



ISSN 0370-3908

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

Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 39 · Número 152 · Págs. 289-438 · Julio - Septiembre de 2015 · Bogotá - Colombia



Eupatorium



ISSN 0370-3908

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

Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 39 • Número 152 • Págs. 289-438 • Julio - Septiembre de 2015 • Bogotá - Colombia

Comité editorial

Editora en jefe Elizabeth Castañeda
Instituto Nacional de Salud,
Bogotá, Colombia

Editores asociados

Ciencias físicas

Bernardo Gómez
Departamento de Física,
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Rubén Antonio Vargas Zapata
Universidad del Valle,
Cali, Colombia

Pedro Fernández de Córdoba
Universidad Politécnica de Valencia, España

Diógenes Campos Romero
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Román Eduardo Castañeda Sepúlveda
Universidad Nacional, Medellín, Colombia

Carlos Alberto Duque Echeverri
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

María Elena Gómez
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Gabriel Téllez
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Luis Álvaro Morales Aramburo
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Germán A. Pérez Alcázar
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Enrique Vera López
Universidad Politécnica, Tunja, Colombia

Jairo Roa-Rojas
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Rafael Baquero
Cinvestav, México

Ángela Stella Camacho Beltrán
Departamento de Física,
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Matemáticas

Victor Albis
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Jorge Ivan Cossio Betancur
Universidad Nacional de Colombia,
Medellín, Colombia

Luis Español González
Universidad de la Rioja, España

Jaime Ignacio Lesmes Camacho
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Luis Carlos Arboleda
Universidad del Valle, Cali, Colombia

José R. Quintero
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Ciencias químicas

Sonia Moreno Guaqueta
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Fanor Mondragón
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Moisés Wasserman Lerner
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Myriam Sánchez de Gómez
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Héctor Fabio Zuluaga Corrales
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Fernando Martínez
Universidad Industrial de Santander,
Bucaramanga, Colombia

Betty Lucy López Osorio
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Ciencias naturales

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

Jaime Cantera
Universidad del Valle, Cali, Colombia

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

Juan Armando Sánchez Muñoz
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Patricia Chacón de Ulloa
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Sandra Baena Garzón
Pontificia Universidad Javeriana,
Bogotá, Colombia

Néstor Hernando Campos Campos
Universidad Nacional de Colombia,
Sede Caribe, Colombia

Gerhard Fischer
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Jorge Enrique Llorente
Universidad Nacional Autónoma
de México, México

Santiago Melo Gaviria
Universidad de Viena, Austria

Martha Patricia Ramírez Pinilla
Universidad Industrial de Santander,
Bucaramanga, Colombia

Carlos Daniel Cadena Ordoñez
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Santiago Madriñán
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Ciencias de la tierra

José Ignacio Martínez
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

Germán Poveda Jaramillo
Universidad Nacional de Colombia,
Medellín, Colombia

Armando Espinosa
Universidad del Quindío,
Armenia, Colombia

Carlos Alberto Vargas
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Fabio Cediél Melo
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

Jaime Ignacio Vélez Upegui
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Carlos Alberto Jaramillo Muñoz
Smithsonian Tropical Research Institute,
Panamá

Michel Hermelin Arbaux
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

Ciencias biomédicas

Luis Fernando García
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Felipe Guhl
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Leonardo Puerta Llerena
Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

Gustavo Adolfo Vallejo
Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

Luis Caraballo
Universidad de Cartagena, Colombia

Eduardo Alberto Egea Bermejo
Universidad del Norte,
Barranquilla, Colombia

Ciencias humanas

Rubén Ardila
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Guillermo Páramo
Universidad Central, 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 28 cm

Papel: propalmate 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

Título: *Eupatorium* Inscripción ms. original, a tinta, en la parte inf. izq., de [José María Carbonell?]- En el verso, inscripción ms., a tinta roja, en el ángulo inf. izq. de autor desconocido: "Villarruel." [Francisco Escobar Villarroel]. Dibujante: Escobar Villarroel, Francisco. Nombre científico: *Critoniella vargasiana* (DC) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae Eupatorieae).

Signatura: DIV. III A-957 Archivo del Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid

Flora de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada: (1783-1816) / promovida y dirigida por José Celestino Mutis; publicada bajo los auspicios de los Gobiernos de España y de Colombia [merced a la colaboración de los Institutos de Cultura Hispánica de Madrid y Bogotá y el Real Jardín Botánico de Madrid -- Madrid: Ediciones Cultura Hispánica.

Lámina A-957, Tomo 46: Asteraceae-Eupatorieae // Determinaron las láminas y redactaron los textos Santiago Díaz Piedrahita y Gina Paola Mendez -2008 -140 pp, 84 h. de lam. col. y b. n.

Página web de la revista: www.raccefyn.co • **Correo electrónico:** revista@accefyn.org.co

Sede de la Academia: Cra. 28a No.39a - 63 Bogotá, Colombia • **Teléfonos:** (571) 244 3186 - 268 3290 - 268 2846



ISSN 0370-3908

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

Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 39 · Número 152 · Págs. 289-438 · Julio - Septiembre de 2015 · Bogotá - Colombia

Contenido - Contents

| | |
|-----------------------|---|
| Ciencias físicas | El movimiento rectilíneo en el problema de los dos cuerpos Rectilinear motion in the two-body problem <i>José Gregorio Portilla</i> 294 |
| | Complejidad de la estructura espacio-temporal de la precipitación Complexity of the space–time structure of rainfall <i>Óscar José Mesa-Sánchez, Victor Manuel Peñaranda-Vélez</i> 304 |
| | Líneas prohibidas de alta ionización en una muestra de cuásares Forbidden high ionization lines in a sample of quasars <i>Giovanni Cardona, José Gregorio Portilla</i> 321 |
| Ciencias químicas | Preparación y caracterización de compuestos de inclusión entre Rh(III), Ni(II), 2-acetil piridina tiosemicarbazonas y β-ciclodextrina Preparation and characterization of inclusion compounds between rh(iii), ni(ii), 2-acetyl pyridine thiosemicarbazones and β -cyclodextrin <i>Jorge Ivan Daza, Pedro F. B. Brandão, Ana Esperanza Burgos</i> 328 |
| | Identificación genética de aislamientos de <i>Colletotrichum</i> spp. causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol Genetic identification of <i>Colletotrichum</i> isolates causing anthracnose in fruits of avocado, banana, mango and tamarillo <i>Lederson Gañán, Elizabeth Álvarez, Jairo Castaño-Zapata</i> 339 |
| Ciencias naturales | Growth strategies of an abundant reef-building coral in the Southern Caribbean (<i>Undaria tenuifolia</i>) Estrategias de crecimiento de un abundante coral formador de arrecifes en el Caribe sur (<i>Undaria tenuifolia</i>) <i>Silvia Marcela Cáceres, Juan Armando Sánchez</i> 348 |
| | Manantiales salinos: inventarios de la diversidad metabólica y filogenética de microorganismos de ambientes salinos Saline springs: Inventories of metabolic and phylogenetic diversity of microorganisms from saline environments <i>Carolina Díaz-Cárdenas, Sandra Baena</i> 358 |

**Ciencias
naturales**

Respuesta de la biomasa zooplanctónica a los gradientes de estado trófico y precipitación de un embalse tropical
Response of the zooplankton biomass to the gradient of trophic status, and rainfall of a tropical reservoir
Silvia Lucía Villabona-González, John Jairo Ramírez-Restrepo, Jaime Alberto Palacio-Baena, Claudia Costa Bonecker 374

Una nueva especie de *Puya* (Bromeliaceae) de los páramos cercanos a Bogotá, Colombia
A new species of *Puya* (Bromeliaceae) from the páramos near Bogotá, Colombia
Santiago Madriñán 389

Gases invernadero en aguas con bajo oxígeno en el reservorio eutrófico de Prado (Colombia)
Greenhouse gases in low-oxygen waters in the eutrophic reservoir of Prado (Colombia)
Maribeb Castro-González, Victoria Torres-Valdés 399

Estructura de tallas, talla media de madurez sexual y razón sexual de camarones de aguas profundas de importancia comercial en el Caribe colombiano
Size structure, size at sexual maturity and sex ratio of deep-sea shrimps of commercial importance in the Colombian Caribbean Sea
Jorge Paramo, Samuel Núñez 408

**Ciencias
de la tierra**

A case of regional metamorphism of Buchan type (andalusite-cordierite) in the Northern Santander Massif, Eastern Cordillera (Colombia)
Un caso de metamorfismo regional tipo Buchan (andalucita-cordierita) en la región Norte del Macizo de Santander, Cordillera Oriental (Colombia)
Oscar M. Castellanos, Carlos A. Ríos 416

Enfoque y alcance
Focus and Scope 430

El movimiento rectilíneo en el problema de los dos cuerpos

José Gregorio Portilla

Observatorio Astronómico Nacional, Facultad de Ciencias,
Sede Bogotá, Universidad Nacional de Colombia

Resumen

Presentamos una descripción de las tres soluciones analíticas del problema de los dos cuerpos clásico que corresponden al caso del momentum angular cero. Se presentan las constantes de integración y su relación con la forma y orientación de la trayectoria en el espacio. Igualmente se propone un método de determinación orbital para un objeto que cae en línea recta hacia el Sol con base en dos observaciones angulares realizadas desde la Tierra.

Palabras clave. Problema de dos cuerpos, movimiento rectilíneo, determinación orbital.

Rectilinear motion in the two-body problem

Abstract

We present a description of the three analytical solutions of the two-body problem associated to the case of angular momentum equal to zero. The constants of integration and their relationship with the shape and orientation of the trajectory are showed. Additionally, we propose a method for determining a rectilinear trajectory of a body plunging into the sun based on two angular observations performed from the Earth.

Key words. Two-body problem, rectilinear motion, orbit determination.

Introducción

El problema de los dos cuerpos es, en mecánica celeste clásica, el sistema más extensivamente estudiado, no solo por su simplicidad sino, además, por ser uno de los pocos problemas cuya solución completa se logra a través de la obtención de cantidades conservadas (denominadas integrales de movimiento). De hecho, algunas de las técnicas de perturbación desarrolladas para abordar problemas de tres o más cuerpos, descansan en la solución del problema de los dos cuerpos.

La ecuación diferencial de movimiento relativo de un cuerpo de masa m_2 con relación al cuerpo de masa m_1 es, en notación vectorial:

$$\frac{d^2\vec{r}}{dt^2} = -\frac{\mu}{r^3}\vec{r}, \quad (1)$$

donde \vec{r} es el vector de posición relativo (con componentes cartesianas x, y, z y la masa m_1 colocada en el origen de coordenadas), r su norma y $\mu = G(m_1 + m_2)$ donde, a la vez, G es la constante de gravitación universal.

Correspondencia:

José Gregorio Portilla, jgportillab@unal.edu.co

Recibido: 19 de enero de 2015

Aceptado: 18 de mayo de 2015

Como se sabe, la anterior ecuación admite la integral del momentum angular por unidad de masa \vec{h} , esto es,

$$\vec{h} = \vec{r} \times \dot{\vec{r}}, \tag{2}$$

donde $\dot{\vec{r}}$ es el vector velocidad (un punto sobre la cantidad representa la primera derivada temporal de dicha cantidad; dos puntos, dos derivadas temporales). La existencia de estas tres constantes (pues en el espacio tenemos que \vec{h} tiene por componentes h_1, h_2, h_3 , de modo tal que $h^2 = h_1^2 + h_2^2 + h_3^2$) indica que el movimiento se verifica en un plano y, por ende, el sistema puede resolverse utilizando dos grados de libertad. Ahora bien, nótese que el momentum angular puede ser cero, lo que ocurre de ser la velocidad nula o en dirección exclusivamente radial.

De forma casi que universal, la literatura describe extensivamente las soluciones que dan lugar a aquellas trayectorias que se obtienen cuando el momentum angular es diferente de cero que, como es bien conocido, corresponden a las secciones cónicas: elipse, parábola e hipérbola. En particular, se hace énfasis en la primera ya que con dicha solución es posible llegar a las consabidas leyes de Kepler. Sin embargo, son muy pocos (poquísimos) los autores que hacen referencia al caso más obvio y directo del que se pueda esperar de una ley de fuerza que es radial y de atracción: el movimiento en línea recta, el cual corresponde al caso del momentum angular nulo (ver **Taff** (1985), **Chandrasekhar** (1995)). La razón es simple: a pesar de que es un movimiento con el que alguien aquí en la Tierra está muy familiarizado —basta con observar objetos soltados desde determinada altura y que caen libremente en dirección al suelo—, no se ha registrado el caso de un objeto que describa una trayectoria en línea recta en dirección hacia el centro de Sol. Lo más parecido a esta situación, que se sepa, es el caso de los cometas rasantes al Sol los cuales, por su trayectoria fuertemente elíptica o parabólica, y su cercanía al Sol en instantes previos a su perihelio (algunos de los cuales resultan destruidos o seriamente afectados), pueden considerarse, en primer grado de aproximación, como objetos en caída libre hacia el Sol. De todas formas, sería prematuro descartar la existencia de objetos, posiblemente cometas, que puedan seguir trayectorias en caída libre en dirección al centro del Sol.

El propósito de esta comunicación es doble: primero, exponer con suficientemente generalidad el movimiento en línea recta de m_2 con relación a m_1 ; como veremos, dependiendo de las condiciones iniciales, se tendrá una situación análoga a la de las cónicas: puede darse un movimiento i) acotado (equivalente al caso elíptico), ii) de escape con velocidad mínima (equivalente al parabólico) y iii) de escape con exceso de velocidad (equivalente al hiperbólico). La exposición de tal solución se hace en términos de la obtención de todas las integrales de

movimiento (energía, momentum angular y vector de Laplace-Runge-Lenz) y, a diferencia de las anteriores descripciones, se muestra la conexión entre las constantes y los ángulos que definen la orientación de la órbita en el espacio.

Segundo, se propone un método para obtener los parámetros orbitales que definen una trayectoria de un objeto en caída libre con respecto al Sol observado en dos tiempos distintos desde la Tierra. Hasta donde sabemos, los métodos de determinación orbital estudiados hasta ahora parten del supuesto de que el objeto en cuestión se desplaza en una cónica.

En lo que sigue se muestran inicialmente algunos aspectos básicos del problema de dos cuerpos, para luego continuar con una exposición de la generalidad del movimiento rectilíneo, describiendo los casos posibles que dependen de las condiciones iniciales del problema. Posteriormente se describe cómo es posible la determinación orbital de un objeto en movimiento rectilíneo (con velocidad nula en el infinito o, lo que es lo mismo, con velocidad de escape mínima en el infinito) siendo observado desde la Tierra en dos tiempos distintos incluyéndose, además, un ejemplo.

Movimiento en el plano

Se vio en la sección anterior que la existencia del vector \vec{h} , por ser constante (y ortogonal al plano formado por el vector posición y velocidad), implica movimiento en un plano. En términos de las componentes del vector posición y velocidad, las componentes cartesianas de dicho vector están dadas por:

$$\begin{aligned} h_1 &= y\dot{z} - z\dot{y}, \\ h_2 &= z\dot{x} - x\dot{z}, \\ h_3 &= x\dot{y} - y\dot{x}. \end{aligned} \tag{3}$$

Adicionalmente, la ecuación (1) admite otra integral vectorial denominada vector de Laplace-Runge-Lenz, dado por:

$$\vec{e} = -\frac{\vec{h} \times \dot{\vec{r}}}{\mu} - \frac{\vec{r}}{r}, \tag{4}$$

que se conoce también como vector excentricidad, el cual está contenido en el plano de la trayectoria y en dirección de la línea de las ápsides (la línea que une el centro de la cónica con los focos). Las componentes cartesianas de dicho vector (e_1, e_2, e_3) de modo tal que: $e^2 = e_1^2 + e_2^2 + e_3^2$,

están dadas entonces por:

$$\begin{aligned} e_1 &= \frac{1}{\mu} [x(\dot{y}^2 + \dot{z}^2) - \dot{x}(y\dot{y} + z\dot{z})] - \frac{x}{r}, \\ e_2 &= \frac{1}{\mu} [y(\dot{x}^2 + \dot{z}^2) - \dot{y}(z\dot{z} + x\dot{x})] - \frac{y}{r}, \\ e_3 &= \frac{1}{\mu} [z(\dot{x}^2 + \dot{y}^2) - \dot{z}(x\dot{x} + y\dot{y})] - \frac{z}{r}. \end{aligned} \quad (5)$$

Puesto que \vec{h} es ortogonal al plano de la órbita y \vec{e} está en dirección de dicho plano se tendrá que $\vec{h} \cdot \vec{e} = 0$ y así:

$$h_1e_1 + h_2e_2 + h_3e_3 = 0,$$

lo que significa que una de las constantes puede colocarse en términos de las otras cinco.

Utilizando coordenadas polares (r, θ) y recordando que el vector velocidad en tales coordenadas es: $\vec{v} = \dot{r}\hat{r} + r\dot{\theta}\hat{\theta}$ donde \hat{r} y $\hat{\theta}$ son vectores unitarios en la dirección radial y tangencial a esta, respectivamente, se tiene, de acuerdo con (2):

$$\vec{h} = r\hat{r} \times (\dot{r}\hat{r} + r\dot{\theta}\hat{\theta}),$$

de la que se desprende que:

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{h}{r^2}. \quad (6)$$

De igual modo, teniendo en cuenta la expresión del vector aceleración en coordenadas polares $\vec{a} = (\ddot{r} - r\dot{\theta}^2)\hat{r} + (r\ddot{\theta} + 2\dot{r}\dot{\theta})\hat{\theta}$, al reemplazar este vector en la ecuación (1), se tiene:

$$\frac{d^2r}{dt^2} - r\left(\frac{d\theta}{dt}\right)^2 = -\frac{\mu}{r^2}, \quad (7)$$

$$r\frac{d^2\theta}{dt^2} + 2\frac{dr}{dt}\frac{d\theta}{dt} = 0. \quad (8)$$

La literatura es rebotante en describir cómo, con estas dos últimas ecuaciones, y cuando $h \neq 0$, es posible determinar no solo que el diferencial del área es proporcional al diferencial de tiempo (segunda ley de Kepler) sino además que el movimiento de m_2 con respecto a m_1 es una cónica con uno de los focos ubicado en m_1 . Remitimos al lector interesado en ese aspecto a cualquier libro introductorio de mecánica celeste. En la presente comunicación nos concentramos solo en el caso cuando $h = 0$.

Movimiento rectilíneo

Es claro, de la ecuación (2), que $h = 0$ ocurre cuando el vector velocidad es nulo, o dicho vector está en la misma dirección del vector posición. Al mismo tiempo,

se tendrá que (6) se convierte en $d\theta/dt = 0$, esto es, $\theta = \theta_0$ (θ_0 siendo una constante), lo que significa que el movimiento se puede expresar con un único grado de libertad, esto es, el movimiento se verifica en línea recta. En tal caso, el problema se soluciona encontrando funcionalmente la variable r en términos del tiempo.

La solución es como sigue. Al tener $\dot{\theta} = 0$, la ecuación (7) se reduce a:

$$\frac{d^2r}{dt^2} = -\frac{\mu}{r^2}, \quad (9)$$

y dado que es lícito hacer $d^2r/dt^2 = (dr/dt)(d^2r/dt^2)(dt/dr)$, entonces:

$$\frac{d^2r}{dt^2} = \frac{dr}{dt} \frac{d}{dr} \left(\frac{dr}{dt} \right) = \dot{r} \frac{d\dot{r}}{dr} = \frac{d}{dr} \left(\frac{1}{2} \dot{r}^2 \right),$$

pero, al mismo tiempo, como:

$$-\frac{\mu}{r^2} = \frac{d}{dr} \left(\frac{\mu}{r} \right),$$

se deduce entonces que, al reemplazar estas dos últimas expresiones en (9), se obtiene:

$$\frac{d}{dr} \left(\frac{1}{2} \dot{r}^2 \right) = \frac{d}{dr} \left(\frac{\mu}{r} \right),$$

que al integrar da:

$$\frac{1}{2} \dot{r}^2 - \frac{\mu}{r} = E', \quad (10)$$

donde E' es una constante de movimiento que tiene unidades de energía sobre unidad de masa. Al multiplicar a ambos lados por la denominada masa reducida del sistema ($m_1m_2/(m_1 + m_2)$), podemos escribir:

$$\frac{1}{2} \left(\frac{m_1m_2}{m_1 + m_2} \right) \dot{r}^2 - \frac{Gm_1m_2}{r} = E, \quad (11)$$

donde es claro que el primer término es la energía cinética; el segundo término es la energía potencial gravitacional y $E = E'm_1m_2/(m_1 + m_2)$ es entonces la energía total del sistema.

Dependiendo de los valores que se asuman para r y \dot{r} en un instante de tiempo inicial t_0 , esto es, para r_0 y \dot{r}_0 , se tendrá que el valor de E puede ser positivo, negativo o cero. En el caso en el que $E > 0$ el objeto tiene energía cinética suficiente como para vencer la atracción gravitacional y escapará (es el equivalente de la órbita hiperbólica con $h \neq 0$). Para el caso $E = 0$ el valor de la velocidad inicial es el mínimo suficiente como para que la energía potencial se haga cero en el infinito y, por lo tanto, también escapa (es el equivalente de la órbita parabólica con $h \neq 0$). Por último, para el caso $E < 0$ la energía potencial es mayor que la cinética y, en consecuencia, el movimiento del objeto está acotado (es el equivalente de la órbita elíptica con $h \neq 0$). Por supuesto, esto último implica una colisión entre ambos objetos. A continuación

pasaremos a resolver cada uno de los tres casos.

Caso con $E' = 0$

Para este caso se puede presentar cualquiera de los siguientes dos escenarios: i) que el objeto tenga una velocidad cero en el infinito y que esté cayendo en dirección hacia m_1 , en cuyo caso $\dot{r} < 0$; ii) que el objeto posea una velocidad no nula en el tiempo t_0 y que sea justa la necesaria para que escape en el infinito, y se tendrá $\dot{r} > 0$. Para ambas situaciones, el valor de la energía potencial es igual en valor absoluto a la energía cinética y la energía total es cero. De ese modo, la ecuación (10) queda convertida en:

$$\frac{dr}{dt} = \pm \sqrt{\frac{2\mu}{r}}, \tag{12}$$

en donde el signo positivo se toma si el objeto está escapando hacia el infinito y el negativo si está cayendo en dirección hacia m_1 .

Al separar las variables:

$$\sqrt{r}dr = \pm \sqrt{2\mu}dt, \tag{13}$$

e integrando con los límites inferiores t_0 para un r_0 , llegamos a:

$$r = \left[r_0^{3/2} \pm 3\sqrt{\frac{\mu}{2}}(t - t_0) \right]^{2/3}, \tag{14}$$

ecuación que permite obtener la distancia r en función del tiempo t para unas condiciones iniciales dadas y se ha de escoger adecuadamente el signo dependiendo de si el objeto está escapando o va en rumbo de colisión hacia m_1 .

Caso con $E' < 0$

Cuando la energía potencial es mayor, en valor absoluto, a la energía cinética se tendrá que $E' < 0$ y en tal caso el cuerpo de masa m_2 , con independencia de la dirección de la velocidad, estará condenado a chocar invariablemente con m_1 . En tal caso, la ecuación (10) queda, haciendo explícito el signo del valor de la energía total por unidad de masa:

$$\frac{dr}{dt} = \pm \sqrt{\frac{2\mu}{r} - 2|E'|} = \pm \frac{1}{r} \sqrt{\mu \left(2r - \frac{r^2}{a} \right)},$$

siendo

$$a = \frac{\mu}{2E'} = \frac{\mu}{\frac{2\mu}{r_0} - \dot{r}_0^2}, \tag{15}$$

una constante que tiene unidades de distancia y que es positiva dado que en este caso $\frac{2\mu}{r_0} > \dot{r}_0^2$. Una distribución conveniente de los términos permite escribir:

$$\frac{dr}{dt} = \pm \frac{\sqrt{\mu}}{r} \sqrt{a - \frac{a^2}{r} + \frac{2ra}{a} - \frac{r^2}{a}},$$

y de ese modo colocar:

$$\frac{dr}{dt} = \pm \frac{\sqrt{\mu a}}{r} \sqrt{1 - \left(\frac{r}{a} - 1 \right)^2}, \tag{16}$$

o mejor, al separar las variables:

$$\frac{rdr}{\sqrt{1 - \left(\frac{r}{a} - 1 \right)^2}} = \pm \sqrt{\mu a} dt. \tag{17}$$

Introduciendo la variable auxiliar de integración ϕ como

$$r = a(1 + \cos \phi), \tag{18}$$

por lo que: $dr = -a \text{sen} \phi d\phi$, y por lo tanto la ecuación (17) queda en la nueva variable como:

$$a^2(1 + \cos \phi)d\phi = \mp \sqrt{\mu a} dt.$$

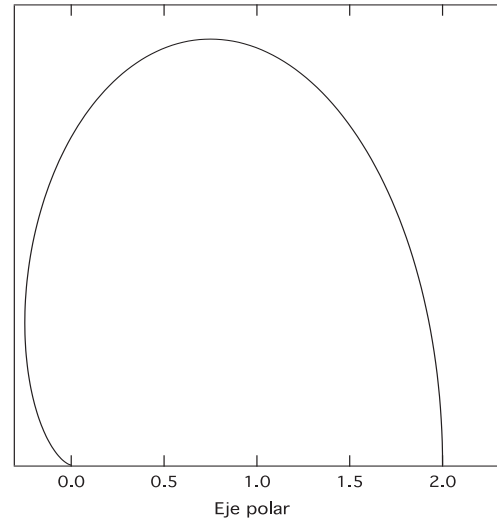


Figura 1: Comportamiento de la distancia radial r en función de la variable ϕ en el sistema de coordenadas polares para el caso con $E' < 0$. Se tomaron como condiciones iniciales $\dot{r} = 0$ y $a = 1$.

Integrando con límites inferiores ϕ_0 ($\phi_0 = \cos^{-1}[(r_0/a) - 1]$) para el tiempo t_0 obtenemos:

$$\phi + \text{sen} \phi = M, \tag{19}$$

donde:

$$M = \mp \sqrt{\frac{\mu}{a^3}}(t - t_0) + \phi_0 + \text{sen} \phi_0. \tag{20}$$

En la ecuación anterior, el signo positivo se toma si la velocidad inicial es negativa ($\dot{r}_0 < 0$) en tanto que el signo negativo se toma si la velocidad inicial es positiva ($\dot{r}_0 > 0$).

La magnitud de la velocidad, dada por la ecuación (16), en términos de ϕ es:

$$\dot{r} = \sqrt{\frac{\mu}{a}} \tan\left(\frac{\phi}{2}\right). \quad (21)$$

El procedimiento para hallar r (y \dot{r}) en función del tiempo es como sigue. Primeramente se calcula el valor de la constante a a partir de las condiciones iniciales de velocidad (\dot{r}_0) y posición (r_0) con ayuda de la ecuación (15); con ello, el valor de ϕ_0 se calcula de inmediato. Seguidamente, por intermedio de (20), se determina la variable M , que es función lineal del tiempo. Luego se halla ϕ mediante algún procedimiento numérico o iterativo en la ecuación (19) para luego determinar r mediante (18) y \dot{r} mediante (21).

Un lector familiarizado con el caso del momentum angular no nulo puede advertir que tanto la variable M como la variable ϕ desempeñan un rol equivalente al que hacen, respectivamente, la anomalía media y la anomalía excéntrica en la órbita elíptica, siendo la expresión (19) una variante de la denominada ecuación de Kepler.

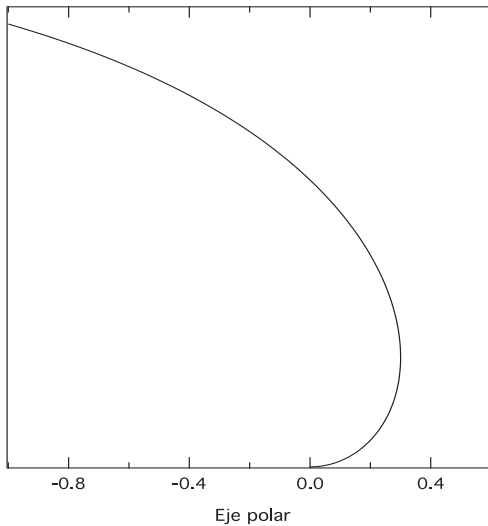


Figura 2: Comportamiento de la velocidad \dot{r} en función de la variable ϕ en el sistema de coordenadas polares para el caso con $E' < 0$. Se tomaron como condiciones iniciales $\dot{r} = 0$, $a = 1$ y las unidades son tales que $\mu = 1$.

Un caso particular se tiene cuando la velocidad inicial es nula, esto es, $\dot{r}_0 = 0$. En tal caso: $a = r_0/2$; de ese modo $\phi_0 = \cos^{-1}(2 - 1)$, esto es, $\phi_0 = 0$ y $M = \sqrt{\mu/a^3}(t - t_0)$, ver las Figuras 1 y 2.

Caso con $E' > 0$

Este caso es semejante al anterior salvo que ahora hacemos explícito el signo positivo de E' , ya que la energía cinética es mayor que la energía potencial y, en consecuencia, si el objeto tiene la dirección correcta, escapa. Como antes, la ecuación (10) puede escribirse como (tomando solo el signo positivo, que es el que corresponde al caso práctico):

$$\frac{dr}{dt} = \sqrt{\frac{2\mu}{r} + 2E'} = \frac{1}{r} \sqrt{\mu \left(2r + \frac{r^2}{a}\right)},$$

siendo ahora

$$a = \frac{\mu}{2E'} = \frac{\mu}{\dot{r}_0^2 - \frac{2\mu}{r_0}}, \quad (22)$$

una constante positiva dado que $\dot{r}_0^2 > \frac{2\mu}{r_0}$. Realizando, como antes, un acomodamiento conveniente de términos al interior del radicando podemos colocar:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{\sqrt{\mu}}{r} \sqrt{-a + \left(\frac{a+r}{a}\right)^2}, \quad (23)$$

y al separar las variables se obtiene:

$$\frac{rdr}{\sqrt{\left(\frac{r}{a} + 1\right)^2 - 1}} = \sqrt{\mu}adt.$$

Introduciendo la variable auxiliar de integración Φ como

$$r = a(\cosh \Phi - 1), \quad (24)$$

por lo que $dr = a \sinh \Phi d\Phi$, y así:

$$a^2(\cosh \Phi - 1)d\Phi = \sqrt{\mu}adt,$$

que al integrar, con límites inferiores Φ_0 ($\Phi_0 = \cosh^{-1}[(r_0/a) + 1]$) para el tiempo t_0 se obtiene:

$$\sinh \Phi - \Phi = \mathcal{M}, \quad (25)$$

donde:

$$\mathcal{M} = \sqrt{\frac{\mu}{a^3}}(t - t_0) + \sinh \Phi_0 - \Phi_0. \quad (26)$$

Nótese que la magnitud de la velocidad, dada por la ecuación (23), se puede colocar en términos de la variable Φ :

$$\dot{r} = \sqrt{\frac{\mu}{a}} \tanh\left(\frac{\Phi}{2}\right). \quad (27)$$

Un ejemplo

Para efectos de ilustrar el procedimiento de cálculo en las tres situaciones anteriores, mostramos a continuación un ejemplo. Supóngase que en un instante dado t_0 un objeto de masa infinitesimal está sometido a la atracción

gravitacional del Sol y posee momentum angular nulo. Además, en dicho instante, se encuentra a 2 u.a. (unidades astronómicas) del Sol. Determinaremos la distancia a la que se encuentra dicho objeto en el instante $t_0 + 20$ días en cada una de las siguientes tres situaciones: *i)* $\dot{r} = k$ (en u.a./d) en t_0 ; *ii)* $\dot{r} = 0$ en t_0 ; *iii)* $\dot{r} = 2k$ (en u.a./d) en t_0 , siendo $k = \sqrt{\mu} = 0.01720209895 \text{ u.a.}^{3/2} \text{ d}^{-1}$, esto es, la conocida constante de Gauss.

El caso *i)* corresponde a $E' = 0$. De ahí que, de acuerdo con (14), se tenga que:

$$r = \left(\sqrt{8} + \frac{60k}{\sqrt{2}} \right)^{2/3} = 2.33072484 \text{ u.a.}$$

El caso *ii)* corresponde a $E' < 0$ dado que $\dot{r} = 0$. Por lo tanto, $a = 1 \text{ u.a.}$, $\phi_0 = 0$ y $M = 20k = 0.34404198$. Utilizando un método numérico para la resolución de la ecuación (19), como, por ejemplo, el de Newton-Raphson (Pao, 1999) cuya convergencia es rápida, encontramos: $\phi = 0.17244772$. Nótese que los cálculos se están haciendo en radianes. Al reemplazar en (18) se tiene: $r = 1.98516771 \text{ u.a.}$

El caso *iii)* corresponde a $E' > 0$. Es claro que $a = 1/3 \text{ u.a.}$, así como $\Phi_0 = \cosh^{-1}(7) = 2.63391579$. Así, $\mathcal{M} = 6.08198200$ y resolviendo numéricamente (25) se obtiene: $\Phi = 2.89038812$; por lo tanto, de (24) se obtiene finalmente $r = 2.67597486 \text{ u.a.}$

Constantes y la orientación en el espacio

Como ya se dijo, el movimiento rectilíneo implica momentum angular igual a cero ($h = 0$), esto es, cada constante del momentum angular cumple $h_1 = h_2 = h_3 = 0$. Pero, dado que $h_1^2 + h_2^2 + h_3^2 = 0$ se deduce que una de ellas, al menos funcionalmente hablando, puede expresarse en términos de las otras dos. Ahora bien, de las ecuaciones (4) y (5) se infiere que, si $\vec{h} = 0$, entonces: $\vec{e} = -\hat{r}$, y así:

$$e_1 = -\frac{x}{r}, \quad e_2 = -\frac{y}{r}, \quad e_3 = -\frac{z}{r},$$

por lo que:

$$e_1^2 + e_2^2 + e_3^2 = 1,$$

y de ese modo una de las componentes, digamos e_3 , puede expresarse en términos de las otras dos (e_1 y e_2). Entonces, al definir una línea recta orientada de tal modo que pase por el origen, se requieren dos ángulos, que llamaremos Ω e i , expresados en un sistema de coordenadas cartesiano, tal y como se observa en la Figura 3; es evidente que:

$$\hat{r} = \cos\Omega \cos i \hat{i} + \sin\Omega \cos i \hat{j} + \sin i \hat{k}, \quad (28)$$

y de ese modo: $e_1 = -\cos\Omega \cos i$, $e_2 = -\sin\Omega \cos i$, $e_3 = -\sin i$. Por lo tanto, la relación entre estos ángulos y las constantes e_1 y e_2 son:

$$\Omega = \tan^{-1} \left(\frac{e_2}{e_1} \right), \quad i = \cos^{-1} \left(\sqrt{e_1^2 + e_2^2} \right).$$

De ese modo, las seis constantes independientes que resuelven la ecuación (1) son: dos de las tres del momentum angular (digamos h_1 y h_2), dos de las tres del vector excentricidad (digamos e_1 y e_2), a , una distancia relacionada con la energía total (cuyo valor es infinito en el caso de escape con velocidad nula en el infinito) y la constante temporal t_0 que vincula los valores del vector posición y velocidad con una escala de tiempo dada. Por lo tanto, en el caso de la trayectoria rectilínea, podemos asumir que los elementos orbitales que definen la trayectoria del objeto están dados por: una distancia a (para los casos con $E' > 0$ y $E' < 0$), el valor de t_0 (para un r_0 dado) y los ángulos Ω e i . El caso de escape en el infinito ($a = \infty$) no requiere de un valor equivalente para hallar r o \dot{r} .

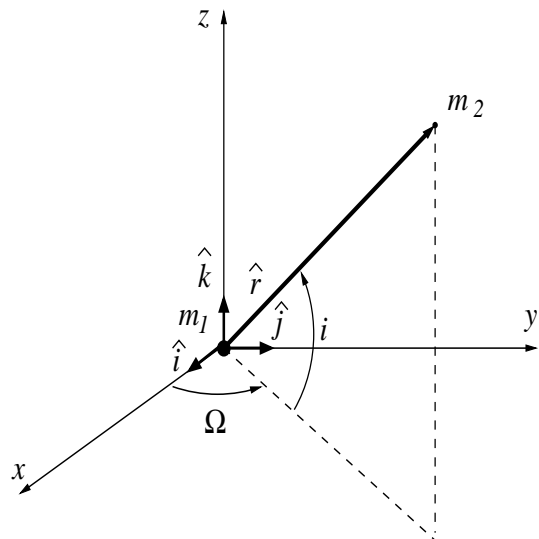


Figura 3: Relación entre el vector unitario \hat{r} y los ángulos Ω e i .

Determinado el valor de r para el tiempo requerido (según los casos particulares vistos en la sección anterior), los valores de las componentes cartesianas del vector posición respecto al sistema de coordenadas elegido, son:

$$\begin{aligned} x &= r \cos\Omega \cos i, \\ y &= r \sin\Omega \cos i, \\ z &= r \sin i, \end{aligned} \quad (29)$$

y, del mismo modo, con el valor dado de la velocidad para el tiempo de interés, los valores de las componentes del

vector posición son:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= \dot{r} \cos \Omega \cos i, \\ \dot{y} &= \dot{r} \sin \Omega \cos i, \\ \dot{z} &= \dot{r} \sin i. \end{aligned}$$

Determinación de una órbita rectilínea

Varios libros clásicos de mecánica celeste (por ejemplo **Dubyago**, 1961; **McCuskey**, 1963; **Danby**, 1970) exponen el problema de la determinación orbital consistente en hallar los elementos orbitales de un objeto sometido al campo gravitacional del Sol a partir de dos o más observaciones que se hacen del objeto visto desde la Tierra. De forma invariable dichos libros describen el método de Gauss y, algunos otros, el de Laplace, en los que se asume de entrada que el objeto se desplaza en órbita elíptica. Para algunos cometas se ajusta mejor asumir que la órbita es parabólica y se aplica el método de Olbers. El que se elija una u otra órbita lo determina qué también los elementos orbitales hallados permiten explicar los datos observacionales que se van realizando conforme transcurre el tiempo.

A continuación se propone un método de determinación de una trayectoria rectilínea de un objeto cayendo rumbo al Sol el cual es observado en dos ocasiones desde la Tierra. Para efectos de simplificar el procedimiento, se asume que el objeto viene cayendo desde el infinito (con velocidad nula), de modo tal que se puedan hacer las consideraciones vistas en el caso con $E' = 0$.

Supóngase que en dos instantes dados t_1 y t_2 se realizan observaciones de las coordenadas ecuatoriales absolutas, la ascensión recta y la declinación, i.e., α_k, δ_k (con $k = 1, 2$) y, se suponen conocidos, para dichos tiempos, los vectores geocéntricos ecuatoriales del Sol ($\vec{R}'_{\odot k}$, con $k = 1, 2$) los cuales equivalen a $\vec{R}'_{\odot k} = -\vec{r}'_{Tk}$, donde \vec{r}'_{Tk} son los vectores ecuatoriales heliocéntricos de la Tierra. Nótese que los vectores primados se están usando para indicar que están referenciados al plano del Ecuador Celeste. Como es costumbre en este tipo cálculos, la dificultad estriba en determinar las distancias geocéntricas y heliocéntricas en ambos tiempos de observación.

Por lo tanto, teniendo en cuenta la Figura 4, para ambas observaciones tenemos:

$$\vec{r}'_1 = -\vec{R}'_{\odot 1} + \rho_1 \hat{u}'_1, \quad \vec{r}'_2 = -\vec{R}'_{\odot 2} + \rho_2 \hat{u}'_2, \quad (30)$$

donde los vectores \hat{u}'_1 y \hat{u}'_2 son cantidades conocidas a través de:

$$\begin{aligned} \hat{u}'_{xk} &= \cos \alpha_k \cos i_k, \\ \hat{u}'_{yk} &= \sin \alpha_k \cos i_k, \\ \hat{u}'_{zk} &= \sin i_k, \end{aligned}$$

con $k = 1, 2$.

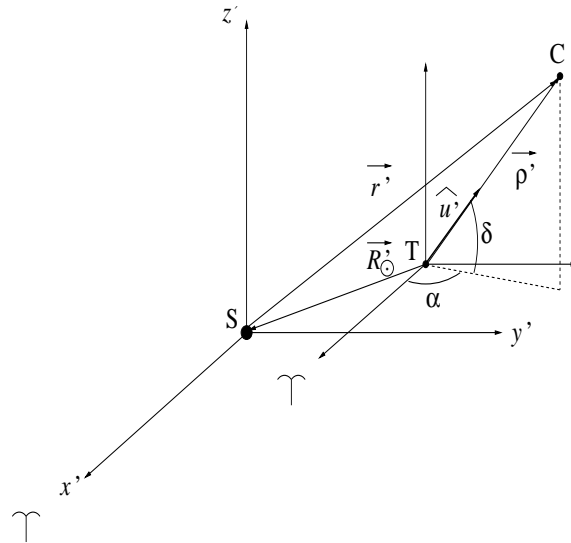


Figura 4: Relación entre el vector posición heliocéntrico del objeto C (\vec{r}'), el vector posición geocéntrico del Sol (\vec{R}'_{\odot}) y el vector posición geocéntrico del objeto C ($\vec{\rho}'$) tomando como plano el Ecuador Celeste. El vector unitario \hat{u}' está en la misma dirección del vector geocéntrico de C de modo que $\vec{\rho}' = \rho' \hat{u}'$ donde ρ' es la distancia entre T y C. El eje x' va en la dirección del punto vernal Υ .

Como el movimiento es en línea recta, se tendrá que uno de los vectores heliocéntricos, digamos \vec{r}'_2 , puede expresarse en términos del otro, del siguiente modo:

$$\vec{r}'_2 = l \vec{r}'_1, \quad (31)$$

donde l es un número positivo. Por lo tanto, la ecuación para \vec{r}'_2 puede escribirse entonces como:

$$-\vec{R}'_{\odot 2} + \rho_2 \hat{u}'_2 = l \vec{r}'_1 = l(-\vec{R}'_{\odot 1} + \rho_1 \hat{u}'_1), \quad (32)$$

y eso permite escribir $\rho_1 \hat{u}'_1$ de la siguiente forma:

$$\rho_1 \hat{u}'_1 = \vec{R}'_{\odot 1} + \frac{-\vec{R}'_{\odot 2} + \rho_2 \hat{u}'_2}{l}.$$

Multiplicando la anterior ecuación por \hat{u}'_1 a ambos lados, tenemos:

$$\rho_1 = (\hat{u}'_1 \cdot \vec{R}'_{\odot 1}) + \frac{\rho_2 (\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2) - (\hat{u}'_1 \cdot \vec{R}'_{\odot 2})}{l}, \quad (33)$$

que tiene tres cantidades desconocidas: ρ_1 y ρ_2 y l . Pero, si ahora se multiplica la ecuación (32) por \hat{u}'_2 a ambos lados se encuentra que:

$$-(\hat{u}'_2 \cdot \vec{R}'_{\odot 2}) + \rho_2 = l \left[-(\vec{R}'_{\odot 1} \cdot \hat{u}'_2) + \rho_1 (\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2) \right],$$

de la que, al despejar ρ_1 , se obtiene:

$$\rho_1 = \frac{l(\vec{R}'_{\odot 1} \cdot \hat{u}'_2) + \rho_2 - (\hat{u}'_2 \cdot \vec{R}'_{\odot 2})}{l(\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2)}. \quad (34)$$

Igualando las expresiones (33) y (34), despejando ρ_2 y después de algo de álgebra, se obtiene:

$$\rho_2 = \frac{l(\hat{u}'_1 \cdot \vec{R}'_{\odot 1})(\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2) - (\hat{u}'_1 \cdot \vec{R}'_{\odot 2})(\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2)}{1 - (\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2)^2} + \frac{(\hat{u}'_2 \cdot \vec{R}'_{\odot 2}) - l(\hat{u}'_2 \cdot \vec{R}'_{\odot 1})}{1 - (\hat{u}'_1 \cdot \hat{u}'_2)^2}, \quad (35)$$

expresión de la que todos sus términos del lado derecho son conocidos exceptuando el valor de l .

Por otro lado, se puede relacionar geoméricamente ρ_1 y r_1 junto con ρ_2 y r_2 , con las distancias $R'_{\odot 1}$ y $R'_{\odot 2}$ del Sol a la Tierra, ver Figura 5, y de ese modo:

$$r_1^2 = R_{\odot 1}^2 + \rho_1^2 - 2\rho_1(\vec{R}'_{\odot 1} \cdot \hat{u}'_1), \quad (36)$$

$$r_2^2 = R_{\odot 2}^2 + \rho_2^2 - 2\rho_2(\vec{R}'_{\odot 2} \cdot \hat{u}'_2). \quad (37)$$

Como se supone que el objeto está cayendo con velocidad cero desde el infinito, existe una condición de carácter dinámico que relaciona r_1 y r_2 , a saber, a través de la ecuación (14). De ese modo se tiene que:

$$(r_2)_d = \left[r_1^{3/2} - 3\sqrt{\frac{\mu}{2}}(t_2 - t_1) \right]^{2/3}, \quad (38)$$

donde hemos colocado el signo negativo puesto que hemos asumido que el objeto se dirige hacia el Sol. El símbolo $(r_2)_d$ indica el valor que ha de tener r_2 basado en consideraciones dinámicas.

