ortega  
Judith Trujillo Téllez  
Juan Gabriel León  
Leonardo Antonio Gomes  
Leonardo Castellanos Hernández  
Luis A. Núñez

Luis Eduardo Díaz Barrera  
Manuel Enrique Pedraza  
Marion Weber  
Marcela Ávila  
Martha Cristina Bustos López  
Marta Vives  
Michel Hermelin Arboux  
Miguel Centeno  
Moisés Wasserman  
Néstor Hernando Campos  
Oscar Hernán Giraldo Osorio  
Oscar Lombo Vidal  
Pedro Almanza  
Pedro Prieto  
Rogel Villanueva  
Salvador Naya Fernández  
Thomas Defler  
Verónica Molina  
William Ponce Gutiérrez  
William Vargas  
Wilmer Sánchez  
Ziv Arbeli

## Índice de autores

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales  
Volumen 38, números 146, 147, 148, 149 y suplemento.

---

- Adriana Bermúdez-Tobón, 88  
Álvaro Corrales, 278  
Ana María Campos, 401  
Andrea P. Aparicio, Supl. 167  
Andrés Moreno, 93  
Ángela María Otálvaro-Álvarez, 35  
Angélica Forgionny, 93  
Angélica María Acero-Nitola, 200  
Arley de Jesús Gómez-Cruz, 312  
Augusto Antonio Gomez-Capera, 211  
Bernardo Gómez Moreno, Supl. 71  
Carlos A. Ríos, 417  
Carlos A. Ríos, Supl. 167  
Carlos Ávila Bernal, Supl. 5  
Carlos Nieto, 7  
Carlos Parra-O., 261  
Carlos Ruiz, 237  
Cilia Leonor Fuentes, 287  
Daniel Ricardo Delgado, 104  
Daniela León-Bonilla, 364  
David Landínez-Téllez, Supl. 56  
Deisy Romero-Rodríguez, 347  
Deyanira Caballero, Supl. 89  
Diana López, 93  
Diego Camilo Durán, Supl. 89  
Diego Giraldo-Cañas, 135  
Dino Bindi, 211  
Eduar Carvajal, 129  
Efraín Domínguez-Calle, 321  
Elena E. Stashenko, Supl. 89  
Elena Stashenko, 237  
Elkin de Jesus Salcedo-Hurtado, 211  
Fernando Aldana, 393  
Fernando Martínez O., Supl. 152  
Fleming Martínez, 104  
Francisco Cortés-Pérez, 200  
Gabriel Pinilla-Agudelo, 43  
Gabriel R. Navas-Suárez, 88  
Gerhard Fischer, 393  
Ginna Arias, 237  
Gladys Bernal, 347  
Guillermo A. González, Supl. 142  
Guiomar Nates-Parra, 364  
Jairo Leonardo Cuervo, 287  
Jairo Napoleón Molina-Vargas, 79  
Jairo René Martínez, 237  
Jairo René Martínez, Supl. 89  
Jairo Roa-Rojas, Supl. 56  
Jhon Jairo Mendez-Arteaga, 356  
Jhon Jairo Ospina-Sarria, 17  
John D. Lynch, 17  
Jorge Andrés Cardona-Vásquez, Supl. 56  
José A. Henao, Supl. 167  
Jose Enrique-Choy, 211  
Jose H. Quintana, Supl. 167  
Juan Carlos Abadía, 250  
Juan Carlos Sanabria, Supl. 34  
Judith Figueroa, 182  
Juliana Giraldo-García, 312  
Julio Antonio Garcia-Pelaez, 211  
Leidy K. Parra, Supl. 167  
Lina Juliana Gallo-Sánchez, 409  
Luis A. Escobar, 298  
Luis Montes, 129  
Luis Montes-Vides, 278  
Luis Norberto Parra-Sánchez, 409  
Luz Mary Toro-Toro, 312  
María Ángeles Peña, 104  
María Teresa Flórez-Molina, 409  
Maribeb Castro-González, 385  
Mario Enrique Velásquez-Lozano, 35  
Mario Moreno-Sánchez, 312  
Martha Patricia Ramírez-Pinilla, Supl. 106  
Martha R. Campos, 196  
Marvin Anganoy-Criollo, 17  
Mónica López, 93  
Myriam Sánchez-Gómez, Supl. 118  
Nelfi González, 298  
Oscar M. Castellanos, 417  
Ovidio A. Almanza, 129  
Ovidio Almanza, 278  
Patricia Chacón de Ulloa, 250  
Paula María Montoya-Pfeiffer, 364  
Pedro Nel García, 393  
Rafael Alberto Molina, 401  
Rafael Baquero, Supl. 18  
Raúl Pedroza-Banda, 17  
Ricardo Álvarez-León, 79  
Rodrigo Gonzalo Torres-Sáez, Supl. 181  
Rubén Ardila, Supl. 205  
Sergio Lozano-Báez, 321  
Sergio Yáñez, 298  
Silvio Zuluaga-Ramírez, 43  
Sonia Moreno, 401  
Sven Zea, 347  
Teddy Angarita-Sierra, 17  
Teddy Angarita-Sierra, 53  
Vladimir V. Kouznetsov, Supl. 129  
Walter Murillo-Arango, 356  
Yeinzon Rodríguez, 7  
Yeison Herrera-Medina, 88  
Yuri Córdoba, Supl. 89

# Índice de artículos

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales  
 Volumen 38, números 146, 147, 148, 149 y suplemento.