El proceso de la determinación de las cantidades r_1 , ρ_1 , r_2 , ρ_2 se logra a través de un proceso iterativo. Se escoge un valor tentativo y realista de la cantidad l de forma tal que se pueda determinar ρ_2 a través de (35) y con éste, la cantidad ρ_1 se halla inmediatamente por medio de (34) lo que a la vez permite hallar las cantidades r_1 y r_2 a través de (36) y (37). El valor correcto de l (y de todas las demás cantidades) será aquel que permita satisfacer: $r_2 = (r_2)_d$.

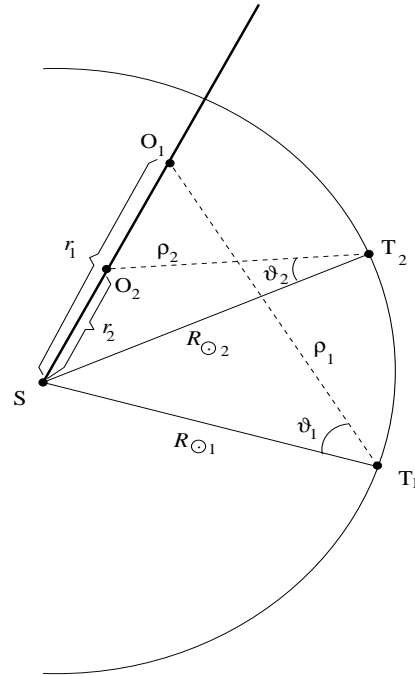


Figura 5: El cometa está cayendo en línea recta rumbo al Sol (S) en dos posiciones (O₁ y O₂). Desde la Tierra se hacen las respectivas observaciones en dos puntos de su órbita (T₁ y T₂).

Habiendo determinado las distancias geocéntricas ρ_1 y ρ_2 , los vectores heliocéntricos ecuatoriales se pueden calcular a través de (30). Dado que se acostumbra a colocar los ángulos que definen la orientación de la órbita con respecto al plano fundamental (la Eclíptica), realizamos una rotación de cada uno de los vectores heliocéntricos un ángulo ε alrededor del eje x' , siendo ε la oblicuidad de la Eclíptica y obtener de ese modo los vectores heliocéntricos eclípticos ($\vec{r}_k = x_k\hat{i} + y_k\hat{j} + z_k\hat{k}$ con $k = 1, 2$). Por lo tanto, ver por ejemplo **Portilla** (2009):

$$\begin{aligned} x_k &= x'_k \\ y_k &= y'_k \cos \varepsilon + z'_k \sin \varepsilon, \\ z_k &= -y'_k \sin \varepsilon + z'_k \cos \varepsilon, \end{aligned}$$

con $k = 1, 2$.

El cálculo de los ángulos Ω e i es inmediato, teniendo en cuenta las expresiones (29), y de ese modo:

$$\Omega = \tan^{-1} \left(\frac{y_1}{x_1} \right) = \tan^{-1} \left(\frac{y_2}{x_2} \right), \quad (39)$$

$$i = \sin^{-1} \left(\frac{z_1}{r_1} \right) = \sin^{-1} \left(\frac{z_2}{r_2} \right). \quad (40)$$

Como es fácil verificar, el tiempo en que ocurre el impacto con la superficie del Sol, suponiendo que el objeto aun no se haya sublimado por completo, es:

$$t = t_1 + \frac{\sqrt{2}(r_1^{3/2} - 0.000317)}{3k},$$

donde hemos tomado que el radio solar equivale a 0.00465 u.a.

Un ejemplo

El cometa ISON (C2012 S1) es un cometa de tipo rasante al Sol que se desintegró a finales del mes de noviembre de 2013. Numerosas observaciones indicaron que el objeto se ajustaba a una órbita de tipo hiperbólico con excentricidad de 1.000002. Su distancia al perihelio fue estimada en 0.01244 u.a., esto es, alrededor de 2.67 radios solares. Suponiendo que el objeto está cayendo en órbita rectilínea con velocidad nula en el infinito, determinar qué también se ajusta una trayectoria rectilínea frente a la trayectoria hiperbólica. Para tal efecto se hará uso de dos observaciones de varias realizadas realizadas al cometa¹ a mediados del mes de agosto de 2013 y que se escogieron libremente, ver Tabla 1, donde los tiempos están en fechas julianas (FJ).

| t | FJ | α (h m s) | δ (° ' ") |
|---|----------------|-------------|------------|
| 1 | 2456523.287791 | 08 22 57.34 | 23 28 03.1 |
| 2 | 2456527.645181 | 08 28 59.46 | 23 03 12.0 |

Tabla 1: Dos observaciones del cometa ISON (C2012 S1). Los tiempos están con relación al TU.

Las componentes de los vectores heliocéntricos ecuatoriales de la Tierra, para ambos tiempos de observación, fueron tomados de la página de la *Oficina de Longitudes*² y pueden verse en la Tabla 2.

| t | x _T ' (u.a.) | y _T ' (u.a.) | z _T ' (u.a.) |
|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | 0.83703169 | -0.52198169 | -0.226291255 |
| 2 | 0.87563125 | -0.464013733 | -0.201160515 |

Tabla 2: Componentes rectangulares de los vectores heliocéntricos ecuatoriales de la Tierra \vec{r}'_{T1} y \vec{r}'_{T2} .

Con estos valores es directo obtener los términos conocidos de varias expresiones. De ese modo, las ecuaciones (35) y (34) quedan, respectivamente, como:

$$\rho_2 = \frac{l \times 0.92692601 - 0.89444946}{1 - 0.99936255} + \frac{0.90630414 - l \times 0.93710685}{1 - 0.99936255},$$

$$\rho_1 = \frac{l \times 0.93710685 + \rho_2 - 0.90630414}{l \times 0.99968123}.$$

¹<http://www.minorplanetcenter.net/mpec/K13/K13Q27.html> (consultado el 8 de noviembre de 2014).

²www.bdl.fr (consultado el 8 de noviembre de 2014).

Igualmente, las ecuaciones (36) y (37) quedan como:

$$r_1^2 = 1.02429465 + \rho_1^2 - 1.85444318\rho_1,$$

$$r_2 = \left(r_1^{3/2} - 0.15900623\right)^{2/3}.$$

Ensayando diversos valores de *l* es fácil verificar que: $r_2 - (r_2)_d = 0$ se logra con $l = 0.96976273$. De ese modo se obtiene entonces:

$$\rho_1 = 3.20926736 \text{ u.a.},$$

$$\rho_2 = 3.10876858 \text{ u.a.},$$

$$r_1 = 2.31781957 \text{ u.a.},$$

$$r_2 = 2.24765810 \text{ u.a.}.$$

De ese modo, los valores de los vectores heliocéntricos eclípticos son, para ambos tiempos:

| t | x (u.a.) | y (u.a.) | z (u.a.) |
|---|-------------|------------|------------|
| 1 | -0.88242948 | 2.13173029 | 0.22210750 |
| 2 | -0.85572554 | 2.06763415 | 0.21116282 |

Tabla 3: Componentes rectangulares de los vectores heliocéntricos eclípticos en los tiempos 1 y 2.

Conocidas estas componentes se pueden calcular los valores de Ω e i que, al tomar el promedio de los ángulos calculados con los dos vectores, dan: $\Omega = 112.48507610^\circ$, $i = 5.44481777^\circ$. El tiempo de impacto, calculado con los valores de la primera observación, corresponde a una fecha juliana de 2456619.98027, esto es, a las 11^h 31^m de noviembre 23 de 2013. En realidad, el perihelio del cometa se verificó cinco días después, el 28 de noviembre. La tabla 4 contiene la posición del cometa ISON para el 5.051 de septiembre de 2013 (TU) calculada con los elementos aquí hallados y comparados con la posición observada en aquel día.

Nótese que al cabo de casi dos semanas de realizadas las observaciones, las diferencias entre los datos calculados (asumiendo solución lineal) con la trayectoria real del objeto ya son del orden de varios minutos de arco. Es de esperar una diferencia de este orden, ya que el cometa sí tiene momentum angular y se desplaza siguiendo una trayectoria hiperbólica. Sin embargo, si se tiene en consideración la enorme diferencia existente entre la complejidad del cálculo entre los métodos tradicionales de determinación orbital, con el mucho más simplificado método que aquí se ha propuesto, bien puede utilizarse como una primera introducción a la explicación de la determinación orbital para cometas que pasan rasantes al Sol.

| | α (h m s) | δ ($^{\circ}$ ' ") |
|-----------------|------------------|----------------------------|
| Solución lineal | 08 48 30.90 | 21 56 34.0 |
| Observado | 08 48 02.85 | 21 39 25.5 |

Tabla 4: Comparación entre la observación y el cálculo de la posición con solución lineal, para el instante 5.051 de septiembre de 2013 (TU).

Conclusiones

En esta comunicación se ha mostrado cómo encontrar la posición de un objeto en trayectoria en línea recta correspondiente al caso del momentum angular nulo en el problema de los dos cuerpos, para todo tipo de condiciones iniciales. Las soluciones se han obtenido de tal modo que guardan una analogía con las soluciones que corresponden al caso de momentum angular distinto de cero, esto es, a las cónicas. De igual modo, se hizo especial énfasis en visualizar la correspondencia entre las constantes del problema y su significado geométrico. Finalmente, se propuso un método para determinar la trayectoria de un objeto que se asume está en trayectoria de colisión rumbo al Sol, el cual puede, bajo cierto grado de aproximación, ser utilizado, sin invertir una gran dosis de cálculo, para determinar la órbita de un cometa rasante al Sol.

Agradecimientos

El autor agradece las sugerencias y la lectura atenta

del manuscrito por parte de un árbitro anónimo.

Conficto de interés

El autor declara que no tienen ningún conflicto de interés.

Bibliografía

- Chandrasekhar, S.** 1995. *Newton's Principia for the Common Reader*, Clarendon Press, Oxford.
- Danby, J. M. A.** 1970. *Fundamentals of Celestial Mechanics*, The MacMillan Co., New York.
- Dubyago, A. D.** 1961. *The Determination of Orbits*, The MacMillan Co., New York.
- McCuskey, S. W.** 1963. *Introduction to Celestial Mechanics*, Addison-Wesley Pub. Co., Reading, Massachusetts.
- Pao, Y. C.** 1999. *Engineering Analysis*, CRC Press LLC, Boca Raton.
- Portilla, J. G.** 2009. *Elementos de Astronomía de Posición*, Editorial Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Taff, L. G.,** 1985. *Celestial Mechanics*, John Wiley & Sons, New York.

Complejidad de la estructura espacio-temporal de la precipitación

Óscar José Mesa-Sánchez, Víctor Manuel Peñaranda-Vélez*

Departamento de Geociencias y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia.

Resumen

El entendimiento de los procesos de precipitación tiene implicaciones prácticas importantes que comprenden el dimensionamiento de obras de evacuación de aguas lluvias, la prevención y atención de desastres, la planificación de la ocupación territorial, el planeamiento y operación de recursos hídricos y el funcionamiento de los ecosistemas naturales, agropecuarios y urbanos. Sin embargo, su irregularidad no ha sido descifrada todavía. Existen diversos desarrollos matemáticos para tratar de describir la dinámica espacio – temporal de este complejo proceso hidrológico, pero todavía las predicciones espacio – temporales no son aceptables. En los primeros trabajos que se reportan en la literatura científica hubo interés por estudiar la estructura espacio – temporal de la precipitación mediante análisis estadísticos para caracterizar la variabilidad o aleatoriedad de sus observaciones. Pero aún en tal terreno existen limitaciones para una descripción completa de la estructura estocástica de los campos de precipitación, los modelos tradicionales no han resultado apropiados, su estructura es muy suave para una adecuada caracterización de un campo muy irregular, y la alternativa exige proliferación de parámetros y de hipótesis, lo que no es satisfactorio. Además de los retos de encontrar descripciones adecuadas, se ha vuelto crucial incorporar la dinámica del proceso físico, lo que puede venir de una integración de la termodinámica con la dinámica atmosférica y la turbulencia, para así avanzar en la predicción. Este artículo de revisión describe las principales características observadas de la precipitación, los problemas más notables en el intento por su explicación y los retos derivados de su complejidad.

Palabras clave: precipitación, aleatoriedad, multifractales, ciencias hidrológicas.

Complexity of the space–time structure of rainfall

Abstract

Understanding precipitation processes has important practical implications comprising the dimensioning of rainwater evacuation structures, disaster prevention planning, territorial occupation planning, water resources management and the performance of natural, agricultural and urban ecosystems. However, its inherent irregularity has not been deciphered. There are various mathematical developments attempting to describe the space – time dynamics of this complex hydrological process, but they are not adequate enough. Among the former works reported in the scientific literature, the study of the space – time structure of rainfall was rendered by mean of statistical analyzes in order to characterize the variability and randomness of their observations. But even in this field there are limitations for a complete description of the stochastic structure of rainfall fields, traditional models have not been appropriated, they produce smooth functions to characterize a very irregular field and the improvement of these models requires the proliferation of parameters and hypothesis, which is not satisfactory. In addition to the challenges of finding adequate descriptions, it has become crucial to incorporate the dynamics of the physical process, which should come from an integration of thermodynamics, atmospheric dynamics and turbulence, enabling some progress in prediction. This review paper describes the main features of the space – time structure of the precipitation fields, points out the difficulties for its understanding and explores the challenges coming from its complexity.

Key words: Precipitation, rainfall, randomness, multifractals and hydrological sciences.

1. Introducción

El aumento de la población y el desarrollo económico han incrementado rápidamente la demanda de agua, lo que hace más urgente comprender los patrones del comportamiento del recurso hídrico y predecir su dinámica ante escenarios futuros. La precipitación como una de las componentes fundamentales del ciclo hidrológico es además determinante

del sistema climático global, participa en la dinámica y en la composición atmosférica, por un lado por el papel directo del agua en sus diferentes fases, por sus importantes

*Correspondencia:

Víctor Manuel Peñaranda Vélez, vmpeñarandav@unal.edu.co

Recibido: 17 de febrero de 2015

Aceptado: 15 de mayo de 2015

propiedades ópticas y energéticas, asociadas a la liberación de calor latente, a los cambios de presión por cambio de fase y al efecto invernadero del vapor de agua. Por otro lado, de manera indirecta también afecta el transporte y remoción de aerosoles y gases solubles (Mesa, 2007). Dada su complejidad intrínseca, la precipitación debe ser estudiada desde un amplio marco temático para responder a los intereses de sostenibilidad social y económica de todas las regiones del planeta.

Como puede evidenciarse en el último reporte presentado por el Panel Intergubernamental del Cambio Climático, desde 1951 se presenta un incremento en la frecuencia y en la intensidad de las fuertes precipitaciones sobre varias regiones del planeta (IPCC, 2013; p.2-162); así mismo, sobre la región tropical (30°S – 30°N), se identifican tendencias positivas en las anomalías de la precipitación anual desde mediados del año 1990 (IPCC, 2013; p.2-162). Otros estudios desarrollados, como el reportado por Mesa, Poveda & Carvajal (1997) para Colombia, encuentran tendencias positivas en las fases del ciclo anual y semianual de los registros de precipitación de 151 estaciones distribuidas sobre el país; estos y otros resultados han sido entendidos como la intensificación de eventos hidrológicos extremos que se traducen en pérdidas humanas y económicas. Apoyado en las sugerencias de Mesa, et al. (1997), en Colombia se debe actuar diligentemente en el desarrollo de estudios climáticos que logren anticiparse a las consecuencias negativas de los procesos hidrometeorológicos, por los beneficios no solo para el campo científico sino también en la sociedad. Por ejemplo, toda la metodología del diseño hidrológico en ingeniería se apoya en la hipótesis de estacionariedad. En consecuencia se asume que el registro histórico de mediciones en un sitio dado se puede usar para inferir estadísticamente el comportamiento futuro, de donde se deducen los requerimientos de diseño para una estructura que está en proceso de planeación y que va a operar por varias décadas. La falla en la hipótesis de estacionariedad obliga a reconsiderar todas las metodologías de diseño. En principio no es posible un ajuste simple, porque las actuales metodologías no están fundadas en un conocimiento científico sino empírico.

Una demostración clara de la necesidad de avanzar en el entendimiento de la precipitación es la ausencia de una teoría que permita predecir el efecto del calentamiento global en la precipitación. Hay estudios estadísticos de las tendencias recientes, hay modelos globales y hay elementos que permiten afirmar que uno de los efectos será la aceleración del ciclo hidrológico. Pero la respuesta a dónde, cuánto y cuándo van a ser los cambios, tiene bastante incertidumbre, a pesar de la enorme importancia práctica de estas preguntas.

Este artículo centra su visión en los aspectos que caracterizan a la precipitación como un proceso geofísico altamente complejo. El objetivo es hacer una revisión crítica de los principales elementos conceptuales que han sido fundamentales

para la descripción de la precipitación y prospectivamente discutir una ruta para avanzar en la explicación de la inherente complejidad de este proceso geofísico.

El presente artículo se estructura en cinco secciones. En esta primera sección se presenta una introducción general al tópico de estudio, el cual ilustra la importancia de estudiar la precipitación no sólo desde un contexto puramente científico, sino también abordando el contexto social en el cual la precipitación juega un papel substancial para el desarrollo de la sociedad. En la Sección 2 se presentan tres aspectos vitales identificados por el Consejo Nacional de Investigación Americano (National Research Council, 1991) que deben tenerse en cuenta para la descripción de la precipitación: la escala en que se desarrolla, la alta variabilidad de los patrones observados y la estructura conceptual de los modelos usados para representar estos patrones. La Sección 3 se orienta a dar una idea general sobre como es la variabilidad espacio – temporal de la precipitación, tomando como ejemplo algunos estudios de los ciclos temporales de la precipitación con observaciones de mesoescala y de escala sinóptica en Colombia. Por lo reciente del uso de los radares meteorológicos en Colombia, no se ilustra la variabilidad espacio – temporal del campo de precipitación en las escalas de alta – resolución, ya que son pocos los ejemplos que pueden emplearse para ilustrar esta idea. No obstante, entre los ejemplos que se mencionan en esta sección, la caracterización del ciclo diurno incluye información pluviográfica de alta resolución temporal, la cual permite dar ejemplo de la variabilidad en las escalas más finas. En la Sección 4 se discuten dos desarrollos matemáticos que se han empleado ampliamente para la descripción espacio – temporal de la precipitación, que son representativos de los diferentes enfoques. Adicionalmente se presenta una breve introducción a los modelos de base física, que por su integralidad de conceptos, se establecen como precursores de los futuros modelos de precipitación. Se destaca que el primer desarrollo tratado en este artículo se asienta en las bases de los procesos estocásticos y el segundo en la teoría fractal. Sobre cada uno de los dos desarrollos se presentan las siguientes consideraciones: i) cuales han sido las dificultades para representar los patrones de precipitación en sus diferentes escalas de agregación a partir del conocimiento de las propiedades estadísticas de alguna de estas escalas, ii) la complejidad de describir la intermitencia de los patrones de precipitación y las relaciones entre escalas, y iii) señalar la falta de una base física en estas aproximaciones, que ayude a integrar el conocimiento de las propiedades físicas (termodinámicas) de la atmósfera con las propiedades estadísticas y geométricas del campo de precipitación. La Sección 5 se reserva para las conclusiones de este trabajo y para establecer algunos posibles direccionamientos futuros de investigaciones en torno al estudio de la precipitación.

2. Las ciencias hidrológicas y la precipitación

Con el ánimo de aunar esfuerzos científicos que den respuestas a algunos de los interrogantes que se derivan del estudio de la precipitación, el Consejo Nacional de Investigación Americano (National Research Council, 1991) formuló dos retos científicos importantes respecto a la precipitación que aún están vigentes: i) *¿cómo integrar el comportamiento dinámico de los procesos hidrológicos en varias escalas espacio – temporales dada la presencia de una gran heterogeneidad natural?* y ii) *¿cómo se puede establecer el enlace necesario y fundamental, entre los modelos determinísticos y estocásticos que describen la precipitación?* Estas preguntas reflejan las preocupaciones de las ciencias hidrológicas frente a los problemas para describir (y predecir) la alta variabilidad espacial y temporal de la precipitación en las diferentes escalas en que ella es representada. Lo anterior identifica una necesidad vital en las ciencias hidrológicas: encontrar una teoría conceptual que integre los aspectos estadísticos, geométricos y físicos que caracterizan a la precipitación.

Los resultados obtenidos en múltiples publicaciones hidrológicas ponen en evidencia las limitaciones en la modelación de los procesos físicos no-lineales, que no corresponden a las idealizaciones teóricas que se apoyan en criterios de homogeneidad espacio – temporal y aún también, en la estacionariedad estadística de los procesos físicos. Esto ha conducido al abuso de la extrapolación de las mediciones a regiones que no cuentan con observaciones y consecuentemente, al desarrollo de diseños ineficaces o inadecuados de ingeniería. De alcanzarse una teoría física – matemática que represente simple y adecuadamente los procesos de precipitación en las múltiples escalas en que ellos son descritos, se optimizarían las parametrizaciones de los modelos meteorológicos e hidrológicos, se obtendrían mejores predicciones de corto y largo plazo con los modelos de cantidad y calidad del agua, se re-normalizarían los procedimientos de diseño en ingeniería y con ellos se alcanzaría un ahorro económico y de vidas en los proyectos de infraestructura y el desarrollo sostenible de las ciudades (National Research Council, 1991).

3. La precipitación, su dinámica y variabilidad

Una de las características más destacables de la precipitación es su alta variabilidad espacio – temporal, lo que dificulta la generalización de comportamientos típicos, aún sobre regiones no muy extensas. En la Figura 1 se ilustra el caso para Colombia donde la heterogeneidad de comportamientos de la precipitación media anual es bastante notable. Poveda, et al. (2002b) explican que la alta variabilidad de la precipitación en los Andes tropicales de Colombia se asocia a factores como: la orografía, las circulaciones locales, la humedad relativa, los procesos termodinámicos que inducen la alta inestabilidad atmosférica, la evaporación local, la interacción suelo – atmósfera y los cambios sobre

los complejos convectivos de mesoescala. Las relaciones no-lineales de los anteriores descriptores determinan el alto grado de complejidad para explicar los procesos de precipitación y aún cuando se han realizado múltiples investigaciones, solamente se han llegado a caracterizaciones locales. No obstante, se debe poner en consideración que ante la incertidumbre actual en la medición y el procesamiento de los productos satelitales y de las estaciones de medición en tierra, subsiste un grado significativo de error en los estimativos hidrometeorológicos que pueden ser derivados de estos productos y en consecuencia, no se puede describir con precisión el estado dinámico de la precipitación del planeta y los procesos hidrológicos subyacentes (Adler, et al., 2011).

Anteriormente se mencionó que uno de los factores que explican la variabilidad de la precipitación es la orografía, pero la precipitación en si misma, es un factor importante que determina las características morfológicas del relieve y de las redes de drenaje. La erosión como factor principal

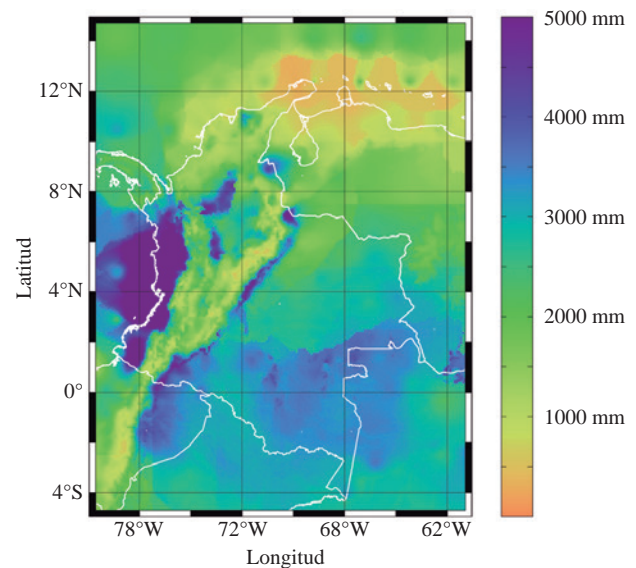


Figura 1. Campo de precipitación medio anual (en mm/año) para Colombia durante el periodo 1975 – 2006, el cual fue calculado por Hurtado (2009) a partir de 2.270 estaciones pluviográficas y las bases de datos del NCEP, GPCP, TRMM, GOES. La interpolación usa una modificación del modelo PRISM (Daly, et al., 1994, 2008) descrita en Hurtado (2009) y Hurtado & Mesa (2014). La variabilidad de la precipitación sobre el territorio colombiano está determinado en gran medida por la orografía que conforman las cordilleras. La precipitación media anual más baja (≈ 250 mm/año) se presenta al norte del país en la región del caribe y la precipitación media anual más alta (≈ 12.200 mm/año) al occidente del mismo sobre la región pacífica. Sobre la región de la Orinoquía la precipitación media anual oscila entre los 1.800 y 3.000 mm/año, en la región amazónica entre los 3.000 y 4.000 mm/año y en el piedemonte llanero se alcanzan valores de hasta 7.000 mm/año. Sobre la región andina la heterogeneidad de las precipitaciones es bastante alta, las cuales varían entre los 800 y 3.000 mm/año.

para la producción del paisaje es función de la intensidad y la concentración de la precipitación; por esto, la orografía es considerada como un predictor de la precipitación (Bookhagen & Strecker, 2008). La investigación desarrollada por Bookhagen & Strecker (2008) sobre la cordillera de los Andes en Suramérica, emplea una topografía digital de 90 metros de resolución y datos de intensidad de lluvia de la misión satelital TRMM (i.e. Tropical Rainfall Measuring Mission) para encontrar una clara relación entre la orografía y la precipitación que explica como los procesos erosivos están modulados por los picos de lluvia y como la precipitación está determinada por la barrera orográfica que define la cordillera de los Andes. Aún cuando existen indicios físicos que explican la relación entre orografía y precipitación, otros estudios como el desarrollado por Poveda, et al. (2005), concluyen que la variabilidad de la precipitación, asociada a la orografía, no está bien comprendida a todas las escalas espacio – temporales y es necesario obtener un mejor entendimiento de esta variabilidad para identificar las posibles amenazas sobre la biodiversidad que en ella se circunscribe.

Un primer escenario para comprender la variabilidad espacio – temporal de la precipitación, es mediante el análisis de los ciclos temporales de lluvia para diferentes escalas, por ejemplo las escalas inter-decadal, inter-anual, anual, intra-anual y diurna. Por ejemplo, Poveda, et al. (2002b, 2005) caracterizan el ciclo diurno estacional de largo plazo de la precipitación en los Andes tropicales. Entre los resultados derivados del estudio del ciclo diurno, se resalta la alta variabilidad de los patrones obtenidos de la información de 51 estaciones ubicadas sobre los Andes tropicales colombianos. Se atribuye la variabilidad al papel que juega la topografía en el desarrollo de la precipitación, aunque no hay un patrón claramente identificado, ni una teoría que explique la existencia de regiones con un máximo nocturno de precipitación muy cerca de otras con lluvia predominantemente en las tardes. Sin embargo, Poveda, et al. (2002b, 2005) explican que los cambios estacionales encontrados en la precipitación máxima diurna, están asociados a la migración de la zona de convergencia intertropical (ZCIT).

La variabilidad de la precipitación de Colombia a escala anual se explica por la migración latitudinal de la ZCIT, la advección de humedad por los vientos alisios del Este y la dinámica del Chorro del Chocó y de los sistemas convectivos de mesoescala. En las Figura 2 y Figura 3 se ilustra el ciclo anual de los campos medios de precipitación sobre el territorio colombiano, los cuales fueron estimados por Hurtado (2009), haciendo uso de diferentes fuentes de información¹. Desde un marco espacial, la Figura 2 permite identificar un periodo relativamente seco durante los meses

de diciembre a marzo; un periodo de altas precipitaciones sobre el piedemonte andino y en las regiones de Amazona y Orinoquía durante los meses de abril a julio; un periodo de altas precipitaciones sobre la región del Pacífico y la cuenca media del río Magdalena durante los meses de agosto y noviembre. Por lo anterior, el ciclo anual de la precipitación en Colombia se caracteriza por contar con dos periodos de lluvias intensificadas que se explican por el paso de la zona de convergencia intertropical (ZCIT) sobre el país (Hurtado & Mesa, 2014; Hurtado, 2009). Se puede apreciar en la Figura 2 que durante todo el año se presentan precipitaciones sobre la región del Pacífico, que obedecen fundamentalmente a lo que previamente se indicó como la advección de humedad por los vientos alisios del Este y la dinámica del Chorro del Chocó (Poveda & Mesa, 1999).

Desde un marco temporal, la Figura 3 describe el ciclo anual para cuatro locaciones específicas dentro del territorio colombiano, tomando como información base, los campos de precipitación estimados por Hurtado (2009). En el recuadro superior, se presenta el ciclo anual de una de las regiones más secas de Colombia (i.e. Riohacha, Guajira) donde la precipitación media anual es de 587 mm, en los recuadros intermedios, el ciclo anual de dos municipios localizados en la región andina (i.e. Medellín (Antioquia) y Bogotá) y en el recuadro inferior, se encuentra el ciclo anual de la región más húmeda del país (i.e. Quibdó, Chocó), cuya precipitación media anual es de 8.016 mm. La Figura 3 nos señala la alta variabilidad de la cantidad total del agua precipitada entre las distintas locaciones, no obstante, existe una característica sobresaliente y es la simetría distinguible (bimodal) del ciclo anual de precipitación, para las cuatro locaciones allí indicadas. En el ciclo anual del municipio de Quibdó se distingue una amplificación sustancial de las precipitaciones respecto a las otras locaciones, dado que sobre esta región se ejerce la fenomenología climática conocida como el Chorro del Chocó (Poveda & Mesa, 1999), la cual aumenta la advección de humedad en la región del Pacífico colombiano.

Para Colombia y regiones aledañas, la variabilidad inter-decadal de la precipitación es gobernada por fenómenos macro-climáticos, como son: la Oscilación Decadal del Pacífico²– PDO, la Oscilación del Atlántico Norte³– NAO y la Oscilación Multidecadal del Atlántico Norte⁴–

2 La Oscilación Decadal del Pacífico es un patrón de variabilidad climática en el Océano Pacífico que tiene un periodo de oscilación decadal de 20 – 30 años y que mantiene características similares a las dos fases del ENSO (Hurtado, 2009).

3 La Oscilación del Atlántico Norte es la alternación de la masa atmosférica entre las regiones subtropical y subpolar del Océano Atlántico que se caracteriza por variaciones en el gradiente de presiones al nivel medio del mar, en los vientos del oeste en las latitudes medias, en las temperaturas superficiales del océano y en el clima de las regiones continentales (Hurtado, 2009).

4 La Oscilación Multidecadal del Atlántico Norte es un patrón de variabilidad de la temperatura superficial centrado en el norte del Océano Atlántico que se ha asociado a la ocurrencia de sequías en Sahel (África), a la variabilidad de la precipitación del nordeste de Brasil y a la frecuencia de huracanes en el Océano Atlántico (Mesa, 2007).

1 Hurtado (2009) empleó 2.270 estaciones pluviográficas y las bases de datos del NCEP, GPCP, TRMM, para la reconstrucción de los campos mensuales de precipitación para el periodo 1995 – 2006.

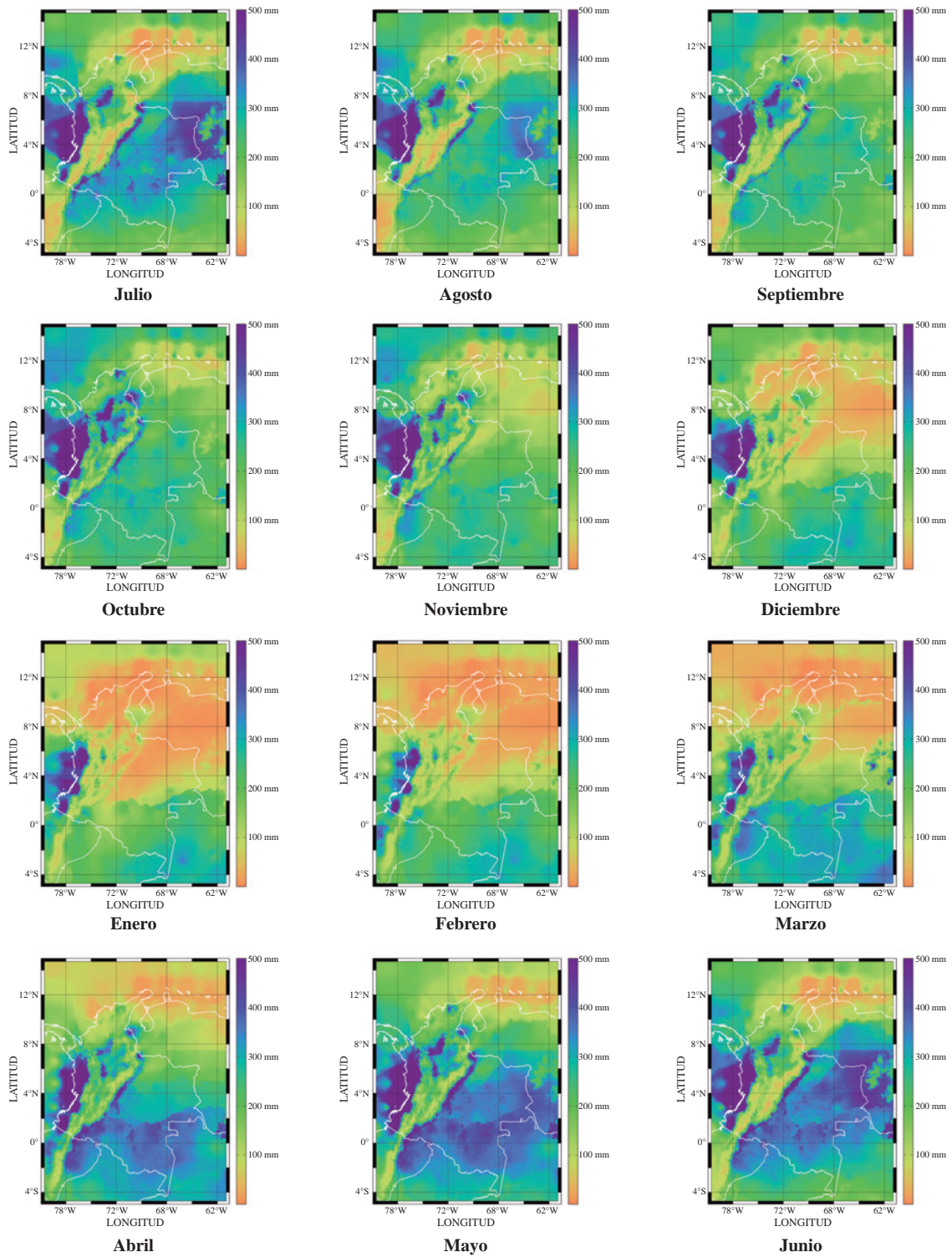


Figura 2. Campos de precipitación medios mensuales (en mm/mes) para Colombia durante el periodo 1975 – 2006, los cuales fueron calculados por Hurtado (2009) a partir de 2.270 estaciones pluviográficas y las bases de datos del NCEP, GPCP, TRMM, GOES. La interpolación usa una modificación del modelo PRISM (Daly, et al., 1994, 2008) descrita en Hurtado (2009) y Hurtado & Mesa (2014).

AMO (Hurtado, 2009; Mesa, 2007; Poveda, 2004). Las observaciones de precipitación para Colombia al parecer no muestran una tendencia distintiva de la variabilidad

decadal, sin embargo, otras variables climatológicas identifican cambios en la fase y la amplitud del ciclo anual y semianual, implicando un desplazamiento de las temporadas

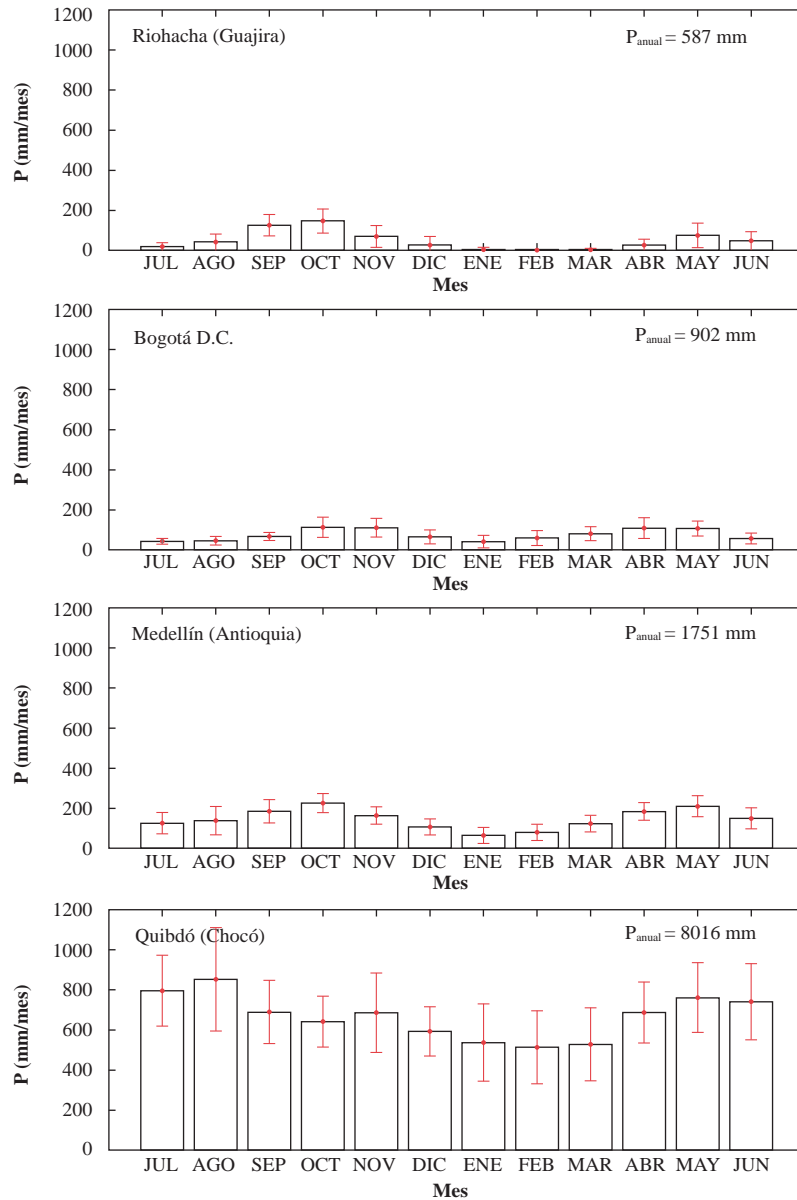


Figura 3. Ciclo anual de la precipitación media mensual (en mm/mes) para los municipios de Medellín (Antioquia), Bogotá, Riohacha (Guajira) y Quibdó (Chocó), durante el periodo 1975 – 2006, los cuales fueron estimados a partir de los campos de precipitación calculados por Hurtado (2009). Una característica distinguible del ciclo anual de la precipitación de Colombia es su estructura bimodal, la cual identifica la migración de la ZCIT sobre el territorio colombiano. Así mismo, la amplia variabilidad de la precipitación en Colombia es un reflejo de su complejidad espacial. Note la uniformidad de la escala de la gráfica.

de lluvia en el país (Poveda, 2004). En la escala inter-anual, la precipitación es controlada por la ocurrencia del evento ENSO (El Niño Oscilación del Sur⁵). Múltiples estudios han sido desarrollados en Colombia tomando como eje central

el análisis de la influencia del ENSO en sus fases cálida (El Niño) y húmeda (La Niña) sobre el ciclo diurno y anual de la precipitación (Poveda, et al., 2002a, b, c; Mesa, et al., 1997). Los estudios han determinado, de manera general, que El Niño está asociado con anomalías negativas en la cantidad de lluvia y La Niña con anomalías positivas de la misma (Poveda, et al., 2002a; Poveda, 2004). Los resultados muestran que durante La Niña la precipitación total diaria puede aumentar hasta un 40% en comparación con los años considerados como normales y hasta un 48% más en relación a los eventos El Niño (Poveda, et al., 2002a, 2005).

⁵ El ENSO (El Niño Oscilación del Sur) es un evento macroclimático recurrente, que se presenta aperiódicamente con un pico de frecuencia al rededor de los 4 años y se caracteriza por el calentamiento anormal de las aguas superficiales del Océano Pacífico tropical Este, anomalías en la presión atmosférica en las mismas zonas, aumento de las precipitaciones en algunas regiones del planeta, la profundidad de la termoclina aumenta en el Pacífico tropical Este y el nivel del mar sube (Hoyos & Webster, 2006).

Como respaldo a lo anteriormente indicado, la Figura 4 presenta los campos medios mensuales de precipitación durante el evento El Niño de los años 1997 – 1998. Aquí se distingue una disminución sustancial en la cantidad total

de precipitación en relación al campo medio anual que se ilustró en la Figura 2. Durante los meses de diciembre a marzo, Colombia recibió el mayor impacto del evento El Niño, ocasionando conflictos en el uso consuntivo del

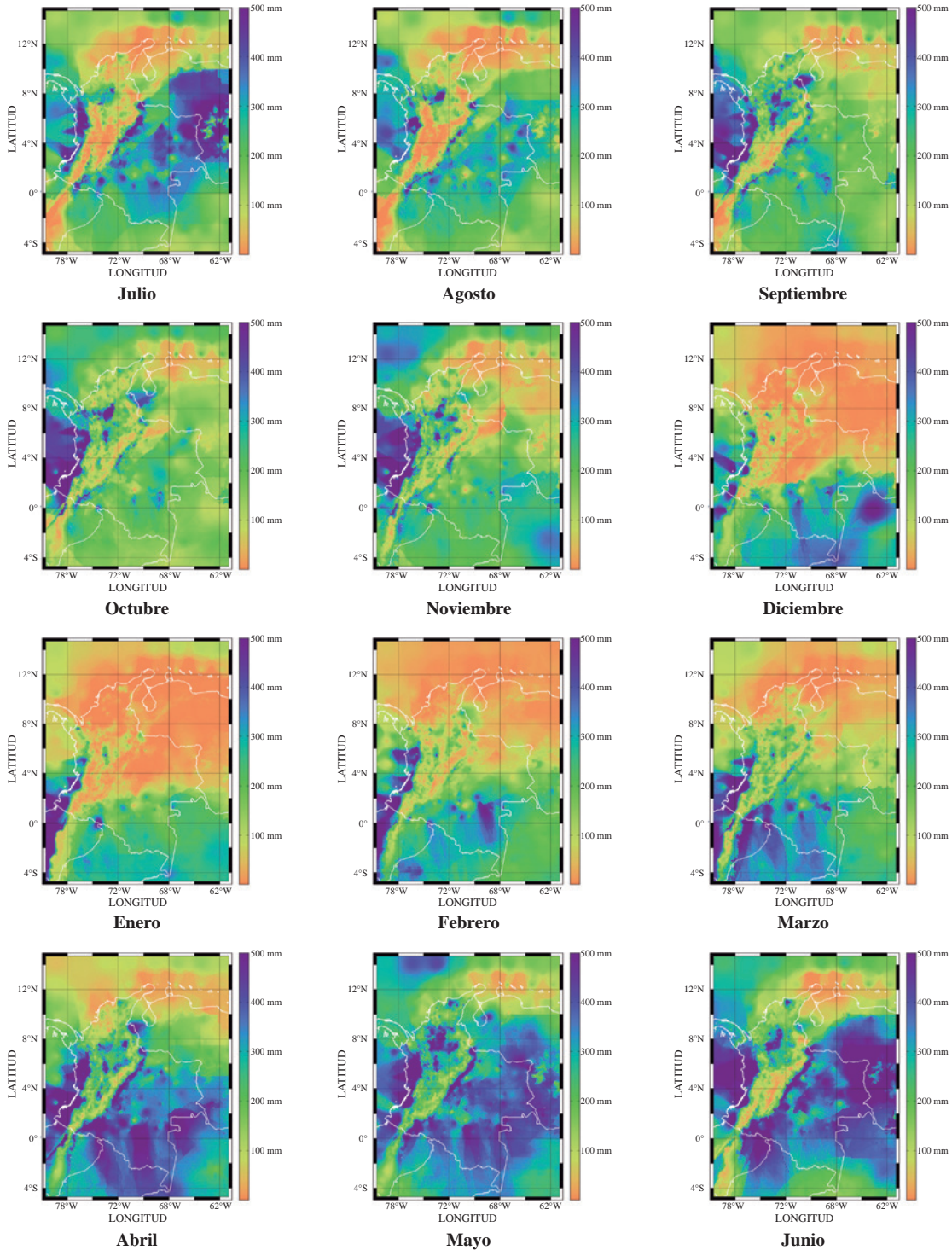


Figura 4. Campos mensuales de precipitación medios mensuales (en mm/mes) para Colombia durante el evento El Niño de 1997–1998, los cuales fueron calculados por Hurtado (2009) a partir de 2.270 estaciones pluviográficas y las bases de datos del NCEP, GPCP, TRMM, GOES. La interpolación usa una modificación del modelo PRISM (Daly, et al., 1994, 2008) descrita en Hurtado (2009) y Hurtado & Mesa (2014).

agua, la disminución de niveles en los embalses, pérdidas en las cosechas de productos agrícolas, entre otros más. En la Figura 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/196/996>, se presenta la contracara del evento anterior, conocido como La Niña. En esta figura, se ilustra el evento de los años 1999 y 2000, el cual se caracterizó por ser uno de los eventos de mayor duración y que consistió de dos momentos temporales donde se intensificaron las precipitaciones. Es importante resaltar que durante un evento La Niña, los conflictos por el agua adoptan otro carácter al que se presenta durante un evento El Niño, puesto que el exceso de agua contribuye al desarrollo de inundaciones, a la susceptibilidad de falla de taludes, a la marchites de las plantas por exceso en la capacidad de campo del suelo, etc.

A la escala intra-anual, la variabilidad es modulada por la Oscilación Maden – Julian⁶ (MJO), las ondas tropicales del Este, los huracanes sobre el Caribe y el Pacífico oriental y los frentes fríos procedentes desde ambos hemisferios en época de invierno (Poveda, 2004). Para Colombia se destaca que el ciclo diurno de la lluvia es más activo durante la fase Oeste⁷ de la MJO y se presenta un incremento de la precipitación total diaria de hasta un 77% en relación al valor medio de la misma (Poveda, et al., 2002a).

Los estudios sobre la MJO reconocen que es necesario determinar el origen de las oscilaciones y explicar los mecanismos físicos de interacción, para tener un claro panorama de las implicaciones en el estado del clima y de la precipitación sobre el territorio colombiano (Poveda, et al., 2002a; Hoyos & Webster, 2006). Todas las observaciones que aquí se han destacado de los estudios sobre la precipitación en Colombia en sus diferentes escalas temporales, nos advierten del alto grado de complejidad para explicar su variabilidad y dinámica; por lo tanto, aún se mantienen abiertos los interrogantes sobre que herramientas y procedimientos matemáticos convendrían ser utilizados para acercarnos a un mayor entendimiento de este proceso físico.

4. Modelos descriptivos de la precipitación

4.1 Los modelos estocásticos

Como ha podido evidenciarse en las Figuras 2 a 4, la precipitación se caracteriza por la alta variabilidad de sus observaciones tanto en el espacio como en el tiempo. Si concentramos nuestra atención en la variabilidad temporal, es decir, en el patrón que se observa en las series de tiempo que son registradas en las estaciones pluviográficas, como se

ilustra en la Figura 2S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/196/997>. Se puede llegar a la conclusión que expresa Rodríguez–Iturbe (1991), al decir que la precipitación es un proceso físico que proviene de un sistema determinístico altamente no-lineal, cuyos patrones conservan una apariencia similar a la generada por un proceso aleatorio. La idea de enmarcar la precipitación como una variable física aleatoria, incentivo a que los primeros intentos por describir la precipitación consistieran en buscar un tipo de proceso aleatorio que se adapte a todos los conjuntos de datos observados, pero ante la *marcada variabilidad* de las observaciones tanto en el espacio como en sus diferentes escalas de agregación, no se ha logrado determinar la existencia de un único proceso aleatorio, y lo que es más grave, no hay consistencia cuando se cambia la escala de agregación. Con base en lo anterior, la consideración que describe la precipitación como un proceso físico que puede ser explicado por funciones aleatorias no ha producido una teoría satisfactoria. Aunque el concepto general es adecuado para caracterizar la imposibilidad de hacer predicciones, es incompleta, no explica la heterogeneidad espacio – temporal de la precipitación en todas sus escalas y requiere hipótesis específicas al lugar de estudio y a la escala espacial y temporal usada en el modelo.

Rodríguez–Iturbe, Gupta & Waymire (1984) señalan que la mayor dificultad de los modelos estocásticos está en la estimación de sus parámetros. Uno de los primeros modelos estocásticos que fue diseñado para la representación de eventos de tormenta es el denominado modelo de ruido blanco de Poisson (Rodríguez–Iturbe, et al., 1984). Aquí se representa el número de tormentas de lluvia $N(t)$ como una secuencia de pulsos instantáneos que son gobernados por un proceso de Poisson⁸ con parámetro λ . El primer problema que se puede identificar de este proceso está relacionado con la estimación de la covarianza⁹ evaluada sobre la secuencia de valores discretos de lluvia acumulada (Y_i). La covarianza observada es significativamente mayor a la correspondiente en el modelo, en donde por definición los incrementos (Y_i) son independientes, luego $Cov[Y_i, Y_j] = 0$. Como se puede observar en la Figura 5, la función de autocorrelación¹⁰, aunque decae rápidamente para los registros de precipitación agregados en las menores escalas de agregación temporal, no es cero para todos los rezagos. Debe tenerse en cuenta

8 En un proceso de Poisson $N(t)$ representa el número de pulsos (eventos) en el intervalo $(0, t)$. Hay varias definiciones, una de las más simples establece que (i) los incrementos son independientes, es decir que $N(t_2) - N(t_1)$ es independiente estadísticamente de $N(t_4) - N(t_3)$ para $t_1 < t_2 < t_3 < t_4$; y (ii) las probabilidades siguen la distribución $Pr\{N(t) = n\} = p_n = (1/n!)(\lambda t)^n e^{-\lambda t}$ con parámetro λ (Feller, 1967; p.292, 446; Bhattacharya & Waymire, 2009; p.261).

9 La covarianza de dos variables aleatorias X e Y se define como $Cov[X, Y] = E[(X - \mu_x)(Y - \mu_y)]$, donde E representa la esperanza matemática y $\mu_x = E[X]$ es el valor esperado de la variable aleatoria (Feller, 1967; p.230).

10 Puede asociarse la función de correlación con la covarianza del proceso mediante la expresión $\rho(X, Y) = Cov[X, Y] / (\sigma_x \sigma_y)$ (Feller, 1967).

6 La Oscilación Maden – Julian es un fenómeno climático que se caracteriza por la presencia de oscilaciones en diferentes variables climáticas a la escala temporal entre 25 y 80 días, la cual se reconoce por la presencia de anomalías en la precipitación (Hoyos & Webster, 2006).

7 Se considera la fase Oeste (o positiva) de la MJO, las épocas en las que la velocidad del viento zonal es mayor a una desviación estándar en relación a una serie índice (Poveda, et al., 2002a).

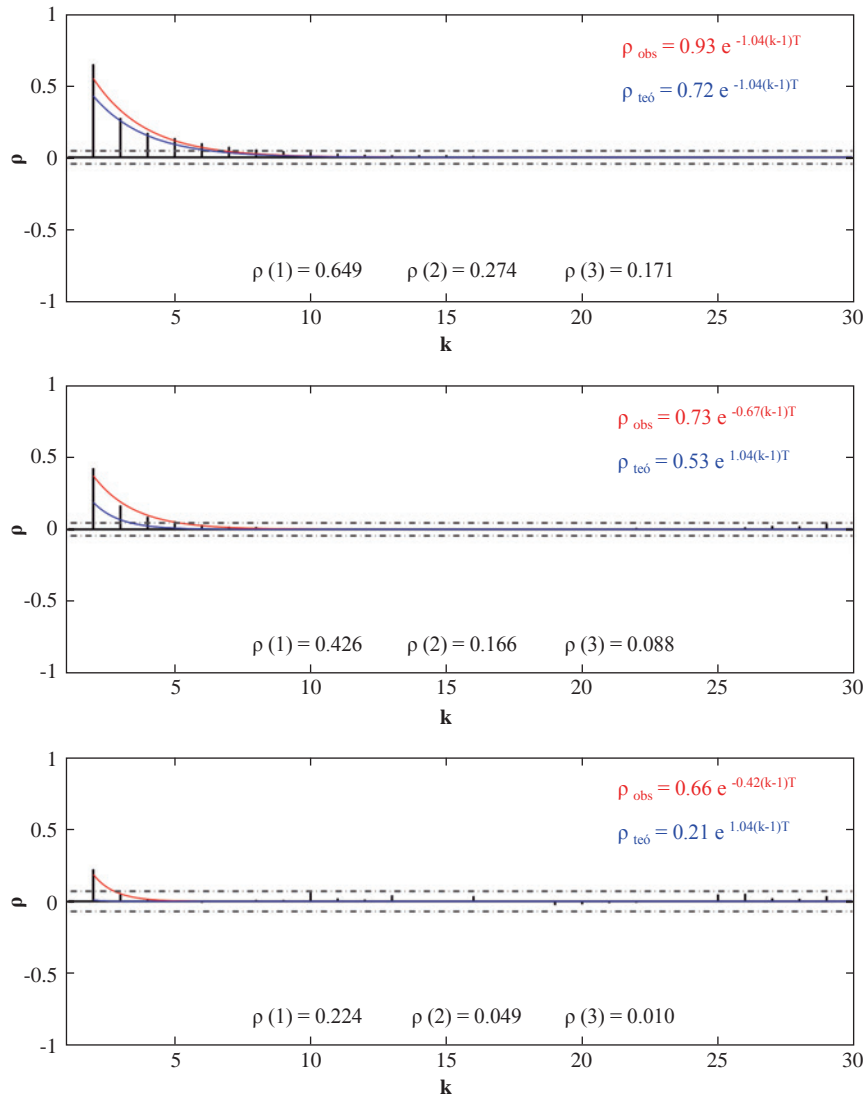


Figura 5. Función de correlación de valores totales de precipitación (en mm) del año de 1999 para las escalas de agregación temporal: (a) $T = 30$ min, (b) $T = 60$ min y (c) $T = 3$ h, los cuales fueron medidos en la estación pluviográfica Bosa Barreno (Bogotá) y las curvas de ajuste de la función de correlación de las observaciones (línea de color rojo) y la expresión teórica indicada en Rodríguez–Iturbe, et al. (1984, Ec. 29) (línea de color azul). Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza para el cual los valores de la función de correlación son significativamente diferentes de cero; estos intervalos de confianza fueron estimados para un nivel de significancia del 95%, así su magnitud es calculada como 1.96 veces el error estándar para grande rezagos de la función de correlación (Hipel & McLeod, 1994, p.73). En esta figura $k > 2$ representa el rezago (o desfase) para el cual es calculada la función de correlación. El decaimiento exponencial de la función de correlación de las intensidades de precipitación es un aspecto considerado en el modelo de pulsos rectangulares de Poisson (Rodríguez–Iturbe, et al., 1984; Rodríguez–Iturbe, et al., 1987), sin embargo, el exponente de decaimiento que se muestra en cada una de las gráficas, no se mantiene constante para todas escalas. Por lo cual, las limitaciones de los modelos de Poisson para la lluvia, residen en que los parámetros obtenidos para una escala de agregación pueden no llegar a ser funcionales para describir procesos en otras escalas.

que las funciones de correlación que se muestran en la Figura 5 no representan la correlación entre el número de aguaceros $\rho(N_i, N_{i+k})$ en diferentes escalas temporales T , sino la correlación entre el total de precipitación $\rho(Y_i, Y_{i+k})$.

Ahora, la comparación vamos hacerla con un modelo de Poisson asumiendo que el total de precipitación (Y_i) que ocurre en cada evento, es una variable aleatoria con una

determinada distribución, independiente para cada evento, lo que en la literatura se conoce como un proceso de Poisson marcado; o la variante llamada pulsos rectangulares de Poisson (Rodríguez–Iturbe, et al., 1987, Rodríguez–Iturbe, 1986), en donde la duración y la intensidad (constante durante la duración) del evento son variables aleatorias independientes. En ambos casos la conclusión de la comparación es la misma, porque la estructura de dependencia es

heredada del proceso de Poisson, y sólo en el modelo de pulsos rectangulares de Poisson (cuando las distribuciones para la duración y la intensidad son exponenciales) hay lugar a un decaimiento exponencial de la correlación¹¹, como se observa en la Figura 5, pero la tasa de decaimiento exponencial (η) deberá ser la misma, independiente del nivel de agregación temporal (i.e. en el ejemplo este valor es igual a 1.04). Rodríguez–Iturbe (1986) y Rodríguez–Iturbe, et al. (1987) señalan la conclusión que hemos resaltado en el sentido que los parámetros estimados para un determinado nivel de agregación producen resultados deficientes si se aplican a otras escalas temporales. La Figura 2S ilustra la relación entre la intensidad máxima y la escala de agregación para las series de tiempo observadas en Bosa Barreno en el año 1999 y las simuladas con el modelo de pulsos rectangulares de Poisson desde la escala de 30 minutos. Estos resultados reiteran la imposibilidad del modelo para capturar completamente la estructura estadística y geométrica de las observaciones, considerando que en este caso particular, el modelo preserva el decaimiento exponencial de la relación, pero sobreestima las intensidades máximas de precipitación.

Hay modelos estocásticos más generales, como son aquellos que proceden de la familia de modelos de Neyman – Scott. En el modelo denominado *ruido blanco de Neyman – Scott* (Rodríguez–Iturbe, et al., 1984; Rodríguez–Iturbe, 1986), se consideran que los tiempos de arribo de las tormentas son gobernados por un proceso de Poisson con parámetro λ y las tormentas tienen un número aleatorio de pulsos asociados que es representado por otro proceso aleatorio puntual. Por otra parte, para obtener los cuatro parámetros que constituyen al modelo de Neyman – Scott, es necesario implementar un procedimiento iterativo para resolver simultáneamente el sistema de ecuaciones que involucra a los parámetros y comparar las respuestas de las varianzas teórica y estimada.

Puede verse, que en la medida en que el proceso estocástico se hace más general en su capacidad para describir adecuadamente los procesos de precipitación observados, el número de parámetros aumenta y del mismo modo, la complejidad para su estimación; por otra parte, estos modelos resultan ser mas eficientes para la descripción de patrones en las escalas menores a la horaria y aún se mantienen las dificultades con los estimativos que resultan de las transformaciones de escala¹². Es de resaltar que en

11 En este caso la función de correlación adquiere la forma $\rho(Y_i, Y_k) = C e^{-\eta(k-i)T}$, siendo η un parámetro asociado a la duración media de los eventos de lluvia y que representa la tasa de decaimiento, T la escala temporal de los datos y C una constante.

12 Otros modelos estocásticos como es el modelo STREAP (Realizaciones Espacio – Temporales de Precipitación Areal), el cual fue introducido por Paschalis, et al., (2013), es capaz de reproducir algunas características esenciales del campo de precipitación mediante la descripción del arribo de las tormentas, la evolución temporal de precipitación areal dentro de la tormenta y la evolución temporal de la estructura bidimensional de la tormenta. Pese a que este modelo mejora en la capacidad para reproducir las propiedades estadísticas del campo de precipitación, siguen existiendo

adición a sus dificultades conceptuales, la implementación de estos modelos estocásticos para la representación de patrones temporales de precipitación resultaran ineficaces para Colombia por razones prácticas, puesto que la mayor parte de las mediciones que se efectúan en las estaciones se dan a una resolución temporal de 24 horas, limitando así, la confiabilidad de los resultados que puedan derivarse de estos modelos.

4.2 Los modelos fractales

Rodríguez–Iturbe (1991) afirma que los patrones temporales de precipitación aunque irregulares, preservan una cierta estructura, cuya clave está presente en la relación entre las irregularidades de las escalas. Esta relación puede ser comprendida mediante la propiedad fractal de *auto- semejanza*, que caracteriza a los objetos por la invariancia respecto a la traslación y cambio de escala (Feder, 1988). Una manera de caracterizar el grado de irregularidad de las fluctuaciones en los patrones de precipitación es mediante el uso de objetos geométricos denominados: *medidas multifractales*. Estos objetos geométricos se conforman por subconjuntos de objetos fractales, que se caracterizan por tener un espectro de exponentes de escalamiento (Feder, 1988). Una manera de evidenciar esta característica geométrica en los registros de precipitación se puede observar en el ejemplo que se ilustra en el recuadro superior de la Figura 6. Aquí, Los momentos de orden k de la precipitación total a la escala T , denotados por $m_k(T) = E[X^k(T)]$, muestran una relación potencial con la escala, es decir $m_k(T) \propto T^{\theta_k}$. De esta relación resulta un exponente de escalamiento θ_k que depende del orden del momento k . Si la serie de tiempo de precipitación que se describe con la relación $m_k(T) \propto T^{\theta_k}$, correspondiera a la de un objeto monofractal, i.e. un objeto fractal con escalamiento simple, la dependencia de θ_k en k sería lineal, como lo indica la línea punteada del recuadro inferior de la Figura 6¹³. Sin embargo, se puede apreciar que para la serie de tiempo de precipitación que se toma como ejemplo, se presenta un crecimiento sublineal en la relación entre k y θ_k , que intuitivamente podría indicarnos que se está tratando no solo con un objeto multifractal, sino también con un proceso físico no-lineal. Es importante destacar, que el grado de multifractalidad en la serie de tiempo puede determinarse, parcialmente, si observamos una tendencia del exponente θ_k hacia valores cercanos a cero. Otras herramientas como son el espectro multifractal y la función de codimensión, permiten caracterizar de mejor forma la estructura multifractal de un conjunto de datos. En el contexto del estudio de la estructura multifractal de la precipitación se recomienda revisar los trabajos efectuados por Lovejoy & Schertzer (1995), Gómez & Poveda (2008) y

limitaciones con la tractabilidad matemática del modelo, la poca o no preservación de las propiedades geométricas del campo de precipitación y la ausencia de una base física en sus parámetros.

13 En el recuadro inferior de la Figura 6, se ilustra una función conocida bajo el nombre de función de estructura.

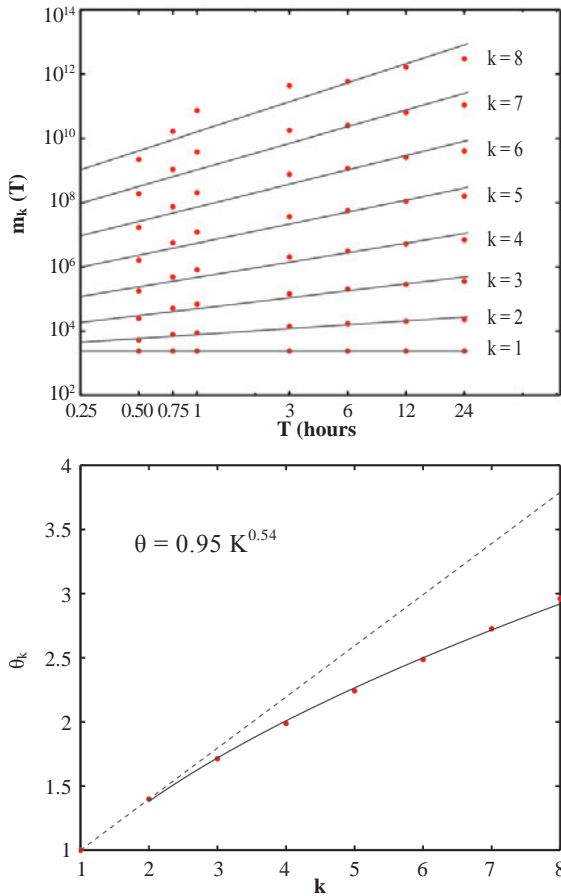


Figura 6. Para la serie de tiempo de valores de precipitación (en mm) medidos en la estación pluviográfica Bosa Barreno (Bogotá) durante el periodo 1995-1999 (ver Figura 3S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/196/998>), el cuadro superior muestra los primeros ocho momentos estadísticos $m_k(T)$, $k = 1, 2, \dots, 8$, en función de la escala de agregación temporal $T = 30 \text{ min}, 45 \text{ min}, 1\text{h}, 3\text{h}, 6\text{h}, 24\text{h}$ y el cuadro inferior, la función de estructura correspondiente, θ_k vs. k . En el marco conceptual de multifractales universales (Lovejoy & Schertzer, 1995; Schertzer & Lovejoy, 2011), un campo es multifractal si un arbitrario momento m_k escala de la forma: $m_k(T) \approx T^{\theta_k}$, donde θ_k representa una función de escalamiento de los momentos estadísticos, que caracteriza la variabilidad del campo para diferentes escalas de agregación temporal. El comportamiento bilineal que describe la función de estructura para las observaciones de precipitación de la estación Bosa Barreno, permite evidenciar la existencia de una estructura multifractal en la información para el rango de escalas que aquí se indican.

Peñaranda (2008), para mayores detalles sobre los métodos de construcción del espectro multifractal y la caracterización de campos de precipitación desde este enfoque.

Dada la existencia de una estructura multifractal en los patrones de precipitación, la comunidad científica no tardó en introducir modelos que preservarán tanto las propiedades estadísticas de las observaciones, como también las propiedades multifractales encontradas en ellas. Uno de los primeros modelos conceptuales que empleó

el concepto de multifractalidad es el denominado modelo de cascadas aleatorias, introducido por Gupta & Waymire (1993) y posteriormente implementado por Over & Gupta (1994, 1996) y Over (1995). Este modelo a diferencia de los modelos estocásticos, requiere de muy pocos parámetros para representar la intermitencia en el dominio espacio – temporal, sin embargo, las bases conceptuales del modelo se apoyan en la teoría de funciones aleatorias para la construcción del campo y en virtud a ello, existen dificultades en la validación de las hipótesis que giran en torno al tipo de generador aleatorio utilizado en el proceso de construcción de las cascadas multiplicativas.

Otro de los modelos que usa la teoría multifractal pero con naturaleza enteramente determinística, fue introducido por Puente (1996); Puente & Obregón (1996), el cual se denomina *Aproximación Fractal – Multifractal* (FMF). En este modelo los patrones observados son estimados a partir de la construcción de una función de interpolación fractal¹⁴. Es claro que la geometría Euclidiana y las funciones matemáticas elementales son la base de los métodos tradicionales para el manejo e interpretación de datos (Barnsley, 2006), como por ejemplo el método de mínimos cuadrados. Si en lugar de emplear estos métodos para interpolar un grupo de puntos, se utilizasen combinaciones lineales de funciones elementales de la forma:

$$W_n \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_n & 0 \\ c_n & d_n \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} e_n \\ f_n \end{pmatrix} \quad (1)$$

se obtiene lo que es denominado como: *función de interpolación fractal* (Barnsley, 2006), en donde a_n, c_n, d_n, e_n y f_n son los parámetros fundamentales de esta función. Si consideramos un conjunto de tres pares de puntos $\{(0,0), (1/2,1), (1,0)\}$, como el que se ilustra en el recuadro superior izquierdo de la Figura 7 (puntos de color rojo), los cuales son interpolados a través de dos sistemas de ecuaciones lineales (o mapas afines) W_1 y W_2 , cuyos parámetros son indicados a la derecha de la misma figura, se consigue una interpolación lineal entre los pares de puntos. Para esta interpolación el parámetro $|d_n|$ se fijó en un valor $z = 0.0$. Ahora, si el parámetro $|d_n|$ se fija en un valor $z = 0.8$ (ver recuadro inferior izquierdo de la Figura 7); se consigue una interpolación no-lineal, más compleja e intrincada. Para este último caso, la dimensión geométrica que describe la trayectoria entre los puntos no es una línea recta con dimensión igual a 1.0, sino en vez, un complejo sistema de objetos lineales inter-relacionados que tienen una dimensión *no entera* igual a 1.7 (en este caso); razón por la cual esta función de interpolación adquiere el nombre de fractal¹⁵.

¹⁴ Ver la referencia: Barnsley (2006) para mayor detalle del proceso de construcción de las funciones de interpolación fractal.

¹⁵ El término fractal se le atribuye a Benoit Mandelbrot, quien lo empleó para describir objetos geométricos irregulares o fragmentados. Una introducción a la geometría fractal puede consultarse en la referencia: Mandelbrot (1982).

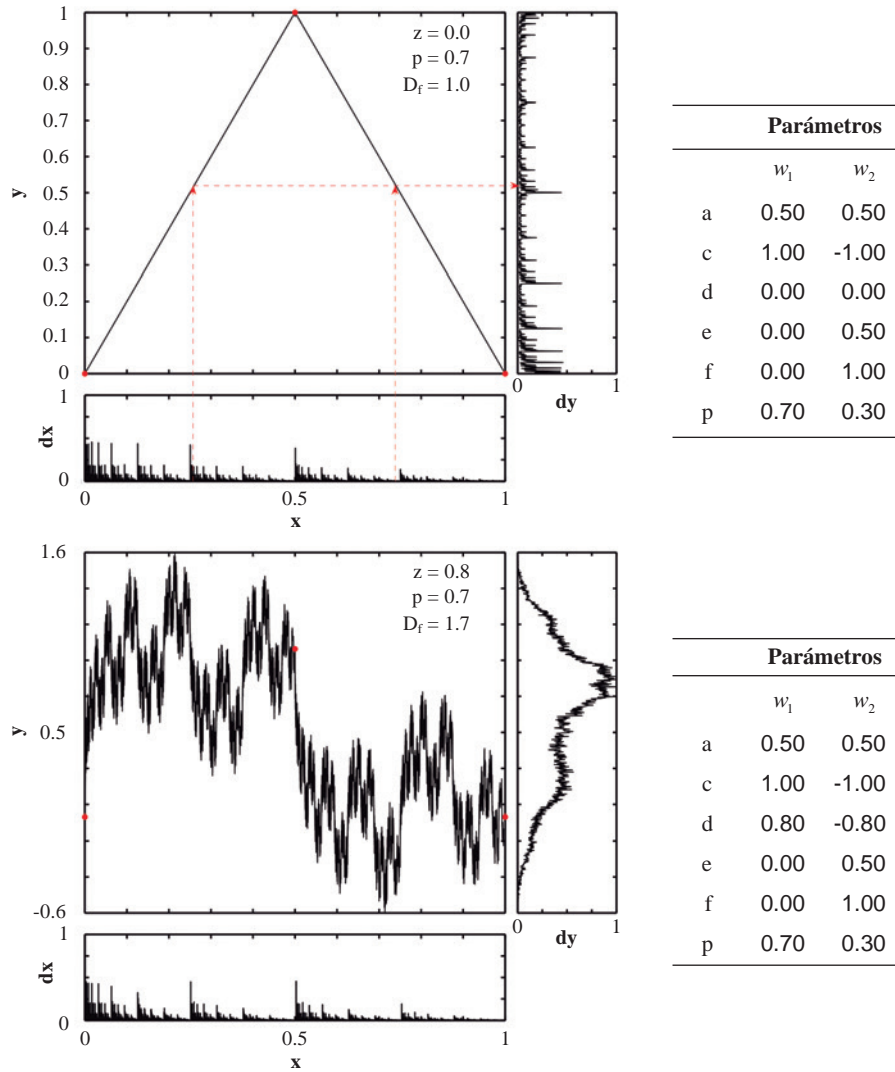


Figura 7. La aproximación FMF se describe a través de tres elementos constitutivos que pueden ser observados en las imágenes: (a) la medida multifractal, (b) la función de interpolación fractal y (c) la medida derivada. La línea roja discontinua nos orienta sobre el sentido en que deben leerse las gráficas. La función de interpolación de las gráficas aquí indicadas, se construyeron para los puntos: $\{(0,0), (0.5,1), (1,0)\}$, fijando un valor del parámetro $|d_{\eta}| = z$. En la aproximación FMF, los patrones geofísicos pueden derivarse desde la proyección de una medida multifractal sobre una función de interpolación fractal. Este concepto puede también apreciarse en las gráficas de la Figura 4S, <http://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/downloadSuppFile/196/1001>, del material suplementario.

Durante la construcción de la función de interpolación fractal, dos medidas de probabilidad son generadas mediante el conteo de frecuencias de los puntos definidos en las coordenadas x e y de la trayectoria de la función de interpolación (Puente, 1996). Para las funciones de interpolación que se ilustran en la Figura 7, en x se obtiene una medida (dx) binomial¹⁶ multifractal^{17, 18}. En y se obtiene

una medida que dependerá del valor del parámetro z ¹⁹. Para la aproximación FMF, la medida encontrada en y es denominada la medida derivada dy . Como puede apreciarse en la Figura 7, la medida derivada guarda una amplia semejanza con los patrones de alta resolución temporal que se observan en la precipitación.

Para generalizar la idea atrás del mecanismo de construcción de las medidas derivadas (dy) con la aproximación FMF, nos apoyaremos en el concepto de proyección (Puente,

16 La medida binomial se obtiene si una barra uniforme es dividida iterativamente en dos piezas de diferente tamaño, que a su vez se distribuyen uniformemente sobre un soporte geométrico, en cada etapa del proceso (Feder, 1988).

17 El término multifractal indica que en cada capa de la medida dx existe un conjunto de puntos con diferente dimensión fractal (Mandelbrot, 1989).

18 Este resultado se logra cuando el parámetro p adquiere un valor igual a

0.7, el cual determina la probabilidad de emplear el primer mapa afín en el proceso iterativo de construcción de la función de interpolación.

19 Para valores de $z \rightarrow 0$ se obtendrá una medida dy uniforme y para valores de $z \rightarrow 1$ la medida dy se parecerá a una función Gaussiana (Puente, 1996).

1996). Este concepto establece que las medidas derivadas (dy) se construyen mediante la proyección o el mapeo de las medidas multifractales que se soportan sobre las funciones de interpolación fractal y que al ser iluminadas desde un ángulo fijo θ , se pueden obtener patrones altamente intermitentes y semejantes a aquellos que son observados en geofísica (e.g. series de tiempo de precipitación). En la Figura 4S se ilustra el concepto de proyección a través de una representación tridimensional de las medidas multifractales, las cuales se observan que están soportadas en la trayectoria de una función de interpolación fractal. En el recuadro inferior de la Figura 4S, se muestran la construcción geométrica de la tormenta de Boston del 15 octubre de 1980, la cual fue estimada por Puente & Obregón (1996) y que aquí se replica con el propósito ilustrativo de nuestras ideas.

Otras aplicaciones más recientes en el estudio de la precipitación, como son los desarrollados por Huang, Puente & Cortis (2013) y Peñaranda (2008), denotan que los patrones obtenidos desde la aproximación FMF son bastante semejantes a los patrones simulados, conservando así, tanto la estructura estadística y multifractal de los observables. No obstante, esta aproximación sólo puede representar ventanas temporales y no la evolución temporal de los procesos de precipitación. Puente (1996) sugiere que una aproximación dinámica FMF podría llevarse a cabo si se estudiase la evolución de los parámetros, sin embargo, aún existen dificultades en la solución del problema inverso²⁰. Huang, et al. (2013) determinaron que no existe una única codificación para un conjunto de datos observados²¹ y por tanto, una aproximación dinámica como la sugerida por Puente (1996) no sería factible.

Es importante destacar, que existen otros grupos de modelos que también se apoyan en la fenomenología multifractal, como son los modelos de descomposición de onditas introducido por Perica & Foufoula-Georgiou (1996a) y los modelos de cascadas continuas anisotrópicas propuestos por Tessier, Lovejoy & Schertzer (1993) y Lovejoy & Schertzer (1995). Todos estos modelos intentan preservar las propiedades multifractales del campo de precipitación, apoyándose en una formulación conceptual que les permita comprender el mecanismo del escalamiento estadístico encontrado en las observaciones. Sin embargo, aún después de encontrar ajustes adecuados en los resultados de los modelos, no se ha logrado conectar la naturaleza física de los procesos de precipitación con la fenomenología multifractal empleada; por lo cual la evolución de los modelos fractales y/o multifractales, siguen generando nuevos interrogantes sobre la validez de las hipótesis incluidas en los modelos y el enlace con la realidad física que se expone en la precipitación.

²⁰ Aquí se define el problema inverso como el proceso sistemático para determinar los parámetros del modelo a partir de un patrón observado.

²¹ i.e. Existen varios grupos de parámetros que pueden representar un mismo patrón.

4.3 Modelos de base física

Desde la base conceptual de los modelos que hasta aquí se han mencionado, es claro que no han considerado, en principio, las bases físicas de los procesos de precipitación, sin embargo otras investigaciones como las realizadas por Nordstrom & Gupta (2003); Marzan, Schertzer & Lovejoy. (1996); Perica & Foufoula-Georgiou (1996b), han hecho esfuerzos por definir relaciones teóricas entre la física y la formulación matemática de los modelos descriptivos de la estructura espacio – temporal de la precipitación. El objeto de estos trabajos es, por supuesto, avanzar en la explicación física de la precipitación, pero partiendo desde un *principio de parsimonia* y no buscando aumentar el número de parametrizaciones de los modelos empleados en meteorología. Al respecto, ¿cómo debe ser entonces esta formulación física? ¿Desde qué teoría matemática, de las aquí presentadas, debemos emprender tal formulación? Por seguro, sabemos que la precipitación guarda una estructura estadística que puede ser representada correctamente desde la teoría multifractal, sin embargo, emerge una nueva pregunta: ¿cuál es la base física de la multifractalidad de la precipitación?

Marzan, et al. (1996) proponen un modelo espacio – temporal basado en la teoría de escalamiento dinámico, la cual explica la física del campo de precipitación a través de la conservación de las propiedades de simetría del ambiente turbulento en el cual se desarrolla la precipitación. En este modelo, Marzan, et al. (1996) presumen que la lluvia es un escalar pasivo que debe preservar las mismas propiedades de escalamiento de la turbulencia atmosférica. Sin embargo, Marzan, et al. (1996) encuentran que estas propiedades no se preservan. En la turbulencia no-homogénea el exponente de escalamiento anisotrópico H es del orden de $1/3$, pero para el campo de precipitación este valor es del orden de $1/2$. A pesar de esta inconsistencia, el escalamiento anisotrópico permite identificar una ruptura en la simetría del eje temporal, la cual ayuda a distinguir el pasado del futuro. Así, es factible la construcción de un modelo que describa la evolución espacio – temporal del campo de precipitación apoyado en la conceptualización de cascada multiplicativa. Algunas aplicaciones de este nuevo modelo pueden ser encontrados en Lovejoy & Schertzer (2013).

Desde el marco de la teoría de escalamiento dinámico, Perica & Foufoula-Georgiou (1996) formulan una relación predictiva entre las características estadísticas de la precipitación y los parámetros meteorológicos de las tormentas, postulando la existencia de una conexión empírica entre los parámetros de escalamiento y los índices termodinámicos que describen el ambiente atmosférico de las tormentas. Ellos sugieren que los parámetros de escalamiento de las observaciones de precipitación dependen de la intensidad de la inestabilidad convectiva, es decir, entre mayor sea la inestabilidad convectiva en el área en que se desarrolla la tormenta, se encontrarán valores más altos en los parámetros

de escalamiento. Otro hallazgo encontrado por Perica & Foufoula-Georgiou (1996), es la isotropía de los parámetros de escalamiento. Esto último sugiere que las propiedades de escalamiento no dependen de la dirección y reducen el nivel de complejidad de los modelos de precipitación.

Entre los modelos de base física y construidos sobre ecuaciones dinámicas, se encuentra el modelo introducido por Nordstrom & Gupta (2003). Este modelo es construido para estudiar la lluvia convectiva tropical sobre el océano, independiente de consideraciones estadísticas y se interesa en entender el origen físico del escalamiento estadístico de las observaciones de precipitación. La fenomenología física del modelo se apoya en la conceptualización sugerida por Mapes (2000), la cual considera que la estructura vertical de la atmósfera es excitada por procesos de calentamiento convectivo. Bajo esta fenomenología, la intensidad de la convección profunda es modulada por la energía potencial convectiva disponible (CAPE) y la frecuencia de ocurrencia es modulada por la relación entre la inhibición convectiva (CIN) y la energía detonante (K). Los avances que se han efectuado en el estudio de este modelo, han permitido evidenciar que uno de los parámetros asociados a la CIN, puede adquirir un valor crítico que conduce a la estructura multifractal del campo de precipitaciones. Basado en estos avances, este modelo resulta promisorio para dar respuesta a las formulaciones que se enunciaron al principio de esta sección. Es importante resaltar que la característica del modelo que define una condición de criticalidad, es semejante a los fenómenos no-lineales que son encontrados en mecánica estadística y que han sido abordados desde la teoría de fenómenos críticos.

En la literatura técnica podemos encontrar otros modelos, asociados a los procesos de precipitación, que describen fenómenos de criticalidad auto-organizada. Uno de estos modelos es el introducido por Peter & Neeling (2009, 2006), quienes sugieren que la cantidad de vapor de agua en la columna integral juega un papel de parámetro de ajuste en el desarrollo de la convección. Cuando este parámetro de ajuste alcanza un valor crítico, se presenta una transición a la precipitación fuerte. Esta transición induce a que Peter & Neeling (2009, 2006) presuman que se está tratando con un proceso físico que sigue las reglas de los sistemas de criticalidad auto-organizada. En oposición a lo expreso, Muller, Back, O’Gorman & Emanuel (2009) consideran que la evidencia empírica de criticalidad auto-organizada encontrada por Peter & Neeling (2006) es esencialmente circunstancial, considerando que no existe un mecanismo físico que lo describa y además existen fuertes limitantes de información para verificar la consistencia de la relación que se propone. Aún las discusiones en un sentido o en otro, se mantienen abiertas.

Uno de los trabajos recientes que busca explicar la influencia de la humedad en la convección y que conecta algunas de las ideas previamente introducidas por Peter

& Neeling (2009,2006), fue desarrollado por Craig & Mack (2013). En este trabajo se introduce un modelo de balance de humedad para la troposfera libre en el cual la fenomenología física se apoya en tres procesos: i) un proceso de secado por subsidencia, ii) un proceso de humedecimiento convectivo, y iii) un proceso de mezcla horizontal turbulento. La construcción conceptual que realiza Craig & Mack (2013), permiten ver que la tropósfera libre puede ser representada a través de un sistema bi-estable²² en el cual los procesos de retroalimentación conducen a que las regiones secas sean más secas y las regiones húmedas sean más húmedas, dentro del campo de humedad. Craig & Mack (2013) han denominado este proceso de concentración de la humedad, bajo el nombre de *segregación*. Un resultado importante del trabajo de Craig & Mack (2013), se asocia con las propiedades fractales del modelo. Ellos identifican que el proceso de segregación preserva la propiedad de auto-semejanza dinámica, es decir, la escala espacial de las estructuras²³ crecen de acuerdo a una ley de potencia en el tiempo. Adicionalmente, Craig & Mack (2013) sugieren que la auto-organización es una propiedad genérica de los sistemas bi-estables, que es representado en el modelo por un proceso de transporte espacial débil (como es la difusión), una dependencia lineal de la tasa de secado por subsidencia, una dependencia exponencial en la tasa de humedecimiento convectivo y una restricción determinada por la hipótesis de equilibrio radiativo – convectivo.

Es importante aclarar que el modelo introducido por Craig & Mack (2013), es una aproximación para describir el campo de humedad en el cual se desarrolla la convección; por tanto, aún se desconoce el canal para que los resultados que se derivan de este modelo puedan representar el campo de precipitación. No obstante, este modelo reúne un conjunto de propiedades interesantes a resaltar: la naturaleza física en la cual se desarrolla la convección, las propiedades fractales del proceso de segregación y una estructura conceptual que se enmarca en la teoría de los fenómenos críticos. Desde la base conceptual introducida por Craig & Mack (2013), se enmarca una nueva ruta en el estudio de la precipitación, la cual podrá ser abordada si se logra traducir el modelo de balance de humedad en un modelo de lluvia y si se estudian las propiedades estadísticas y multifractales del campo simulado. Pero, el reto científico, es necesario abordarlo con cautela, puesto que la respuesta del modelo deberá ser contrastada con las observaciones que estén a la escala adecuada y en la cual el proceso de segregación pueda ser evidenciado.

22 En la teoría de los fenómenos críticos, un sistema bi-estable es representado por dos estados de equilibrio. Estos dos estados de equilibrio son dados por que la función de energía libre se compone de dos puntos críticos que representan dos estados de mínima energía.

23 En este contexto, las estructuras representan las regiones en las cuales se concentra la humedad o las regiones que se hacen más secas.

5. Conclusiones

Cuatro aspectos esenciales han sido discutidos e ilustrados a lo largo del artículo: i) La importancia práctica y científica de avanzar en el conocimiento de la precipitación. ii) La complejidad de la estructura espacio – temporal de la precipitación mediante ilustraciones en el caso colombiano, que exhibe gran variabilidad espacial en cortas distancias, cambios importantes a escala inter-anual, anual, intra-anual, diaria y de tormenta. Aunque hay explicaciones parciales, subsisten múltiples preguntas. A escala mayor en el espacio – tiempo puede haber algún grado de suavización de la gran variabilidad de la escala fina, pero no desaparece la variabilidad, y tampoco las preguntas. Por ejemplo, el efecto del cambio climático tiene niveles no despreciables de incertidumbre, no sólo por el signo y la magnitud del cambio y su estructura espacial, sino también por su estructura espacio – temporal. Puede darse el caso de un sitio donde se presenta una tendencia decreciente en la precipitación a escala multi-anual y puede estar sometido a tormentas intensas más frecuentes. iii) Se describen mediante modelos representativos, los principales enfoques que se han usado para explicar la precipitación y se hace énfasis en sus limitaciones. iv) Se discuten las posibles rutas para futuras investigaciones en el estudio de la precipitación.

Las formulaciones conceptuales que se han enunciado en este artículo, muchas de ellas con un carácter puramente matemático, presentan resultados que parecen adecuados para representar el campo de precipitación; sin embargo, debe tenerse presente que en los ajustes de los modelos, solamente logran representar algunas características estadísticas o geométricas de los patrones observados de precipitación a la escala usada para ajustar el modelo, pero su falta de integralidad con la física del proceso, no garantizan la universalidad de sus teorías. Como consecuencia de lo anteriormente indicado, las preguntas científicas sobre la descripción espacio – temporal de la precipitación se encuentran abiertas, lo que trae consecuencias para las aplicaciones en el contexto pragmático de la ingeniería. En la medida en que los últimos resultados teóricos de las ciencias físicas y matemáticas sean acoplados como

herramientas de estudio y entendimiento de los procesos hidrológicos, más acertadas e integradas serán las teorías dinámicas de la precipitación. Ejemplos de ello se puede evidenciar en los trabajos de Nordstrom & Gupta (2003), Peters & Neelin (2006, 2009) y Craig & Mack (2009), quienes vislumbran el desarrollo de un fenómeno crítico en los procesos de precipitación que ocurre durante las transiciones de fase en la atmósfera, y aunque estos trabajos no están enmarcados directamente a explicar la naturaleza física de la multifractalidad, creemos que en estas conceptualizaciones puede estar la clave para este fin. Un avance dentro de este marco permitirá comprender mejor la variabilidad del campo de precipitación en todas sus escalas de desarrollo y aún más, las relaciones que puedan existir entre todas las escalas. Lo último, tendría un impacto importante para los estudios hidrológicos que se realizan en regiones con información escasa, puesto que se tendría la total claridad para establecer un protocolo de desagregación de la información e inclusive, para optimizar las técnicas de diseño en ingeniería hidráulica.

A nuestro juicio, los trabajos futuros deben estar enmarcados a establecer los límites funcionales de todas las teorías, no a lograr mejores ajustes de los modelos. Se debe intentar aclarar cuales de ellos verdaderamente proporcionan una explicación válida y universal sobre la dinámica espacio – temporal de la precipitación. Unos primeros pasos en ese sentido, estarán en: i) demarcar relaciones concluyentes entre la fenomenología de cascadas multifractales y las ecuaciones dinámicas fundamentales de la atmósfera, ii) verificar si el origen del escalamiento multifractal de la precipitación tropical proviene como respuesta a un fenómeno crítico termodinámico y iii) a la luz de los avances en el entendimiento de la dinámica de los procesos de precipitación, identificar su eficacia para las aplicaciones. Estas aplicaciones, no sólo consisten en la re-formulación de procedimientos convencionales para la toma de decisiones en ingeniería, también comprende la conjugación de nuevas herramientas para estudiar escenarios de cambio climático, los cuales finalmente determinan el porvenir social y económico de la humanidad.

Información suplementaria

Figura 1S. Campos mensuales de precipitación medios mensuales (en mm/mes) para Colombia durante el evento La Niña de 1999 – 2000, los cuales fueron calculados por Hurtado (2009) a partir de 2.270 estaciones pluviográficas y las bases de datos del NCEP, GPCP, TRMM, GOES. La interpolación usa una modificación del modelo PRISM (Daly, et al., 1994, 2008) descrita en Hurtado (2009) y Hurtado & Mesa (2014).