<b>Editorial</b>	<p><b>Los tiempos cambian, la revista cambia</b>                  Times change and the ACCEFYN scientific journal changes ..... 5</p>
<b>Ciencias físicas</b>	<p><b>Inflación vectorial en el marco de las teorías de <i>gauge</i> no abelianas</b>                  Vector inflation in the framework of non-Abelian <i>gauge</i> theories. .... 7</p>
	<p><b>Remoción de atenuación y dispersión en registros preapilados mediante filtro inverso con factor de calidad estimado en espectro instantáneo</b>                  Removal of attenuation and dispersion in pre-stack gathers using inverse filter with quality factor estimated on instantaneous spectrum ..... 278</p>
	<p><b>Colisiones elásticas y sección eficaz total hadrón - hadrón a altas energías</b>                  Elastic scattering and hadron-hadron total cross sections at high energies ..... Supl. 5</p>
	<p><b>La Superconductividad: sus orígenes, sus teorías, sus problemas candentes hoy.</b>                  Superconductivity: discovery, theories and some topics of current research ..... Supl. 18</p>
	<p><b>Búsquedas de Materia Oscura Supersimétrica en el LHC</b>                  Search for Supersymmetric Dark Matter in the LHC ..... Supl. 34</p>
<b>Ciencias matemáticas</b>	<p><b>High-field fluctuation magnetoconductivity and Hall reversal response in the Hg(Re)Ba<sub>2</sub>Ca<sub>2</sub>Cu<sub>3</sub>O<sub>8+δ</sub> superconductor</b>                  Fluctuaciones en la magneto conductividad de alto campo y respuesta Hall inversa en el superconductor Hg(Re)Ba<sub>2</sub>Ca<sub>2</sub>Cu<sub>3</sub>O<sub>8+δ</sub> ..... Supl. 56</p>
	<p><b>Aceleradores para Colombia</b>                  Particle accelerators for Colombia ..... Supl. 71</p>
<b>Ciencias naturales</b>	<p><b>Characteristics of two Competing Risks Models with Weibull Distributed Risks</b>                  Características de dos modelos con riesgos en competencia y riesgos Weibull ..... 298</p>
<b>Ciencias naturales</b>	<p><b>Estado del conocimiento de la fauna de anfibios y reptiles del departamento de Casanare, Colombia</b>                  Current knowledge of the amphibian and reptile fauna in the department of Casanare, Colombia ..... 17</p>



<b>Obtención de escopolamina en biorreactor a partir de cultivos de raíces de <i>Brugmansia candida</i></b>	
Scopolamine production from <i>Brugmansia candida</i> roots culture using a bioreactor .....	35
<b>Notas sobre la vegetación desértica del Parque Eólico Jepírachi, Alta Guajira, Colombia</b>	
Notes on desert vegetation of the Jepírachi wind farm in the Alta Guajira, Colombia .....	43
<b>Diagnóstico del estado de conservación del ensamble de anfibios y reptiles presentes en los ecosistemas de sabanas inundables de la cuenca del río Pauto, Casanare, Colombia</b>	
Diagnosis of the conservation state of the amphibian and reptile ensembles from flooded savannas in the river Pauto basin, Casanare, Colombia .....	53
<b>Resultados preliminares del cultivo experimental de <i>Gracilaria verrucosa</i> (Hudson) Papenfuss (= <i>G. caudata</i> J. Agardh) (Rhodophyta: Gracilariaceae) en la Costa Caribe de Colombia</b>	
Preliminary results of an experimental crop of <i>Gracilaria verrucosa</i> (Hudson) Papenfuss (= <i>G. caudata</i> J. Agardh) (Rhodophyta: Gracilariaceae) on the Colombian Caribbean Coast .....	79
<b>Primer registro de <i>Munidopsis cubensis</i> Chace, 1942 (Crustacea: Anomura: Munidopsidae) en el mar Caribe sur de Colombia</b>	
First record of <i>Munidopsis cubensis</i> Chace, 1942 (Crustacea: Anomura: Munidopsidae) in the Colombian Southern Caribbean sea .....	88
<b>Las especies del género <i>Axonopus</i> (Poaceae: Panicoideae: Paspaleae) de Colombia</b>	
The species of the genus <i>Axonopus</i> (Poaceae: Panicoideae: Paspaleae) from Colombia .....	135
<b>Tráfico de partes e individuos del oso andino <i>Tremarctos ornatus</i> en el Perú</b>	
Traffic of parts and individuals of Andean bear <i>Tremarctos ornatus</i> in Perú .....	182
<b>New records of <i>Macrobrachium digueti</i> (Bouvier, 1895) for Colombia (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)</b>	
Nuevos registros de <i>Macrobrachium digueti</i> (Bouvier, 1895) para Colombia (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) .....	196
<b>Propagación de especies nativas de la microcuenca del río La Vega, Tunja, Boyacá, con potencial para la restauración ecológica</b>	
Propagation of native species from the basin of La Vega River, Tunja, Boyacá, with potential for ecological restoration .....	200
<b>Optimización de la extracción de antioxidantes de <i>Salvia officinalis</i> L. con CO<sub>2</sub> supercrítico</b>	
Optimization of the extraction of <i>Salvia officinalis</i> L. antioxidants with supercritical CO <sub>2</sub> .....	237
<b>Dos décadas de estudio de la diversidad de hormigas en Colombia</b>	
Two decades of study of the diversity of ants in Colombia .....	250