Figura 2S. (arriba) Series de tiempo de valores de intensidad media de precipitación (en mm/hora) del año 1999 para las escalas de agregación temporal $T = 30$ min, 3h y 6h medidos

en la estación pluviográfica Bosa Barreno (Bogotá) y (abajo) la relación entre la intensidad máxima y la escala de agregación para las series de tiempo observadas en Bosa Barreno en el año 1999 y las que resultan durante el proceso de agregación temporal de una realización con el modelo de pulsos rectangulares de Poisson a la escala $T = 30$ min. Por la apariencia que describen las series de tiempo de intensidad media de precipitación (en el recuadro superior), su comportamiento puede ser asociado a un proceso aleatorio; razón por la cual, muchos investigadores han empleado los modelos estocásticos para la descripción de la precipitación (e.g. Rodríguez-Iturbe, (1986) y Rodríguez-Iturbe, et al. (1987,

1984)). No obstante, los modelos estocásticos no logran capturar toda la estructura estadística y geométrica de las observaciones, como se describe en el recuadro inferior de la figura, donde las intensidades máximas de las series observadas despliegan un decaimiento exponencial con la escala, más rápido que el presente en la simulación estocástica.

Figura 3S. Serie de tiempo de valores totales de precipitación (en mm) del periodo comprendido por los años 1995 a 1999 para la escala de agregación temporal $T = 30$ min, medidos en la estación pluviográfica Bosa Barreno (Bogotá). Esta serie de tiempo será

empleada en el artículo para la estimación de los momentos estadísticos y la función de estructura, los cuales se ilustran en la Figura 6.

Figura 4S. La forma geométrica que adquiere la medida derivada de la aproximación FMF puede ser comprendida si se asume que una medida multifractal, la cual es sostenida sobre las trayectorias que definen una función de interpolación fractal, es proyectada como iluminaciones sobre un plano perpendicular al eje x e y , y orientado desde cualquier ángulo sobre el eje dx .

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Adler, R., Gu, G., & Huffman, G.** (2011). Estimating climatological bias errors for the global precipitation climatology project GPCP. *Journal of Apply Meteorology and Climatology*, **51** (1): 84-99.
- Barnsley, M.** (1993). *Fractals Everywhere*. (2 ed.). San Diego, California: Academic Press, Inc.
- Bhattacharya, R. & Waymire, E.** (2009). *Stochastic processes with applications*. New York: Siam.
- Bookhagen, B. & Strecker, M.** (2008). Orographic barriers, high-resolution TRMM rainfall, and relief variations along the eastern Andes. *Geophysical Research Letters*, **35** (6).
- Craig, G. & Mack, J.** (2013). A coarsening model for self-organization of tropical convection. **118** (16): 8761-8769.
- Daly, C., Neilson, R. & Phillips, D.** (1994). A statistical-topographic model for mapping climatological precipitation over mountainous terrain. *Journal of Applied Meteorology*, **33** (2): 140-158.
- Daly, C., Halbleib, M., Smith, J., Gibson, W., Doggett, M., Taylor, G., Curtis, J. & Pasteris, P.** (2008). Physiographically sensitive mapping of climatological temperature and precipitation across the conterminous United States. *International Journal of Climatology*, **28** (15): 2031-2064.
- Feder, J.** (1988). *Fractals (Physics of solids and liquids)*. New York: Springer Science + Business Media.
- Feller, W.** (1967). *An introduction to probability theory and its applications*. Volume I (3 ed.). New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Gómez, J. & Poveda, G.** (2008) Estimación del espectro multifractal para series de precipitación horaria en los Andes tropicales de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales*, **32** (125): 483-502.
- Gupta, V. & Waymire, E.** (1993). A statistical analysis of mesoscale rainfall as a random cascade. *Journal of American Meteorological Society*. **32**: 251-267.
- Hipel, K. & McLeod, A.I. McLeod.** (1994). *Time series modelling of water resources and environmental systems*. Amsterdam: Elsevier.
- Hoyos, C. & Webster, P.** (2006). Estructura espacio – temporal de la variabilidad intra-estacional en el trópico. *Avances en Recursos Hidráulicos*. **14** (3): 3-24.
- Huang, H, Puente, C. & Cortis, A.** (2013). Geometric harnessing of precipitation records: reexamining four storms from Iowa City. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment*, **27** (4): 955-968.
- Hurtado, A.** (2009). *Estimación de los campos mensuales de precipitación en el territorio colombiano*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Minas. Medellín.
- Hurtado, A. & Mesa, Ó.** (2014). Reconstrucción de los campos de precipitación mensual en Colombia. *Revista Dyna*. **81** (186): 251-258.
- IPCC.** (2013). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (AR5)*. New York: Cambridge University Press.
- Lovejoy, S. & Schertzer, D.** (1995). *Multifractals and rain*. En Zbigniew W. Kundzewicz (ed.). *New Uncertainty Concepts in Hydrology and Water Resources*, (pp.61-103). Cambridge: Cambridge University Press.
- Lovejoy, S & Schertzer, D.** (2013). *The weather and climate: emergent laws and multifractal cascades*. New York: Cambridge University Press.
- Mandelbrot, B.** (1982). *The fractal geometry of nature*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Mandelbrot, B.** (1989). Multifractal measures, especially for the geophysicist. *Pure and Applied Geophysics*, **131** (1-2): 5-42.
- Mapes, B.** (2000). Convective inhibition, subgrid-scale triggering energy, and stratiform instability in a toy tropical wave model. *Journal of Atmospheric Sciences*, **57** (10): 1515-1535.
- Marzan, D., Schertzer, D. & Lovejoy, S.** (1996). Causal space – time multifractal processes: predictability and forecasting of rain fields. *Journal of Geophysical Research*. **101**:D21(26): 333-346.

- Mejía, J.** (2002). *Ciclo diario de la lluvia y ambientes atmosféricos en sistemas convectivos de mesoescala sobre Colombia y el este del océano pacífico usando datos de la TRMM y del re-análisis del NCEP/NCAR* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Minas. Medellín.
- Mesa, Ó., Poveda, G., & Carvajal, L.** (1997). *Introducción al clima de Colombia*. Medellín: Editorial Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Minas.
- Mesa, Ó.** (2007). *¿Adónde va caer este globo?* Medellín: Editorial Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Minas.
- Muller, C., Back, L., O’Gorman, P. & Emanuel, K.** (2009). A model for the relationship between tropical precipitation and column water vapor. *Geophysical Research Letters*, **36** (16).
- National Research Council.** (1991). *Opportunities in the Hydrologic Sciences*. Washington: National Academy Press. Committee on opportunities in the hydrologic sciences, water science & technology board, commission on geosciences, environment, and resources edition.
- Nordstrom, K. & Gupta, V.** (2003). Scaling statistics in a critical, nonlinear physical model of tropical oceanic rainfall. *Nonlinear Processes Nonlinear Processes in Geophysics*, **10**: 531-543.
- Over, T. & Gupta, V.** (1994). Statistical analysis of mesoscale rainfall: dependence of a random cascade generator on large-scale forcing. *Journal of Hydrology*, **33**: 1526-1542.
- Over, T.** (1995). *Modelling space – time mesoscale rainfall using random cascades* (Doctoral Dissertation). Ph.D. in Geophysics). University of Colorado. Boulder, Colorado.
- Over, T. & Gupta, V.** (1996). A space-time theory of mesoscale rainfall using random cascades. *Journal of Geophysical Research*, **101** (26): 319-331.
- Paschalis, A., Molnar, P., Faticchi, S. and Burlando, P.** (2013) A stochastic model for high-resolution space – time precipitation simulation. *Water Resources Research*, **49** (12): 8400-8417.
- Peñaranda, V.** (2008). *Representación geométrica de registros de precipitación puntual en Bogotá con el modelo Fractal – Multifractal* (Tesis de Maestría), Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ingeniería. Bogotá.
- Perica, S. & Foufoula-Georgiou, E.** (1996a). A Model for multiscale disaggregation of spatial rainfall based on coupling meteorological and scaling descriptions, *Journal of Geophysical Research*, **101** (D21), 26: 347-26,361.
- Perica, S. & Foufoula-Georgiou, E.** (1996b). Linkage of scaling and thermodynamic parameters of rainfall: results from midlatitude mesoscale convective systems. *Journal of Geophysical Research*, **101** (D3): 7431-7448.
- Peters, O. & Neelin, J.** (2006). Critical phenomena in atmospheric precipitation. *Nature Physics*, **2**: 393-396.
- Peters, O. & Neelin, J.** (2009). Atmospheric convection as a continuous phase transition: Further evidence. *International Journal of Modern Physics B*, **23** (28-29): 5453-5465.
- Poveda, G. and Mesa, Ó.** (1999). La corriente de chorro superficial del oeste (del Chocó) y otras dos corrientes de chorro atmosféricas sobre Colombia: Climatología y variabilidad durante las fases de ENSO. *Revista Academia Colombiana de Ciencias*, **23** (89): 514-528.
- Poveda, G., Mesa, Ó., Agudelo, P., Álvarez, J., Arias, P., Moreno, J., Salazar, L. & Toro, V.** (2002a). Influencia del ENSO, oscilación Madden – Julian, ondas del este, huracanes y fases de la luna en el ciclo diario de la precipitación en los Andes tropicales de Colombia. *Revista Meteorología Colombiana*, **5**: 3-12.
- Poveda, G., Mesa, Ó., Agudelo, P., Álvarez, L., Arias, P., Moreno, H., Salazar, L., Toro, V., Vieira, S., Jaramillo, A. & Guzmán, O.** (2002b). Diagnóstico del ciclo diario de la precipitación en los Andes tropicales. *Revista Meteorología Colombiana*, **5**: 23-30.
- Poveda, G., Mesa, Ó., Toro, V., Agudelo, P., Álvarez, J., Arias, P., Moreno, H. & Salazar, L.** (2002c). Diagnóstico del ciclo anual y efectos del ENSO sobre la intensidad máxima de lluvias de duración entre 1 y 24 horas en los andes tropicales. *Revista Meteorología Colombiana*, **5**: 67-74.
- Poveda, G.** (2004). La hidroclimatología de Colombia: una síntesis desde la escala inter-decadal hasta la escala diaria. *Revista Academia Colombiana de Ciencias*, **28** (107): 201-222.
- Poveda, G., Mesa, Ó., Salazar, L., Arias, P., Moreno, H., Vieira, S., Agudelo, P., Toro, V. & Álvarez, J.** (2005). The diurnal cycle of precipitation in the tropical Andes of Colombia. *Monthly Weather Review*, **133**: 228-240.
- Puente, C.** (1996). A new approach to hydrologic modeling: derived distribution revisited. *Journal of Hydrology*, **187**: 65-80.
- Puente, C. & Obregón, C.** (1996). A deterministic geometric representation of temporal rainfall: results for a storm in Boston. *Water Resources Research*, **32**: 2825-2839.
- Rodríguez-Iturbe, I., Gupta, V. & Waymire, E.** (1984). Scale considerations in the modeling of temporal rainfall. *Water Resources Research*, **20** (11): 1611-1619.
- Rodríguez-Iturbe, I.** (1986). Scale of fluctuation of rainfall models. *Journal of Water Resources Research*, **22** (9S): 15S-37S.
- Rodríguez-Iturbe, I., de Power, F. & Valdés, J.** (1987). Rectangular pulses point process models for rainfall: Analysis of empirical data. *Journal of Geophysical Research: Atmosphere*, **92** (D8): 9645-9656.
- Rodríguez-Iturbe, I.** Exploring complexity in the structure of rainfall. (1991). *Advances in Water Resources*, **14** (4): 162-167.
- Schertzer, D. & Lovejoy, S.** (2011). Multifractals, generalized scale invariance and complexity in geophysics. *Bifurcation and Chaos*, **21** (12): 3417-3456.
- Tessier, Y., Lovejoy, S. & Schertzer, D.** (1993). Universal multifractals: theory and observations for rain and clouds. *Journal of Apply Meteorology*, **32**: 223-250.

Líneas prohibidas de alta ionización en una muestra de cuásares

Giovanni Cardona^{1,*}, José Gregorio Portilla²

¹Universidad Pedagógica Nacional

²Observatorio Astronómico Nacional, Facultad de Ciencias, Sede Bogotá, Universidad Nacional de Colombia

Resumen

La identificación simultánea y el estudio de las líneas prohibidas de alta ionización [Fe VII] $\lambda 6087$ y [Ne V] $\lambda 3426$ en cuásares es el interés de este artículo. Para tal efecto, se estudió una muestra de 1423 espectros de cuásares en el rango óptico obtenidos del Sloan Digital Sky Survey (SDSS) con un criterio de selección para el valor de corrimiento al rojo de $0.14 \leq z \leq 0.2$. De estos objetos solo 18 presentaron las líneas de interés de forma simultánea. Con la razón del flujo de estas líneas y otras cercanas se realizó un diagrama de diagnóstico que permitió contrastar con modelos de fotoionización con el fin de determinar condiciones físicas para la zona de emisión de las líneas coronales.

Palabras clave. Cuásar, línea coronal, código de fotoionización

Abstract

The simultaneous identification of the high ionization forbidden lines [Fe VII] $\lambda 6087$ and [Ne V] $\lambda 3426$ in spectra of quasars is the main interest of this paper. In order to obtain information of these lines we examined a sample of 1423 spectra of quasars obtained from the Sloan Digital Sky Survey (SDSS) utilizing a selection criteria for the redshift ($0.14 \leq z \leq 0.2$). We only detect 18 objects with the two lines of interest. With the fluxes of coronal lines and other forbidden lines we constructed a diagnostic diagram which allowed us to superimpose photoionization models carried out in CLOUDY in order to determine suitable physical conditions of the emission zone.

Key words. Quasar, coronal lines, photoionization code

Introducción

Entre las líneas de emisión identificadas en los espectros de algunas galaxias activas están las líneas coronales (LCs). Se designan con este nombre a líneas de emisiones que surgen de transiciones prohibidas provenientes de especies químicas altamente ionizadas. Ejemplo de ello son [Fe VII] $\lambda 5721 \text{ \AA}$ y [Fe XIV] $\lambda 5303 \text{ \AA}$. Las líneas coronales han sido identificadas y estudiadas en galaxias

Seyfert hace más de 60 años y han sido detectadas también en otros objetos astrofísicos de características energéticas notables, como los remanentes de supernovas y nebulosas planetarias. El nombre “coronales” se debe a que tales emisiones fueron descubiertas por primera vez en la corona solar. Desde el punto de vista físico las líneas coronales son aquellas que se originan por transiciones prohibidas de especies químicas con potenciales de ionización del orden o mayor a 100 eV (Oliva, 1997).

*Correspondencia: Giovanni Cardona, gicardona@hotmail.com

Recibido: 5 de mayo de 2015

Aceptado: 9 de julio de 2015

A pesar de su relativamente poca intensidad, que en muchos casos apenas se distinguen del nivel del ruido, las líneas coronales se detectan en los espectros de algunos cuásares (**Appenzeller & Wagner, 1997**). Estos son objetos cuyo espectro se caracteriza por presentar un gran corrimiento al rojo (z) con notables variabilidades en varias zonas del espectro electromagnético. Se suelen interpretar como núcleos de galaxias activas ubicados a enormes distancias. Autores como **Véron-Cetty & Véron (2006)** los definen, para distinguirlos de las galaxias Seyfert y los LINERs, como núcleos de galaxias con magnitudes absolutas en el azul (M_B) más brillantes de -22.25 .

En esta comunicación nos hemos concentrado en las líneas coronales que suelen aparecer con más frecuencia en un espectro óptico de un cuásar con moderado corrimiento al rojo: [Fe VII] $\lambda 6087$ y [Ne V] $\lambda 3426$, las cuales, presumiblemente, son generadas en la misma región, pues sus densidades críticas son semejantes ($1.6 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ y $3.6 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$ respectivamente) y sus potenciales de ionización son casi idénticos (97 y 99 eV, respectivamente). Aquí se investiga la dependencia de la emisión de las líneas coronales con respecto a condiciones físicas de la zona de emisión basados en modelos de fotoionización los cuales permiten encontrar valores pertinentes para la densidad, nivel de ionización y densidad columnal de la zona emisora.

Muestra de cuásares

El Sloan Digital Sky Survey (SDSS) una prospección del cielo fotométrica y espectroscópica que ha cubierto más de 1/3 parte del cielo, a través de observaciones hechas con un telescopio de 2.5 m situado en el observatorio Punto Apache, Nuevo México (**York et al., 2000**). Se estima que, en la actualidad, gracias a tal prospección existen más de 500 millones de objetos con observaciones fotométricas y unos 3 millones de objetos con sus espectros en el óptico, información esta disponible para cualquiera que desee consultarla a través de su página en internet¹. El método óptimo para obtener información de forma masiva del servidor del SDSS es realizar una consulta SQL que es la sigla en inglés de Lenguaje Estructurado de Peticiones. La consulta ingresa al servidor de la base de datos del SDSS y genera la muestra, la cual se puede modificar según el interés de cada usuario para ser aplicada en cantidades limitadas de tiempo. Es importante señalar que, al momento de la realización de dicha búsqueda, el *Data Release* disponible en ese entonces era el DR7 (**Abazajian et al., 2009**).

¹www.sdss.org

En lo que concierne al asunto que nos ocupa aquí, la siguiente secuencia de comandos permitió realizar la consulta de nuestro interés:

```
Select top 1600
Objid, ra, dec, z
from
SpecPhoto
where
(SpecClass=dbo.fSpecClass('QSO')
or SpecClass=dbo.fSpecClass('HIZ_QSO'))
and z between 0.1450 and 0.2000
and z Conf > 0.90
```

Esta secuencia de comandos arroja un listado de objetos de los 1600 cuásares solicitados con un intervalo especificado de z con cierto nivel de confianza. La consulta arrojó 1423 objetos. Al concentrar nuestro interés en las líneas [Fe VII] $\lambda 6087$ y [Ne V] $\lambda 3426$ a través de una inspección visual de cada espectro, solo 18 objetos (ver Tabla 1) presentaron estas líneas coronales de forma simultánea. Para la confirmación de la existencia de la línea de emisión se utilizó el criterio de que el flujo debe ser mayor o igual a tres veces la desviación estándar del continuo circundante. Es importante resaltar que en todos los 1405 cuásares restantes se identificó [Ne V] $\lambda 3426$ para estos valores de z , con diferentes intensidades dependiendo de cada objeto.

| Objeto SDSS J | z |
|--------------------|--------|
| 014238.47+000514.7 | 0.1459 |
| 074227.08+465643.0 | 0.1678 |
| 080549.74+295441.9 | 0.1612 |
| 083045.40+450235.8 | 0.1823 |
| 084635.22+465039.1 | 0.1473 |
| 090022.27+503138.0 | 0.1476 |
| 094111.13+492419.5 | 0.1647 |
| 095246.50+095617.0 | 0.1628 |
| 100121.05+061558.9 | 0.1621 |
| 103059.09+310256.0 | 0.1781 |
| 112728.78+634319.7 | 0.1643 |
| 122450.55+100545.4 | 0.1679 |
| 123022.17+662154.6 | 0.1840 |
| 133141.02-015212.4 | 0.1454 |
| 150719.93+002905.0 | 0.1822 |
| 152633.81+465712.4 | 0.1696 |
| 204717.66-054553.4 | 0.1433 |
| 230216.84+135723.5 | 0.1654 |

Tabla 1: Muestra de cuásares con su valor de corrimiento al rojo.

Los 18 espectros obtenidos fueron corregidos y sometidos a varios procesos utilizando tareas estándar

de IRAF² tales como corrección de la escala de flujo, corrección por corrimiento cosmológico, corrección por extinción galáctica y cambio de formato de fits a texto. Sin embargo, los espectros no fueron corregidos por enrojecimiento intrínseco. Un ejemplo de los mismos puede observarse en la Figura 1, donde se indican varias líneas de emisión y las dos líneas coroneales de interés.

Aquellos 18 espectros seleccionados muestran, en general, una contribución dominante por parte de la región de líneas anchas (BLR por sus siglas en inglés) y las líneas coroneales se identifican como características débiles y poco conspicuas. Otras líneas coroneales que en ocasiones son observadas en núcleos activos más cercanos tales como [Fe X] λ 6374 y [Fe XI] λ 7892 no lo fueron aquí, en razón a la tendencia de la primera en mezclarse con [O I] λ 6364 y estar fuertemente atenuada por el ala ancha de H α y, en lo que respecta a la segunda, a su no aparición por estar fuera del rango espectral.

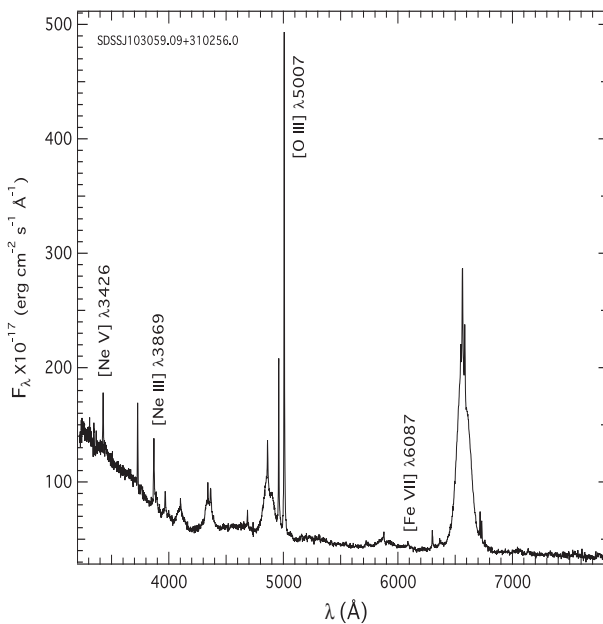


Figura 1: Espectro de emisión en el óptico del cuásar SDSS J103059.09+310256.0.

Se procedió luego a medir el flujo de las líneas de interés pues de estas se puede inferir información sobre las condiciones físicas del gas tales como la densidad y la temperatura electrónica del gas así como también indicios del mecanismo de ionización y excitación (Osterbrock & Ferland, 2006). De igual forma, del valor del ancho de las líneas a la mitad del valor máximo de flujo, se puede

extraer información cinemática del gas. Se asumió que los perfiles de línea pueden ser representados por una o varias gaussianas y el continuo debajo de cada línea fue ajustado a un polinomio de orden menor, para lo cual se empleó el programa LINER (Pogge & Owen, 1993). Se concentraron las observaciones principalmente en las líneas espectrales [Fe VII] λ 6087 y [Ne V] λ 3426 y líneas cercanas tales como [Ne III] λ 3869 y [OIII] λ 5007 de las cuales se obtuvieron sus respectivos flujos y razones (ver tabla 2).

| Objeto SDSS J | $\log([\text{Ne V}]/[\text{Ne III}])$ | $\log([\text{Fe VII}]/[\text{O III}])$ |
|--------------------|---------------------------------------|--|
| 014238.47+000514.7 | 0.520 ± 0.046 | -0.802 ± 0.124 |
| 074227.08+465643.0 | 0.144 ± 0.004 | -1.002 ± 0.088 |
| 080549.74+295441.9 | 0.119 ± 0.012 | -1.403 ± 0.112 |
| 083045.40+450235.8 | -0.021 ± 0.003 | -1.263 ± 0.063 |
| 084635.22+465039.1 | 0.288 ± 0.039 | -1.096 ± 0.142 |
| 090022.27+503138.0 | 0.141 ± 0.008 | -1.064 ± 0.092 |
| 094111.13+492419.5 | -0.022 ± 0.046 | -1.200 ± 0.118 |
| 095246.50+095617.0 | -0.089 ± 0.053 | -1.474 ± 0.152 |
| 100121.05+061558.9 | 0.098 ± 0.026 | -1.208 ± 0.126 |
| 103059.09+310256.0 | -0.189 ± 0.008 | -1.824 ± 0.127 |
| 112728.78+634319.7 | 0.118 ± 0.042 | -0.972 ± 0.040 |
| 122450.55+100545.4 | 0.647 ± 0.072 | -0.803 ± 0.147 |
| 123022.17+662154.6 | 0.082 ± 0.004 | -1.395 ± 0.100 |
| 133141.02-015212.4 | 0.406 ± 0.060 | -1.067 ± 0.120 |
| 150719.93+002905.0 | -0.228 ± 0.008 | -1.909 ± 0.115 |
| 152633.81+465712.4 | 0.000 ± 0.019 | -1.315 ± 0.122 |
| 204717.66-054553.4 | 0.082 ± 0.011 | -1.421 ± 0.023 |
| 230216.84+135723.5 | 0.133 ± 0.009 | -1.086 ± 0.105 |

Tabla 2: Razones de flujo para las líneas de interés.

Estas medidas permitieron realizar un diagrama donde se contrastó la razón [NeV]/[Ne III] en función de la razón [FeVII]/[OIII], ver Figura 2. En la literatura no se han reportado diagramas con estas líneas para cuásares. Los datos observacionales contenidos en este diagrama pueden compararse con resultados de modelos de fotoionización con el fin de determinar las condiciones físicas reinantes en la zona de emisión coronal.

Modelo de fotoionización

Se ha sugerido que el intenso continuo y las notorias líneas de emisión observadas en los espectros de los núcleos de las galaxias Seyfert y cuásares son, en últimas, debidas a la fotoionización de regiones gaseosas que es originada por una fuente central que emite enormes cantidades de radiación electromagnética (rayos X y UV principalmente). Sin embargo, no es el único: bien puede existir otro mecanismo físico alternativo responsable de la ionización tal como el originado por choques entre nubes que se desplazan a gran velocidad. La principal evidencia para tomar la fotoionización como mecanismo fundamental de generación de las líneas de emisión es

²IRAF es distribuido por el Observatorio Nacional de Astronomía Óptica que es operado por la Asociación de Universidades para la Investigación en Astronomía (AURA) bajo un acuerdo de cooperación con la Fundación Nacional de Ciencia.

que algunas de estas cambian en respuesta a los cambios en el continuo. La característica fundamental en este caso es que el gas ionizado se encuentra lejos del equilibrio térmico local. El nivel de ionización y de población no están dados por la ecuación de Saha y de Boltzmann, respectivamente, sino por el equilibrio entre los procesos de ionización y recombinación y, en general, de un equilibrio estadístico de todas las poblaciones existentes en el gas (Emerson, 1996; Bowers & Deeming, 1984). La enorme dificultad en resolver estas ecuaciones se supera con la utilización de poderosos códigos numéricos. Algunos de ellos son de libre acceso y disponibilidad, tales como CLOUDY³ (Ferland, 1996) o Mappings (Binette, Dopita & Tuohy, 1985).

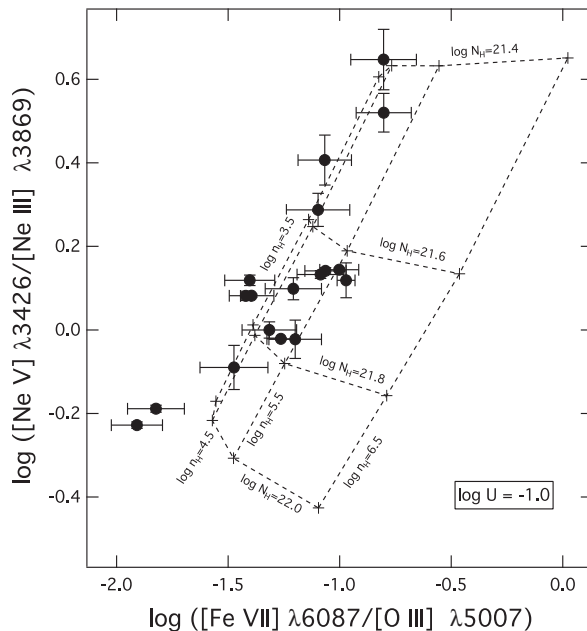


Figura 2: Superposición de los puntos observacionales (puntos negros) con los resultados del modelo de fotoionización con $U = 10^{-1}$ variando la densidad entre $10^{3.5}$ y $10^{6.5} \text{ cm}^{-3}$ y la densidad columnal entre 10^{22} y $10^{21.4} \text{ cm}^{-2}$.

Con el fin de investigar la región de emisión coronal de la muestra de cuásares desde el marco de la fotoionización se corrieron diferentes modelos usando la versión más reciente de CLOUDY (versión 13.03 (Ferland et al., 2013)). Este código de fotoionización calcula el continuo y los flujos relativos de las líneas de emisión de un gas que es calentado y ionizado por una fuente de radiación central, resolviendo simultáneamente las ecuaciones de equilibrio estadístico y térmico partiendo de un modelo que concibe una nube de geometría esférica fotoionizada

por una fuente central y especificando parámetros de entrada tales como la forma e intensidad del continuo ionizante, la densidad del gas, la densidad columnal y la composición química. Del continuo que ioniza a las nubes debe especificarse tanto su forma como intensidad en un intervalo de energía que está comprendido entre 10^{-8} Ryd ($1 \text{ Ryd} = 13.6 \text{ eV}$) a 7.354×10^6 Ryd. A pesar de que se desconoce cómo es la forma funcional del continuo ionizante de un núcleo activo, varias propuestas se han estudiado de dicho perfil para dar cuenta de los espectros estudiados. Usualmente la forma de esos perfiles van desde un cuerpo negro con temperaturas efectivas del orden de $10^5 - 10^6 \text{ K}$ pasando por combinaciones de leyes de potencia del tipo $f \propto \nu^\alpha$ (siendo f el flujo, ν la frecuencia y α un número positivo o negativo) hasta cualesquier composición de estos dos.

Una forma conveniente de escribir la cantidad de energía ionizante generada por la fuente es a través del concepto del parámetro de ionización U :

$$U = \frac{Q_H}{4\pi r^2 n_H c}, \quad (1)$$

donde Q_H es el número total de fotones con energía mayor que 1 Ryd emitida por la fuente ionizante por unidad de tiempo, r es la distancia de la fuente a la nube a ser fotoionizada, n_H es la densidad de átomos de hidrógeno contenidos en la nube por unidad de volumen y c es la velocidad de la luz.

Para el caso que nos ocupa se asumió densidad uniforme de las nubes de gas, con una geometría plano paralela y se ejecutaron modelos variando la densidad, el parámetro de ionización U y la densidad columnal N_H asumiendo la composición química solar y el continuo ionizante como combinación de varias leyes de potencia.

Rango de parámetros y modelos de fotoionización

Se asumió el continuo ionizante propuesto por Nagao et al. (2003) en la forma $f \propto \nu^\alpha$ con $\alpha = 2.5$ para $\lambda \geq 10 \mu\text{m}$, $\alpha = -1.5$ entre $10 \mu\text{m}$ y 50 keV y $\alpha = -2$ para $h\nu \geq 50 \text{ keV}$, el cual es uno de los más comunes para modelar núcleos activos de galaxias. Se consideró que las líneas coronales bien podrían generarse en nubes con densidad semejante a la existente en una típica región H II pero no tan alta como para alcanzar densidad crítica ($\sim 10^7 \text{ cm}^{-3}$), por lo que se utilizaron valores comprendidos entre $10^{3.5} \text{ cm}^{-3} < n_H < 10^{6.5} \text{ cm}^{-3}$.

Se corrieron diversos modelos con las siguientes características: el parámetro de ionización U se varió

³www.nublado.org

entre $10^{-2.5}$ a 10 y densidades columnales comprendidas (para la gran mayoría de los casos, salvo en aquellos en donde se diga explícitamente) entre 10^{20} y $10^{23.4}$ cm^{-2} . Con estas variaciones se realizaron varios scripts de entrada como el siguiente:

```
Interpolate (0.0 -3.388)
(0.0091 4.0115)(3676 -4.398)(10000000 -11.268)
hden 4.5
ionization parameter -1.5
punch continuum "cont.out"
stop effective column density 21.6
print line faint -5
print last
iterate
```

Las unidades que se utilizan en CLOUDY están en CGS y se pueden introducir de forma logarítmica. Con los resultados de estos modelos se calculó la relación de los flujos de las líneas emergentes de interés [Fe VII] λ 6087, [Ne V] λ 3426, [Ne III] λ 3869 y [O III] λ 5007, los cuales generaron una serie de puntos (representados por cruces) para ser contrastados con el diagrama de diagnóstico que contiene los puntos observacionales.

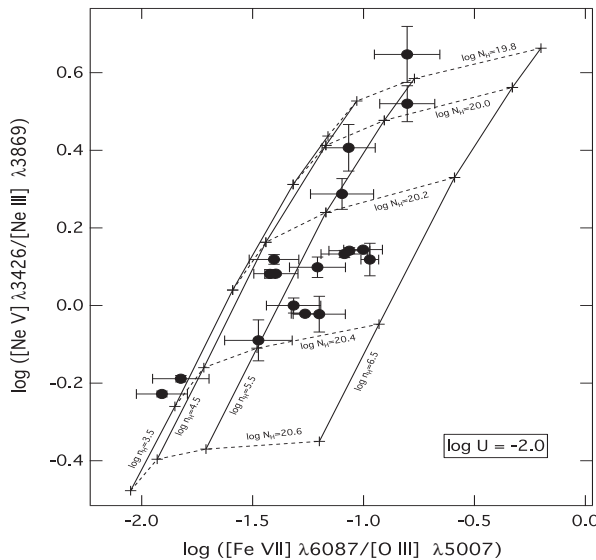


Figura 3: Superposición de los puntos observacionales (puntos negros) con los resultados del modelo de fotoionización con $U = 10^{-2}$ variando la densidad entre $10^{3.5}$ y $10^{6.5}$ cm^{-3} y la densidad columnal entre $10^{19.8}$ y $10^{20.6}$ cm^{-2} .

Las Figuras 2 y 3 presentan el contraste entre los datos observacionales (puntos negros) con los resultados del modelo de fotoionización ($U = 10^{-1}$ y $U = 10^{-2}$, respectivamente). Se encontró, para estos dos casos, que la grilla conformada por los puntos del modelo de fotoionización están distribuidas de modo tal que cubren

la mayor parte del sector de los puntos observacionales, notándose una mejor sobreposición con $U = 10^{-2}$ con rangos de densidad que va de $10^{4.5}$ a $10^{6.5}$ cm^{-3} . Este comportamiento es coherente con lo reportado por **Rodríguez-Ardila et al. (2012)**, en donde se evidenció, con base en la observación de líneas del Fe^{6+} , que las densidades electrónicas de la zona de emisión coronal tienden a presentarse con mayor frecuencia en el rango de 10^6 a 10^7 cm^{-3} ; adicionalmente, de nuevo para el caso de $U = 10^{-2}$, la gran mayoría de los puntos observacionales caen en un rango de densidad columnal entre $10^{20.0}$ y $10^{20.4}$ cm^{-2} . Al examinar distintos valores del parámetro de ionización superior a 10^{-2} es posible encontrar valores de la densidad columnal para los cuales se logra cubrir los puntos observacionales. Sin embargo, en tales casos, el código de fotoionización tiende a cubrir los puntos observacionales con valores de densidad, usualmente comprendidos entre $10^{3.5}$ y $10^{4.5}$ cm^{-3} y con valores ligeramente crecientes de la densidad columnal aunque en rangos cada vez más estrechos, lo cual no parece ser demasiado plausible. Es el caso presentado en la Figura 4, en el cual se muestran los resultados con un valor del parámetro de ionización de $U = 10$.

Por el contrario, al examinar el caso con valores del parámetro de ionización más bajos que 10^{-2} se observa que el resultado del código de fotoionización se concentra en zonas bastante alejadas de los puntos observacionales. Como un ejemplo, se muestra en la Figura 5 lo que ocurre cuando se utiliza un parámetro de fotoionización igual a $10^{-2.5}$.

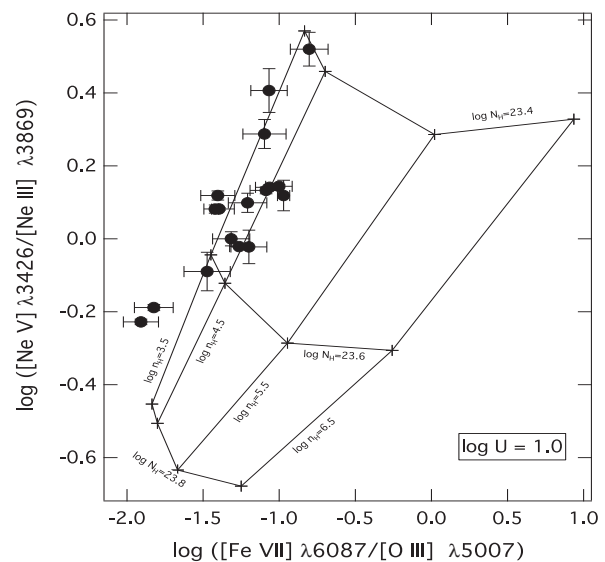


Figura 4: Superposición de los puntos observacionales (puntos negros) con los resultados del modelo de fotoionización con $U = 10$ variando la densidad entre $10^{3.5}$ y $10^{6.5}$ cm^{-3} y la densidad columnal entre $10^{23.4}$ y $10^{23.8}$ cm^{-2} .

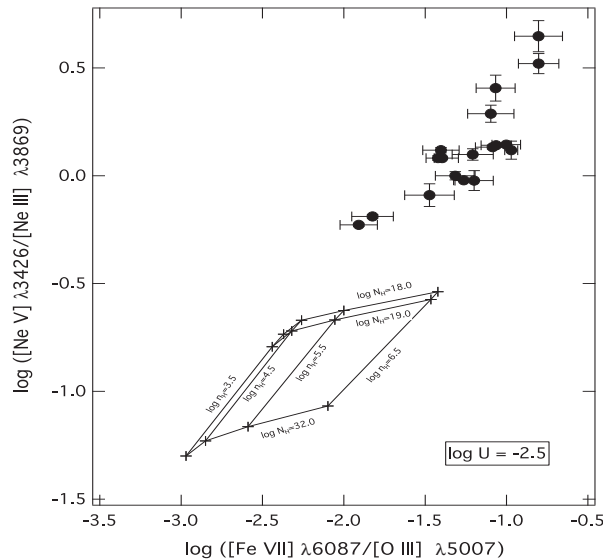


Figura 5: Superposición de los puntos observacionales (puntos negros) con los resultados del modelo de fotoionización con $U = 10^{-2.5}$ variando la densidad entre $10^{3.5}$ y $10^{6.5} \text{ cm}^{-3}$ y la densidad columnal entre 10^{18} y 10^{32} cm^{-2} .

En tal caso solo, el código de fotoionización arroja resultados comprendidos entre valores de densidad columnal anormalmente bajos ($N_H = 10^{18} \text{ cm}^{-2}$) y valores de densidad columnal de 10^{32} cm^{-2} que es el valor máximo que el código tiene en cuenta. Dichas zonas están bastante alejadas de la zona que corresponde a los puntos observacionales.

Conclusiones

Contando con el gran número de espectros del SDSS hemos logrado obtener resultados con relación a la emisión coronal existente en objetos clasificados como cuásares.

La línea de [Ne V] $\lambda 3426$ fue detectada casi en todos los cuásares examinados en tanto que la línea de [Fe VII] $\lambda 6087$ apareció (con la primera) contundentemente sólo en 18 objetos. Dos líneas casi con idéntico potencial de ionización y con semejantes densidades críticas deberían aparecer de forma simultánea con más frecuencia en este tipo de espectros. Es posible que esto se deba a un efecto de abundancia química, pues el neón es, al menos para la composición química solar, 10 veces más abundante que el hierro. La deficiencia en la presencia de líneas de hierro también podría indicar el hecho de que este elemento esté atrapado molecularmente conformando de granos que constituyen el polvo presente.

Con esos 18 objetos se construyó un diagrama de diagnóstico lo que permitió, con un modelo en particular usando el código de fotoionización Cloudy, estimar las condiciones físicas de la zona emisora. Se encontró que con un perfil ionizante con un índice α igual a -1.5 en la zona entre el IR y la mayor parte de los rayos X, se genera un rango de valores para una familia de parámetros físicos coherentes que pueden reproducir los valores observados. Éstos se reproducen más adecuadamente para valores del parámetro de ionización entre 10^{-2} y $10^{-1.5}$, con densidades electrónicas comprendidas entre $10^{4.5}$ y $10^{6.5} \text{ cm}^{-3}$. Es importante anotar que esto se logró sin necesidad de recurrir a composiciones químicas anormales. El intervalo de valores de las densidades columnales varía dependiendo de U : a mayores valores de éste, se requieren mayores valores de intervalo de densidad columnal para los cuales se logran reproducir los datos observacionales. Valores superiores del parámetro de ionización arrojan valores de densidad electrónica que ya son relativamente bajos para la zona de emisión coronal; valores más bajos de U que 10^{-2} no se acercan a la zona de los puntos observacionales con independencia del valor de la densidad columnal.

El hecho de haber obtenido un ajuste relativamente exitoso en la explicación de los puntos observacionales utilizando un modelo de fotoionización como el CLOUDY, con ciertos rangos específicos de valores, permite dar apoyo a la propuesta de que el mecanismo principal de ionización de las especies químicas involucradas sea el fujo intenso de radiación electromagnética (Nussbaumer & Osterbrock, 1970), con un continuo ionizante que permanece por especificar en su forma y en el que las LCs se producen en zonas con densidades electrónica dos o tres órdenes de magnitud superiores a los de una típica región H II.

Agradecimientos

Los autores agradecen las sugerencias y las indicaciones de parte de dos árbitros anónimos que permitieron la mejora del artículo.

La financiación para el SDSS y el SDSS-II es suministrada por la fundación Alfred P. Sloan, las Instituciones Participantes, la Fundación Nacional de Ciencia, el Departamento de Energía, la Administración Nacional de la Aeronáutica y del Espacio, la Monbukagakusho del Japón, la Sociedad Max Planck y el Concilio de Financiamiento de Educación Superior para Inglaterra. El sitio de Internet es: <http://www.sdss.org/>

Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

Bibliografía

- Abazajian K., et al.**, 2009. The Astrophysical Journal Supplement Series, **182**, 543.
- Appenzeller I., & Wagner**, 1991. Astronomy & Astrophysics, **250**, 57.
- Binette L., Dopita M. A., & Tuohy I. R.**, 1985. The Astrophysical Journal, **297**, 476.
- Bowers R. L. & Deeming T.**, 1984. Astrophysics II, Jones and Bartlett Pu. Inc., Boston.
- Emerson A.**, 1996. Interpreting Astronomical Spectra, John Wiley and Sons, New York.
- Ferland G. J.** 1996. Hazy, a brief introduction to Cloudy, Reporte interno de la Universidad de Kentucky.
- Ferland G. J., et al.** 2013. Revista Mexicana de Astronomía y Astrofísica, **49**, 137.
- Nagao T., et al.** 2003. Astronomical Journal, **125**, 1779.
- Nussbaumer H., & Osterbrock D. E.**, 1970. Astrophysical Journal, **161**, 811.
- Oliva E.**, 1997. ASP Conference series, **113**, 288.
- Osterbrock D., & Ferland G. J.**, 2006. Astrophysics of Gaseous Nebulae and Active Galactic Nuclei, University Science Books, Sausalito.
- Pogge R. W., & Owen J. M.**, 1993. Reporte interno de Ohio State University, 93-01
- Rodríguez-Ardila A., et al.** 2012. ASP Conference Series, **460**, 144.
- Véron-Cetty & Véron** 2006. A catalogue of quasars and active nuclei: 12th edition, **455**, 773.
- York D. G., et al.**, 2000. Astronomical Journal, **120**, 1579.

Preparación y caracterización de compuestos de inclusión entre Rh(III), Ni(II), 2-acetil piridina tiosemicarbazonas y β -ciclodextrina

Jorge Ivan Daza¹, Pedro F. B. Brandão², Ana Esperanza Burgos^{1,*}

¹Grupo de Investigación en Química de Coordinación y Bioinorgánica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

²Laboratorio de Microbiología Ambiental y Aplicada, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Resumen

En este trabajo se describe la preparación y caracterización de los compuestos de inclusión entre el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona (HAPTSC) y los complejos cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona) rodio(III), $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$, y cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona) níquel(II), $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$, con β -ciclodextrina (β CD) como estrategia para mejorar la solubilidad y la actividad antimicrobiana de estos compuestos. Estos compuestos fueron preparados en razón molar 1:1 entre el respectivo compuesto y la β CD. Fueron caracterizados por espectroscopia de resonancia magnética nuclear protónica y carbono-13 (RMN ¹H, ¹³C), espectroscopia de absorción en la región de infrarrojo (IR), análisis térmico (DTA/DSC) y difracción de rayos X en polvo (DRX). Los resultados obtenidos a través de estas técnicas indican la formación de los compuestos de asociación y/o inclusión parcial entre el ligante y los complejos metálicos de Rh(III) y Ni(II) con β CD. Se realizaron ensayos antimicrobianos de los complejos metálicos incluidos, como también de los compuestos libres frente a bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) y dos levaduras (*Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*). La comparación de la actividad antimicrobiana de los complejos incluidos en β CD con la actividad de los compuestos libres mostró que para el ligante incluido la actividad aumentó contra *S. aureus*, mientras que para el compuesto de inclusión de Rh(III) aumentó contra *P. aeruginosa*.

Palabras Clave: complejos de Rh(III), Complejos de Ni(II), Ciclodextrinas, 2-acetilpiridina tiosemicarbazona, Actividad antimicrobiana.

Preparation and characterization of inclusion compounds between rh(iii), ni(ii), 2-acetyl pyridine thiosemicarbazones and β -cyclodextrin

Abstract

In this paper the preparation and characterization of inclusion compounds between 2-acetylpyridine thiosemicarbazone ligand (HAPTSC) and the complexes bis(2-acetylpyridine thiosemicarbazone)rhodium(III) chloride, $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$, and bis(2-acetylpyridine thiosemicarbazone)nickel(II) chloride, $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$, with β -cyclodextrin (β CD) as a strategy to improve the solubility and antimicrobial activity of these compounds. These compounds were prepared in a molar ratio 1:1 between the respective compound and β CD, and characterized by protonic nuclear magnetic resonance and carbon-13 (NMR ¹H, ¹³C) spectroscopy, absorption in the infrared (IR) region spectroscopy, thermal analysis (DTA/DSC) and X-ray diffraction in powder (XRD). The results obtained through these techniques indicate the formation of association compounds and/or partial inclusion between the ligand and the Rh(III) and Ni(II) metal complexes with β CD. Antimicrobial assays were carried out with the enclosed metal complexes and the free compounds against Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) bacteria and two yeast (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*). The comparison of the antimicrobial activity of the β CD enclosed complex with the activity of the free compounds showed that the enclosed ligand increased its activity against *S. aureus*, whereas the enclosed Rh(III) compound increased its activity against *P. aeruginosa*.

Key words: Complexes of Rh(III), Complexes of Ni(II), Cyclodextrins, 2-acetylpyridine thiosemicarbazone, Biological activity.

Introducción

Las tiosemicarbazonas y sus complejos con metales de transición son consideradas de gran interés químico y biológico, porque presentan diversas propiedades farmacológicas, que incluyen antineoplásica, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antimalárica (Beraldo & Gambino, 2004; Tenório et al., 2005; Beraldo, 2004; Gupta, 1994; Reis et al., 2010). Asimismo, muchos complejos de Rh(III) y Ni(II) con ligantes que presentan en su estructura átomos de N y S donores como en el caso de las tiosemicarbazonas, presentan actividad biológica antitumoral, antibacteriana, antifúngica, antiviral y antimalárica (Kasuga et al., 2001; Beraldo & Gambino, 2004; Beraldo, 2004; Tenório et al., 2005; Krishnan et al., 2008; Lobana, Sharma, Bawa y Khanna, 2009; Tamayo, Burgos y Brandão, 2014), lo que ha impulsado notablemente el estudio de este tipo de compuestos.

Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos constituidos por unidades de glucopiranosas, unidas a través de enlaces $\alpha(1-4)$. Las ciclodextrinas más importantes son la α CD, β CD y γ CD, formadas por 6, 7 y 8 unidades de glucosa, respectivamente. Las CDs presentan una estructura en forma de cono truncado (hueco). Este tipo de estructura presenta una cavidad de carácter hidrofóbico y apolar, que permite incluir una gran variedad de moléculas en solución acuosa como en fase sólida (Szejtli, 1998; Del Valle, 2004; Kayaci, Ertas y Uyar, 2013a Kettel, Schaefer, Groll y Moeller, 2014;). Cuando se forman estos compuestos de inclusión, se pueden modificar las propiedades físico-químicas y biológicas de las moléculas huéspedes (Burgos, Belchior y Sinisterra, 2002; Burgos, Okio y Sinisterra, 2012; Kayaci, Umu, Tekinay y Uyar, 2013b), como en el caso de los compuestos de Rh(III), Ni(II), con el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona.

Este trabajo describe la preparación y caracterización de los compuestos de inclusión parcial y/o asociación entre la β CD y los complejos de coordinación $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ y $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$, como del ligante HAPTSC, los cuales fueron usados como moléculas huésped. Además, se estudió la actividad antimicrobiana de los compuestos de inclusión y se comparó con la de los compuestos libres. La actividad antimicrobiana de los compuestos sintetizados fue evaluada frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y dos cepas de levaduras.

Materiales y métodos

Síntesis del ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona (HAPTSC)

El compuesto 2-acetilpiridina se sintetizó siguiendo los protocolos indicados en la literatura por Anderson, Duca y Scudi (1952) y por Klayman et al. (1979). Se disolvieron en

etanol cantidades estequiométricas en proporción molar 1:1 de 2-acetilpiridina y tiosemicarbazida, se adicionaron cuatro gotas de ácido acético glacial y se dejó bajo reflujo durante 4 h. Se obtuvo una solución de color amarillo brillante, fue enfriada en baño de hielo, se formó un precipitado de color blanco, se filtró y se lavó con agua caliente para retirar los precursores que no habían reaccionado. El compuesto fue secado en un desecador al vacío durante 12 h. El ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona presentó un rendimiento de reacción del 60%, con un punto de fusión entre 159°C y 160°C. El compuesto obtenido presenta características similares a las reportadas en la literatura (Anderson, et al., 1952; Klayman et al., 1979).

El ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona en la región ultravioleta-visible presenta tres bandas características entre 200 y 320 nm, con coeficientes de extinción molar mayores a 1000 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, para las transiciones tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ del anillo piridínico de la tiosemicarbazona. Otras posibles transiciones en la molécula son las $n \rightarrow \pi^*$ debido a la presencia de átomos con pares de electrones libres, sus coeficientes de extinción molar se encuentran entre 10 y 100 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, no se observan debido a que estas absorciones son de baja intensidad comparadas con las $\pi \rightarrow \pi^*$ (Skoog, Holler y Nieman, 2001). Al comparar los valores experimentales con los que se encuentran reportados en la literatura (Kovalá-Demertzi et al., 2001), se observa que las bandas aparecen a longitudes de onda similares y los coeficientes de extinción molar (ϵ) se encuentran en el intervalo de valores esperados, indicando la obtención del ligante.

Síntesis del complejo de coordinación $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$

El compuesto de coordinación de rodio(III) fue sintetizado por métodos modificados relatados en la literatura por Offiong y Martelli (Offiong & Martelli, 1997). Se disolvieron cantidades estequiométricas en proporción molar 1:2 de cloruro de rodio(III) y 2-acetilpiridina tiosemicarbazona en etanol absoluto. La solución fue dejada bajo reflujo y agitación constante durante 24 h. Se obtuvo un precipitado de color naranja oscuro, fue filtrado, lavado con éter etílico y secado en un desecador al vacío durante 12 h.

El cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona)rodio(III) en la región ultravioleta-visible, presenta una banda característica a 318 nm, con coeficiente de extinción molar de 44976 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, característica de transiciones electrónicas del metal del HOMO (orbital molecular ocupado de más alta energía, *Highest Occupied Molecular Orbital*) al LUMO (orbital molecular no ocupado de más baja energía, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) por influencia del ligante en la estructura, correspondiente a transferencia de carga entre el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona y el metal central. Estos resultados obtenidos fueron muy similares en magnitud a los que se encuentran reportados en la literatura (Offiong & Martelli, 1997; Kovalá-Demertzi et al., 2001; Skoog et al., 2001).

*Correspondencia:

Ana Esperanza Burgos, aeburgosc@unal.edu.co

Recibido: 5 de marzo de 2015

Aceptado: 2 de julio de 2015

El momento magnético efectivo (μ_{eff}) para el cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona)rodio(III) fue obtenido por triplicado y su valor promedio fue 0,75 MB a 19°C. Cuando se compara con el valor esperado para un compuesto de una configuración electrónica d^6 ($S=0$) se obtiene un μ_{eff} de 0 MB, al aplicar la ecuación $\mu_{\text{eff}} = \sqrt{n(n+2)}$. Si presentara un electrón desapareado, aplicando la misma ecuación, se obtiene un μ_{eff} de 1,72 MB, lo cual está muy lejos del valor obtenido experimentalmente, indicando que la especie es diamagnética. Este resultado indica que el Rh(III) en el complejo sintetizado tiene una configuración de spin bajo (campo alto en teoría de campo cristalino).

Síntesis del complejo de coordinación $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$

El compuesto de coordinación de níquel(II) fue sintetizado por el método relatado en la literatura por Kasuga et al. (2001) para ser usado como molécula huésped en la preparación de compuestos de inclusión y/o asociación. Se disolvieron en etanol cantidades estequiométricas en proporción molar 1:2 de cloruro de níquel(II) y 2-acetilpiridina tiosemicarbazona, la solución fue dejada bajo reflujo con agitación constante durante 3 h. Se obtuvo un precipitado café naranja. Se filtró y lavó con éter etílico, hasta obtener un filtrado incoloro, el compuesto se secó en un desecador al vacío durante 12 h.

El cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona)níquel(II) presenta dos bandas características en la región ultravioleta visible. Una banda fue observada a 372 nm asignada a la transición de los electrones del metal del HOMO al LUMO por influencia del ligante en la estructura. La otra banda en 292 nm asignada a la transición de los electrones π del anillo piridínico de la estructura de la tiosemicarbazona tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Las bandas de absorción en el ultravioleta-visible obtenidas para este complejo son similares a las reportadas en la literatura Kasuga et al. (2001).

El momento magnético efectivo (μ_{eff}) para el cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona)níquel(II) fue determinado por triplicado y el valor promedio fue de 3,20 MB a 19 °C. Cuando se compara con el valor reportado en la literatura (2,88 MB a 25 °C; Kasuga et al., 2001), este valor corresponde con el valor teórico esperado para un compuesto que tenga una configuración electrónica d^8 , $S=1$ (S momento magnético de spin).

Preparación de los compuestos de inclusión con β -ciclodextrina

Los compuestos de inclusión parcial y/o asociación fueron preparados por métodos modificados descritos en la literatura (Sinisterra, Shastri, Najjar y Langer, 1999; Burgos et al., 2002; Da Silva, Empis y Teixeira-Dias, 2002; Calderini & Pessine, 2008; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012). Se disolvieron cantidades estequiométricas 1:1 del complejo metálico de Rh(III), con β CD, en 20 mL de agua deionizada. La mezcla fue dejada bajo agitación constante por 24 h, a temperatura ambiente. La solución fue congelada

en nitrógeno líquido y liofilizada durante 48 h, hasta obtener el sólido correspondiente. El mismo procedimiento de preparación anterior fue usado para el complejo de Ni(II) y el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona (HAPTSC) con β CD.

Para efectos de comparación, se preparó una mezcla física en relación molar 1:1 entre el complejo de Rh(III) y la β CD. Los sólidos fueron triturados separadamente en un mortero de ágata y luego mezclados hasta obtener una disolución sólida homogénea. También fue preparada de la misma manera descrita anteriormente la mezcla física para el complejo de Ni(II) con la β CD ($[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2/\beta\text{CD}$) y para el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona con β CD.

Caracterización de los compuestos

La caracterización de los compuestos obtenidos en este trabajo se realizó por diferentes técnicas espectroscópicas y propiedades físico-químicas. Los puntos de fusión de las muestras fueron obtenidos en un equipo Mel-Temp II (Laboratoy Devices Inc.). Los espectros ultravioleta-visible (UV-visible) fueron obtenidos en un equipo Nanodrop 2000c Spectrophotometer (Thermo Scientific) en cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Los espectros de absorción en la región de infrarrojo (IR) fueron obtenidos en un equipo Nicolet iS10 Spectrometer (Thermo Fisher Scientific) en pastillas de KBr y en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} . Los espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN y el experimento de ^{13}C DEPT-135 fueron obtenidos en un espectrofotómetro Bruker Avance 400 (400 MHz), empleando como solvente $\text{DMSO}-d_6$ y TMS como patrón interno. La susceptibilidad magnética de los compuestos de coordinación fue obtenida en un equipo Magnetic Susceptibility Balance (Alfa Aesar). Los análisis de la muestra por TGA/DSC se realizaron en un equipo Rheometrics STA 500 (Rheometrics Scientific Inc.), en atmósfera de argón y a una rampa de calentamiento de 10 °C/min. La cantidad de muestra utilizada para las curvas TGA y DSC fue de 2.5 mg. Los análisis de las muestras por medio de difracción de rayos X en polvo (DRX) fueron obtenidos en un difractómetro de rayos X Panalytical X'pert Pro MPD (Pananalytical B.V.) con una radiación $\text{CuK}\alpha$ de 1,5405 Å, en ángulo 2θ variando de 4 a 60 grados.

Ensayos de actividad antimicrobiana de los compuestos

Los ensayos de actividad antimicrobiana fueron evaluados por MIC (concentración mínima inhibitoria), según Kasuga et al. (2001). Se usaron como microorganismos de prueba cuatro bacterias, dos de tipo Gram-negativa (*Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* sp) y dos de tipo Gram-positiva (*Bacillus subtilis* sp. y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213), así como dos levaduras (*Candida albicans* ATCC 10231 y *Saccharomyces cerevisiae* NRRL-Y 12843). El método utilizado fue la difusión radial en cajas de Petri con medio de cultivo respectivo para cada tipo de microorganismo: para bacterias se utilizó agar de soya triptica (Tryptic Soy Agar-TSA, Scharlau) y para levaduras se usó agar papa dextrosa (Potato Dextrose Agar-PDA, Merck).

Se tomaron 100 μL de suspensión de microorganismo en solución salina 0,9% p/v con una densidad óptica (660 nm) entre 0,1 y 0,2 (que corresponde a una concentración de células en la escala de McFarland de 0,5) y con un rastrillo de vidrio se esparció por toda la superficie de la caja con el medio de cultivo respectivo para el microorganismo estudiado, dejándose secar. Luego se abrieron siete pozos en el agar con un sacabocados estéril de 3 mm de diámetro (uno en el centro y los otros seis concéntricos a este, cercanos a la pared de la caja de Petri) para sembrar las muestras de los compuestos a probar, disueltas en una solución que contiene 30% de etanol, 3% de DMSO y 5% de etilenglicol para los compuestos de Ni(II) libre e incluido, Rh(II) incluido y el ligante incluido en la βCD y en DMSO para el compuesto de Rh(III) libre parcialmente soluble y el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona insolubles en agua. En cada pozo exterior se sembraron 100 μL de solución patrón de cada compuesto en el rango de concentraciones entre 1000 y 100 ppm (las concentraciones trabajadas fueron 1000, 750, 500, 250, 125 y 100 ppm respectivamente) y en el pozo central se sembró 50 μL de un antibiótico como control positivo (para las bacterias *E. coli*, *B. subtilis* y *S. aureus* se utilizó como control cefalotina 40 mg/mL; para *P. aeruginosa* se utilizó como control ciprofloxacina 0,3%; para las levaduras se utilizó como control el clotrimazol 1%). Se dejaron las cajas de Petri en incubadora durante el tiempo necesario para el crecimiento del microorganismo respectivo (24 h para las bacterias a 35-37 °C y 48 h para las levaduras a 20 °C) y se midieron los halos de inhibición formados en cada pozo. La mínima concentración inhibitoria (MIC) fue determinada por la menor concentración en la cual se presentó inhibición en el crecimiento del microorganismo estudiado.

Resultados y discusión

El espectro de IR del compuesto de inclusión parcial y/o asociación, entre el $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ y βCD ($[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3/\beta\text{CD}$) (Figura 1S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/204/1004>), mostró un afinamiento de las bandas en 3400 a 3100 cm^{-1} y 1150 a 1000 cm^{-1} atribuidas a los estiramientos $\nu(\text{O-H})$ y $\nu(\text{C-O-C})$, respectivamente cuando fue comparado con el espectro de la mezcla física y la βCD . Además, las bandas de la βCD en torno de 1630 y 1300-1400 cm^{-1} asignadas a la deformación de $\delta(\text{OH})$ y $\delta(\text{C-H})$ no fueron observadas. También, la disminución en la intensidad de las bandas del compuesto de coordinación de Rh(III) en 1600 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos $\nu(\text{C=N})$ y en 900 a 700 cm^{-1} correspondientes a la tensión $\nu(\text{C=S})$. Estos resultados sugieren la formación de compuestos de inclusión parcial y/o asociación, mediante interacciones intermoleculares y la formación de puentes de hidrógeno entre el bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona)rodio(III) con la βCD de tipo hospedero-huésped (*host-guess*). El afinamiento de estas bandas ocurre tanto en los compuestos de asociación como en la mezcla física, sugiriendo que estos compuestos

presentan, también en estado sólido, asociaciones de tipo hospedero-huésped por la parte externa de la βCD a través de interacciones débiles de tipo van der Waals, dipolo-dipolo y enlaces de hidrógeno (Sinisterra, Shastri, Najjar y Langer, 1999; Burgos et al., 2002; De Sousa et al., 2008; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012).

Los espectros de infrarrojo de la βCD , del $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$, de su compuesto de asociación y su mezcla física, los de HAPTSC, su respectivo compuesto de asociación como el de su mezcla física, mostraron comportamientos similares descritos anteriormente para el $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$.

Las curvas TGA y DSC de la βCD , muestran dos eventos térmicos bien definidos. El primero, debido a la salida de aproximadamente 11 moléculas de agua, entre 30°C y 120°C con un máximo en 80°C. Estas moléculas están localizadas en la cavidad como aguas de inclusión y entre las moléculas de las CDs, como aguas intersticiales, manteniendo la estructura de la βCD (Kohata, Jyodoi y Ohyoshi, 1993; Sinisterra et al., 1999; Giordano, Novak y Moyano, 2001; Burgos et al., 2002; De Sousa et al., 2008; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012). En seguida de este evento, la curva TGA de la βCD muestra estabilidad térmica hasta temperaturas de 300°C. El segundo evento térmico, entre 280°C y 370°C, con un máximo en 320°C, asociado a la pérdida de masa del 86% aproximadamente, correspondiente a la descomposición del anillo glicosídico de la βCD , con formación de residuos carbonizados (Kohata et al., 1993; Giordano et al., 2001; Burgos et al., 2002; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012). Estos mismos fenómenos térmicos son también observados en la curva DSC entre 80°C y 320°C, como eventos endotérmicos, debido a la pérdida de moléculas de agua y la descomposición de la βCD .

La curva TGA para el complejo $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ (Figura 2S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/204/1005>), presenta una pérdida de masa del 5%, entre 30°C y 100°C que corresponde a la salida de aproximadamente 2 moléculas de agua de hidratación del complejo. Se observa otro evento entre 120°C y 250°C, correspondiente a la pérdida del 38% de masa, asociado con la fusión y descomposición parcial del complejo de Rh(III). Este complejo continúa perdiendo masa constante hasta 500°C, que corresponde a la descomposición del complejo hasta dejar un residuo del 19% correspondiente probablemente al Rh metálico.

La curva TGA para el compuesto de inclusión parcial y/o asociación del Rh(III), muestra tres eventos bien definidos. A temperaturas entre 30°C y 120°C, con una pérdida de masa del 11%, correspondiente a la salida de aproximadamente 13 moléculas de agua. De ellas, 11 moléculas de agua corresponden a la βCD y 2 al complejo metálico. Este resultado sugiere la formación de interacciones de lado de afuera de la βCD formando un compuesto de asociación con el complejo metálico. Se verifica otro evento térmico

entre 150°C y 234°C, con una pérdida de masa del 15%, que corresponde a la descomposición del complejo metálico de Rh(III) libre. A partir de 234°C hasta aproximadamente 360°C, se observa una pérdida de masa relacionada con termodescomposición del complejo y de la β CD en el complejo de asociación formado. Este resultado indica la formación de interacciones de fuerzas de van der Waals y enlaces de hidrógeno cuando se forma el compuesto de asociación entre la β CD y el complejo metálico de Rh(III). Se obtiene un residuo del 17% correspondiente posiblemente al rodio metálico. Cuando se compara la curva TGA del compuesto de asociación del Rh(III) con el de la mezcla física (Figura 2), se observa un comportamiento térmico similar, sugiriendo que en estado sólido el complejo $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ sufre interacciones débiles con la β -CD, hospedero-huésped. También, se observa una mayor estabilidad térmica cuando se compara el residuo obtenido de asociación del complejo de Rh(III) con el obtenido en la termodescomposición de la β CD libre y la mezcla física, y menor estabilidad térmica cuando se compara con $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ libre, sugiriendo nuevas interacciones β CD-complejo de Rh(III).

La curva DSC (Figura 1) del compuesto de asociación del $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$, presenta tres eventos térmicos. El primero está relacionado con la salida de las moléculas de agua. El segundo y tercer evento endotérmico, asociado con la fusión y termodescomposición del compuesto de asociación. La curva DSC de la mezcla física, comparada con la del compuesto de asociación de Rh(III), muestra un perfil de termodescomposición similar, pero se evidencia la aparición de un pico endotérmico a 287°C, que corresponde a la termodescomposición de la β CD libre. Estos resultados sugieren que en estado sólido se forman interacciones débiles entre las moléculas del complejo de Rh(III) con la β CD.

Analizando la curva TGA (Figura 3S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/204/1006>), del $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$, el compuesto presenta estabilidad en el intervalo de temperatura entre 25°C a 200°C, la descomposición térmica del compuesto ocurre en dos eventos: entre 200°C y 380°C, se presenta una pérdida de masa del 52%, debida a la termodescomposición parcial del compuesto. A partir de 480°C, se presenta otra pérdida de masa, de aproximadamente el 35,5%, asociado con la termodescomposición total del complejo metálico, quedando como residuo probablemente el metal.

La curva TGA para el compuesto de asociación y/o inclusión parcial del Ni(II) (Figura 3S), muestra una pérdida de masa del 12%, a una temperatura entre 50°C y 110°C, corresponde a la salida de 11 moléculas de agua. Este resultado sugiere que el complejo metálico no se encuentra dentro de la cavidad de la β CD, formando un compuesto de inclusión, si no fuera de ella formando un compuesto de asociación. Se presenta una segunda pérdida de masa del 77%, entre 180°C

y 354°C, que corresponde a la fusión y degradación del anillo de la β -ciclodextrina, seguido de la descomposición del compuesto. A partir de esta temperatura continua la pérdida de masa constante, hasta quedar un residuo del 5% correspondiente al metal.

Cuando se comparan las curvas TGA para el compuesto de asociación del Ni(II) y la mezcla física (Figura 3S), se observa un comportamiento térmico semejante. Esto es debido, a que cuando estas dos moléculas entran en contacto, ocurre entre ellas algún tipo de interacciones muy débiles como de van der Waals o enlaces de hidrógeno (Kohata et al., 1993; Burgos et al., 2002; De Sousa et al., 2008; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012). Además, se observa mayor estabilidad térmica cuando se compara el residuo obtenido de la termodescomposición del compuesto de asociación del Ni(II) con el de la β CD libre y menos estabilidad térmica, cuando se compara con el complejo de Ni(II) libre y la mezcla física, sugiriendo la formación de nuevas interacciones entre la β CD y el complejo de Ni(II) asociado.

La curva DSC para el compuesto de coordinación de níquel(II) (Figura 2), presenta un pico endotérmico con un mínimo a una temperatura de 284°C, que corresponde

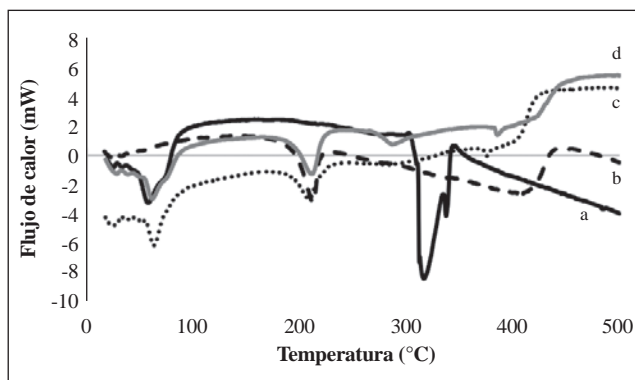


Figura 1. Curvas DSC para: a. β CD (negra), b. $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ (discontinua), c. compuesto de asociación $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3/\beta$ CD (punteada), d. mezcla física (gris).

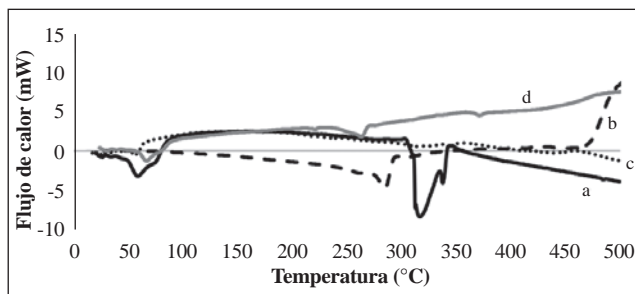


Figura 2. Curvas DSC para: a. β CD (negra), b. $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$ (discontinua), c. compuesto de asociación $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2/\beta$ CD (punteada), d. mezcla física (gris).

a la termodescomposición del compuesto de coordinación de Ni(II); este resultado obtenido es corroborado con los resultados encontrados en la curva de TGA para este compuesto (Figura 3S).

La curva DSC del compuesto de asociación del bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona)Ni(II) (Figura 2), presenta un pico endotérmico, asociado a la pérdida de moléculas de agua y otro evento endotérmico, indicando la formación de nuevas interacciones entre este compuesto y la β CD. Cuando se compara la curva DSC del compuesto de asociación con la curva DSC de la mezcla física, se observa un comportamiento diferente en su termodescomposición. Las curvas DTG y DSC de la mezcla física del complejo metálico de Ni(II) (Figura 2 y Figura 3S), se pueden interpretar como una superposición de las curvas de los componentes libres.

La curva TGA del ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona (Figura 4S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/204/1007>), presenta una pérdida de masa del 4% aproximadamente, a 100°C, que corresponde a la molécula de agua de hidratación (Steiner & Koellner, 1994; Giordano et al., 2001; Burgos et al., 2002; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012) seguida de una estabilidad térmica entre 100°C a 180°C. A partir de 180°C se presenta una pérdida de masa del 84% aproximadamente, asociada a la fusión y descomposición del ligante.

La curva TGA del compuesto de asociación del ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona con la β -ciclodextrina (Figura 4S) presenta una primera pérdida de masa de aproximadamente el 14% a una temperatura aproximadamente a 120°C, que corresponde a la pérdida de 12 moléculas de agua: 11 pertenecen a la β CD y la otra, el agua de hidratación del ligante. Estos resultados sugieren la formación de un compuesto de asociación entre la β CD y el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona. Luego se presenta una pérdida de masa de 9% entre 180°C y 250°C, que corresponde a la termodescomposición del ligante libre. La pérdida de masa de 86% aproximadamente, entre 270°C y 370°C, corresponde a la descomposición del ligante junto con la termodescomposición de la β CD en el compuesto de asociación formado, sugiriendo la formación de interacciones de puentes de hidrógeno y fuerzas débiles entre el ligante y la ciclodextrina en el compuesto de asociación.

Cuando fueron comparadas las curvas TGA del compuesto de asociación con la curva TGA de la mezcla física entre el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona y la β -ciclodextrina, se observó que el perfil de termodescomposición fue muy similar. Estos resultados sugieren que en estado sólido (mezcla física), se generan fuerzas intermoleculares entre la β CD y ligante HAPTSC.

La curva de DSC de la 2-acetilpiridina tiosemicarbazona (Figura 3), presenta un primer evento endotérmico a 90°C, que indica la pérdida de agua de hidratación, que corrobora el

resultado obtenido con la curva TGA (Figura 4S). Se presenta un segundo evento endotérmico a 156°C aproximadamente, que corresponde posiblemente al punto de fusión del ligante. El tercer pico endotérmico, a una temperatura de 196°C indica la descomposición del compuesto.

La curva DSC del compuesto de asociación entre el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona con la β CD, presenta un evento endotérmico que está relacionado con la salida de las moléculas de agua de inclusión e hidratación a temperaturas menores a 100°C, con un mínimo a 68°C, el segundo y tercer evento, endotérmico a temperaturas de 161°C y 330°C respectivamente, relacionados con la fusión seguida de la descomposición del compuesto de asociación. Comparando la curva DSC obtenida para el compuesto de asociación con la curva DSC de la mezcla física entre el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona y la β CD (Figura 3), ambas curvas de DSC presentan un comportamiento de degradación térmica similar, lo cual indica que en estado sólido existen interacciones entre las moléculas, como enlaces de hidrógeno, de van der Waals y dipolo-dipolo.

Difracción de rayos X (DRX)

Al comparar el patrón de difracción de la β CD, que presenta un sistema policristalino (Figura 4), el complejo de Rh(III) y la mezcla física con el patrón de difracción del

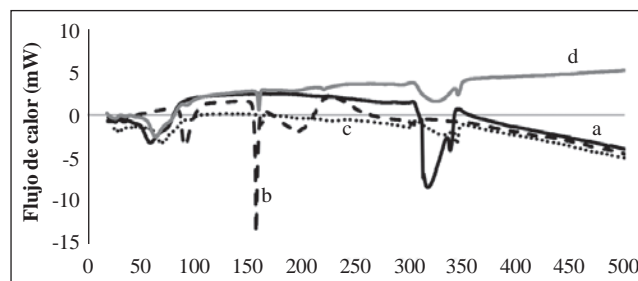


Figura 3. Curvas DSC para: a. β CD (negra), b. HAPTSC (discontinua), c. compuesto de asociación HAPTSC/ β CD (punteada), d. mezcla física (gris).

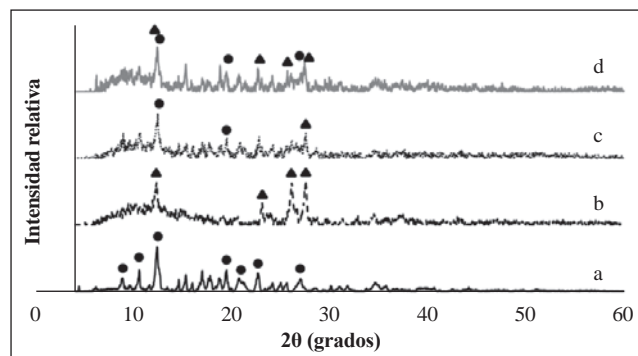


Figura 4. Difractogramas de rayos X para: a. β CD (negra), b. $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ (discontinua), c. compuesto de asociación $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3/\beta$ CD (punteada), d. mezcla física (gris).

compuesto de asociación y/o inclusión parcial, se verifica que en el compuesto de asociación están ausentes gran cantidad de picos característicos de los compuestos libres y no aparecen nuevos, sugiriendo una estructura diferente, debido a la existencia de interacciones de tipo van der Waals, interacciones hidrofóbicas y electrostáticas o enlaces de hidrógeno cuando se forma el compuesto de asociación. Por otro lado, cuando son comparados los patrones de difracción de la β CD con la mezcla física, presenta un comportamiento diferente al compuesto de asociación, interpretándose como una “superposición” de los compuestos libres, β CD y complejo de Rh(III).

Fue observado un comportamiento similar cuando se compararon los patrones de difracción del compuesto de asociación del Ni(II) con la mezcla física. Se observó también, una disminución en las intensidades relativas de los picos de la β CD, debido a la formación del compuesto de asociación (Figura 5).

Cuando se compara el patrón de difracción del compuesto de asociación con el patrón de difracción de la β CD, que es un sistema policristalino, el ligante HAPTSC y la mezcla física (Figura 6), se confirma que en el compuesto de asociación están ausentes varios picos característicos de los compuestos libres y la aparición de otros nuevos (Steiner & Koellner, 1994; Sinisterra et al., 1999; Burgos et al., 2002; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012). También, se observa una disminución en las intensidades relativas de las señales de la β CD, sugiriendo la presencia de interacciones tipo van der Waals, enlaces de hidrógeno y dipolo-dipolo. El difractograma de la mezcla física no presenta una “superposición” de los compuestos libres, de la β CD y el ligante HAPTSC, también presenta la desaparición de algunos de los picos característicos de la β CD, lo que sugiere la formación de interacciones tipo puente de hidrógeno entre la ciclodextrina y el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona en el estado sólido.

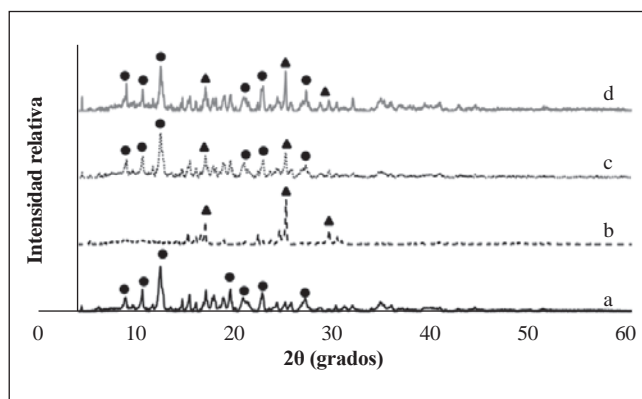


Figura 5. Difractogramas de rayos X para: a. β CD (negra), b. $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$ (discontinua), c. compuesto de asociación $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2/\beta\text{CD}$ (punteada), d. mezcla física (gris).

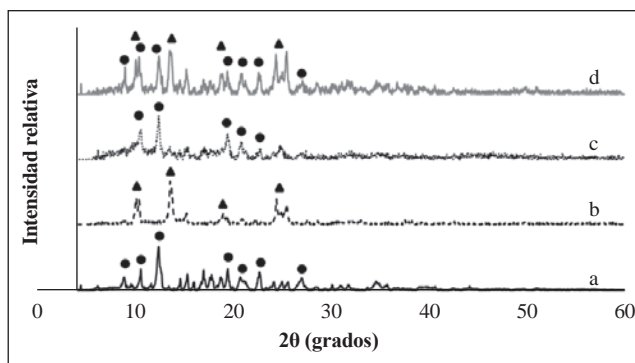


Figura 6. Difractogramas de rayos X para: a. β CD (negra), b. HAPTSC (discontinua), c. compuesto de asociación HAPTSC/ β CD (punteada), d. mezcla física (gris).

Resonancia Magnética Nuclear

Los desplazamientos químicos de RMN de ^1H y ^{13}C de la β CD y del compuesto de asociación de Rh(III), son presentados en las Tablas 1 y 2. Las atribuciones fueron realizadas con base en los datos reportados en la literatura (Inoue, 1993; Poveda & Jiménez-Barbero, 1998; Burgos et al., 2002; Burgos et al., 2012; Burgos & Sinisterra, 2010).

En la Tabla 1, se muestran las señales de RMN- ^1H de los espectros y sus asignaciones para el compuesto de asociación de Rh(III), el $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ libre y la β CD. Al comparar los desplazamientos químicos de las señales de los hidrógenos del compuesto de asociación de Rh(III) con los del complejo $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ libre, se observan variaciones de δ en todos los hidrógenos del complejo de Rh(III), siendo los más acentuados para los H_1 , H_2 , H_3 , H_8 , H_9 y H_{10} ($\Delta\delta = 0,05$ ppm, $0,11$ ppm, $0,12$ ppm, $0,10$ ppm, $0,22$ ppm y $0,07$ ppm, respectivamente). Este resultado explica la interacción del anillo piridínico y la tioamida del compuesto de coordinación de Rh(III) con la β CD. Cuando se comparan los desplazamientos químicos de las señales de los protones para compuesto de asociación y la β CD, se observan pequeñas variaciones de δ en todos los hidrógenos en el compuesto de asociación, siendo los más acentuados para los hidrógenos H_3 , H_4 y H_5 del anillo de la ciclodextrina y no se observan las señales de los hidrógenos asociados a los hidroxilos primarios y secundarios. Esto permite suponer las interacciones y formación de enlaces de hidrógeno con los hidroxilos del lado de afuera de la β CD y el complejo metálico. Los hidrógenos H_3 y H_5 se encuentran en el interior de la cavidad de la β CD y el H_4 y los hidroxilos primarios y secundarios del lado de fuera de la cavidad de la β CD (Figura 7), sugiriendo interacciones de tipo hospedero-huésped en la parte interna y externa de la cavidad, formando los respectivos compuestos de inclusión parcial y/o asociación (Inoue, 1993; Wenz, 1994; Poveda & Jiménez-Barbero, 1998; Burgos et al., 2002; Ribero, Carvalho, Ferreira y Veiga, 2005; Burgos & Sinisterra, 2010; Burgos et al., 2012).

Tabla 1. Valores de desplazamientos químicos (δ) de hidrógenos, cambios en los desplazamientos químicos ($\Delta\delta$) para β CD, HAPTSC, $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3]$, HAPTSC/ β CD y $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3/\beta\text{CD}]$ y valores de desplazamientos químicos ^{13}C para estos compuestos.

| Asignación de señales en RMN | Desplazamiento químico (δ en ppm) y cambio de desplazamiento químico ($\Delta\delta$ en ppm) | | | | |
|------------------------------|---|--------|---|--------------------|--|
| | β CD | HAPTSC | $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3]$ | HAPTSC/ β CD | $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3/\beta\text{CD}]$ |
| H ₁ | ----- | 8,57 | 8,79 (0,22) | 8,57 | 8,74 (-0,05) |
| H ₂ | ----- | 7,38 | 7,87 (0,49) | 7,39 (0,01) | 7,76 (-0,11) |
| H ₃ | ----- | 7,78 | 8,41 (0,63) | 7,79 (0,01) | 8,29 (-0,12) |
| H ₄ | ----- | 8,42 | 8,41 (-0,01) | 8,42 | 8,42 (0,01) |
| H ₅ | ----- | 2,38 | 2,42 (0,04) | 2,38 | 2,40 (-0,02) |
| H ₆ | ----- | 2,38 | 2,42 (0,04) | 2,38 | 2,40 (-0,02) |
| H ₇ | ----- | 2,38 | 2,42 (0,04) | 2,38 | 2,40 (-0,02) |
| H ₈ | ----- | 10,32 | 10,81 (0,49) | 10,32 | 10,71 (-0,10) |
| H ₉ | ----- | 8,42 | 8,86 (0,44) | 8,42 | 8,64 (-0,22) |
| H ₁₀ | ----- | 8,14 | 8,71 (0,57) | 8,14 | 8,64 (-0,07) |
| C ₁ | ----- | 148,88 | 145,98 (-2,91) | 148,89 (0,01) | ----- |
| C ₂ | ----- | 124,40 | 125,16 (0,76) | 124,41 (0,01) | ----- |
| C ₃ | ----- | 136,82 | 131,89 (-4,94) | 136,83 (0,01) | ----- |
| C ₄ | ----- | 121,35 | 128,67 (7,32) | 121,36 (0,01) | ----- |
| C ₅ | ----- | 155,19 | 134,53 (-20,66) | 155,19 | ----- |
| C ₆ | ----- | 148,72 | 147,24 (-1,30) | 148,71 (-0,01) | ----- |
| C ₇ | ----- | 12,57 | 18,95 (6,38) | 12,56 (-0,01) | ----- |
| C ₈ | ----- | 179,62 | 146,92 (-32,70) | 179,60 (-0,02) | ----- |
| CD H ₁ | 4,83 | ----- | ----- | 4,83 | 4,82 (-0,01) |
| CD H ₂ | 3,31 | ----- | ----- | 3,30 (-0,01) | 3,29 (-0,02) |
| CD H ₃ | 3,62 | ----- | ----- | 3,62 | 3,65 (0,03) |
| CD H ₄ | 3,56 | ----- | ----- | 3,55 (-0,01) | 3,34 (-0,22) |
| CD H ₅ | 3,59 | ----- | ----- | 3,58 (-0,01) | 3,54 (-0,05) |
| CD H ₆ | 3,64 | ----- | ----- | 3,63 (-0,01) | 3,63 (-0,01) |
| CD H ₆ ' | 3,64 | ----- | ----- | 3,63 (-0,01) | 3,63 (-0,01) |
| CD OH ₂ | 4,44 | ----- | ----- | 4,49 (0,05) | ----- |
| CD OH ₃ | 5,66 | ----- | ----- | 5,69 (0,03) | ----- |
| CD OH ₆ | 5,70 | ----- | ----- | 5,74 (0,04) | ----- |
| CD C ₁ | 102,42 | ----- | ----- | 102,42 | 101,86 (-0,56) |
| CD C ₂ | 72,90 | ----- | ----- | 72,90 | 72,35 (-0,55) |
| CD C ₃ | 73,53 | ----- | ----- | 73,53 | 72,98 (-0,55) |
| CD C ₄ | 82,04 | ----- | ----- | 82,04 | 81,46 (-0,58) |
| CD C ₅ | 72,52 | ----- | ----- | 72,53 (0,01) | 71,97 (-0,55) |
| CD C ₆ | 60,41 | ----- | ----- | 60,42 (0,01) | 59,85 (-0,56) |

En la Tabla 1, se presentan los desplazamientos químicos de las señales de RMN de ^{13}C de la β CD y del compuesto de asociación de Rh(III). Cuando se comparan las señales de los espectros del compuesto de asociación con β CD libre, todas las señales de carbono se desplazan en una

proporción similar. Las asignaciones de las señales en el espectro de RMN de C-13 están basadas en los cambios químicos, de las señales para el átomo de carbono en el complejo, cuando se compara con el espectro del ligante libre, $\Delta\delta = \delta$ (complejo) - δ (free ligante libre). Estos

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los compuestos HAPTSC, $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$, $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$ libres y sus respectivos compuestos de inclusión HAPTSC/ β CD, $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3/\beta\text{CD}$ y $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2/\beta\text{CD}$ contra bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas) y levaduras por el método de difusión radial. Se muestra también la CMI de las sales de Ni y Rh, y de la β -ciclodextrina (β CD).

| Compuestos | Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en $\mu\text{g/mL}$ contra microorganismos | | | | | |
|--|---|------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| | Bacterias Gram-positivas | | Bacterias Gram-negativas | | Levaduras | |
| | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. cerevisiae</i> | <i>C. albicans</i> |
| HAPTSC libre | 500 | 250 | 250 | 1000 | 1000 | 1000 |
| $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | - | - | - | - | 500 | 500 |
| $\text{RhCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ | - | - | - | - | 500 | 250 |
| $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$ libre | - | - | - | - | - | - |
| $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ libre | - | 250 | - | 1000 | - | 250 |
| β -ciclodextrina (β CD) | - | - | - | - | - | - |
| HAPTSC/ β CD | - | 125 | - | - | - | 1000 |
| $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2/\beta\text{CD}$ | - | - | - | - | - | - |
| $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3/\beta\text{CD}$ | - | - | - | 750 | - | 1000 |

Todos los halos de inhibición con diámetro igual o superior a 1,5 cm fueron considerados como efecto positivo de inhibición del compuesto sobre el microorganismo probado. Halos de inhibición de controles: ciprofloxacina 0,3% (5 cm, *P. aeruginosa*), cefalotina 40 $\mu\text{g/mL}$ (4 cm, *E. coli*; 1,5 cm, *B. subtilis*; 4 cm, *S. aureus*), clotrimazol 1% (2,5 cm, *S. cerevisiae* y *C. albicans*). -, sin inhibición en el rango de concentraciones evaluadas.

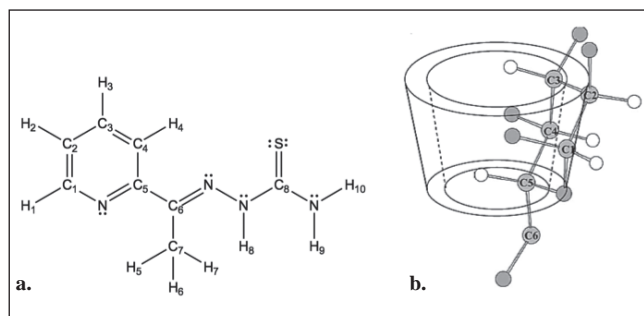


Figura 7. a. Estructura del ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona, b. Estructura de la β -ciclodextrina.

resultados corroboran con los obtenidos por rayos X, IR, curvas TGA y DSC, donde se sugiere la formación de un compuesto de inclusión parcial y/o asociación.

Pruebas de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana del ligante HAPTSC y sus complejos de $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ y $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_2$ libres, así como los respectivos compuestos de inclusión parcial y/o asociación con la β CD presentaron un comportamiento diferenciado (Tabla 2). El ligante HAPTSC libre presentó mayor actividad para las bacterias gram-positiva *S. aureus* y gram-negativa *E. coli* (ambas con CMI 250 $\mu\text{g/mL}$), seguido de actividad contra *B. subtilis* (CMI 500 $\mu\text{g/mL}$) y *P. aeruginosa* (CMI 1000 $\mu\text{g/mL}$). Así mismo, este compuesto presentó actividad contra las levaduras probadas (CMI 1000 $\mu\text{g/mL}$). La sal de Ni(II), precursora para el complejo, presentó actividad contra

las levaduras *S. cerevisiae* y *C. albicans* (CMI 500 $\mu\text{g/mL}$); la sal de Rh(III) también presentó actividad para las mismas dos levaduras (respectivamente, CMI 500 $\mu\text{g/mL}$ y CMI 250 $\mu\text{g/mL}$). Entre los complejos libres, únicamente el complejo $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3$ presentó actividad y con mayor incidencia contra la bacteria gram-positiva *S. aureus* y la levadura *C. albicans* (ambos con CMI 250 $\mu\text{g/mL}$). La β CD no mostró cualquier efecto negativo contra los microorganismos probados. Los compuestos de inclusión en β CD que mostraron actividad fueron el HAPTSC/ β CD contra *S. aureus* y *C. albicans* (CMI 125 $\mu\text{g/mL}$ y CMI 1000 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) y el complejo $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2]\text{Cl}_3/\beta\text{CD}$ contra *P. aeruginosa* y *C. albicans* (respectivamente, CMI 750 $\mu\text{g/mL}$ y CMI 1000 $\mu\text{g/mL}$).