<b>Ciencias naturales</b>	<b>Sinopsis de la familia Myrtaceae y clave para la identificación de los géneros nativos e introducidos en Colombia</b>	
	Synopsis of the plant family Myrtaceae and key for the identification of the native and introduced genera in Colombia .....	261
	<b>Variables ambientales durante blanqueamiento coralino en el Caribe colombiano</b>	
	Environmental variables during coral bleaching in the Colombian Caribbean .....	347
	<b>Estudio químico y etnobotánico de <i>Croton leptostachyus</i></b>	
	Chemical and ethnobotanical study of <i>Croton leptostachyus</i> .....	356
	<b>Catálogo de polen en mieles de <i>Apis mellifera</i> provenientes de zonas cafeteras en la Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia</b>	
	Pollen catalog for <i>Apis mellifera</i> honey from coffee regions in the Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia .....	364
	<b>Evaluación de la comunidad desnitrificante tipo <i>nosZ</i> en la columna de agua de Isla del Sol, embalse de Prado, Tolima</b>	
	Evaluation of the <i>nosZ</i> -type denitrifier community in Isla del Sol water column, Prado reservoir, Tolima .....	385
<b>Effect of waterlogging stress on the growth, development and symptomatology of cape gooseberry (<i>Physalis peruviana</i> L.) plants</b>		
Efecto del estrés por anegamiento sobre el crecimiento, desarrollo y sintomatología de plantas de uchuva ( <i>Physalis peruviana</i> L.) .....	393	
<b>Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género <i>Lippia</i> (Verbenaceae) cultivadas en Colombia.</b>		
Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of essential oils of some plants from genus <i>Lippia</i> (Verbenaceae) grown in Colombia. ....	Supl. 89	
<b>Biología reproductiva y placentotrofia en lagartijas del género <i>Mabuya</i></b>		
Reproductive biology and placentotrophy in lizards of the genus <i>Mabuya</i> .....	Supl. 106	
<b>Ciencias de la tierra</b>	<b>Localización y magnitud del terremoto de 1785 en Colombia calculadas a partir de intensidades macrosísmicas</b>	
	Calculation of the location and magnitude of the 1785 earthquake in Colombia based on macroseismic intensity data .....	211
	<b>Metagabros de la isla Gran Roque (Venezuela). Geoquímica y petrografía</b>	
	Metagabbros of Gran Roque Island (Venezuela). Geochemistry and petrography .....	312
<b>Estado del arte de los sistemas de alerta temprana en Colombia</b>		
State of the art of the early warning system in Colombia .....	321	

<b>Ciencias de la tierra</b>	<p><b>Reconstrucción de las concentraciones de materia orgánica y nutrientes mediante espectrometría y análisis de diatomeas en tres embalses de Antioquia</b>                      Reconstruction of the concentrations of organic matter and nutrients using spectrometry and diatom analysis in three reservoirs in Antioquia, Colombia ..... 409</p> <p><b>First report and significance of the staurolite metabasites associated to a sequence of calc-silicate rocks from the Silgará Formation at the central Santander Massif, Colombia</b>                      Primer reporte y significado de las metabasitas con presencia de estaurolita asociadas a una secuencia de rocas calcosilicatadas en la Formación Silgará de la región central del Macizo de Santander, Colombia ..... 418</p>
<b>Ciencias humanas</b>	<p><b>Datación de restos arqueológicos encontrados en Checua (Cundinamarca - Colombia) mediante resonancia paramagnética electrónica</b>                      Electron paramagnetic resonance dating of archaeological rests from Checua (Cundinamarca - Colombia) ..... 129</p> <p><b>Filogénesis y ontogénesis de la moral</b>                      Phylogenesis and ontogeny of morals ..... Supl. 205</p>
<b>Ciencias biomédicas</b>	<p><b>Entendiendo el papel del sistema de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF) en la regulación funcional del trofoblasto humano</b>                      Understanding the role of the insulin-like growth factor (IGF) system in the functional regulation of the human trophoblast ..... Supl. 118</p>
<b>Ciencias químicas</b>	<p><b>Óxidos mixtos del tipo <math>\text{Co}_x\text{O}_y/\text{MgO-Al}_2\text{O}_3</math> y su promoción con rutenio como catalizadores para la síntesis Fischer-Tropsch</b>                      Mixed oxides of the type <math>\text{Co}_x\text{O}_y/\text{MgO-Al}_2\text{O}_3</math> and their promotion with ruthenium as catalysts for the Fischer-Tropsch synthesis ..... 93</p> <p><b>Preferential solvation of some sulfonamides in 1,4-dioxane + water co-solvent mixtures at 298.15 K according to the inverse Kirkwood-Buff integrals method</b>                      Solvatación preferencial de algunas sulfonamidas en mezclas cosolventes 1,4-dioxano + agua a 298,15 K según el método de las integrales inversas de Kirkwood-Buff ..... 104</p> <p><b>Mineralization and sorption of <math>^{14}\text{C}</math>-glyphosate in samples from three soil types collected in El Espinal, Colombia</b>                      Mineralización y adsorción del <math>^{14}\text{C}</math>-glifosato en muestras de tres tipos de suelo provenientes de El Espinal, Colombia ..... 287</p> <p><b>Characterization of Al-Zr, Al-Hf and Al-Ce-pillared vermiculites by X-ray photoelectron spectroscopys</b>                      Caracterización de vermiculitas pilarizadas con Al-Zr, Al-Hf y Al-Ce por espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos-X ..... 401</p>

**Conexión de Biología y Química vía Síntesis Orgánica dirigida a la Diversidad molecular**

Connection between Biology and Chemistry via Diversity Oriented Synthesis ..... Supl. 129

**Modelos relativistas de discos de polvo magnetizados en un espacio-tiempo conformestático axialmente simétrico**

Relativistic models of magnetized dust disks in an axially symmetric conformastatic spacetime ..... Supl. 142

**Calentamiento por Fotoactivación de NanoTubos de Carbono de pared simple Funcionalizados con Ácido Fólico (NTC-AF)**

Photo-activation Heating of Carbon Nanotubes Functionalized with Folic Acid (NTC-AF) ..... Supl. 152

**Estudio de Parámetros de Síntesis de las estructuras zeolíticas Linde Tipo A (LTA) y Faujasita (FAU) X a partir de aluminio post-consumo y diatomita, para la remoción de metales pesados**

Study of synthesis parameters of the sodic Linde Tipe A (LTA) and Faujasite (FAU) X zeolite frameworks from post-consumer aluminium and diatomite for removal of heavy metals ..... Supl. 167

**Modificación Química en Fase Sólida de Lipasa B de *Candida antarctica* para mejorar sus propiedades de actividad, estabilidad y enantioselectividad**

Chemical Modification in Solid Phase Chemistry of Lipase B from *Candida antarctica* for improving its properties of activity, stability and enantioselectivity ..... Supl. 181



### **Enfoque y alcance**

---

La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN) es una publicación periódica trimestral, multidisciplinaria, que tiene como objetivo dar a conocer artículos inéditos de investigación de alta calidad.

La Revista publica artículos científicos en las áreas de ciencias físicas (física, físico-química, materiales y matemáticas); ciencias naturales (biología, botánica, zoología, ecología, bioquímica, química); ciencias de la tierra (geología, medio ambiente); ciencias humanas (filosofía, psicología, antropología, sociología); ciencias biomédicas y ciencias químicas, está reseñada en varios índices nacionales e internacionales tales como Actualidad Iberoamericana, Agris, CIRS (International Center for Scientific Research), Current Mathematical Publications, EBSCO, Dialnet, Historia Mathematica, Index Kewensis, Latindex, Mathematical Reviews, MathSciNet (on line data base), PERIODICA, SciELO, Online Computer Library Center – OCLC, Zentralblatt für Mathematik, Zoological Record, RLG. Nacionalmente se encuentra reseñada en la base de datos Publindex de Colciencias.

La página web de la Revista ([www.raccefyn.co](http://www.raccefyn.co)) permite el acceso libre y abierto a los artículos con el fin de contribuir a la visibilidad, al acceso y a la difusión de la producción científica.

El primer número se publicó en diciembre de 1936, año de creación oficial de la Academia, bajo la dirección del doctor Jorge Álvarez Lleras y hasta el momento se han editado 37 volúmenes.

### **Criterios para publicar**

---

#### **Indicaciones a los autores**

Los autores deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Los trabajos presentados deberán ser originales en inglés o español y de alto nivel sobre aspectos relacionadas con las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Todos los trabajos aceptados quedan como propiedad permanente de la Academia Colombiana Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de manera que la misma podrá publicarlos en formato físico y electrónico, incluyendo internet (Ver transferencia de derechos de autor).
2. El autor de la correspondencia debe aceptar mediante comunicación escrita firmada que el manuscrito es un trabajo original y no ha sido publicado por ningún medio, ni está siendo evaluado por otra publicación impresa o

electrónica y que ha sido aceptado por todos los autores para su publicación en la Revista y que los derechos de autor no han sido cedidos a nadie con anterioridad (Ver formato declaración originalidad, conflicto de intereses y sesión de derechos de autor en la página web de la Revista: <http://www.raccefyn.co>).

3. La participación de los autores en el trabajo debe ser suficiente como para aceptar públicamente la responsabilidad de los aportes de cada uno. El orden de los autores en la publicación deberá ser una decisión compartida de los coautores, que deben ser capaces de explicar el orden en el que aparecen sus nombres.
4. De acuerdo con el ICMJE, todos los colaboradores que no cumplen los criterios de autoría o hayan realizado contribuciones menores deben aparecer en la sección de agradecimientos, pero no ser citados como autores. Las ayudas económicas y materiales deben aparecer en los agradecimientos.
5. La terminología física, química y bioquímica, debe seguir las normas del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (IUPAC). Deben usarse las abreviaturas internacionales convencionales y las unidades del Sistema Internacional (SI). Los nombres científicos se deben escribir con la forma recomendada por “International Code of Botanical Nomenclature”

### **Envío y presentación del manuscrito**

---

Los artículos deben enviarse a través de <http://www.raccefyn.co>

El manuscrito, incluyendo además de la página del título, el resúmenes, las referencias, las tablas y sus títulos, las leyendas de figuras, deben estar escritos en procesador de palabras Word a doble espacio, usando la fuente Arial de tamaño 12, sin justificar el texto. No olvide usar la numeración en todo el manuscrito.

Los manuscritos deben incluir la siguiente información:

1. Una página en Word con los nombres y apellidos (nombre completo y apellido, si desea poner el segundo apellido, debe ir separado por un guion) de todos los autores (sin cargos, ni grado académico), filiaciones y correos electrónicos.
2. Título completo del manuscrito en español e inglés.
3. Título corto

4. Resumen en español y en inglés que no supere 250 palabras.
5. Palabras clave en español y en inglés que no superen en número a seis.
6. Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico y dirección electrónica.
7. Direcciones electrónicas de todos los coautores.
8. Texto, referencias y tablas en un mismo archivo junto con las leyendas de las figuras.
9. Figuras en formato jpg o tiff.

### Estructura del manuscrito

---

**Introducción:** se debe mostrar el marco teórico en el cual se inscribe el tema de la investigación, propósito del artículo y justificación del estudio, indicando además la delimitación de la pregunta problema.

**Materiales y métodos:** se describirán los sujetos de observación o experimentación, aparatos o dispositivos y la metodología empleada en el estudio.

**Análisis estadístico:** señalar los métodos estadísticos utilizados y cómo se han analizado los datos.

**Resultados:** deben presentarse en secuencia lógica, con las tablas y figuras acompañadas de una explicación y análisis de las mismas.

**Discusión:** debe hacerse énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio, contrastando los resultados con la información pertinente disponible en la literatura actualizada y relacionar las conclusiones con los objetivos propuestos. Se deben incluir las implicaciones y limitaciones de los hallazgos y comparar las observaciones relevantes con las de otros estudios.

Los resultados y la discusión pueden presentarse también en forma combinada. En cuyo caso la sección se denominará Resultados y Discusión.

**Conclusiones:** Resumen de la investigación y su estado actual. Aquí se pueden plantear objetivos futuros a seguir en la línea de investigación.