Los resultados sugieren que las actividades de los compuestos de 2-acetilpiridina tiosemicarbazona estudiados tienen comportamientos disimiles al coordinarse al metal o con la formación de los compuestos de inclusión respectivos. En general la actividad antimicrobiana de los diferentes compuestos libres probados disminuyó o se mantuvo constante en los complejos y compuestos de inclusión con β CD (Tabla 2). La excepción fue para el HAPTSC que aumentó su actividad contra *S. aureus* cuando fue incluido en β CD (pasó de CMI 250 $\mu\text{g/mL}$ a CMI 125 $\mu\text{g/mL}$) y contra *P. aeruginosa* cuando formó el compuesto de inclusión con rodio (pasó de CMI 250 $\mu\text{g/mL}$ a CMI 125 $\mu\text{g/mL}$). La variabilidad en la actividad antimicrobiana de los compuestos estudiados contra los diferentes microorganismos depende de la permeabilidad de las células (Sharma, Srivastava y Srivastava, 2007), ya que la coordinación del metal con la tiosemicarbazona aumenta su lipofiliidad en tanto que el

compuesto de inclusión con la ciclodextrina aumenta su hidrofiliidad, haciendo que el sitio de acción del compuesto de coordinación sea más o menos accesible. En los casos en que se observó una mejora en la actividad antimicrobiana del ligante HAPTSC libre o en el compuesto de inclusión del Rh(III) en β CD, esto podría ser debido a que la inclusión facilita el transporte del compuesto a través de la membrana y hacia el sitio de acción adentro de la célula. Con relación al modo de acción antimicrobiano del complejo $\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3$ con la célula, este podría involucrar la interacción del grupo azometino con los centros activos de constituyentes celulares a través de puentes de hidrógeno resultando en la interferencia con procesos celulares normales (Sharma et al., 2007).

Ningún compuesto evaluado pudo superar la actividad antimicrobiana mostrada por la cefalotina. Sin embargo, se resalta que el ligante HAPTSC libre y el complejo $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3]$ libre e incluido en β CD mostraron una actividad comparable a la del control de ciprofloxacina utilizado. Se destaca la actividad biológica de los compuestos que tuvieron acción contra las levaduras evaluadas, ya que en todos donde se observó actividad antimicrobiana, esta fue superior a la acción del control de Clotrimazol utilizado.

Conclusiones

Fueron preparados tres nuevos compuestos de asociación y/o inclusión parcial entre el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona, cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona) rodio(III) y cloruro de bis(2-acetilpiridina tiosemicarbazona) níquel(II) con la β -ciclodextrina en relación molar 1:1.

Los resultados obtenidos por RMN protónica y carbono 13, para el ligante HAPTSC y complejo de Rh(III), Ni(II) y su respectivos compuestos de asociación y/o inclusión parcial, mostraron modificaciones importantes, que permiten sugerir la formación de compuestos de inclusión parcial entre estos compuestos con la β CD.

Los ensayos biológicos indicaron que el ligante HAPTSC libre mostró actividad antimicrobiana contra todos los microorganismos probados. La coordinación al Rh(III) y la formación de su respectivo compuesto de inclusión, así como la formación del compuesto de inclusión con el ligante mostraron un incremento en la actividad contra algunos de los microorganismos probados, sugiriendo que estos pueden servir como una estrategia efectiva para mejorar la actividad antibacteriana y antifúngica de las tiosemicarbazonas.

Información suplementaria

Figura 1S. Espectros de IR (pastilla de KBr) de los compuestos: a. β CD (negra), b. $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3]$ (discontinua), c. $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3/\beta\text{CD}]$ (punteada), d. mezcla física (gris).

Figura 2S. Curvas TGA para: a. β CD (negra), b. $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3]$ (discontinua), c. compuesto de asociación $[\text{Rh}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_3/\beta\text{CD}]$ (punteada), d. mezcla física (gris).

Figura 3S. Curvas TGA para: a. β CD (negra), b. $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_2]$ (discontinua), c. compuesto de asociación $[\text{Ni}(\text{HAPTSC})_2\text{Cl}_2/\beta\text{CD}]$ (punteado), d. mezcla física (gris).

Figura 4S. Curvas TGA para: a. β CD (negra), b. HAPTSC (discontinua), c. compuesto de asociación HAPTSC/ β CD (punteada), d. mezcla física (gris).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de Investigación Sede Bogotá (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo financiero al proyecto N°. 201010016735. También se agradece al Profesor Milton Crosby, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, por facilitar las cepas utilizadas en los ensayos antimicrobianos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- Anderson, F.E., Duca, C.J., & Scudi, J.V. (1952) Some heterocyclic thiosemicarbazones. *Journal of the American Chemical Society*. **73**: 4967-4968.
- Beraldo, H. (2004) Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. *Química Nova*. **27** (3): 461-471.

Beraldo, H., & Gambino D. (2004). The wide pharmacological versatility of thiosemicarbazones, semicarbazones and their metal complexes. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. **4** (1): 31-39.

Burgos, A.E., & Sinisterra, R.D. (2010) Preparación y caracterización de compuestos de asociación entre el acetato, propionato y butirato de rodio(II) con β -ciclodextrina. *Revista Colombiana de Química*. **39**: 427-445.

Burgos, A.E., Belchior, J.C., & Sinisterra, R.D. (2002) Controlled release of rhodium(II) carboxylates and their association complexes with cyclodextrins from hydroxyapatite matrix. *Biomaterials*. **23** (12): 2519-2526.

Burgos, A.E., Okio, C.K.Y.A., Sinisterra, R.D. (2012) Preparação do composto de associação entre citrato de rodio(II) e β -ciclodextrina. *Química Nova*. **35** (4): 762-765.

Calderini, A., & Pessine, F.B.T. (2008) Synthesis and characterization of inclusion complex of the vasodilator drug minoxidil with β -ciclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **60** (3-4): 369-377.

- Da Silva, A.M.M., Empis, J.M.A., & Teixeira-Dias, J.J.C.** (2002) Inclusion of carvone enantiomers in cyclomaltoheptaose (β -cyclodextrin): thermal behaviour and H \rightarrow D and D \rightarrow H exchange. *Journal of Carbohydrate Research*. **337** (24): 2501-2504.
- De Sousa, F., Leite, A., Lula, I., Nascimento, C., Fernandes, N., Lima, A., De Almeida, W., & Sinisterra, R.D.** (2008) Supramolecular Self-Assembly of Cyclodextrin and Higher Water Soluble Guest: Thermodynamics and Topological Studies. *Journal of the American Chemical Society*. **130** (26): 8426-8436.
- Del Valle, E.M.M.** (2004) Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. **39** (9): 1033-1046.
- Giordano, F., Novak, C., & Moyano, J.R.** (2001) Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochimica Acta*. **380** (2): 123-151.
- Gupta, S.P.** (1994) Quantitative structure-activity relationship studies on anticancer drugs. *Chemistry Reviews*. **94** (6): 1507-1551.
- Inoue, Y.** (1993) NMR Studies of the structure and properties of cyclodextrins and their inclusion complexes. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*. **27**: 59-101.
- Kasuga, N.C., Sekino, K., Koumo, C., Shimada, N., Ishikawa, M., & Nomiya, K.** (2001) Synthesis, structural characterization and antimicrobial activities of 4- and 6-coordinate nickel(II) complexes with three thiosemicarbazones and semicarbazone ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*. **84** (1-2): 55-65.
- Kayaci, F., Ertas, Y., & Uyar, T.** (2013a) Enhanced thermal stability of eugenol by cyclodextrin inclusion complex encapsulated in electrospun polymeric nanofiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **61** (34): 8156-8165.
- Kayaci, F., Umu, O.C.O., Tekinay, T., & Uyar, T.** (2013b) Antibacterial Electrospun Poly(lactic acid) (PLA) Nanofibrous webs incorporating triclosan/cyclodextrin inclusion complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **61** (16): 3901-3908.
- Kettel, M.J., Schaefer, K., Groll, J., & Moeller, M.** (2014) Nanogels with high active β -cyclodextrin content as physical coating system with sustained release properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*. **6** (4): 2300-2311.
- Klayman, D.L., Bartosevich, J.F., Griffin, T.S., Mason, C.J., & Scovill, J.P.** (1979) 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 1. A new class of potential antimalarial agents. *Journal of Medical Chemistry*. **22** (7): 855-862.
- Kohata, S., Jyodoi, K., & Ohyoshi, A.** (1993) Thermal decomposition of cyclodextrins (α -, β -, γ -, and modified β -CD) complexes in the solid phase. *Thermochimica Acta*. **217**: 187-198.
- Kovala-Demertzi, D., Demertzi, M.A., Miller, J.R., Papadopoulou, C., Dodorou, C., & Filousis, G.** (2001) Platinum(II) complexes with 2-acetyl pyridine thiosemicarbazone. Synthesis, crystal structure, spectral properties, antimicrobial and antitumour activity. *Journal of Inorganic Chemistry*. **86** (2-3): 555-563.
- Krishnan, K., Prathiba, K., Jayaprakash, V., Basu, A., Mishra, N., Zhou, B., Hu, S., & Yen, Y.** (2008) Synthesis and ribonucleotide reductase inhibitory activity of thiosemicarbazones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **18** (23): 6248-6250.
- Lobana, T.S., Sharma, R., Bawa, G., & Khanna, S.** (2009) Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals-An overview. *Coordination Chemistry Reviews*. **253** (7-8): 977-1055.
- Offiong, E., & Martelli, S.** (1997) Stereochemistry and antitumour activity of platinum metal complexes of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones. *Transition Metal Chemistry*. **22** (3): 263-269.
- Poveda, A., & Jiménez-Barbero, J.** (1998) NMR studies of carbohydrate-protein interactions in solution. *Chemical Society Reviews*. **27** (2): 133-144.
- Reis, D.C., Pinto, M.C.X., Souza-Fagundes, E.M., Wardell, S.M.S.V., Wardell, J.L., & Beraldo, H.** (2010) Antimony(III) complexes with 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones: cytotoxicity against human leukemia cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **45** (9): 3904-3910.
- Ribero, L., Carvalho, R.A., Ferreira, C.D., & Veiga, F.J.B.** (2005) Multicomponent complex formation between vinpocetine, cyclodextrin, tartaric acid and water-soluble polymers monitored by NMR and solubility studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **24** (1): 1-13.
- Sharma, V.K., Srivastava, S., & Srivastava, A.** (2007) Spectroscopic, thermal and biological studies on some trivalent ruthenium and rhodium NS chelating thiosemicarbazone complexes. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2007, 68374.
- Sinisterra, R.D., Shastri, V.P., Najjar, R., & Langer, R.** (1999) Encapsulation and release of rhodium(II) citrate and its association complex with hydroxypropyl- β -cyclodextrin from biodegradable polymer microspheres. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **88** (5): 574-576.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., & Nieman, T.A.** (2001) *Principios de análisis instrumental*. (pp. 353-364). Madrid (España): McGraw Hill.
- Steiner, T., & Koellner, G.** (1994) Crystalline Beta-cyclodextrin hydrate at various humidities: fast, continuous, and reversible dehydration studied by X-ray diffraction. *Journal of the American Chemical Society*. **116** (12): 5122-5128.
- Szejtli, J.** (1998) Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*. **98** (5): 1743-53.
- Tamayo, L.V., Burgos, A.E., & Brandão, P.F.B.** (2014) Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of the ligand 3-methylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone and its Pd(II) complex. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*. **189** (1): 52-59.
- Tenório, R.P., Góes, A.J.S., de Lima, J.G., de Faria, A.R., Alves, A.J., & de Aquino, T.M.** (2005) Tiosemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. *Química Nova*. **28** (6): 1030-1037.
- Wenz, G.** (1994) Cyclodextrins as building blocks for supramolecular structures and functional units. *Angewandte Chemie International Edition in English*. **33** (8): 803-822.

Identificación genética de aislamientos de *Colletotrichum* spp. causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol

Lederson Gañán^{1,2,*}, Elizabeth Álvarez², Jairo Castaño-Zapata¹

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

² Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

Resumen

La antracnosis es una de las enfermedades que más afecta la producción de frutales tropicales en el mundo. El objetivo del presente trabajo fue identificar a nivel de especie aislamientos de *Colletotrichum* spp. causantes de la antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol mediante el análisis filogenético multilocus empleando datos de las secuencias de la región espaciadora interna transcrita (ITS), y de los genes β -tubulina-2 y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. Para cada especie se evaluaron características morfológicas de la colonia, los conidios y los apresorios. Se obtuvieron 16 aislamientos a partir de frutos con síntomas de antracnosis, los cuales se confirmaron como causantes de la enfermedad en frutos de sus respectivos hospedantes con el método de inoculación por herida y goteo. Se identificaron los aislamientos como *Colletotrichum asianum*, *Colletotrichum fructicola*, *Colletotrichum musae* dentro del complejo de especies de *Colletotrichum gloeosporioides*, o como *Colletotrichum tamarilloi* dentro del complejo de especies de *Colletotrichum acutatum*. El presente estudio aporta al conocimiento de las especies causantes de la antracnosis en frutas tropicales en Colombia, lo cual facilitará el diseño de técnicas de diagnóstico y la selección de estrategias óptimas de manejo de la enfermedad.

Palabras clave: análisis filogenético multilocus, complejo de especies, diversidad genética, diagnóstico.

Genetic identification of *Colletotrichum* isolates causing anthracnose in fruits of avocado, banana, mango and tamarillo

Abstract

Anthracnose is a major disease affecting the production of tropical fruit trees on a global level. Our objective was to identify at the species level *Colletotrichum* isolates causing anthracnose in fruits of avocado, banana, mango, and tamarillo by multilocus phylogenetic analysis based on sequencing data from the ITS region and from the β tubulin-2 and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes. We evaluated the morphology of colonies, conidia, and appressoria for each species. We obtained 16 isolates from fruits exhibiting symptoms of anthracnose, which were confirmed using the wound and drip inoculation method as causing anthracnose in fruits of their respective hosts. The isolates were identified as *Colletotrichum asianum*, *Colletotrichum fructicola*, or *Colletotrichum musae* within the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex, or as *Colletotrichum tamarilloi* within the *Colletotrichum acutatum* species complex. This study contributes to the knowledge of species causing anthracnose in tropical fruits in Colombia, which will facilitate the design of diagnosis techniques and the selection of better disease management strategies.

Key words: Multilocus phylogenetic analysis, species complex, genetic diversity, diagnosis.

Introducción

La fruticultura en Colombia es una de las actividades productivas con mayor potencial por su amplia expansión en el mercado internacional e importancia en la dieta alimenticia de la población mundial (Reyes, *et al.*, 2006). Durante las últimas cinco décadas, el área sembrada en frutas en Colombia pasó de aproximadamente 435.500 ha en 1970 a 665.000 ha en el 2010 (FAOSTAT, 2014). Sin embargo, la producción frutícola en Colombia se ve limitada por problemas fitosanitarios que afectan los

rendimientos productivos del cultivo en campo o causan importantes pérdidas después de la cosecha. Uno de estos problemas fitosanitarios es la antracnosis, causada por el hongo fitopatógeno *Colletotrichum* spp., el cual puede afectar diversos tejidos de las plantas, como tallos, hojas,

*Correspondencia:

Lederson Gañán, legabet@gmail.com

Recibido: 21 de enero de 2015

Aceptado: 17 de junio de 2015

flores y frutos. El deterioro de los frutos después de la cosecha limita la calidad de la fruta para exportación, con daños que varían desde pérdidas ligeras en calidad, con la consecuente reducción del precio de venta, hasta la pérdida total de las frutas (Jeffries, *et al.*, 1990; Hindorf, 2000). En la fresa (*Fragaria × ananassa*) y en el tomate de árbol (*Solanum betaceum*), *Colletotrichum* spp. puede ocasionar graves epidemias de antracnosis que resultan en pérdidas superiores al 50 % (Sreenivasaprasad & Talhinas, 2005; Hyde, *et al.*, 2009).

Los estudios de identificación del agente causante de la antracnosis en los frutales en Colombia se han basado principalmente en el uso de caracteres morfológicos y el empleo de la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con cebadores específicos para la especie derivados de la región espaciadora interna transcrita (ITS) del ADNr, o secuenciación y análisis de la región ITS, dando como resultado la identificación de tres especies: *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. boninense* (Afanador-Kafuri, *et al.*, 2003; Contreras, 2006; Arenas, *et al.*, 2007; Rojas-Triviño, 2008; Saldarriaga, *et al.*, 2008; Martínez, *et al.*, 2009; Sanabria, *et al.*, 2010; Afanador-Kafuri, 2011; Granados-Benavides, *et al.*, 2011; Hoyos-Carvajal, *et al.*, 2011; Martínez, *et al.*, 2011; Calderón, *et al.*, 2012; Rueda, *et al.*, 2013). Sin embargo, estas tres especies se consideran actualmente como un grupo o complejo de especies cuyo límite genético se ha definido mediante análisis filogenético multilocus. Además, luego de la tipificación de *C. gloeosporioides* (Cannon, 2008) y de *C. acutatum* (Than, *et al.*, 2008), en diversos estudios se ha demostrado que muchas especies previamente identificadas como *C. gloeosporioides* o *C. acutatum* difieren de sus especímenes tipo. Por ejemplo, Phoulivong, *et al.* (2010) determinaron que ninguno de los aislamientos de *Colletotrichum* asociados con la antracnosis de frutas tropicales en Tailandia correspondían a los especímenes tipo de *C. gloeosporioides* s. str. o de *C. acutatum* s. str. Además, en la publicación de Weir, *et al.* (2012) y Damm, *et al.* (2012a), se determinó la presencia de las especies *C. asianum* y *C. tamarilloi* asociadas a la antracnosis del mango y del tomate de árbol en Colombia, respectivamente, aunque no se presentaron pruebas de patogenicidad que los identificaran como agentes causantes de la enfermedad.

El objetivo del presente estudio fue identificar a nivel de especie aislamientos de *Colletotrichum* spp. causantes de la antracnosis en frutas de aguacate (*Persea americana*), banano (*Musa* spp.), mango (*Mangifera indica*) y tomate de árbol (*S. betaceum*) en Colombia mediante la caracterización morfológica y una filogenia sólidamente establecida mediante análisis filogenético multilocus.

Materiales y métodos

Fuente de los aislamientos

Los aislamientos de *Colletotrichum* spp. usados en el presente estudio se aislaron a partir de tejidos de frutos de

banano, mango y tomate de árbol con síntomas de antracnosis y se obtuvieron como cultivos monoespóricos empleando la metodología descrita por Than, *et al.* (2008).

Pruebas de patogenicidad

La patogenicidad de los aislamientos obtenidos se verificó en frutos del hospedante del cual habían sido aislados. Los frutos se obtuvieron en estado de madurez fisiológica, no fueron tratados, y se lavaron con un flujo constante de agua destilada durante diez minutos, seguido por una esterilización de la superficie mediante inmersión en etanol (tres minutos), hipoclorito de sodio al 1 % (cinco minutos), y agua destilada estéril (tres veces durante dos minutos cada vez), y se secaron al aire en cámara de flujo laminar sobre toalla de papel estéril. Los frutos se inocularon mediante el método de inoculación por herida y goteo depositando 6 μL de la suspensión conidial ($\sim 1 \times 10^6$ esporas. mL^{-1}) sobre el área de la herida previamente demarcada (Than, *et al.*, 2008). Como control, se inoculó agua destilada estéril. Los frutos inoculados se colocaron en cámaras húmedas en condiciones estériles (humedad relativa cercana al 95 %) (Montri, *et al.*, 2009), a temperatura ambiente (24 °C), y sometidos a regímenes normales de luz durante siete días (Than, *et al.*, 2008). Por cada interacción entre aislamiento y hospedante se emplearon tres repeticiones y dos frutas como unidad experimental. Siete días después de la inoculación se evaluaron los síntomas de la enfermedad y se tomaron fragmentos del borde de las lesiones o del área inoculada (en caso de no observar síntomas). El organismo aislado se cultivó en agar de papa y dextrosa (PDA) y los caracteres de la colonia y su morfología se compararon con el cultivo inicialmente inoculado.

Extracción de ADN genómico

El ADN se extrajo a partir del micelio del hongo obtenido de cultivos puros en medio PDA (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), siguiendo el protocolo de extracción de ADN descrito por Damm, *et al.* (2008).

Identificación de especies basada en análisis filogenético multilocus

La región ITS completa del ADNr, así como las secuencias parciales de los genes *TUB2* y *GAPDH* se amplificaron mediante PCR y posteriormente se secuenciaron usando los pares de cebadores ITS-5 + ITS-4 (White, *et al.*, 1990), Bt2a + Bt2b (Glass & Donaldson, 1995) y GDF1 + GDR1 (Guerber, *et al.*, 2003), respectivamente.

Las amplificaciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen de reacción final de 25 μL consistente en 10 ng de ADN, una concentración final 1X del tampón DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc.), 0,5 μM de cada cebador y agua esterilizada para cromatografía líquida de alta eficacia (*high performance liquid chromatography*, HPLC). Para el proceso de amplificación se usó un termociclador PTC-100 (MJ Research, Watertown,

MA, USA), con los programas térmicos de amplificación descritos por **Prihastuti, et al.** (2009). Los productos de PCR se enviaron al laboratorio de la unidad de biotecnología de la Iowa State University, USA, para la secuenciación en ambas direcciones con un secuenciador de ADN Applied Biosystems 3730xl (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA, USA). Las secuencias derivadas de este estudio se depositaron en la base de datos GenBank® (Tabla 1).

Para los análisis filogenéticos, las secuencias de los aislamientos de *Colletotrichum* obtenidos en el presente estudio se compararon con las de especímenes del tipo de *Colletotrichum* obtenidas en la base de datos GenBank®. Para cada gen se hicieron alineamientos individuales y, posteriormente, los tres genes se concatenaron usando el programa FASconCAT v.1.0 (**Kück & Meusemann, 2010**). Para cada gen se crearon particiones separadas y para cada una de estas se determinó el modelo de sustitución de nucleótidos que mejor se ajustara mediante el programa jModelTest 0.1.1 (**Posada, 2008**), y de acuerdo al criterio de información Akaike corregido (AICc). La reconstrucción filogenética se hizo mediante inferencia bayesiana, usando el programa MrBayes v. 3.2.1 (**Ronquist, et al., 2012**). El análisis mediante el método de Montecarlo basado en las cadenas de Markov (*Markov chain Montecarlo method*, MCMC) se aplicó al conjunto de datos con los modelos de sustitución determinados separadamente para cada partición. Para el análisis bayesiano, se corrieron cuatro cadenas de MCMC dos veces por 1×10^7 generaciones, con un muestreo de árboles cada 1.000 generaciones. Después se

omitió el primer 25 % de los árboles generados (*burn-in*) y los árboles restantes de la muestra se usaron para estimar un árbol de consenso con un límite de probabilidades posteriores de 50 %.

Caracterización morfológica

Para los estudios morfológicos, se depositaron 6 µL de una suspensión de conidios ($\sim 1 \times 10^6$ conidios.mL⁻¹) sobre el centro de una caja de Petri de 9,5 cm de diámetro con medio de cultivo Difco PDA (39 g.L⁻¹) y antibiótico (tetraciclina: 50 mg.L⁻¹). Los cultivos se incubaron a 20±1 °C durante 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y a los 10 días de crecimiento se registró su apariencia y su diámetro (**Than, et al., 2008**). Se empleó un diseño completamente al azar, con tres réplicas por aislamiento.

Para la producción de conidios, los aislamientos se sembraron en medio de cultivo PDA (39 g.L⁻¹) tratado con fragmentos de papel de filtro esterilizado en autoclave.

En la producción de apresorios se empleó la técnica de cultivo en portaobjetos (**Cai, et al., 2009**), para lo cual se tomaron cortes del cultivo en medio PDA (39 g.L⁻¹) de 10 mm² y se colocaron sobre un portaobjetos. Luego se depositaron 30 µL de una suspensión conidial (1×10^6 conidios.µL⁻¹) sobre los bordes del corte y se cubrió con placas cubreobjetos (**Johnston & Jones, 1997**). Los cultivos se incubaron durante 5 a 7 días a temperatura ambiente (24 °C) y bajo condiciones de gran humedad en cajas plásticas con tapa (**Chaky, et al., 2001**).

Se registró la forma, la longitud y el ancho de cada aislamiento de 30 conidios o apresorios. Las observaciones y mediciones microscópicas se hicieron bajo un microscopio Leica (Type 020-519-503-LB30T) con un aumento de 1.000X. Las estructuras en cada placa se fotografiaron con cámara digital (Canon Powershot ELPH 500 HS) adaptada al lente del microscopio y las imágenes se usaron para medir la longitud y el ancho de los conidios y apresorios empleando el programa ImageJ (**Ferreira & Rasband, 2012**).

Los promedios y la desviación estándar de la media se estimaron para cada variable por especie con el programa SAS, versión 9.2 (**SAS, 2008**).

Resultados

Se obtuvieron 16 cultivos monoespóricos de *Colletotrichum* spp., los cuales causaron síntomas típicos de antracnosis en los frutos inoculados del hospedante que habían sido aislados. Tomando en cuenta los síntomas, se aisló nuevamente el patógeno y sus características morfológicas resultaron similares al originalmente inoculado, con lo que se cumplieron los postulados de Koch.

Análisis filogenético

La información combinada de las secuencias parciales de los genes *GAPDH* y *TUB2* y de la región ITS completa del ADNr correspondiente a los aislamientos de *Colletotrichum*

Tabla 1. Números de acceso en GenBank® de los aislamientos de *Colletotrichum* spp. identificados en el presente estudio

| Especie | Aislamiento | Números de acceso en GenBank® | | |
|----------------------|-------------|-------------------------------|----------|----------|
| | | ITS | GAPDH | TUB2 |
| <i>C. asianum</i> | MnM1 | KM233236 | KM233220 | KM233252 |
| | MnM2 | KM233237 | KM233221 | KM233253 |
| | MnM3 | KM233238 | KM233222 | KM233254 |
| | MnM4 | KM233239 | KM233223 | KM233255 |
| | MnM5 | KM233240 | KM233224 | KM233256 |
| <i>C. fruticola</i> | AM1 | KM233229 | KM233213 | KM233245 |
| | AM2 | KM233230 | KM233214 | KM233246 |
| <i>C. musae</i> | BM1 | KM233231 | KM233215 | KM233247 |
| | BM2 | KM233232 | KM233216 | KM233248 |
| | BM3 | KM233233 | KM233217 | KM233249 |
| | BM4 | KM233234 | KM233218 | KM233250 |
| | BM5 | KM233235 | KM233219 | KM233251 |
| <i>C. tamarilloi</i> | TM1 | KM233241 | KM233225 | KM233257 |
| | TM2 | KM233242 | KM233226 | KM233258 |
| | TM3 | KM233243 | KM233227 | KM233259 |
| | TM4 | KM233244 | KM233228 | KM233260 |

spp. obtenidos en el presente estudio y a las especies de referencia (obtenidas en el Genbank®), comprendió 1.240 nucleótidos (incluidos los huecos). Los límites de cada gen y los modelos de sustitución de los nucleótidos usados en el análisis filogenético fueron los siguientes: ITS: 1-554 (HKY+G), *GAPDH*: 555-821 (K80+G), *TUB2*: 822-1240 (K80+G).

De acuerdo al análisis filogenético los aislamientos se distribuyeron entre los complejos *C. gloeosporioides* s. lat. y *C. acutatum* s. lat. (Figura 1). Los cinco aislamientos de mango que se obtuvieron (MnM1, MnM2, MnM3, MnM4 y MnM5), se agruparon con las cepas de referencia de la especie *C. asianum*; los cinco aislamientos de banano (BM1, BM2, BM3, BM4 y BM5), se agruparon con las cepas de referencia de la especie *C. musae*, en tanto que los cuatro aislamientos de tomate de árbol (TM1, TM2, TM3, TM4), se ubicaron en un subclado bien soportado (PP=1), correspondiente a la especie *C. tamarilloi*.

Estudios morfológicos

Las características morfológicas se detallaron para cada especie en las anotaciones taxonómicas. Los promedios para las variables mencionadas fueron similares a aquellos descritos en la literatura científica (Prihastuti, et al., 2009; Weir, et al., 2012; Damm, et al., 2012a; Lima, et al., 2013).

Anotaciones taxonómicas

Colletotrichum asianum Prihastuti, L. Cai & K.D. Hyde, Fungal Diversity 39: 96. 2009.

Especímenes examinados: MnM1 y MnM2; fuente: frutos de mango (*M. indica*) cv Tommy con síntomas de antracnosis, obtenidos en plazas de mercado de Quinchía (Risaralda); recolector: L. Gañán, mayo de 2013. **MnM3, MnM4, MnM5;** frutos de mango (*M. indica*) cv Tommy con síntomas de antracnosis, obtenidos en plaza de mercado de Medellín (Antioquia); recolector: L. Afanador-Kafuri, junio de 2013.

Descripción: colonias sobre medio PDA, redondas a irregulares, de borde entero a semiondulado, ralas a elevadas, de 62 a 75 mm de diámetro ($\bar{x}=68,7 \pm 4,2$) en 10 días a 20 °C. *Micelio* aéreo denso, algodonoso, de color blanco a blanco grisáceo y gris. *Setas* raramente observadas. *Conidios* de 13,3-20,1 X 3,1-6,5 μm ($\bar{x}=16,4 \pm 1,4$ X 4,2 $\pm 0,5$), unicelulares, rectos, cilíndricos con extremos oblongos a ligeramente redondeados. *Apresorios* de 6,3-15,0 X 3,0-8,4 μm ($\bar{x}=12,6 \pm 2,0$ X 5,9 $\pm 1,5$), simples, globosos a fusoides y algunas veces irregulares con uno a tres lóbulos amplios y poco profundos.

Notas: de acuerdo con Weir, et al. (2012), esta especie frecuentemente se aísla de mango (*M. indica*). La especie *C. asianum* fue descrita por primera vez en Tailandia en frutos de café (*Coffea arabica*) (Prihastuti, et al., 2009), y se ha reportado en otros países como Australia, Japón, Filipinas, India, Tailandia, Sri Lanka, Brasil, Colombia y Panamá (Weir, et al., 2012; Lima, et al., 2013; Krishnapillai & Wilson-Wijeratnam, 2014). Sin embargo, aunque el patógeno se ha

reportado asociado con *M. indica* en Colombia (Weir, et al., 2012), en el presente estudio se comprobó la patogenicidad de la especie en frutos del mismo hospedante. Los síntomas en los frutos inoculados se presentaron inicialmente como una decoloración del tejido y posteriormente con necrosis, la cual fue alargándose en el área con el tiempo y presentando síntomas típicos como los observados en el campo, es decir, lesiones ovales de color café oscuro a negro en la superficie del fruto que se extienden hasta coalescer con otras lesiones y cubrir la totalidad del fruto (Arauz, 2000). Además, el interior de los frutos inoculados se vio afectado hasta su pudrición. El patógeno se aisló de nuevo a partir de los frutos afectados y la morfología fue similar a la del aislamiento originalmente inoculado, cumpliendo así con los postulados de Koch.

Colletotrichum fructicola Prihastuti, L. Cai & K.D. Hyde, Fungal Diversity 39:158. 2009.

Especímenes examinados: AM1, AM2; fuente: frutos de aguacate (*P. americana*) con síntomas de antracnosis, obtenidos en plaza de mercado de Medellín (Antioquia); recolector: L. Afanador-Kafuri, junio de 2013.

Descripción: colonias en medio PDA, redondas, de borde entero, elevadas, de 78 a 90 mm de diámetro ($\bar{x}=84 \pm 6$) después de 10 días a 20 °C. *Micelio* algodonoso de color blanco a verde oliváceo. *Setas*, no se observaron (Figura 2A). *Conidios* de 10,3-20,0 X 2,0-4,8 μm ($\bar{x}=13,6 \pm 1,7$ X 3,7 $\pm 0,5$), unicelulares, rectos, cilíndricos, con extremos redondos a oblongos (Figura 2B). *Apresorios* de 8,6-16,8 X 4,7-7,0 μm ($\bar{x}=12,0 \pm 3,1$ X 5,8 $\pm 0,7$), simples (fusoides) o irregulares con uno a tres lóbulos amplios y poco profundos a profundos (Figura 2C).

Notas: la especie *C. fructicola* fue descrita por primera vez en Tailandia (Prihastuti et al., 2009), y se ha reportado en otros países de Asia, África, Europa y América en diversos hospedantes vegetales (Weir, et al., 2012; Phoulivong, et al., 2012; Sharma & Shenoy, 2013; Jiang, et al., 2014). En Colombia, *C. fructicola* se ha reportado como causante de antracnosis en tallos de mora (*Rubus glaucus* B.) del ecotipo Castilla (Afanador-Kafuri, et al., 2014). Al igual que en el presente estudio, en Australia el patógeno se aisló a partir de frutos de aguacate con síntomas de pudrición (Weir, et al., 2012). Sin embargo, este es el primer reporte que lo confirma como patógeno en aguacates cv. Hass en Colombia, en los cuales causó síntomas de pudrición y una excesiva esporulación sobre las áreas afectadas (Figura 2D).

Colletotrichum musae (Berk. & M.A. Curtis) Arx, Verh. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Afd. Natuurk., Sect. 2 51(3): 107. 1957.

Especímenes examinados: BM1, BM2, BM3, BM4, BM5; fuente: frutos de banano (*Musa* AAA) con síntomas de pudrición, obtenidos en plaza de mercado de Quinchía (Risaralda) y Palmira (Valle del Cauca); recolector: L. Gañán, mayo de 2013.



Figura 1. Arbol filogenético de consenso basado en inferencia bayesiana que ilustra la relación de los aislamientos de *Colletotrichum* asociados con la antracnosis en frutos de mango, banano, tomate de árbol y aguacate dentro de los complejos de especies *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* en Colombia. El árbol se generó mediante secuencias combinadas de la región ITS, y de los genes *GAPDH* y *TUB2*, cada uno con un modelo separado de evolución de ADN. *C. lindemuthianum* (CBS 144.31) se usó como grupo externo. Los números en los nodos corresponden a las probabilidades posteriores.

Descripción: colonias en medio PDA, redondas a irregulares, de borde entero a semiondulado, elevadas, de 68 a 90 mm de diámetro ($\bar{x}=82,7 \pm 9,1$) después de 10 días a 20 °C. *Micelio* aéreo esparcido, semialgodonoso a ralo y de color blanco a crema y café oliváceo. *Conidios* de 10,8-18,5 X 3-5,9 μm ($\bar{x}=13,0 \pm 1,4$ X $4,1 \pm 0,5$), unicelulares, rectos, elípticos o cilíndricos, con extremos redondos a oblongos, algunas

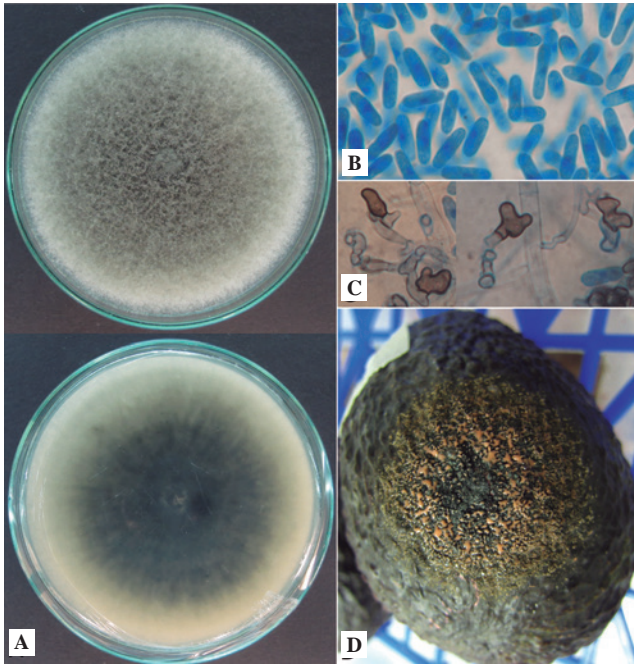


Figura 2. *Colletotrichum fructicola*: A. Colonia después de 10 días de crecimiento en medio PDA a 20 °C (aislamiento AM1); B. Conidios; C. Apresorios; D. Síntomas y esporulación en un fruto de aguacate cv. Hass inoculado artificialmente con suspensión de esporas del aislamiento AM1

Descripción: colonias en medio PDA, redondas, de borde entero, elevadas, de 78 a 90 mm de diámetro ($\bar{x}=84 \pm 6$) después de 10 días a 20 °C. *Micelio* algodonoso de color blanco a verde oliváceo. *Setas*, no se observaron (Figura 2A). *Conidios* de 10,3-20,0 X 2,0-4,8 μm ($\bar{x}=13,6 \pm 1,7$ X $3,7 \pm 0,5$), unicelulares, rectos, cilíndricos, con extremos redondos a oblongos (Figura 2B). *Apresorios* de 8,6-16,8 X 4,7-7,0 μm ($\bar{x}=12,0 \pm 3,1$ X $5,8 \pm 0,7$), simples (fusoides) o irregulares con uno a tres lóbulos amplios y poco profundos a profundos (Figura 2C).

Notas: la especie *C. fructicola* fue descrita por primera vez en Tailandia (Prihastuti *et al.*, 2009), y se ha reportado en otros países de Asia, África, Europa y América en diversos hospedantes vegetales (Weir, *et al.*, 2012; Phoulivong, *et al.*, 2012; Sharma & Shenoy, 2013; Jiang, *et al.*, 2014). En Colombia, *C. fructicola* se ha reportado como causante de antracnosis en tallos de mora (*Rubus glaucus* B.) del ecotipo Castilla (Afanador-Kafuri, *et al.*, 2014). Al igual que en el presente estudio, en Australia el patógeno se aisló a partir de frutos de aguacate con síntomas de pudrición (Weir, *et al.*, 2012). Sin embargo, este es el primer reporte que lo confirma como patógeno en aguacates cv. Hass en Colombia, en los cuales causó síntomas de pudrición y una excesiva esporulación sobre las áreas afectadas (Figura 2D).

veces con ligera disminución hacia la base. *Apresorios* de 8,0-23,8 X 3,7-11,7 μm ($\bar{x}=12,7 \pm 3,7$ X $6,1 \pm 1,7$), simples (fusoides) a irregulares, con lóbulos amplios y profundos.

Notas: *C. musae* es la principal especie asociada con la antracnosis o pudrición de frutos de banano (*Musa* spp.). Al igual que en los estudios de Weir, *et al.* (2012) y Su, *et al.* (2011), en este estudio no se observó la presencia de un estado perfecto o *Glomerella*, conocido como *G. musae* (Rodríguez & Owen, 1992; Krauss, *et al.*, 2001), el cual nunca se ha publicado de forma válida. El presente reporte se correspondió válidamente con el primero según los estudios morfológicos, de patogenicidad y genéticos, confirmando a *C. musae* como agente causante de la antracnosis del banano en Colombia. Los síntomas se observaron dos días después de la inoculación de los frutos de banano con conidios de *C. musae* como lesiones café oscuras a negras que se fueron ampliando con el tiempo, causando depresión del tejido afectado; posteriormente se observó la presencia de acérvulos alrededor de las depresiones en la superficie.

Colletotrichum tamarilloi Damm, P.F. Cannon & Crous, Studies in Micology. 73:105. 2012.

Especímenes examinados: TM1, TM2, TM3 y TM4; *fuentes:* frutos de tomate de árbol (*S. betaceum*) con síntomas de antracnosis, obtenidos en plaza de mercado de Quinchía (Risardalá); *recolector:* L. Gañán, 2013.

Descripción: colonias en medio PDA, irregulares, de borde semiondulado, elevadas, de 47 a 60 mm de diámetro ($\bar{x}=55,7 \pm 4,7$) después de 10 días a 20 °C. *Micelio* algodonoso de color blanco a blanco grisáceo o café oliváceo. *Setas*, no se observaron. *Conidios* de 9,7-16,9 X 2,2-6,1 μm ($\bar{x}=13,2 \pm 1,4$ X $3,6 \pm 0,6$), unicelulares, rectos, cilíndricos a fusiformes, con uno o ambos extremos agudos. *Apresorios* de 5,9-12,3 X 3,4-6,1 μm ($\bar{x}=8,2 \pm 2,0$ X $4,6 \pm 0,7$), simples (globosos a elípticos y fusoides), algunas veces irregulares, con uno a dos lóbulos poco profundos.

Notas: el nombre de la especie fue asignado por Damm, *et al.* (2012a) en referencia al nombre del hospedante (tamarillo, *S. betaceum*) del cual fue aislada, pero sin estudios de patogenicidad. En el presente estudio se encontró que los aislamientos obtenidos de frutos de tomate de árbol con síntomas de antracnosis causaron la enfermedad en nuevas inoculaciones en frutos del mismo hospedante. A partir de las nuevas inoculaciones se logró un nuevo aislamiento de individuos con características morfológicas similares al originalmente inoculado, cumpliendo así con los postulados de Koch para esta asociación. Esta especie se ha reportado únicamente en Colombia (Damm, *et al.*, 2012a), aunque hasta la fecha se han reportado en la base de datos del GenBank® secuencias con los números de acceso KJ633118 y KJ633119 del gen *GAPDH*, provenientes de aislamientos asociados con antracnosis en giló (*Solanum gilo*) del Brasil, los cuales se identificaron como *C. tamarilloi* (NCBI, 2014). Además, el primer autor del presente artículo identificó

como *C. tamarilloi* el aislamiento LM06 de la colección del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) recolectado en el 2007 en Rionegro (Antioquia) a partir de frutos de lulo (*Solanum quitoense*) con síntomas de antracnosis. La patogenicidad del aislamiento se evaluó en estudios previos en el laboratorio de patología de la yuca del CIAT, y se lo consideró como muy patógeno en frutos de lulo de la variedad Castilla empleando el método de inoculación por herida y disco de agar con micelio (informe del laboratorio de patología de la yuca, sin publicar). Se ha reportado la asociación de *C. gloeosporioides* s. lat. con la antracnosis en *S. betaceum* (Calderón, *et al.*, 2012), sin embargo, en el presente estudio no se obtuvieron aislamientos de este complejo que afectaran el tomate de árbol.

Discusión

El análisis filogenético multilocus empleado en el presente estudio es actualmente el enfoque usado para la identificación y descripción de las especies del género *Colletotrichum* (Damm, *et al.*, 2012a, 2012b; Weir, *et al.*, 2012; Cannon, *et al.*, 2012; Lima, *et al.*, 2013; Udayanga, *et al.*, 2013; Huang, *et al.*, 2013; Liu, *et al.*, 2013). La preferencia de este análisis se debió a que no se alcanzó resolución taxonómica con base en las características morfológicas y el uso de genes o regiones poco informativas a nivel individual (por ejemplo, la región ITS del ADNr) (Crouch, *et al.*, 2009), especialmente en el caso de muchas de las especies y clados de los complejos *C. acutatum* y *C. gloeosporioides*. Por ejemplo, las secuencias de la región ITS del ADNr no pueden diferenciar aislamientos de la especie *C. tropicale* de aislamientos de la especie *C. siamense*, como tampoco entre las especies *C. fructicola* y *Colletotrichum aeshynomenes* (Weir, *et al.*, 2012). Por lo tanto, un sistema de identificación eficaz debe contemplar el uso de la región ITS, así como de genes alternativos conservados pero variables (Cannon, *et al.*, 2012; Damm, *et al.*, 2012a, 2012b). Por ejemplo, en el complejo *acutatum* los dos genes de identificación más importantes son el *TUB2* y el *GAPDH* (Damm, *et al.*, 2012a). En el presente estudio este enfoque permitió la delimitación confiable a nivel de complejos de especies, así como de clados y de especies, de los aislamientos de *Colletotrichum* obtenidos. De acuerdo con el análisis, se identificaron las especies *C. asianum*, *C. tamarilloi*, *C. musae* y *C. fructicola*, las cuales se obtuvieron de frutos de mango, tomate de árbol, banano y aguacate, respectivamente, con síntomas típicos de antracnosis, determinándose su asociación como causante de la enfermedad en las pruebas de patogenicidad.