**Citación:** todas las referencias bibliográficas se insertarán en el texto y deberán llevar siempre el apellido del autor o autores y el año de publicación entre paréntesis. Si el apellido del autor o autores forma parte de la estructura formal de la frase, sólo se pondrá entre paréntesis la fecha; por ejemplo: Pérez y Ribas (1996). Si son tres, cuatro o cinco autores se pondrán los apellidos de todos los autores la primera vez que se referencian en el texto, y después

sólo se pondrá el apellido del primer autor seguido de *et al.* Si son seis o más autores sólo se pondrá el apellido del primero añadiendo “*et al.*”, desde la primera vez que se referencian. Si existieran varias referencias de un autor en un mismo año se consignarán con las letras a, b, c, etc., después del año.

### Cita directa o textual

Si la cita textual tiene menos de 40 palabras se presenta entre comillas dentro del texto y al final se incluye entre paréntesis el apellido, año de publicación y la página de donde se extrajo.

Ejemplo:

El objetivo de los estudios explicativos es “responder a las causas de los eventos físicos o sociales” (Hernández, Fernández y Baptista, 1991, p.66).

Si la cita comprende más de 40 palabras se ubica en un bloque independiente del texto, sin comillas y dejando una sangría al lado izquierdo.

Ejemplo:

Las revistas científicas son sistemas contextuales de comunicación, de difusión académico investigativa y fortalecimiento de competencias científicas (escritura, investigación, evaluación, edición), en los cuales la comunidad académica comparte creencias, orientaciones y el compromiso de contribuir, utilizar y hacer avanzar el conocimiento de forma colaborativa y cooperativa. (Mesa & Sánchez, 2010, p.4).

### Parfraseo o resumen

Se debe mencionar al autor y la fecha.

Ejemplo:

Según Sánchez (1991), el cemento es uno de los materiales más populares e indispensables en la construcción actual.

Existen dos tipos de aprendizaje: la recepción pasiva de conocimientos y el redescubrimiento de la realidad (Piaget, 1980).

Si se cita un documento escrito entre tres y cinco autores, deben escribirse los apellidos de todos la primera vez que se citen y después incluir el apellido del primer autor seguido de “*et al.*” (sin cursiva y con punto después del “*al.*”).

Si se cita un documento escrito por seis o más autores, se presenta la primera cita con el apellido del primer autor seguido de “*et al.*”. En la lista de referencias escriba las iniciales y apellidos de los primeros seis autores y para los restantes utilice “*et al.*”

### Lista de referencia

Es el listado alfabético (según el primer apellido de los autores citados en negrilla) de las fuentes consultadas y citadas

durante la redacción de un trabajo. La lista de referencias es obligatoria. Se deben citar de la siguiente manera:

#### **Libros**

Autor. Año. Título completo. Edición. Editorial, lugar de publicación, página

Ejemplo:

**Ramírez J. E., S.J.** 1975. Historia de los terremotos en Colombia. Segunda edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, 250 pp.

#### **Revista seriada**

Autor, A.A., B.B. Año. Título del artículo. Título de la revista publicación seriada, volumen (número entre paréntesis), páginas del artículo.

Ejemplo:

**Ríos, L., Riva, F., Canaquire, L.** 2008. Reporte situacional del tráfico ilegal de fauna silvestre en la Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(147):218-22.

#### **Artículo de revista electrónica**

Ejemplo:

**Sarabia A., Cifuentes H., Dimate M.** 2006. Estudio macrosísmico del sismo ocurrido el 12 de julio de 1785. Ingeominas. Bogotá. Fecha de consulta. Disponible en: <http://aplicaciones1.ingeominas.gov.co/sicat/html/Metadato.aspx?CID=239714>

#### **Artículo de periódico impreso:**

Ejemplo:

**Duque, J. G.** 7 de junio de 2012. Antioquia reasume competencia para decidir futuro del túnel. El Colombiano, pp. 10.

#### **Tesis**

Ejemplo:

**Gómez Capera A.A.** 1998. *Atenuación de la intensidad sísmica para el territorio colombiano*. Tesis de grado en Física, Facultad de Ciencias, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

#### **Congresos y simposios**

Ejemplo:

**Sánchez Upegui, A. A.** Octubre 2010. *Aplicación de la lingüística textual en los criterios de evaluación de artículos académicos e investigativos*. En Simposio Nacional de Pedagogía y Currículo. Red Colombiana de Pedagogía, Medellín

#### **Trabajos inéditos o publicaciones informales**

Si el trabajo está disponible en un sitio web institucional o personal agregue el nombre de la institución y URL.

Ejemplo:

**Jaramillo, G.** 2012. El patrimonio arquitectónico. Manuscrito inédito. Departamento de Artes, Universidad Latinoamericana. Disponible en: <http://...>

#### **Materiales legales**

En cuanto a las citas en el texto se proporcionan los mismos datos de cualquier referencia, autor, año y en lo posible número de página, si no hay un autor identificado, se anotan las primeras palabras del título y la fecha.

Ejemplo:

Colombia. Ministerio de Educación Nacional. Ley 23 de 1982 sobre derechos de autor.

#### **Tablas y figuras**

Las tablas y cuadros se denominan tablas y llevan numeración arábiga de acuerdo con el orden de aparición. El título correspondiente se coloca en la parte superior de la tabla y las notas en la inferior. Los símbolos para unidades deben aparecer en el encabezamiento de las columnas. Si es necesario exponer alguna información, utilice las letras minúsculas del alfabeto según orden de aparición en la respectiva tabla: a, b, c, d, e, etc.

Las fotografías, gráficos, dibujos y esquemas se denominan figuras, se enumeran según el orden de aparición y sus leyendas se escriben en hoja separada. Si se trata de micro fotografías debe indicarse el aumento utilizado. Las personas, o sus nombres, no deben ser identificables en las fotografías de lo contrario se requiere permiso escrito para su publicación.

Cuando las tablas y figuras hayan sido tomadas de revistas o libros, sean impresos o electrónicos, se debe especificar la fuente y adjuntar autorización de la respectiva publicación para su reproducción.