En cuanto a la relación de especificidad con el hospedante, solo *C. musae* tiene una relación específica con especies vegetales del género *Musa*, así como una amplia dispersión geográfica (Su, *et al.*, 2011; Weir, *et al.*, 2012). De igual manera, *C. tamarilloi* se ha reportado únicamente en hospedantes del género *Solanum* (Damm, *et al.*, 2012a; NCBI, 2014; informe del laboratorio de patología de la yuca del CIAT, sin publicar).

C. fructicola ha sido reportada por Afanador-Kafuri, *et al.* (2014) como causante de antracnosis en mora del ecotipo Castilla, y en el presente estudio se la reporta como causante de antracnosis en frutos de aguacate cv. Hass, lo que indica que en campo podría presentarse la infección cruzada, puesto que los dos cultivos pueden estar sembrados en zonas cercanas.

La identificación de las especies de *Colletotrichum* en el presente trabajo aporta al conocimiento de la etiología de la antracnosis en frutas tropicales de Colombia, lo cual es importante para el desarrollo y el mejoramiento de las técnicas de diagnóstico de las especies de interés y un elemento clave en la selección de prácticas de manejo integral de la enfermedad.

Agradecimientos

A la Doctora Lucía Afanador-Kafuri, por proporcionar algunos de los aislamientos identificados en el presente estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Bibliografía

- Afanador-Kafuri, L. 2011. Antracnosis de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth): variabilidad del agente causante e identificación de fuentes de resistencia en germoplasma de *Rubus* spp. en Colombia. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
- Afanador-Kafuri, L., González, A., Gañán, L., Mejía, J.F., Cardona, N., Álvarez, E. 2014. Characterization of the *Colletotrichum* species causing anthracnose in Andean blackberry in Colombia. *Plant Disease*. **98** (11): 1503-1513.
- Afanador-Kafuri, L., Minz, D., Maymon, M., Freeman, S. 2003. Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from Tamarillo, Passiflora and Mango in Colombia and identification of unique species from the genus. *Phytopathology*. **93**: 579-587.
- Arauz, L. F. 2000. Mango anthracnose: Economic impact and current options for integrated management. *Plant Disease*. **84** (6): 600-611.
- Arenas, A., Álvarez, E., Afanador-Kafuri, L., Mejía, J. F., González, A. 2007. Especies de *Colletotrichum* asociadas con la antracnosis de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) en el Valle del Cauca. *Fitopatología Colombiana*. **31** (1): 7-14.
- Cai, L., Hyde, K. D., Taylor, P. W. J., Weir, B. S., Waller, J., Abang, M. M., Zhang, J. Z., Yang, Y. L., Phoulivong, S., Liu, Z. Y., Prihastuti, H., Shivas, R. G., McKenzie, E. H. C., Johnston, P. R. 2009. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity*. **39**: 183-204.
- Calderón, C., Cárdenas, M., Restrepo, S., Jiménez, P. 2012. Morphological characterization of *Colletotrichum* species isolated from mango and tree tomato in Cundinamarca and Tolima, Colombia. *Phytopathology*. **102**: S4.18

- Cannon, P. F., Buddie, A. G., Bridge, P. D.** 2008. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Mycotaxon*. **104**: 189-204.
- Cannon, P. F., Damm, U., Johnston, P. R., Weir, B. S.** 2012. *Colletotrichum* - current status and future directions. *Studies in Mycology*. **73** (1): 181-213.
- Chaky, J., Anderson, K., Moss, M., Vaillancourt, L.** 2001. Surface hydrophobicity and surface rigidity induce spore germination in *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*. **91** (6): 558-564.
- Contreras, C. A.** 2006. Caracterización y pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum* spp. obtenidos de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam), tomate de árbol (*Solanum betaceum* Sendt), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss), mango (*Mangifera indica* L.) y tallos de mora (*Rubus glaucus* Benth) con síntomas de antracnosis. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. p. 115.
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., Crous, P. W.** 2012a. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*. **73** (1): 37-113.
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., Johnston, P. R., Weir, B. S., Tan, Y. P., Shivas R. G., Crous, P. W.** 2012b. The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*. **73** (1): 1-36.
- Damm, U., Mostert, L., Crous, P. W. & Fourie, P. H.** 2008. Novel *Phaeoacremonium* species associated with necrotic wood of Prunus trees. *Persoonia*. **20**: 87-102.
- FAOSTAT.** 2014. Food and Agriculture Organization statistical database. Fecha de consulta: 12 de abril de 2014. Disponible en: <http://faostat.fao.org/>.
- Ferreira, T. & Rasband, W.** 2012. ImageJ User Guide/IJ 1.46r. Bioimage Informatics. <http://rsb.info.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>
- Glass, N. L. & Donaldson, G.** 1995. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**: 1323-1330.
- Granados-Benavides, G. M., Guevara-Castro, Y. A., Montaña, J. S., Forero de la Rotta, M. C.** 2011. Caracterización biológica y molecular de aislamientos de *Colletotrichum* procedentes de frutales de clima frío moderado. *Fitopatología Colombiana*. **35** (1) (Suplemento):34.
- Guerber, J. C., Liu, B., Correll, J. C., Johnston, P. R.** 2003. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia*. **95**: 872-895.
- Hindorf, H.** 2000. *Colletotrichum* species causing anthracnose of tropical crops. *Plant Pathology*. **39**: 343-366.
- Hoyos-Carvajal, L., Castillo, S., Benítez, S., Ortiz, E., Farfán, L., Riascos, D.** 2011. Plant diseases in exotic purple passion fruit in the Andean zone. *Journal of Plant Pathology*. **93** (4) (Supplement):35.
- Huang, F., Chen, G. Q., Hou, X., Fu, Y. S., Cai, L., Hyde, K. D., Li H. Y.** 2013. *Colletotrichum* species associated with cultivated citrus in China. *Fungal Diversity*. **61** (1): 61-74.
- Hyde, K. D., Cai, L., McKenzie, E.H.C., Yang, Y.L., Zhang, J.Z., Prihastuti, H.** 2009. *Colletotrichum*: A catalogue of confusion. *Fungal Diversity*. **39**: 1-17.
- Jeffries, P., Dodd, J. C., Jeger, M. J. & Plumbley, R. A.** 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruits crops. *Plant Pathology*. **39**: 343-366.
- Jiang, J., Zhai, H., Li, H., Wang, Z., Chen, Y., Hong, N., Wang, G., Chofong, G. N., Xu, W.** 2014. Identification and characterization of *Colletotrichum fructicola* causing black spots on young fruits related to bitter rot of pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) in China. *Crop Protection*. **58**: 41-48.
- Johnston, P. R. & Jones, D.** 1997. Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruit rots assessed using rDNA sequences. *Mycologia*. **89**: 420-430.
- Krauss, U., Matthews, P., Bidwell, R., Hocart, M., Anthony, F.** 2001. Strain discrimination by fungal antagonists of *Colletotrichum musae*: Implications for biocontrol of crown rot of banana. *Mycological Research*. **105**: 67-76.
- Krishnapillai, N. & Wilson Wijeratnam, R. S.** 2014. First Report of *Colletotrichum asianum* causing anthracnose on Willard mangoes in Sri Lanka. *New Disease Reports*. 29:1. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.001>
- Kück, P. & Meusemann, K.** 2010. FASconCAT: Convenient handling of data matrices. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **56**: 1115-1118.
- Lima, N. B., Batista, M., DeMoraes, M. A., Jr., Barbosa, M. A. G., Michereff, S. J., Hyde, K. D., Marcos, P. S.** 2013. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. *Fungal Diversity*. **61** (1): 75-88.
- Liu, F., Damm, U., Cai, L., Crous, P. W.** 2013. Species of the *Colletotrichum gloeosporioides* complex associated with anthracnose diseases of Proteaceae. *Fungal Diversity*. **61** (1): 89-105.
- Martínez, A. P., Higuera, B. L., Martínez, S. T.** 2011. Selección de un método de extracción para RNA proveniente del hongo *Colletotrichum acutatum*, agente causal de la antracnosis en lulo *Solanum quitoense* Lam. *Fitopatología Colombiana*. **35** (1) (Suplemento):9.
- Martínez, E. P., Hio, J. C., Osorio, J. A., Torres, M. F.** 2009. Identification of *Colletotrichum* species causing anthracnose on Tahiti lime, tree tomato and mango. *Agronomía Colombiana*. **27** (2): 211-218.
- National Center for Biotechnology (NCBI).** *Colletotrichum tamarilloi* isolate CJ6 GAPDH (GAPDH) gene, partial cds. Fecha de consulta: 20 de abril de 2014. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ633118.1>.
- Phoulivong, S., McKenzie, E. H. C., Hyde, K. D.** 2012. Cross infection of *Colletotrichum* species; a case study with tropical fruits. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*. **2** (2): 99-111. <http://dx.doi.org/10.5943/cream/2/2/2>.

- Phoulivong, S., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E. H. C., Abdelsalam, K., Chukeatirote, E., Hyde, K. D.** 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. *Fungal Diversity*. **44**: 33-43.
- Posada, D.** 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*. **25**: 1253-1256.
- Prihastuti, H., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E. H. C., Hyde, K. D.** 2009. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. *Fungal Diversity*. **39**: 89-109.
- Reyes, R. M., Toro, J. M., Perfetti, J. J., Ruiz, D., Morales, J. R.** 2006. Plan frutícola nacional. MADR, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Documento técnico. Bogotá. 43 p.
- Rodríguez, R. J. & Owen, J. L.** 1992. Isolation of *Glomerella musae* [teleomorph of *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx] and segregation analysis of ascospore progeny. *Experimental Mycology*. **16**: 291-301.
- Rojas-Triviño, E. A.** 2008. Identificación de estrategias de manejo de la antracnosis (*Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenk.) del guanábano (*Annona muricata* L.). Tesis. Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., Huelsenbeck, J. P.** 2012. MrBayes v. 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. **61** (3): 539-542.
- Rueda, K., Saldarriaga, A., Cadavid, G. E., Saldamando, C., Cañas, G. P., Arango, R.** 2013. Differential organ distribution, pathogenicity and benomyl sensitivity of *Colletotrichum* spp. from Blackberry plants in northern Colombia. *Journal of Phytopathology*. **161** (4): 246-253.
- Saldarriaga, A., Castaño-Zapata, J., Arango, R.** 2008. Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **32** (123): 145-156.
- Sanabria, A., Mahuku, G., Kelemu, S., Cadavid, M. García, C., Hio, J., Martínez, E., Osorio, J.** 2010. Molecular identification and characterization of *Colletotrichum* spp. isolates from Tahiti lime, tamarillo, and mango. *Agronomía Colombiana*. **28** (3): 391-399.
- SAS.** 2008. *SAS/STAT*®9.2 User's Guide, Cary, N C: SAS Institute Inc.
- Sharma, G. & Shenoy, B. D.** 2013. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **47** (10): 1179-1194.
- Sreenivasaprasad, S. & Talhinhos, P.** 2005. Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. *Molecular Plant Pathology*. **6**: 361-378.
- Su, Y. Y., Noireung, P., Liu, F., Hyde, K. D., Moslem, M. A., Bahkali, A. H., Abd-Elsalam, K., Cai, L.** 2011. Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. *Mycoscience*. **52**: 376-382.
- Than, P. P., Jeewon, R., Hyde, K. D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., Taylor, P. W. J.** 2008. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*. **57**: 562-572.
- Udayanga, D., Manamgoda, D. S., Liu, X., Chukeatirote, E., Hyde, K. D.** 2013. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? *Fungal Diversity*. **61** (1): 165-179.
- Weir, B. S., Johnston, P. R., Damm, U.** 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*. **73** (1): 115-180.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. W.** 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Application* (M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, J.J. and Y.J. White, editors). Academic Press. San Diego, CA, USA: 315-322.

Growth strategies of an abundant reef-building coral in the southern Caribbean (*Undaria tenuifolia*)

Silvia Marcela Cáceres^{1,2}, Juan Armando Sánchez^{1,*}

¹ Laboratorio de Biología Molecular Marina -BIOMMAR, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Bogotá, COLOMBIA

² Current address: Department of Medicine, National Jewish health, Denver, CO, USA

Abstract

The Caribbean coral community structure is changing, particularly species dominance. The *Acropora* die-off, at many southern and western Caribbean reefs, has allowed the branching scleractinian coral *Undaria tenuifolia* Dana to become one of the dominant species in these shallow reefs. In this study, colonies of *U. tenuifolia* were followed for a year using digital imagery. We developed a size class model that allowed us to estimate population fluctuation and growth strategies (colony growth rates and clonal processes). Growth rates varied with colony size; mid-sized colonies doubled their size in a year, while larger colonies often undergo fission. The clonal strategies, i.e., fusion and fission, allow *U. tenuifolia* to compensate for the low survival rates of early larval post-settlement thus being able to become a dominant coral species in the current reef scenario. The size matrix model formulated on the basis of a relative colony growth rate offered a practical approach for a short-term observation situation, generating a “time-invariant” transition model. Mortality patterns were not correlated to size classes and were variable by location and time. Overall, population abundance was stable over the monitored period of time. The high survivorship of *U. tenuifolia* after clonal fragmentation, as well as its high growth rate, suggests that this is a potential species to be cultured, which could be a solution given that this species has become the most common coral being extracted and sold as a souvenir in Cartagena, Colombia.

Key words: *Agaricia*, *Undaria tenuifolia*, clonal, community structure shifts, colonial growth, Caribbean Sea, coral reefs, coral extraction.

Estrategias de crecimiento de un abundante coral formador de arrecifes en el Caribe sur (*Undaria tenuifolia*)

Resumen

La estructura de las comunidades coralinas del mar Caribe está cambiando, sobre todo en cuanto a especies dominantes. Particularmente la mortandad de *Acropora*, en muchos arrecifes del sur y oeste del Caribe, ha permitido que el coral escleractínio *Undaria tenuifolia* Dana se convierta en una de las especies dominantes en los arrecifes someros. En este estudio, se le hizo seguimiento a colonias de *U. tenuifolia*, durante un año mediante el uso de imágenes digitales. Se desarrolló un modelo de clases de tamaño que permite estimar la fluctuación poblacional y determinar la estrategia de crecimiento. El modelo de clases de tamaño calcula las tasas de crecimiento de las colonias así como los procesos clonales. La clase de tamaño de la colonia afecta la estrategia de crecimiento de esta, donde colonias medianas pueden duplicar su tamaño en un año mientras las colonias más grandes generalmente se dividen. Las estrategias clonales, e.g., fisión y fusión, observadas durante el período de estudio, le permiten a *U. tenuifolia* sobreponerse a las bajas tasas de sobrevivencia del asentamiento post-larval, además de convertirla en una especie de coral dominante. La matriz del modelo de tamaños formulado a partir del crecimiento relativo de la colonia ofrece un enfoque práctico para observaciones a corto plazo, generando a su vez un modelo de transición “invariante en el tiempo”. Los patrones de mortalidad no se correlacionaron con clases de tamaño y fueron variables según el lugar y el tiempo. La abundancia total de la población se mantuvo estable durante el período de seguimiento. La alta sobrevivencia de esta especie luego de fragmentación clonal, así como su alta tasa de crecimiento, sugieren que se trata de un coral con potencial de ser cultivado, lo que surge como una solución frente a la extracción y comercialización de esta especie como souvenir en Cartagena, Colombia.

Palabras clave: *Agaricia*, *Undaria tenuifolia*, clonal, estructura comunitaria, crecimiento colonial, mar Caribe, arrecifes coralinos, extracción coralina.

Introduction

In the last decades, Caribbean coral reefs have declined severely, producing shifts in the coral community structure, which have not been completely understood (Aronson et al., 2002a, 2000; Hughes et al., 2003). Natural catastrophes and human activities have a dramatic impact in the coral reef community (Glynn, 1984), which affect dominant species, as observed during the mass bleaching event of Belize in 1997-98 and the Caribbean-wide events of 2005 and 2010 (Aronson & Precht, 2000; Aronson et al., 2000; Eakin et al., 2010; Guest et al., 2012; Wilkinson & Souter, 2008). In order to conserve and protect coral reefs, it is of great importance to identify the ecology and evolution of dominant main framework architects of coral reefs. In the Colombian Caribbean (Cartagena area), *Undaria tenuifolia* Dana (previously assigned to *Agaricia*), also known as lettuce coral (Figure 1), is today the dominant coral species in shallow semi-exposed reefs (Camargo et al., 2009; Díaz-Pulido et al., 2004; López-Angarita et al., 2014; Restrepo et al., 2006; Sánchez, 1995). This dominance seems to extend at least from historical times, as whole coral reefs uplifted by tectonic activity between 500 AD and 1500 AD exhibit *U. tenuifolia*-dominated reefs (e.g., Isla Tesoro, Cartagena: Sánchez, 1995; Vernet et al., 1992). There is a recent dominance shift observed during the mid-1990s in Belize, where *U. tenuifolia* presented lagoonal reef dominance levels as high as 85% after the massive mortality of the staghorn coral, *Acropora cervicornis*, from white band disease (Aronson et al., 2002b; Aronson & Precht, 1997, 2000; Aronson et al., 1998, 2002c; Sebens et al., 2003). A pattern that has been also observed in some Colombian reefs after the 1983-84 *Acropora* die-off (Cendales et al., 2002). This sudden dominance of *U. tenuifolia* was ascribed to its “weedy” behavior due to clonal strategies and fast growth rates (Aronson et al., 2002b; Bellwood et al., 2004; Jackson, 2001).

Clonal processes are common in many reef-building corals. The two most known clonal processes are fission and fusion. Briefly, fission is caused by partial loss of tissue (partial mortality) and by fragmentation (which is a form of asexual reproduction), whereas fusion is the aggregation of ramets, likely from the same original genet, forming structures that are called “rugs”. In general, clonal processes are found in organisms such as foliaceous and branching corals, bryozoans and plants (Aronson & Precht, 1995; Clark-Tapia et al., 2005; Highsmith, 1982; Hughes, 1984; Hughes & Jackson, 1985). In the case of *U. tenuifolia*, a foliaceous coral, clonal processes are regularly observed in the population (Hughes & Jackson, 1980). Largely, cloning grants corals a suite of special demographic and survival

characteristics, including the capability for fast colonization produced by an overall net growth. Net growth is defined as the balance between the addition and loss of coral polyps or modules (Highsmith, 1982; Hughes & Jackson, 1985). Clonal processes introduce a trade-off between genotype expansion and genetic diversity reduction (Foster et al., 2013; Vollmer & Palumbi, 2006). Indeed, genetic uniformity could make coral populations more susceptible to physiological stress by lowering their ability to adapt to environmental changes (Hughes et al., 2003; Lasker & Coffroth, 1999; Soong, 1991; Soong & Lang, 1992).

Studies describing growth and population dynamics of corals have uncovered dynamic patterns characteristic for each species, including a variety of recruitment, growth and mortality rates (Hughes & Jackson, 1985; Lasker, 1990, 1991; Riegl et al., 2009; Tanner, 1997; Yoshioka, 1994). Previous studies have found that most coral populations remained stable through the period of time they were tracked (Brazeau & Lasker, 1992; Chadwick-Furman et al., 2000; Hughes & Jackson, 1985; Langmead & Sheppard, 2004). In fact, pioneer studies of a congener species, *U. agaricites*, showed dynamic and variable clonal processes at the colonial level, but the structure of the overall population seemed to remain stable after a few years (Hughes, 1984).

In some localities of the Southern Caribbean, such as Cartagena, Colombia, *U. tenuifolia* is currently extracted and sold by locals as a souvenir (personal observation, 2005-2015). This extraction needs an evaluation from the conservation point of view in order to establish if the extraction could threaten the species’ sustainability. A study of the growth rates of the species is also needed to estimate the impact of this activity. The aim of the present study is to examine the species growth strategies, i.e., growth rates and clonal processes, of an *U. tenuifolia* population over a year and a half at two local reefs near Cartagena. Also, it aims to understand the continued local success of this species, and its current success in areas where branching acroporids have almost disappeared.

Methods

Study sites

Two locations with a high abundance of *U. tenuifolia* were haphazardly chosen and permanently marked with concrete blocks poled with polyvinyl chloride (PVC) tubes, in order to study its growth strategies and demography. The two nearby sites are called by local divers as Palo (10° 16' 44.3'' N 75° 35' 50.7'' W) and Playita (10° 15' 47.7'' N, 75° 35' 50.1'' W), off Barú island, Cartagena, Colombia. The two locations showed dense cover of *U. tenuifolia* between 3 to 18 m, combined with other common Caribbean coral species, such as *Orbicella* spp., *Millepora alcicornis*, *Porites astreoides*, *Mycethophyllia* spp. and brain corals (*Diploria* and *Pseudodiploria*), among others. Palo is clearly a more diverse type of coral reef with higher water motion

*Corresponding author:

Juan Armando Sánchez, juansanc@uniandes.edu.co

Recibido: 7 de febrero de 2015

Aceptado: 2 de agosto de 2015

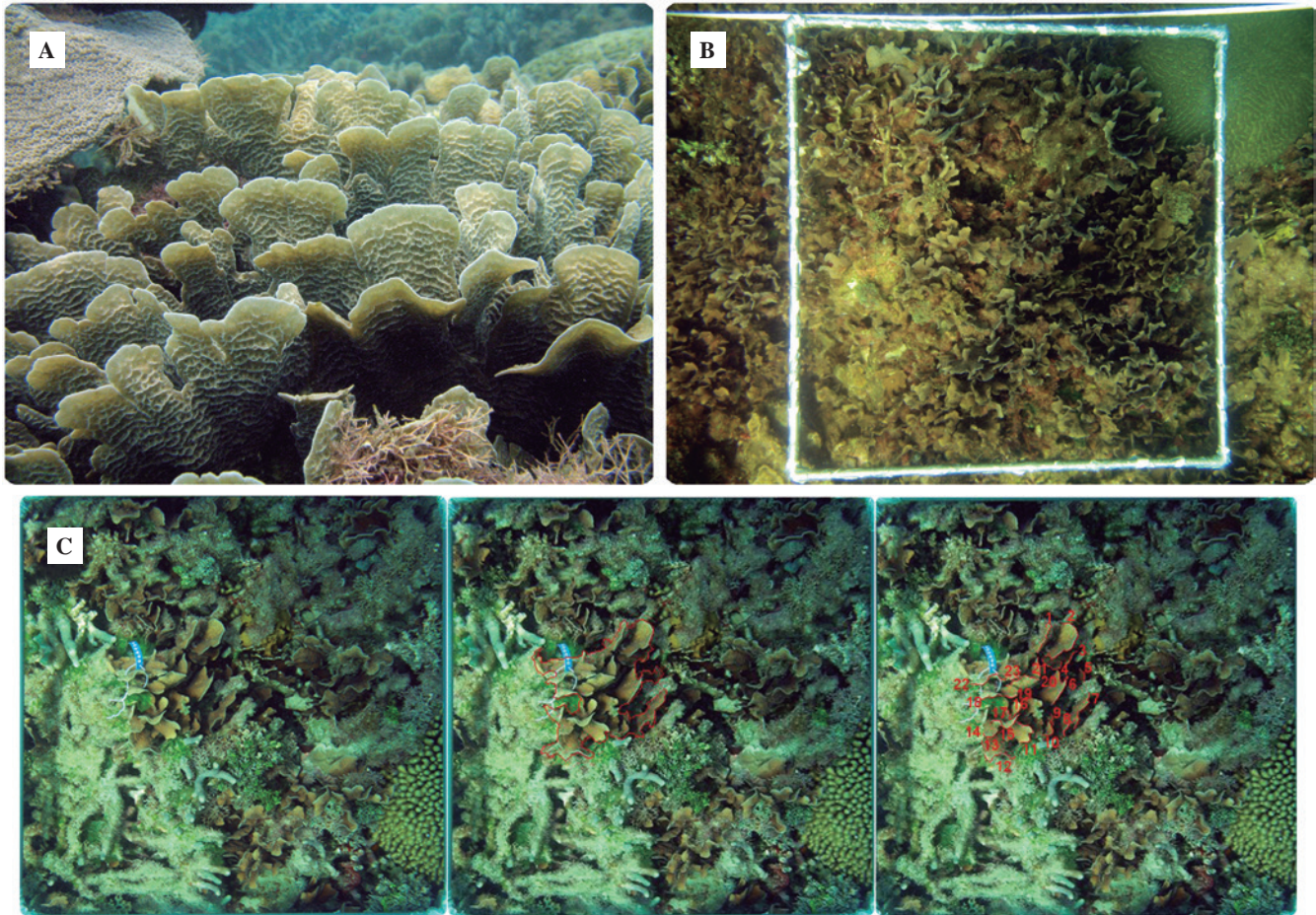


Figure 1. Images of *Undaria tenuifolia* Dana at Playita, 10 m deep, Barú island. A. Detail of a colony. B. A 1 m² quadrat for estimating *U. tenuifolia* coral cover (note the species abundance). C. A tagged colony photographed within a 25x25 frame for growth measurements and monitoring, showing (left to right) the raw image, the polygon (red) of its area and the blade edges numbered.

and coarser sediments whereas Playita is a calmer area with notable fine sedimentation due to its proximity with a coastal estuary (Ciénaga de los Vasquez).

Size distribution and abundance

Two perpendicular (cross-like) 30 m belt transects were located at the two sites (total area studied for each location: 116 m²). Each transect was photographed every 6 months starting in April 2006 and finishing in April 2007. A 1 m² quadrant was used as grid for guiding the photographs (Figure 1B). A colony was defined as any area of coral tissue growing independently and physically separated from its neighbors. All colonies were first assigned in 2006 to one of four size classes (I: $x < 47.35$ cm²; II: 47.35 cm² $< x < 109$ cm²; III: 109 cm² $< x < 224$ cm² and IV: $x > 224$ cm²). The population was divided in this way in order to include the range of colony sizes found at the two locations, while maintaining an appropriate sample size for each size class. Dividing up the population into natural cohorts would have increase the number of size classes, due to the larger amount of small colonies, but would have increase the error around

the transition probabilities. Coral percent cover (projected area) was measured with ImageJ Software (NIH) from each 1 m² quadrant photographed. Cover data was log-transformed in order to reduce non-normality and heteroscedasticity, then tested for normal distribution (single Kolmogorov-Smirnov test) and compared with general linear models (ANOVA) to test one dependent variable against one or more independent factors (SPSS).

Colony growth

In order to determine clonal processes, a total of 80 colonies (roughly half in each site) along a 50 m belt transect, different from the 30 m cross belt transect, was haphazardly chosen at each location. The colonies were marked with aluminum tags for numerical individual recognition. The colonies were monitored the following dates: April 2006, October 2006 and April 2007. Photographs were taken using a 25x25 cm quadrant as reference grid (Figure 1C). From each photographed colony, the net change in projected area, as well as fission, partial dead area, bleached area, and fusion were noted and measured with ImageJ after distortion correction using the

frame and free-transformation in Adobe Photoshop (Lasker et al., 2003). Per-colony percent growth was calculated as the change between final and initial area (after a year) divided by the initial area. Partial mortality was defined as the per-colony area of bleached and/or algae colonized coral tissue spotted at every monitored interval during the study period. The results were analyzed also using general linear models (ANOVA). We analyzed if the size class, sampling time or location affected mortality. Fusion was recorded as the union of two separate colonies that grew adjacent and came into contact, joining their tissues and skeletons. Fission was noted when a single colony turned into two or more smaller colonies. All measurements were done in cm².

In addition to the data collected from the photographs, two *in situ* measurements of growth were taken in a subset of colonies outside the belt transects: (1) buoyant weight performed on April 2006, October 2006 and April 2007 at each location and (2) an Alizarin-red S vital staining of colonies performed only in April 2007 in one location. The *in situ* buoyant weight was performed on n=25 colonies following the technique described by (Bablet, 1985) and (Davies, 1989), which allows the accurate measurement of weight change, without killing the colonies, permitting repeated measurements of growth. The calculations were taken following the equation given by Bablet (1985):

$$W_{(real)} = \left(\frac{P_{(water)}}{1} \right) - \left[\frac{D_{(water)}}{D_{(aragonite)}} \right]$$

Were, $W_{(real)}$: Real weight of the Calcium carbonate skeleton of the colony (g), $P_{(water)}$: Apparent weight of the colony inside the water (g); $D_{(water)}$: Seawater density at the moment of the experiment (g cm⁻³) and $D_{(aragonite)}$: Aragonite density = 2.39 g cm⁻³. Percentage growth was calculated as the change between final and initial weight divided by the initial weight. Alizarin red S staining was applied to 10 randomly selected colonies from each of size classes I and II in Playita, in April 2007 as a supporting data for the growth rates found in the photographic censuses. Alizarin red S is a vital dye commonly used in corals, allowing colony size recognition at the time of staining, due to its incorporation into the coral skeleton (Hughes & Jackson, 1985; Lamberts, 1978). With only purpose to have a short-term measure of growth in *U. tenuifolia*, the colonies were incubated for 1d in individual plastic bags with an alizarin solution (20 mg l⁻¹). Colonies were collected 47 days after staining and the growth was measured as the distance between the stain and the new colony boundary without involving any cutting of the colonies because the stain line was visible from the surface. A total of ten measurements per colony were taken from haphazardly chosen areas of the terminal edge (n=5) and inner edges (n=5).

Size-class matrix model

A size matrix model was constructed following Hughes (1984) for clonal coral species. In general, the model projects

a coral population structure at time $t+1$ from the measured size structure at time t . The general model was defined as:

$$X(t+1) = T \cdot \bar{\chi}(t)$$

Where: $\chi(t)$ is a column vector describing the population size structure at time t . T is the transition matrix of probabilities within the size classes, taking into account the probability of the colonies: (1) remaining in the same size class, (2) growing to next size classes or (3) shrinking to smaller size classes (Caswell, 2001; Dullo, 2005; Fong & Glynn, 2000; Hughes, 1984). The transition probabilities were obtained from the tagged colonies, which were individually followed through photographic censuses during the study period. It is important to mention that this transition model could project, but not accurately predict, the future of the population due to the assumption that the size structure and transition matrix values remain constant, which is unlikely to happen (Caswell, 2001; Dullo, 2005; Lefkovitch, 1965). The transition probabilities were obtained from the colonies tagged and individually followed photographic censuses during the study period. It is important to mention that this transition model could project, but not accurately predict the future of the populations due to the assumption that the variables remain constant, which is unlikely to happen. In order to look at the overall growth of the population monitored (n= 50), a population diagram was developed. The diagram takes into account all the colonies as initial population and does not treat the size classes' probabilities independently. The final number of tagged colonies included in the model changed from 80 to 50 colonies due to algae colonization over the tags, hindering colony identification and monitoring.

Results

Demography and abundance

The two sites chosen were highly diverse, presenting areas with a high dominance of *U. tenuifolia*, to areas with more species present. Coral percent cover of *U. tenuifolia* differed significantly between the two locations (ANOVA, $F=137$; $P< 0.001$). Playita had higher *U. tenuifolia* cover with an average per 1 m² photo quadrat of 27.4 ± 3.5 % (mean \pm SD) (Figure 2, grey boxes) compared to Palo, which had an average cover of 3.6 ± 0.6 % (mean \pm SD) (Figure 2). In general, *U. tenuifolia* cover was significantly different among size classes, the largest size class having the greatest cover. But differences in coral cover between size classes depended on the location (significant location by size class interaction), with IV size class having the greatest cover at Palo whereas II was the size class with the greatest cover at Playita (ANOVA, Table 1).

Palo reef exhibited a decrease in the number of colonies for all size-classes from 364 colonies in April 2006 down to 194 colonies in October 2006. From October 2006 to April 2007 it remained relatively stable for all size classes, the

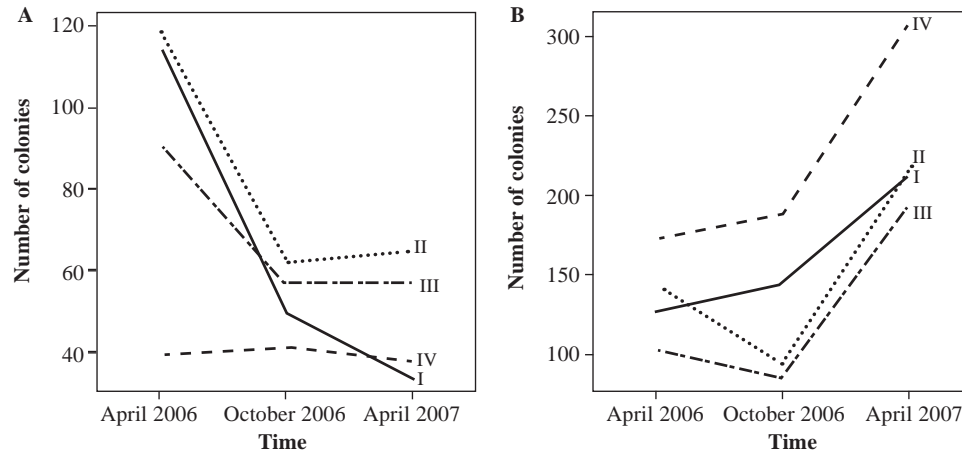


Figure 2. Percent cover of *Undaria tenuifolia* from the three times monitored, starting April 2006 and finishing April 2007 in the two locations monitored in the Southern Caribbean.

Table 1. Results from the ANOVA test for: coral cover (1 m²) of *Undaria tenuifolia* as the dependent variable against size classes, reef (Playita vs. Palo), and time interval; n=116 photo quadrants measured in each of two locations at three sampling times (April 2006, October 2006, April 2007) (*denotes significant values at P<0.05).

| Source of Variation | F | P value |
|-----------------------------|--------|---------|
| Size | 50.730 | 0.003* |
| Reef | 0.679 | 0.463 |
| Time | 0.179 | 0.843 |
| Size * Reef | 47.453 | <0.001* |
| Size * Time Interval | 3.475 | 0.078 |
| Reef * Time Interval | 4.628 | 0.054 |
| Size * Reef * Time Interval | 0.797 | 0.572 |

total number of colonies increasing slightly to 210 (Figure 3A), which could imply a balance between death rate and new colonies added from clonal processes. Playita reef, on the other hand, presented a variable number of colonies throughout the year; the amount of colonies in size classes II and III decreased from April 2006 to October 2006 and the number of colonies for every size-class increased from October 2006 to April 2007 (Figure 3B). Since the total amount of colonies changed from 548 in April 2006 to 930 colonies in April 2007 this suggests that the colony death rate was lower than the addition of new colonies.

Colony tissue mortality, fusion and fission

Almost all tagged colonies exhibited clonal processes. Partial mortality per-colony was not significantly dependent on size class or sampling time but significantly differed between the two reefs (ANOVA, P<0.01). In general, the amount of colonies without injury was 51.8 % regardless of size. Partial or entire tissue mortality occurred in 48.2 % of the colonies with a mean per-colony tissue loss of 34.6 % ±

30.1 (mean ± SD). Whole colony mortality was at least 4 % in both locations. Interestingly, the dead colonies found belonged to the IV size class. Thirty colonies were lost or not found. Interestingly, the colonies found dead belonged to the IV size class. Few colonies presented fusion. Only two colonies out of the final 50 presented fusion with a neighboring colony and both cases transferred them to the next larger size class (from size class I to II and from size class III to IV). Fission was a common process, particularly between October 2006 and April 2007. Fourteen colonies out of the 50 exhibited fission, and almost all of these belonged to the IV size class, except one colony from the III size class. Colony size class transitions coming from fission were observed as follows: five colonies shifted from size class IV to size class III; four colonies moved from size class IV to size class II, two colonies passed from size class IV to size class I; two colonies from size class IV and one from size class III presented fission, but it did not represent a size class transition.

Colony Growth

There were no significant differences in per-colony percent growth between the two time intervals or between locations (ANOVA, P>0.05). Thus, measurements from both intervals were used to calculate colony growth. Percent growth was then compared among size classes by locations. Colonies from size classes I and II grew to double their initial area (Figure 4). Colonies from size class IV commonly presented loss of tissue, oftentimes due to fission events. Fission was mostly observed in the largest size colonies monitored, which on average loss tissue (Figure 4).

The relative semi-annual growth percentage obtained from the buoyant weight change of tagged colonies showed no statistical correlation with the initial colony weight (Linear regression, n = 26, r²= 0.02, F= 0.481; P= 0.494). The mean semi-annual percent growth was 4.33 ± 32 % (mean ± SD).

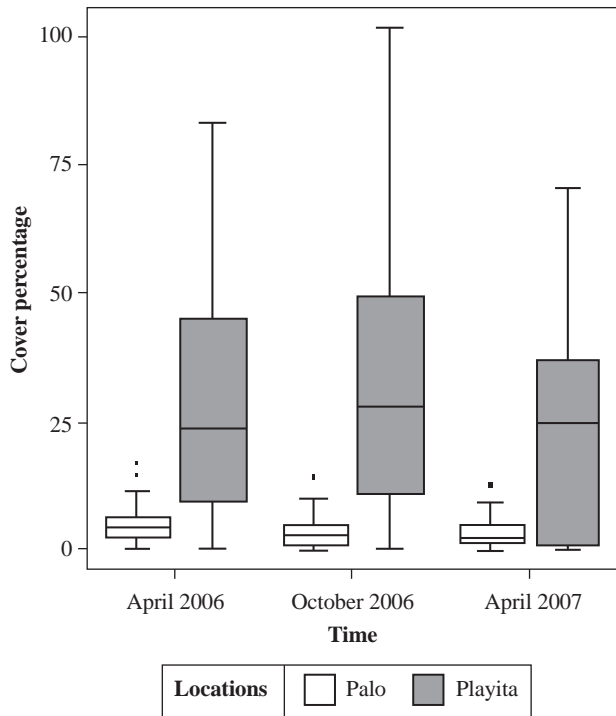


Figure 3. Number of colonies per size class of *Undaria tenuifolia*, throughout the study period (April 2006 to April 2007). **Empty boxes.** Colonies at Palo. **Grey boxes.** Colonies at Playita.

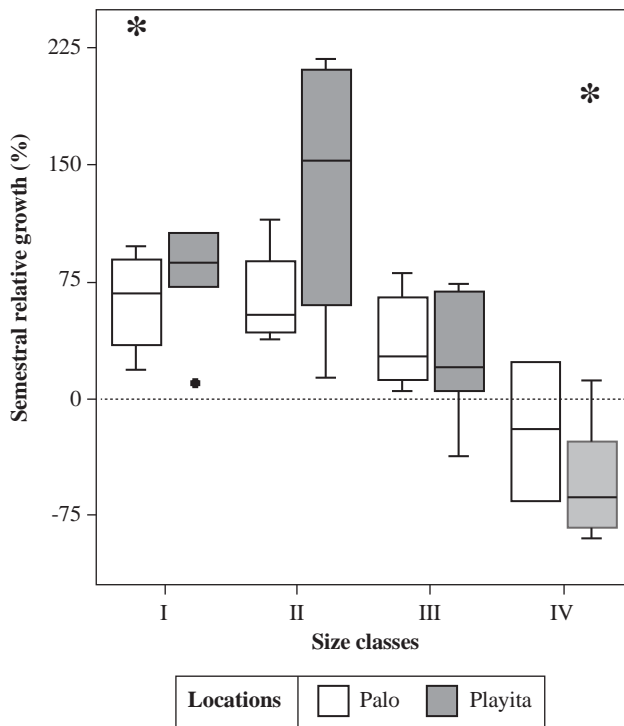


Figure 4. Net colonial growth of colonies from *Undaria tenuifolia* determined by the photographic census for the different size classes and locations. (*) Extreme values due to fusion processes. (°) Atypical value.

Weight classes were not considered due to the small number of colonies (n= 25). The Alizarin red S staining, though applied to a reduced number of colonies (n=10) during 47 days, corroborated a rapid growth in *U. tenuifolia* colonies. Per-colony monthly growth percentage presented a mean of 10 % with a minimum of 0.32 % and a maximum of 39 % of the original size. Additionally, daily growth rates in the edges had a mean of $0.046 \pm 0.01 \text{ mm d}^{-1}$ (mean \pm SD) for the terminal edges of the colonies and a $0.027 \pm 0.01 \text{ mm d}^{-1}$ (mean \pm SD) for the inner edges.

Size transition matrix

Throughout the study period, size classes I and III presented similar probabilities of either remaining in the same size class or growing into the next-large size class (Figure 5). Size class II showed a high probability of growing into larger size classes (Figure 5). In contrast, the largest size class had a higher probability of moving backward to smaller size classes than remaining in the same size class; it was the only size class where total colony mortality occurred (Figure 5).

The size frequency distribution predicted from the model was similar to the size frequency distribution observed in the field (G-test, $G= 6.1983$, $df= 3$, $P= 0.10$). In order to project a future population of *U. tenuifolia* in the locations monitored, the transition matrix was tested with the cover data obtained (data not shown). Briefly, the cover data was used as the column vector describing the population size structure at time t with the same transition matrix. When the cover data was combined with the transition matrix, significant differences in the size distribution observed were found at each location (Palo, n= 364; G-test, $G= 18.937$, $df= 3$, $P< 0.01$; Playita, n= 548; G-test, $G= 79.53$, $df= 3$, $P< 0.001$).

Discussion

Clonal processes, particularly fission, comprised an important component in *U. tenuifolia* growth strategy. In the two reefs studied at a Southern Caribbean coral reef (Cartagena, Colombia), a large amount of colonies from small size classes were continuously produced mostly from fission and notable at Playita. Fission, as seen in the transition matrix, seems to give this coral an advantage to become a dominant species. Fission in *U. tenuifolia* could be produced in 2 ways: (1) colony division due to a physiological mechanism where separate (but still attached) ramets are generated without jeopardizing the original ramet, improving the genet longevity and, (2) mechanical fragmentation, where loose fragments reattach and regrow. These two processes could be highly correlated with environmental factors (e.g., high tides, storm waves, high surface sea temperature), competition with algae, sponges and other coral species (Aronson et al., 2002b; Aronson et al., 2014), which normally occur in reefs. The fast colonial growth, together with fission appear to yield a dynamic growth strategy that allows *U. tenuifolia* to avoid the high susceptibility to

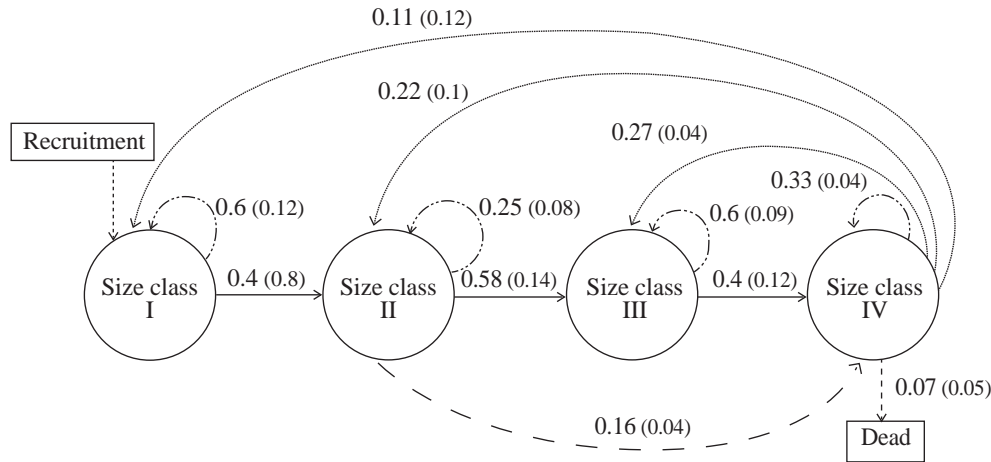


Figure 5. Diagram of the transition matrix for *Undaria tenuifolia* taking into account the clonal process observed in tagged colonies ($n=50$). The numbers represent the transition probabilities for each size class. The numbers in parenthesis are the percentage of the entire population shifts observed between April 2006 and April 2007. The type of line means different events. (.....) P^A to shrink to a smaller size class. (---) P^A to stay in the same size class. (---) P^A to pass to the next size class. (- - -) P^A to pass to a larger size class (fusion). (- - -) P^A of Recruitment and Death. Death defined as total mortality. There are not probabilities for death in size classes I, II and III because it was not observed; however, it was expected due to the lost of many colonies during the period studied.

competition that is often associated with early coral post-settlement (Connolly & Muko, 2003; Hagedorn et al., 2006; Highsmith, 1982). Fission is a common life history characteristic present in many hard corals (Curaçao: Bak & Luckhurst, 1980, Jamaica: Hughes & Jackson, 1985). In turn, this high proportion of small size colonies generates a natural size distribution skewed towards smaller size classes, which appear to be related to environmental conditions such as strong currents or storms that favor population growth by means of fission (Meesters et al., 2001).

Fusion, on the other hand, may be a size independent process in *U. tenuifolia* but was not as commonly observed, as it was fission. The mechanisms initiating and controlling fusion are not clearly known in corals, but they might be related with allorecognition systems for clonemates, which are well understood in other groups of invertebrates (see review in Hughes, 2005). This process increases small colony survival, as well as many other benefits to the population (Hughes et al., 1992; Hughes & Jackson, 1980). Nonetheless, longer periods of monitoring are necessary to accurately estimate fusion rates in *U. tenuifolia*.