#### **Agradecimientos**

Podrán ser expresados a personas o entidades que hayan ayudado a la realización del trabajo. Se mencionarán las personas y el tipo de ayuda aportada, así como las entidades, instituciones o fundaciones que hayan financiado o suministrado materiales. En caso de proyectos de investigación financiados será suficiente con mencionar el código de registro y la entidad, institución o fundación que lo apoya económicamente.

#### **Proceso de revisión por pares**

Se recibirán solo los artículos que cumplan con todos los requisitos que se mencionan en las indicaciones a los autores. Los artículos serán evaluados en primera instancia por el Editor y el Comité Editorial de la Revista.

Cada manuscrito será enviado a dos especialistas en el tema, que evaluarán y enviarán sus recomendaciones. Este proceso de revisión tendrá una duración de 20 días.

El editor informará a cada uno de los autores el avance de su trabajo en el proceso de evaluación.

Los pares académicos adoptan tres opciones: a) aceptación sin modificaciones; b) aceptación con correcciones; c) no aceptación. En caso de desacuerdo de los pares, el original será enviado a una tercera evaluación.

En cualquiera de las opciones, el autor será informado y deberá realizar las modificaciones correspondientes en el manuscrito y enviarlo en las cuatro semanas siguientes. Además deberá enviar un documento en el que responda a todas las observaciones hechas por los evaluadores.

Cuando el autor demore más de 30 días en responder a las sugerencias de los evaluadores, el artículo no será considerado para publicación en el siguiente número de la revista. En caso de sobrepasar dicho plazo, se entenderá que los autores retiran el trabajo en su forma actual y, si se remite de nuevo, el Comité Editorial de la Revista podrá considerar que se trata de un nuevo trabajo.

Los trabajos aceptados son propiedad de la Revista ACCEFYN y podrán ser reproducidos total o parcialmente por la Revista.

La Revista no se hace responsable de los contenidos científicos ni de las implicaciones legales de los artículos publicados.

### **Corrección de estilo y publicación del manuscrito**

---

Aceptados los artículos estos se enviarán a corrección ortotipográfica. Se usará la herramienta de control de cambios de Word, en la cual quedará registro de cada una de las sugerencias realizadas y los comentarios o dudas para que el autor o autores aprueben y contesten.

La versión corregida deberá ser enviada nuevamente para su aprobación definitiva en un plazo mínimo de 48 horas. El manuscrito deberá ir con una carta al editor, informando cuales correcciones fueron procesadas. El editor le informará al autor la fecha y el número del volumen en que será publicado.

### **Rectificaciones y correcciones de errores**

---

Las rectificaciones sobre la información suministrada por parte de los autores, se harán en el número inmediatamente posterior al anuncio de las mismas y serán responsabilidad de los mismos autores. La Revista se encargará de publicar una nota aclaratoria a manera de erratas. En el caso que sean necesarias mejoras y corrección de errores ortotipográficos, de manejo visual de la información o imprecisiones involuntarias, el (los) autor(es) podrán comunicarse al correo de la Revista para que puedan realizarse en las versiones electrónicas de la Revista.

### **Falsificaciones de artículos**

---

Si en el proceso editorial se encuentra falsificación, omisión de datos, duplicidad del artículo o plagio, se devolverá el original al autor con la debida notificación a su institución patrocinadora, centro de investigación o universidad.

### **Conflicto de intereses**

---

Si los autores o coautores, editores o revisores (evaluadores) tienen algún conflicto de interés que pueda de alguna manera influir en la transparencia u objetividad en el proceso de revisión por pares y publicación, éste debe ser declarado.

Los conflictos de interés más evidentes son los llamados conflictos financieros, resultado de relaciones entre empleador-empleado, financiaciones y patentes, así como también honorarios, consultorías, investigación pagada por compañías que dependen de los resultados investigativos, etc.

También existen los conflictos personales resultado de amistades o animadversiones, competencias académicas y pasiones en el campo intelectual o moral (por ej. parientes en una compañía que se beneficiaría de los resultados que se van a publicar, el uso de los resultados publicados para promoción inmediata basada en el artículo publicado, creencias religiosas que estén en conflicto directo con la investigación que se va a publicar, etc.

### **Transferencia de derechos de autor**

---

En caso de que el artículo enviado sea aprobado para publicación, el autor principal en nombre propio y en el de los coautores o el autor principal y los coautores deben ceder los derechos de autor del artículo mencionado a la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), excepto en los siguientes casos:

a) Los autores y coautores retienen el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, presentaciones orales y distribuir a algunos colegas impresos de su propio trabajo publicado, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente a la revista de ACCEFYN. También pueden publicarse el título del trabajo, resumen, tablas y figuras del trabajo en los correspondientes sitios web de autores o de sus empleadores, también dando el crédito a la revista de ACCEFYN.

b) Si el trabajo ha sido realizado por contrato, el empleador del autor tiene el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, reproducir o distribuir en formato impreso el trabajo publicado, de una manera segura y para el uso exclusivo de sus empleados.



c) Si a la revista de ACCEFYN se le solicitara permiso individual por terceras personas para usar, imprimir o publicar específicamente artículos ya publicados, deberá obtenerse el permiso expreso del autor y coautores del trabajo y/o del empleador con excepción del uso en salones de clase, bibliotecas o reimpresos en un trabajo colectivo.

d) La revista ACCEFYN se reserva el posible uso en la portada de la revista, de figuras sometidas a revisión junto con los manuscritos.

e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN).

## Criteria for publication

---

### Information for Authors

The authors must adhere to the following requirements:

1. The works submitted must be original, in English or Spanish, and of high quality in an area related to the Exact, Physical or Natural Sciences. All works accepted will remain permanent property of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences so that such work can be published in hard copy or in electronic format, including web posting. (See transference of authors' rights).
2. The author submitting the work must confirm via written and signed communication that the manuscript represents original work and that it has not been published in any form, and that it is not under review by any other publisher for publication in hard copy or in electronic format and that publication in the Revista has been agreed by all authors, and the authors' rights have not been previously granted to a third party. ( See form for declaration of originality, conflicts of interest, and authors' rights).
3. The participation of the authors in the submitted work must be materially sufficient so as to share in the public responsibility of its contents. The order of appearance of the each of the authors of the publication must reflect a decision shared by all the co-authors, each of whom must be prepared to justify the order in which his name appears.
4. In accordance with the ICMJE ( [www.raccefyn.co](http://www.raccefyn.co)), all collaborators who do not comply with the criteria for authorship, or who have realized minor contributions must be included in the Acknowledgement Section, and must not be cited as authors. The Acknowledgement Section must also include reference to any financial and economic assistance.
5. The terminology must adhere to the International Code for Botanical Nomenclature. The physical, chemical or biochemical terminology norms of the Nomenclature Committee of International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC). The abbreviations must follow the international conventions as well as the units must conform to the International System (SI). The scientific names must be written in the format recommended by the "International Code of Botanical Nomenclature".

## Submission and Presentation of manuscript

---

The manuscripts should be submitted using the website of the Academy: <http://www.accefyn.co>

The manuscript, including the title page, the abstract, tables with titles, graphics with descriptive legends, must be prepared in Microsoft WORD processor in double space. Use Areal font size 12 without justification. Do not forget to number the entire manuscript.

The manuscripts must contain the following information:

1. A page in Microsoft Word with the names and surnames (complete name , first and second family name separated by a hyphen) of all the authors ( without positions , and without academic degrees), academic affiliations and email addresses.
2. Complete manuscript title in Spanish and English.
3. Short Title
4. Abstract in Spanish and English using 250 or less words
5. Key words in Spanish and English not containing more than 6 words.
6. Name of the author responsible for all correspondence, including his complete address, telephone number and email address.
7. Electronic addresses of all the co-authors.
8. Text, bibliographical references and tables in the same file together with the legends for all the figures.
9. Figures must be in jpg or tiff format.

## Manuscript Structure

---

**Introduction:** there must be a clear description of the theoretical framework of the theme of the investigation, purpose of the article and justification of the study, indicating the limitation of the problem question.

**Materials and methods:** a description of the object of observation or experimentation, instruments or devices and the methodology employed in the study.

**Statistical analysis:** indicate the statistical methods used and the data analysis employed.

**Results:** these must be presented in a logical sequence, with the accompanying tables and figures with their respective explanations and analysis.

**Discussion:** emphasis must be given to those aspects of the study which are new and important, contrasting the results with the relevant information available in the recent literature and relate the conclusions with the proposed objectives. Mention must be made of the implications and limitations of the results found and a comparison of the relevant observations with that of other studies.

The results and the discussion may also be presented in a combined form.

**Conclusion:** an up to date survey of the investigation. Mention can be made here of future objectives of the same line of investigation.

**Bibliography:** these citations must be verifiable, enumerated and referred to in the body of the article enclosing each number with square brackets. When a citation is made, indicate in the text the author, the year and page in the following way:

#### **Direct or textual quotation**

If the textual citation has under 40 words it should be given in between quotation marks within the text and at the end it should include in parenthesis the surname, the year of publication and the page from which it was extracted.

Example:

The objective of the explicative studies is “ to respond to the causes of the physical or social events” (Hernández, Fernández and Baptista, 1991, p.66)

If the citation goes over 40 or more words it must be placed in a separate block independent of the text, without quotation marks allowing for bleeding on the left margin.

Example:

The scientific journals are contextual system of communication, of academic or investigative diffusion and strengthening of scientific competence (writing, investigation, evaluation, editing), in which the academic community shares beliefs, orientation and the commitment to contribute, use and advance the formal knowledge of collaboration and cooperation. (Mesa & Sánchez, 2010, p.4)

#### **Paraphrase or summary**

Mention must be made of the author and the date.

Example:

According to Sánchez (1991), cement is one of the most popular and indispensable materials in today’s construction.

There exist two types of learning: the passive reception of knowledge and the rediscovery of reality (Piaget, 1980)

If a cited document has between three or five authors, the surnames of all the authors must be given the first time they

are cited and afterwards include the surname of the first author followed by “ et al.” (not in italics and with a period after the “al.”).

If a cited document has six or more authors, place the first citation with the surname of the first author followed by “et al.” In the bibliographical list write the initials and surnames of the first six authors and for the rest use “ et al.”

#### **Bibliographical list**

It is the list, in alphabetical order (according to the first surname of the cited authors, which should be in bold) of the sources consulted and cited in the text of the article. It is mandatory to include the bibliographical list. It should be cited in the following way:

##### **Books**

Author. Year of publication. Title of the book. Edition. Publisher, place of publication, page(s).

Example:

**Ramírez J. E., S.J.** 1975. Historia de los terremotos en Colombia. Segunda edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, 250 pp.

##### **Article from periodical journal**

Author, A.A., Author, B.B. Year. Title of the article. Title of the journal, volume (number in parenthesis), pages.

Example:

**Ríos, L., Riva, F., Canaquire, L.** 2008. Reporte situacional del tráfico ilegal de fauna silvestre en la en la región nororiental del Perú . Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(147):218-22.

##### **On line periodical article**

Example:

**Sarabia A., Cifuentes H., Dimate M.** 2006. Estudio macrosísmico del sismo ocurrido el 12 de julio de 1785. Ingeominas. Bogotá. Date of query: (day, month, year). Available at: <http://aplicaciones1.ingeominas.gov.co/sicat/html/Metadato.aspx?CID=239714>

##### **Newspaper article**

Example:

**Duque, J. G.** 7 de junio de 2012. Antioquia reasume competencia para decidir futuro del túnel. El Colombiano, pp. 10.

##### **Thesis**

Example:

**Gómez Capera A.A.** 1998. *Atenuación de la intensidad sísmica para el territorio colombiano*. Tesis de grado en Física, Facultad de Ciencias, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

### ***Congresses and symposia***

Example:

**Sánchez Upegui, A. A.** Octubre 2010. *Aplicación de la lingüística textual en los criterios de evaluación de artículos académicos e investigativos*. In: Simposio Nacional de Pedagogía y Currículo. Red Colombiana de Pedagogía, Medellín

### ***Unpublished manuscript or informal publications***

If the work is available at an institutional or personal web site, please add the name and URL of the institution.

Example:

Jaramillo, G. 2012. El patrimonio arquitectónico. Manuscrito inédito. Departamento de Artes, Universidad Latinoamericana. Recuperado de <http://...>

### ***Legal documents***

Regarding the citations in the text, the same data included in all other references should be provided (author, year, and if available, the same page number). If there is no identifiable author, the first words of the title should be noted, as well as the date.

Example:

Colombia. Ministerio de Educación Nacional. Ley 23 de 1982 sobre derechos de autor.

### **Tables and graphics**

The tables and frames are called tables and carry an arabic numeration in accordance with the order in which they appear. The corresponding title is placed on the upper part of the table and notes are placed in the lower part. Symbols for unit measures must appear in the column headings.

If it is necessary to display some information, use lower case letters from the alphabet according to the appearance of the table: a, b, c, d, e, etc.

Photographs, graphics, pictures or sketches are named figures, are enumerated in order of appearance, and their legends must be written in a separate page. With respect to microfiches, indicate the size of the augmentation used. People or their names should not be identifiable in photographs, unless written permission for their publication has been obtained.

When tables and figures have been taken from magazines or books, published in hard copy or electronically, specify the source and include the authorization for its reproduction from the respective publication.

### **Acknowledgments**

These can be expressed to persons or entities who have aided in the realization of the work. Mention is made

of persons and their type of aid provided, as well as to entities or institutions which have provided financial and material assistance. In case of investigative projects with financial support it suffices to mention the registry code and the entity, institution or foundation which provided the economic support.

### **The peer-review process**

---

Only articles which comply with the requirements mentioned in the information for authors will be accepted. The articles will be given their first evaluation by the Editor and the Editorial Committee of the Revista.

Each manuscript will be sent to two experts on the topic who will provide recommendations after review and evaluation. This process of revision will have a duration of 30 days.

The editor will inform each of the authors of the status of the process of evaluation of their work.

The academic peers will adopt one of three options: a) acceptance without modifications; b) acceptance with corrections; c) Deny acceptance. In case of disagreement among the peers, the original manuscript will be sent out for a third evaluation.

Under any of the three options, the author will be informed and must follow the corresponding modifications of the manuscript and return it within the following four weeks. In addition, the author(s) must provide a written document with answers to all the peers observations.

If the author takes more than 30 days to respond to the suggestions from the reviewers, the article will not be considered for publication in the next issue of the Revista. In case the response from the author takes longer than the allocated time, it is understood that the authors will retrieve the work in its present form and, if a new submission is made, the Editorial Committee of the Revista may treat it as a new work.

The works accepted for publication become property of the Revista ACCEFYN and may be reproduced in their entirety or partially by the Revista.

The Revista does not assume responsibility for the scientific content, nor for the legal implications of any of the published articles.

### **Publication of the manuscript**

---

Once the article has been accepted, it will undergo a style and format revision which will bring it to its definitive version. The authors will receive the galley proofs in PDF format for the correction of errors before its printing. The corrected version must be returned for final approval within a period



of 48 hours. The manuscript must be accompanied with a letter to the editor informing him of the corrections that were carried out. The editor will inform the author of the date and volume number in which the publication will appear.

### **Conflicts of interest**

---

If the authors or co-authors, the editors or reviewers (evaluators) have some conflict of interest which may in any way influence the transparency and objectivity of the peer review process and publication, it must be so declared.

The most obvious conflicts of interest are those referred to as financial conflicts, which result between, employer-employee, investments and patents, as well as honoraria, consulting, paid investigation by companies which depend on the investigative results, etc.

There also exist personal conflicts arising from friendships, animosity, academic competencies and passions in the moral or intellectual field (for example relatives in a company which will benefit from the results to be published, the use of the results for immediate promotion based on the published article, religious beliefs which are in direct conflict with the investigation that will be published, etc).

### **Transfer of author rights**

---

In case the article is approved for publication, the main author in representation of himself and his co-authors or the main author and his co-authors must cede the author rights

of the corresponding article to the Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), except in the following cases:

a) The authors and co-authors will retain the right to revise, adapt, prepare derived works, oral presentations and distribution to some colleagues of reprints of their own published work, as long as the corresponding credit is given to the Revista of ACCEFYN. It is also permissible to publish the title of the work, summary, tables and figures of the work in the corresponding web sites of the authors or their employers, also giving credit to the Revista of ACCEFYN.

b) If the work has been realized under contract, the author's employer has the right to revise, adapt, prepare derivative works, reproduce or distribute in hard copy the published work, in a secure manner and for the exclusive use of his employees.

c) If the Revista of ACCEFYN were approached for permission by a third party for using, printing or publishing specifically articles already published, the Revista of ACCEFYN must obtain the express permission of the author and co-authors of the work and/or of the employer with the exception of use in classrooms, libraries, or reprinted in a collective work.

d) The Revista of ACCEFYN reserves the possible use in its front cover of figures submitted with the manuscripts.

e) No other right, other than the author's right, can be claimed by the Revista of ACCEFYN.



**MinEducación**  
Ministerio de Educación Nacional

**PROSPERIDAD  
PARA TODOS**