The local population of *U. tenuifolia* by itself contributed to up to 27 % of the total cover in one of the study sites (Playita), suggesting its potential dominant role in the coral community structure at Southern Caribbean reefs. These mechanisms enable *U. tenuifolia* to colonize semi-exposed shallow fore-reefs with a high probability of survivorship (Dullo, 2005; Sebens et al., 2003). This comb-like growth mode may also lead to the exclusion of common coral competitors such as *Porites* spp. that cannot easily dominate the shallow fore-reefs as *U. tenuifolia* does (Aronson & Precht, 2000; Aronson et al., 2000, 2014; Sebens et al., 2003).

U. tenuifolia also avoids overgrowth by other competitive corals by decreasing free substrate, thus facilitating its dominance (Sebens et al., 2003).

Undaria tenuifolia: dominant or opportunistic?

Reef cores dating back thousands of years indicate that *U. tenuifolia* has been a dominant reef species at various times in history in the Southern Caribbean, before the recent coral reef decline (Vermette, 1985; Vermette et al., 1992). However, there are findings from the last few decades suggesting it is an opportunistic species rather than a dominant one (Aronson et al., 1998, 2014). It appears that *U. tenuifolia* tends to be a dominant species when its competitors are declining under unfavorable conditions. This dominance, or rather opportunistic behavior, can be mediated by the growth strategies observed in *U. tenuifolia*. In addition, to its comb-like conformation of colonies, notably adapted to repel sedimentation (personal observation). In this comb-like conformation, the colonies and multiple ramets may fuse, perhaps diminishing the mortality risk or probably altering the local microenvironment to its benefit. This coral aggregation is also helped out by the plastic indeterminate growth of this type of modular organisms (Caswell, 2001). Although the polyp size is genetically determined, a coral colony may grow indeterminately (Connolly & Muko, 2003; Hughes et al., 1992; Lasker & Sánchez, 2002; Sebens, 2003).

As mentioned, *U. tenuifolia* face environmental stress factors such as high water temperatures or terrestrial run-offs from rivers such as Magdalena and Sinú (Restrepo et al., 2006; Velásquez et al., 2011). Previously, it has been considered that *U. tenuifolia* is a susceptible species to bleaching, exhibiting low or negligible recovery after a bleaching

disturbances caused by high temperatures (Aronson et al., 2000; Robbart et al., 2004). This low recovery has been related to (1) the low amount of heat shock protein (HSP) presented in *U. tenuifolia* (Robbart et al., 2004) and (2) its monotypic symbiosis with a low temperature tolerant type of *Symbiodinium* (Baker, 2003; LaJeunesse, 2002). High sea surface temperature (SST) has been the condition observed as the trigger for the decrease of *U. tenuifolia* populations in the northwestern Caribbean (Aronson et al., 2002a; Aronson and Precht, 2000; Aronson et al., 1998). Further high SSTs together with a reduced grazer fish density, and high algae and sponge cover would impede the *U. tenuifolia* population's recovery (Aronson et al., 2002b; Bellwood et al., 2004; Connell, 1997; Jackson, 2001). However, in the study area, Barú island, Colombia, *U. tenuifolia* contains a rather generalist symbiont, *Symbiodinium* C3 (Camargo et al., 2009), which has also been considered as a stress- and high temperature-tolerant zooxanthellae type elsewhere (Hume et al., 2013). Whether the southern Caribbean populations of *U. tenuifolia* are more resistant to heat disturbances than the northwestern populations remains unknown.

One of the motivations of this study was the fact that there is a continued extraction of *U. tenuifolia* as a souvenir near Cartagena, Colombia. Although it is unknown the extent and effect of the extraction on the affected populations, fortunately it is clear that this is one of the corals with higher growth rates in the Caribbean. This parallels what was also found near Cartagena on the harvested octocoral *Antillologorgia acerosa*, which is also among the faster growing gorgonian corals of the Caribbean (Cadena & Sánchez, 2010). To accurately predict the population response due to a sustain harvest in a coral species additional factors affecting the growth strategy of *U. tenuifolia* would need to be measured. Yet, the size-based approach used in this study offered a practical advantage in a short-term observation situation, generating a "time-invariant" transition model (Yoshioka, 1994). Overall, the size matrix model showed how dynamic the colony, as an individual, could be, which is characteristic of an opportunistic coral. The high survivorship of *U. tenuifolia* after clonal fragmentation, as well as its high growth rate, suggests that this is a potential species to be cultured at mid-water gardening conditions (Rinkevich, 2014), where a more sustainable production of the species appears feasible.

Acknowledgments

This study was funded by Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales Francisco José de Caldas COLCIENCIAS (Project No. 1204-09-17774) and Universidad de los Andes (Departamento de Ciencias Biológicas-Facultad de Ciencias). Special thanks to: J. Cadena, N. Manrique, V. Piñeros, C. Camargo, other members of BIOMMAR (UniAndes), C. Martinez and J. Schot (Cartagena) for their valuable help during field work. We thank H. Contreras from the Physics Department,

Universidad los Andes, for his helpful advice and comments. Comments from Sven Zea and an anonymous reviewer are greatly appreciated.

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest of any kind.

Bibliography

- Aronson R.B., Hilbun N.L., Bianchi T.S., Filley T.R., & Mckee B.A.** (2014) Land use, water quality, and the history of coral assemblages at Bocas del Toro, Panama. *Marine Ecology-Progress Series*, **504**: 159-170.
- Aronson R.B., Macintyre I.G., Precht W.F., Murdoch T.J.T., & Wapnick C.M.** (2002a) The expanding scale of species turnover events on coral reefs in Belize. *Ecological Monographs*, **72**: 233-249.
- Aronson R.B., Macintyre I.G., Precht W.F., Murdoch T.J.T., & Wapnick C.M.** (2002b) The expanding scale of species turnover events on coral reefs in Belize. *Ecological Monographs*, **72**: 233-249.
- Aronson R.B., & Precht W.F.** (2000) Herbivory and algal dynamics on the coral reef at Discovery Bay, Jamaica. *Limnology & Oceanography*, **45**: 251-255.
- Aronson R.B., & Precht W.F.** (1995) Landscape patterns of reef coral diversity: a test of the intermediate disturbance hypothesis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **192**: 1-14.
- Aronson R.B., & Precht W.F.** (1997) Stasis, biological disturbance, and community structure of a Holocene coral reef. *Paleobiology*, **23**: 326-346.
- Aronson R.B., Precht W.F., & Macintyre I.G.** (1998) Extrinsic control of species replacement on a Holocene reef in Belize: the role of coral disease. *Coral Reefs*, **17**: 223-230.
- Aronson R.B., Precht W.F., Macintyre I.G., & Murdoch T.J.T.** (2000) Ecosystems: Coral bleach-out in Belize. *Nature*, **405**: 36-36.
- Aronson R.B., Precht W.F., Toscano M.A., & Koltz K.H.** (2002c) The 1998 bleaching event and its aftermath on a coral reef in Belize. *Marine Biology*, **141**: 435-447.
- Bablet J.P.** (1985) Report on the growth of a scleractinia (*Fungia paumotensis*), In *Proceedings 5th International Coral Reef Symposium, Tahiti*, pp. 361-365.
- Baker A.C.** (2003) Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **34**: 661-689.
- Bak R.P.M., & Luckhurst B.E.** (1980) Constancy and change in coral reef habitats along depth gradients at Curaçao. *Oecologia*, **47**: 145-155.
- Bellwood D.R., Hughes T.P., Folke C., & Nystrom M.** (2004) Confronting the coral reef crisis. *Nature*, **429**: 827-833.
- Brazeau D.A., & Lasker H.R.** (1992) Growth Rates and Growth Strategy in a Clonal Marine Invertebrate, the Caribbean Octocoral *Briareum asbestinum*. *Biological Bulletin*, **183**: 269-277.

- Cadena N.J., & Sánchez J.A.** (2010) Colony growth in the harvested octocoral *Pseudopterogorgia acerosa* in a Caribbean coral reef. *Marine Ecology*, **31**: 566-573.
- Camargo C., Maldonado J., Alvarado E., Moreno-Sánchez R., Mendoza S., Manrique N., Mogollón A., Osorio J., Grajales A., & Sánchez J.A.** (2009) Community involvement in management for maintaining coral reef resilience and biodiversity in southern Caribbean marine protected areas. *Biodiversity and Conservation*, **18**: 935-956.
- Caswell H.** (2001) *Matrix population models: construction, analysis, and interpretation* 2nd ed. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates.
- Cendales M.H., Zea S., & Díaz J.M.** (2002) Geomorfología y unidades ecológicas del complejo de arrecifes de las Islas del Rosario e Isla Barú (Mar Caribe, Colombia). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, **26**: 497-510.
- Chadwick-Furman N.E., Goffredo S., & Loya Y.** (2000) Growth and population dynamic model of the reef coral *Fungia granulosa* Klunzinger, 1879 at Eilat, northern Red Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **249**: 199-218.
- Clark-Tapia R., Alfonso-Corrado C., Eguiarte L.E., & Molina-Freaner F.** (2005) Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany*, **92**: 272-278.
- Connolly S.R., & Muko S.** (2003) Space pre-emption, size-dependent competition, and the coexistence of clonal growth forms. *Ecology*, **84**: 2979-2988.
- Davies P.S.** (1989) Short-term growth measurements of corals using an accurate buoyant weighing technique. *Marine Biology*, **101**: 389-395.
- Díaz-Pulido G., Sánchez J.A., Zea S., Díaz J.M., & Garzón-Ferreira J.** (2004) Esquemas de distribución espacial en la comunidad bentónica de arrecifes coralinos continentales y oceánicos del Caribe colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, **28**: 337-347.
- Dullo W.C.** (2005) Coral growth and reef growth: a brief review. *Facies*, **51**: 37-52.
- Eakin C.M., Morgan J.A., Heron S.F., Smith T.B., Liu G., Alvarez-Filip L., Baca B., Bartels E., Bastidas C., & Bouchon C.** (2010) Caribbean corals in crisis: record thermal stress, bleaching, and mortality in 2005. *PLoS One*, **5**: e13969.
- Fong P., & Glynn P.W.** (2000) A regional model to predict coral population dynamics in response to El Niño southern oscillation. *Ecological Applications*, **10**: 842-854.
- Foster N.L., Baums I.B., Sanchez J.A., Paris C.B., Chollett I., Agudelo C.L., Vermeij M.J., & Mumby P.J.** (2013) Hurricane-driven patterns of clonality in an ecosystem engineer: the Caribbean coral *Montastraea annularis*. *PLoS One*, **8**: e53283.
- Glynn P.W.** (1984) Widespread coral mortality and the 1982-83 El Niño warming event. *Environmental Conservation*, **11**: 133-146.
- Guest J.R., Baird A.H., Maynard J.A., Muttaqin E., Edwards A.J., Campbell S.J., Yewdall K., Affendi Y.A., & Chou L.M.** (2012) Contrasting patterns of coral bleaching susceptibility in 2010 suggest an adaptive response to thermal stress. *PLoS One*, **7**: e33353.
- Hagedorn M., Pan R., Cox E.F., Hollingsworth L., Krupp D., Lewis T.D., Leong J.C., Mazur P., Rall W.F., MacFarlane D.R., Fahy G., & Kleinhans F.W.** (2006) Coral larvae conservation: Physiology and reproduction. *Cryobiology*, **52**: 33-47.
- Highsmith R.C.** (1982) Reproduction by fragmentation in corals. *Marine Ecology-Progress Series*, **7**: 207-226.
- Hughes R.N.** (2005) Lessons in modularity: the evolutionary ecology of colonial invertebrates. *Scientia Marina*, **69**: 169-179.
- Hughes T.P.** (1984) Population Dynamics Based on Individual Size Rather than Age: A General Model with a Reef Coral Example. *The American Naturalist*, **123**: 778.
- Hughes T.P., Ayre D., & Connell J.H.** (1992) The evolutionary ecology of corals. *Trends in Ecology & Evolution*, **7**: 292-295.
- Hughes T.P., Baird A.H., Bellwood D.R., Card M., Connolly S.R., Folke C., Grosberg R., Hoegh-Guldberg O., Jackson J.B.C., Kleypas J., Lough J.M., Marshall P., Nystrom M., Palumbi S.R., Pandolfi J.M., Rosen B., & Roughgarden J.** (2003) Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*, **301**: 929-933.
- Hughes T.P., & Jackson J.B.C.** (1980) Do Corals Lie About Their Age? Some Demographic Consequences of Partial Mortality, Fission, and Fusion. *Science*, **209**: 713-715.
- Hughes T.P., Jackson J.B.C.** (1985) Population Dynamics and Life Histories of Foliose Corals. *Ecological Monographs*, **55**: 141-166.
- Hume B., Angelo C. D', Burt J., Baker A.C., Riegl B., & Wiedenmann J.** (2013) Corals from the Persian/Arabian Gulf as models for thermotolerant reef-builders: Prevalence of clade C3 Symbiodinium, host fluorescence and ex situ temperature tolerance. *Marine pollution bulletin*, **72**: 313-322.
- Jackson J.B.C.** (2001) What was natural in the coastal oceans? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**: 5411-5418.
- LaJeunesse T.C.** (2002) Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Marine Biology*, **141**: 387-400.
- Lamberts A.E.** (1978) Coral growth: alizarin method. *Coral reefs: research methods. UNESCO, Paris*, 523-527.
- Langmead O., Sheppard C.** (2004) Coral reef community dynamics and disturbance: a simulation model. *Ecological Modelling*, **175**: 271-290.
- Lasker H.R.** (1990) Clonal Propagation and Population Dynamics of a Gorgonian Coral. *Ecology*, **71**: 1578-1589.
- Lasker H.R.** (1991) Population growth of a gorgonian coral: equilibrium and non-equilibrium sensitivity to changes in life history variables. *Oecologia*, **86**: 503-509.

- Lasker H.R., Boller M.L., Castanaro J., & Sánchez J.A.** (2003) Modularity and determinate growth in a gorgonian coral. *The Biological Bulletin*, **205**: 319-330.
- Lasker H.R., & Coffroth M.A.** (1999) Responses of Clonal Reef Taxa to Environmental Change. *American Zoologist*, **39**: 92-103.
- Lasker H.R., & Sánchez J.A.** (2002) Allometry and Astogeny of modular organisms, In *Reproductive Biology of Invertebrates*, pp. 207–253. Ed R. N. Hughes. New York: John Wiley.
- Lefkovich L.P.** (1965) The study of population growth in organisms grouped by stages. *Biometrics*, **21**: 1-18.
- López-Angarita J., Moreno-Sánchez R., Maldonado J.H., Sánchez J.A.** (2014) Evaluating Linked Social-Ecological Systems in Marine Protected Areas. *Conservation Letters*, **7**: 241-252.
- Meesters E.H., Hilterman M., Kardinaal E., Keetman M., de Vries M., & Bak R.P.M.** (2001) Colony size-frequency distributions of scleractinian coral populations: spatial and interspecific variation. *Marine Ecology-Progress Series*, **209**: 43-54.
- Restrepo J.D., Zapata P., Diaz J.A., Garzon-Ferreira J., & Garcia C.B.** (2006) Fluvial fluxes into the Caribbean Sea and their impact on coastal ecosystems: The Magdalena River, Colombia. *Global and Planetary Change*, **50**: 33-49.
- Riegl B., Purkis S.J., Keck J., & Rowlands G.P.** (2009) Monitored and modeled coral population dynamics and the refuge concept. *Marine Pollution Bulletin*, **58**: 24-38.
- Rinkevich B.** (2014) Rebuilding coral reefs: does active reef restoration lead to sustainable reefs? *Current Opinion in Environmental Sustainability*, **7**: 28-36.
- Robbart M.L., Peckol P., Scordilis S.P., Curran H.A., & Brown-Saracino J.** (2004) Population recovery and differential heat shock protein expression for the corals *Agaricia agaricites* and *A.tenuifolia* in Belize. *Marine Ecology-Progress Series*, **283**: 151-160.
- Sánchez J.A.** (1995) Benthic communities and geomorphology of the Tesoro Island reefs, Colombian Caribbean. *Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betín*, **24**: 55-77.
- Sebens K.P.** (2003) The Ecology of Indeterminate Growth in Animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 371-407.
- Sebens K.P., Helmuth B., Carrington E., & Agius B.** (2003) Effects of water flow on growth and energetics of the scleractinian coral *Agaricia tenuifolia* in Belize. *Coral Reefs*, **22**: 35-47.
- Soong K.** (1991) Sexual reproductive patterns of shallow-water reef corals in Panama. *Bulletin of Marine Science*, **49**: 832-846.
- Soong K., Lang J.C.** (1992) Reproductive Integration in Reef Corals. *Biol Bull*, **183**: 418-431.
- Tanner J.E.** (1997) Interspecific competition reduces fitness in scleractinian corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **214**: 19-34.
- Velásquez J., López-Angarita J., & Sánchez J.A.** (2011) Evaluation of the FORAM index in a case of conservation. *Biodiversity and Conservation*, **20**: 3591-3603.
- Vernette G.** (1985) *La plateforme Continentale Caribe de Colombie (du debouche du Magdalena au Golfe de Morrosquillo)*. Tesis Doctoral a L'Universite de Bordeaux, Bordeaux.[Links].
- Vernette G., Mauffret A., Bobier C., Briceno L., & Gayet J.** (1992) Mud diapirism, fan sedimentation and strike-slip faulting, Caribbean Colombian margin. *Tectonophysics*, **202**: 335-349.
- Vollmer S.V., & Palumbi S.R.** (2006) Restricted Gene Flow in the Caribbean Staghorn Coral *Acropora cervicornis*: Implications for the Recovery of Endangered Reefs. *Journal of Heredity*, esl057.
- Wilkinson C., & Souter D.** (2008) *Status of Caribbean Coral Reefs after Bleaching and Hurricanes in 2005*. Townsville: Global Coral Reef Monitoring Network, and Reef and Rainforest Research Center.
- Yoshioka P.M.** (1994) Size-specific life history pattern of a shallow-water gorgonian. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, **184**: 111-122.

Manantiales salinos: inventarios de la diversidad metabólica y filogenética de microorganismos de ambientes salinos

Carolina Díaz-Cárdenas, Sandra Baena

Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental (USBA), Departamento de Biología,
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Resumen

Los manantiales salinos terrestres son hábitats con una gran diversidad de especies microbianas, pero el conocimiento de dicha diversidad en el país es escaso. Se seleccionaron tres manantiales salinos ubicados en el sistema montañoso de los Andes colombianos para su estudio en el marco del programa de investigación en ecología y diversidad de manantiales salinos y termales. Estos manantiales, con un contenido total de sólidos disueltos de 20 a 54 g/L, fluyen a partir de aguas subterráneas antiguas y su régimen hidrológico no está directamente relacionado con recargas pluviométricas recientes. Presentaron composiciones fisicoquímicas diferentes: en las muestras de agua provenientes de los manantiales Salado de Consotá y La Cristalina se registró un alto contenido de cloro, sodio y calcio, en tanto que las aguas provenientes del manantial Salpa se caracterizaron por una gran concentración de sodio, potasio y sulfato. La composición de las comunidades bacterianas se analizó con base en diferentes aproximaciones para generar inventarios de diversidad biológica. Los resultados indicaron que los tres manantiales albergan una comunidad bacteriana constituida en su mayoría por organismos Gram-negativos, móviles, heterótrofos y litotróficos, halotolerantes y halófilos, algunos de los cuales han sido reportados previamente en ambientes marinos. La mayoría de los organismos aislados pertenecía a la gamaproteobacteria y alfa-proteobacteria, aunque las diferencias en la composición microbiana de cada manantial fueron evidentes. El estudio demostró que estos manantiales son hábitat de nuevas variedades taxonómicas como se deduce de las especies bacterianas caracterizadas.

Palabras clave: manantiales salinos, diversidad microbiana, bacterias halófilas, halotolerantes.

Saline springs: Inventories of metabolic and phylogenetic diversity of microorganisms from saline environments

Abstract

Terrestrial saline springs are habitats of a high diversity of microbial species, but knowledge of this diversity is scarce in our country. We have chosen to study three saline springs as part of our research program on the ecology and diversity of halophilic and thermophilic microorganisms. The saline springs are located on the Andes mountain range, their content of total dissolved solids is 20-54 g/L, they flow from ancient groundwater, and their water regime is not directly related to recent rainfall recharges. They exhibited different physicochemical compositions: the water samples from the Salado de Consotá and La Cristalina springs showed a high content of chlorine, sodium and calcium, while those from the Salpa spring were characterized by high concentrations of sodium, potassium and sulfate. The composition of microbial communities was analyzed using different approaches to generate biodiversity inventories. The results indicated that these springs harbor a microbial community made up mostly of Gram-negative, motile, litotrophic, heterotrophic, halotolerant and halophilic microorganisms, some of which have been previously reported in marine environments. Most isolated microorganisms belonged to the Gamma and Alphaproteobacteria classes, but differences in the microbial composition of each spring were evident. Our study revealed that these springs are a source of new taxonomic diversity as shown by the newly characterized bacterial species.

Key words: Saline springs, microbial diversity, halophilic bacteria, halotolerant bacteria.

Introducción

Colombia es considerado uno de los países con más diversidad biológica, pues en una extensión continental de aproximadamente 114.000.000 hectáreas, que representa el 0,7 % de la superficie continental mundial, contiene cerca del 10 % de la biota total del planeta (Romero, *et al.*, 2008). Los esfuerzos por generar inventarios de la

diversidad biológica y su relación con la estructura y la función de los ecosistemas no han incluido la diversidad microbiana, entendida en este contexto como la diversidad

*Correspondencia:

Sandra Baena, baena@javeriana.edu.co

Recibido: 21 de febrero de 2015

Aceptado: 15 de mayo de 2015

de bacterias y arquea en ambientes naturales. Este hecho es decisivo si se analiza el papel clave de los microorganismos en el mantenimiento de la biosfera al regular los ciclos biogeoquímicos de los principales elementos y participar en los procesos de descomposición de la materia orgánica y de los compuestos contaminantes y en el ciclo de nutrientes. Además, los microorganismos son fuente promisoría de energía renovable o sostenible en forma de biogás, bioetanol, o células microbianas combustibles (Prakash, *et al.*, 2013). En los trabajos clásicos de Torsvik, *et al.* (1990), se demostró que era posible encontrar miles de taxones bacterianos en un gramo de suelo, sin embargo, esta diversidad microbiana sigue a la espera de ser descubierta. Por otra parte, cálculos recientes han indicado que el número de nombres científicamente validados de las especies de bacterias y arquea cultivadas en laboratorio era de aproximadamente 12.000, lo que se consideró como una subestimación del valor real (Chun & Rainey, 2014), ya que la complejidad de la diversidad microbiana es más grande que la estimada con base en el cálculo del número de especies cultivadas en laboratorio.

En un reciente análisis de los estudios sobre biodiversidad en Colombia (Arbeláez-Cortés, 2013), se encontró que los microorganismos estaban poco representados, lo que indica el escaso conocimiento que se tiene sobre su diversidad. Sin embargo, sí existen estudios sobre la diversidad microbiana de diversos hábitats naturales en el país (Baena, *et al.*, 1998; Díaz-Cárdenas, *et al.*, 2010a, Díaz-Cárdenas, *et al.*, 2010b; Baena, *et al.*, 2011; Rubiano-Labrador, *et al.*, 2013; Bohórquez, *et al.*, 2011; Delgado, *et al.*, 2014). En particular, los hábitats salinos pueden ser excelentes modelos para el estudio de la diversidad microbiana y la ecología de los microorganismos en diferentes concentraciones de sal (Ventosa, *et al.*, 2014). Aunque el aislamiento en cultivo puro de organismos halófilos no es tarea fácil, es un reto que vale la pena porque con el organismo aislado es posible identificar las características fisiológicas, metabólicas y genéticas aprovechables biotecnológicamente (Andrei, *et al.*, 2012). La alta demanda de biocatalizadores que se ajusten a las condiciones de los procesos industriales ha despertado el interés por la búsqueda de nuevas enzimas, cuyo punto de partida es la diversidad biológica, incluida la de los genes, las especies y los ecosistemas, y cabe señalar que los microorganismos concentran la mayor diversidad metabólica y filogenética en el planeta.

En este artículo se presentan los resultados de la exploración de la diversidad microbiana de manantiales salinos que se caracterizan por aflorar sobre o cerca de un trazo de falla geológica, a pocos metros de drenajes mayores (Cortés & Cardona, 2006), algunos de los cuales se utilizaron en épocas precolombinas para la extracción de sal con diferentes fines, desde el consumo humano hasta la orfebrería (Acevedo & Martínez, 2004; Tistl, 2004).

En la región suroccidental de la Cordillera Central de Colombia se han reportado numerosos manantiales salinos que, por su estrecha relación con las aguas subterráneas, se consideran fuente de recursos minerales en concentraciones explotables y de recursos hídricos y cuya principal aplicación actual es la balneología recreativa y terapéutica (Alfaro, 2002). Sin embargo, el desconocimiento de su diversidad microbiana no ha permitido considerarlos fuente de recursos biológicos.

Materiales y métodos

Sitios de estudio

Se seleccionaron tres manantiales salinos, dos en la Cordillera Central, en el departamento de Risaralda, Colombia: el Salado de Consotá (SC) (4°47'18.9" N - 75°41'35.0" O), a 1.391 m.s.n.m, y el manantial La Cristalina (LC) (4°45'50.1" N - 75°43'55.1" O), a 1.288 m.s.n.m. El tercer manantial salino, denominado Salpa (SP) (05°46'09.2" N - 73°06'09.7" O), se localiza en la Cordillera Oriental, en el departamento de Boyacá, a 2.517 m.s.n.m (Figura 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/199/1008>).

Muestreos y análisis

Se hicieron muestreos puntuales en los tres manantiales entre 2006 y 2009, recolectando muestras de agua a diferentes profundidades: en el manantial SC la profundidad oscilaba entre 90 y 100 cm, en el manantial LC entre 70 y 80 cm y en el SP entre 100 y 120 cm. Las muestras se transportaron a 4 °C hasta el laboratorio de la Pontificia Universidad Javeriana y se procesaron en el curso de las siguientes 18 horas para posteriores análisis (físicoquímicos, isotópicos, recuentos microbianos totales y aislamiento de microorganismos). La temperatura y el pH se tomaron en el sitio con un potenciómetro Hach® equipado con sondas para pH y temperatura. Se determinó la conductividad eléctrica, los sólidos disueltos totales (SDT), y las concentraciones de cloruro, potasio, calcio, sodio, magnesio, nitrato, sulfato, fósforo total y hierro, siguiendo las metodologías estándar descritas en los *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

La determinación de los isótopos estables del oxígeno (O^{18}) y del hidrógeno (deuterio $-H^2$), y del isótopo radiactivo del hidrógeno tritio (H^3), se hizo mediante espectrofotometría de masas (*Stable Isotope-Ratio Mass-Spectrometer*, IRMS) en el Laboratorio de Isotopía Ambiental de la Universidad de Waterloo, en Ontario, Canadá.

Análisis de las variables físicoquímicas

Los parámetros físicoquímicos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), para lo cual previamente se verificó la distribución normal de los datos de cada variable con la prueba de bondad de ajuste a una distribución normal de Kolmogorov Smirnov. Posteriormente se comprobó la homogeneidad de varianzas de los datos de cada variable

con la prueba de Levene. Cuando se cumplió el supuesto de normalidad, pero no el de homogeneidad de la varianza, se utilizó el T2 de Tamhane. Cuando el análisis de ANOVA mostró diferencias significativas entre los parámetros evaluados, se aplicó la prueba de diferencia honestamente significativa (*honestly significant difference*, HSD) de Tukey y Sheffé para hacer las comparaciones múltiples de medias y determinar los sitios específicos entre los que se expresaba la diferencia. Los análisis se realizaron con el programa SPSS v 16.0 (IBM SPSS Data Collection).

Caracterización de la composición de las comunidades microbianas en los manantiales salinos

La caracterización de la composición de las comunidades microbianas se llevó a cabo determinando sus características morfológicas mediante microscopía electrónica de barrido en los manantiales SC y SP, registrando los recuentos totales de microorganismos mediante la técnica de tinción con 4,6-diamidino-2-fenilindol diclorhidrato (DAPI), determinando la abundancia de grupos microbianos ampliamente reportados en ambientes acuáticos mediante hibridación fluorescente *in situ* (*fluorescent in situ hybridization*, FISH), y generando inventarios biológicos mediante el aislamiento de organismos y la identificación taxonómica con el gen ARNr 16S como marcador molecular.

Características morfológicas de las comunidades microbianas presentes en los manantiales salinos Salado de Consotá (SC) y Salpa (SP)

Para observar la comunidad microbiana *in situ* se utilizó la técnica de microscopía electrónica de barrido en los manantiales SC y SP siguiendo el protocolo descrito por Díaz-Cárdenas (2011); la evaluación microscópica se hizo según el protocolo de Glauert (1975). Las muestras se cubrieron con oro con un *sputter coater* (BioRad SC500) antes de observarlas y obtener imágenes digitales con un microscopio electrónico de barrido FEI Quanta 200 operado a 100kV.

Determinación del número total de células microbianas y detección de grupos microbianos específicos

Se utilizó la técnica de tinción de las células con DAPI (Sigma) y se detectaron los grupos microbianos específicos con la técnica FISH siguiendo el protocolo de Pernthaler, *et al.* (2001) y analizando cada muestra dos veces. Con el fin de mantener la integridad de las células para los análisis con DAPI y FISH, se fijaron con formaldehído (Scharlau) en una concentración final de 2 % (v/v) en 500 mL de agua recién recolectada. Posteriormente, las células se recolectaron por filtración con membranas de policarbonato blanco (poro de 0,22 μm y 47 mm de diámetro, GTTP Millipore). El recuento total de células se hizo según el protocolo de Bohórquez, *et al.* (2011) en un microscopio de epifluorescencia (Nikon-Eclipse 50i) equipado con un objetivo de 100X Pan Fluor y un filtro de excitación triple

DAPI-FITC-TRITC (Nikon). La detección de organismos del dominio *Archaea* se hizo usando la sonda ARCH915 y los del dominio *Bacteria*, con la sonda EUB338 mediante la técnica de FISH. Para el dominio *Bacteria* se detectaron organismos de las clases alphaproteobacteria con la sonda ALF968, betaproteobacteria, con la sonda BET42a y gammaproteobacteria, con la sonda GAM42a; estas sondas son complementarias de las regiones conservadas de los genes ARNr 16S o 23S (Tabla 1S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/199/1010>). Además, se utilizó la sonda NON338 como control negativo. Las sondas se sintetizaron, purificaron y conjugaron con los fluorocromos Alexa flour 488 o 546 de Invitrogen (USA).

Recuento de células

Se contaron 50 campos visuales por membrana cuando se observaba un número menor de 30 células por campo, y 20 campos visuales si se observaba un número mayor de células para contar 300 células por muestra como mínimo según las recomendaciones de Kirchman, *et al.* (1982). Se determinó si los recuentos presentaban diferencias significativas entre sitios y épocas de muestreo mediante el método estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis aplicado para el ANOVA de un factor ($p < 0,05$) con el programa Statistix, versión 9.0.

Generación de inventarios biológicos a partir del aislamiento de microorganismos

Para el aislamiento de microorganismos se recolectaron en cada sitio de muestreo 100 mL de agua en botellas de vidrio estériles para ser usados como inóculos microbianos y cinco litros de agua en garrafas plásticas previamente purgadas con agua del manantial para los medios de cultivo utilizados en las diferentes series de aislamiento. Para favorecer el aislamiento de organismos halófilos o halotolerantes aerobios y anaerobios, se prepararon medios básicos (MB) aerobios (MB-AER) y anaerobios (MB-ANA). Los medios MB-AER y MB-ANA se prepararon con agua del manantial en estudio (previamente filtrada), suplementada con 1 mL/L de solución de oligoelementos (un litro de agua destilada contenía 0,06 g de ZnCl_2 , 0,1 g de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,06 g de H_3BO_3 , 0,12-0,19 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,025 g de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,025-0,035 g de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,02 g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g de AlCl_3 anhidro, 0,03 g de Na_2SeO_3 y 1,5 mL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ diluido en HCl al 25 % (v/v)). Además, el MB-ANA fue suplementado con 0,5 g/L de monohidrato de L-cisteína hidrocloreada (Sigma) y 1 mL/L de resazurina (Sigma) al 0,1 % (p/v). El pH de los medios se ajustó con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) (Merck) al 10 % (p/v), al 6,5 para las series de los manantiales SC y SP y al 8,0 para las series de cultivo del manantial LC, teniendo en cuenta los datos de pH tomados en cada manantial. Después de ajustar el pH de los medios, se transfirió un volumen de 5 mL de medio de cultivo de la serie MB-AER a tubos de ensayo. El medio de cultivo MB-ANA se preparó siguiendo los protocolos descritos por

Rubiano-Labrador, et al. (2013). Teniendo en cuenta que los microorganismos halófilos de los dominios *Archaea* y *Bacteria* tienen un amplio espectro metabólico, se utilizaron diferentes sustratos orgánicos comúnmente reportados como materia orgánica disuelta en sistemas acuáticos proveniente del medio ambiente circundante o de fuentes autóctonas como el fitoplancton, bacteriopláncton y perifiton, ya sea por la producción de exopolisacáridos, la muerte celular o la liberación de exudados (**Gremm & Kaplan**, 1997). Además, a algunas series se les agregó un suplemento de antibióticos para favorecer el aislamiento de organismos del dominio *Archaea* como se ha descrito anteriormente (**Elshahed, et al.**, 2004). Después de la esterilización, los MB-AER fueron suplementados con 0,2 g/L de extracto de levadura (Sigma) y con diferentes fuentes de carbono como ácidos orgánicos, alcoholes, azúcares, aminoácidos, polisacáridos y lípidos (**Díaz-Cárdenas**, 2011). Además, a algunas series se les agregó un suplemento de 75 µg/mL de kanamicina (Sigma) o 75 µg/mL de ampicilina (Sigma). Los antibióticos se prepararon en agua desionizada y se esterilizaron filtrándolos en membranas de 0,22 µm de tamaño de poro (Millipore). A los MB-ANA se les agregó un suplemento de 0,05 mL de sulfuro de sodio ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (Sigma) al 2 % (p/v), 0,1 mL de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) (Merck) al 10 % (p/v), 0,2 g/L de extracto de levadura, y aceptores de electrones como sulfato de sodio (Na_2SO_4) (Sigma), tiosulfato de sodio (Na_2SO_3) (Sigma) y nitrato de potasio (KNO_3) (Merck), todos en una concentración final de 10 mM. Tanto las fuentes de carbono como los aceptores de electrones se añadieron a cada tubo a partir de soluciones estériles anaerobias preparadas en agua reducida (**Hungate**, 1969). Las diferentes series de cultivo se inocularon con 1 mL del agua del manantial (como inóculo microbiano) por cada 5 mL de medio de cultivo y posteriormente se incubaron a 30 °C en oscuridad y sin agitación. Las series de cultivo se evaluaron periódicamente con un microscopio de contraste de fase (Nikon i50) y objetivo de 100X Pan Fluor.

Aislamiento de cepas microbianas

A partir de las series de cultivo con crecimiento positivo, se hizo una segunda siembra en las mismas condiciones, así como diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-10} , hasta obtener cultivos axénicos siguiendo los protocolos descritos por **Díaz-Cárdenas, et al.** (2010a). La pureza de las cepas se verificó por observación al microscopio y repicaje en medio enriquecido con extracto de levadura (2 g/L) y glucosa (20 mM) hasta observar un único morfotipo.

Identificación taxonómica de los organismos aislados

La identificación taxonómica de los organismos aislados se hizo usando como marcador el gen ARNr 16S. Se extrajo ADN de cada una de las cepas y se hizo la secuenciación del gen marcador (~ 1.300 pb). Se describieron las principales características fenotípicas (tinción de Gram, morfología

y estructuras celulares, metabolismo y condiciones de salinidad, temperatura y pH óptimas para el crecimiento) según lo reportado por **Díaz-Cárdenas** (2011).

Para la extracción del ADN microbiano se siguió el método descrito por **López, et al.** (2014). La precipitación del ADN se hizo con etanol al 70 % (v/v) y la segunda suspensión en 50 µl de tampón TE (Tris-HCl 10 mM pH 7.5, EDTA 1 mM); finalmente se almacenó a -20 °C hasta su uso. Los métodos usados para la amplificación y secuenciación del gen ARNr 16S y para los análisis filogenéticos han sido previamente descritos por **Díaz-Cárdenas, et al.** (2010b) y **López, et al.** (2014). El gen que codifica para el ARNr 16S se amplificó con los iniciadores Fd1 (CCG AAT TCG TCG ACA ACA GAG TTT GAT CCT) y Rd1 (CCC GGG ATC CAA GCT TAA GGA GG TGA TCC AGC C) (**Redburn & Patel**, 1993). El producto de la reacción de secuenciación fue separado por electroforesis capilar en un analizador automático de biología molecular (Genetic Analyzer 3130xl, Applied Biosystems) usando el programa de análisis de secuenciación de ADN v5.2 (Applied Biosystems) (Servicio de Biología Molecular de la Universidad de Griffith, Brisbane, QLD, Australia). Todos los datos obtenidos a partir de los archivos de secuenciación automática del ADN se editaron manualmente para determinar nucleótidos codificados erróneamente usando el programa de edición *Sequence Alignment Editor* versión 7.0 de BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/RNaseO/info/programs/BIOEDIT/bioedit.html>).

Todas las secuencias del gen ARNr 16S obtenidas se compararon con las registradas en el GenBank usando una base de datos no redundante (nr) y el algoritmo BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) y con las de la base de datos del RDP, versión 11, usando la opción *sequence match* (http://redp.cme.msu.edu/seqmatch/seqmatch_intro.jsp).

Resultados y discusión

Caracterización de la composición fisicoquímica del agua de los manantiales salinos

Las características fisicoquímicas de estos manantiales se presentan en la Tabla 1. Los manantiales SC y SP registraron una temperatura promedio de 21 °C, mientras que la del manantial LC fue más alta, de 25 °C. La temperatura promedio del agua de los manantiales SP y LC que se registró fue superior a la temperatura ambiente promedio de la región: en Paipa la temperatura ambiental oscila entre 13 y 15 °C, mientras que en la zona del manantial LC oscila entre 18 y 25 °C. El pH registrado en el manantial SC oscilaba entre 6,1 y 7,4; en el manantial LC se mantuvo en alrededor de 8,5, y en el manantial SP fue cercano a 6,5. Según los rangos de conductividad eléctrica reportados por **LaBaugh** (1989), los manantiales SC y LC se clasifican como hábitats polisalinos (33.000-40.000 µS/cm), en tanto que el manantial SP como un hábitat eusalino (46.000-55.000

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de las aguas de los manantiales estudiados

| Manantial | Fecha | Temperatura °C | pH | Conductividad $\mu\text{S/cm}$ | SDT (mg/L) | Cl ⁻ (mg/L) | K ⁺ (mg/L) | Ca ²⁺ (mg/L) | Na ⁺ (mg/L) | Mg ²⁺ (mg/L) | NO ₃ ⁻ (mg/L) | SO ₄ ²⁻ (mg/L) | P Total (mg/L) | Fe ³⁺ (mg/L) |
|-----------|--------------|----------------|------|--------------------------------|------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|----------------|-------------------------|
| SC1 | Marzo 2008 | 20,9 | 7,4 | 35150 | 24185 | 13237 | 38,7 | 2018 | 4283 | 6,2 | 4,95 | 593 | 0,28 | 0,78 |
| SC2 | Agosto 2008 | 20,7 | 6,7 | 35560 | 23300 | 12736 | 31,4 | 2223 | 4991 | 3,38 | 4,8 | 751 | 0,05 | 1,46 |
| SC3 | Junio 2009 | 22,6 | 6,1 | 35700 | 22468 | 11962 | 44,3 | 2516 | 5257 | 5,02 | 4,46 | 742 | 0,06 | 0,63 |
| LC1 | Marzo 2008 | 26,3 | 8,42 | 40025 | 20235 | 11190 | 45,1 | 961 | 4342 | 1,24 | 4,2 | 694 | 0,15 | 0,12 |
| LC2 | Agosto 2008 | 25,1 | 8,5 | 35258 | 20500 | 10423 | 43,9 | 642 | 5304 | 0,94 | 4,27 | 1028 | 0,02 | 0,5 |
| LC3 | Junio 2009 | 25,3 | 9,8 | 33350 | 19842 | 10868 | 48,1 | 1012 | 5360 | 0,81 | 4,72 | 1039 | 0,17 | 0,12 |
| SP1* | Febrero 2002 | 21 | 6,7 | 46000 | 41612 | 5455 | 1637 | 175 | 13250 | 22,5 | 0,5 | 20812 | 0,09 | 0,2 |
| SP2 | Marzo 2008 | 21 | 6,5 | 50450 | 53957 | 7050 | 2100 | 160 | 36000 | 29,76 | 0,5 | 53957 | 0,17 | 1,2 |
| SP3* | Junio 2009 | 21,5 | 6,28 | 54900 | 54264 | 10115 | 1644 | 108 | 15300 | 25,5 | 0,5 | 20862 | 0,01 | 7,3 |

*Datos suministrados por Claudia Alfaro (Ingeominas) (comun pers). Nd: no determinado.

$\mu\text{S/cm}$). Los análisis químicos del agua de los manantiales SC y LC mostraron un alto contenido de cloro (Cl^-) y calcio (Ca^{2+}), y las aguas del manantial SP se caracterizaron por una alta concentración de sodio (Na^+), potasio (K^+) y sulfato (SO_4^{2-}).

El análisis de varianza (ANOVA) de los datos fisicoquímicos mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) para los parámetros de temperatura, pH, conductividad, SDT, cloro, calcio, potasio, sodio, nitrato y sulfato. Para detectar diferencias significativas entre los sitios de muestreo de las variables mencionadas se hizo un análisis posterior (HDS de Tukey y Sheffé) en el que se determinó que los parámetros de SDT, calcio y nitrato diferían significativamente en los tres manantiales. Con respecto a la conductividad eléctrica y a las concentraciones de potasio, cloro, sodio y sulfato, no se registraron diferencias significativas entre los manantiales SC y LC, localizados en la Cordillera Central, pero sí entre estos dos manantiales y el manantial SP, localizado en la Cordillera Oriental. En cuanto a la temperatura y el pH, se observó que el manantial LC, que presentaba los rangos de temperatura y de pH más altos, difería significativamente de los manantiales SC y SP que, en cambio, no presentaron diferencias significativas entre ellos para estos dos parámetros (datos no mostrados). El análisis muestra diferencias en las características fisicoquímicas de cada uno de los sitios de muestreo, lo cual es indicativo de variaciones en las condiciones ambientales locales. Las variables que mejor describían estas diferencias fueron el contenido de cloro y calcio en el manantial SC, la conductividad y el contenido de sulfato, potasio y sodio en el manantial SP y las

condiciones de pH y temperatura en el manantial LC. Los datos también mostraron que la composición fisicoquímica de los manantiales fue relativamente estable durante el tiempo de muestreo en cada uno de los manantiales.

Para la interpretación de los isotopos estables del agua, los resultados de oxígeno-18 (O^{18}) y deuterio (H^2) (Tabla 2S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/199/1011>) se graficaron con respecto a la línea meteórica mundial (*Standard Mean Ocean Water*, SMOW) (Figura 2S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/199/1009>). La representación gráfica indicó que las aguas provenientes de los manantiales no se ajustan a la línea SMOW y que, por lo tanto, su origen no está relacionado con la presencia de agua meteórica recientemente acumulada en los acuíferos. Por otra parte, los valores del contenido de tritio (H^3) para las tres muestras fueron menores a 0,8 unidades de tritio (UT) (datos no mostrados), lo que indica que estos manantiales contienen agua antigua, infiltrada hace más de 50 años. Esta información isotópica indica que los tres manantiales fluyen a partir de aguas subterráneas antiguas y que su régimen hidrológico no está directamente relacionado con recargas pluviométricas recientes. Por otra parte, tal como lo describe Sigee (2005), la permanencia del agua en un acuífero, su interacción con la roca del reservorio y la presencia de minerales evaporíticos podrían ser las causas principales de las diferencias en las características fisicoquímicas de las aguas de los manantiales, lo que también demostraría que los manantiales SC y LC, ubicados en la misma región, se originan de acuíferos diferentes.

Caracterización de la composición de las comunidades microbianas

Las características morfológicas de los microorganismos predominantes en estos manantiales se describieron con base en la microscopía electrónica de barrido a partir de muestras de dos de los tres manantiales en estudio. Solamente se obtuvieron imágenes claras de las células microbianas en las láminas incubadas durante 24 horas, porque las láminas con menor tiempo de incubación no presentaron células microbianas, o estas eran escasas, y las láminas con 48 horas de incubación mostraron una alta precipitación de sales, lo que dificultó la observación de las células. En el manantial SC se observaron principalmente bacilos curvos con extremos puntiagudos, de 0,3 μm de ancho por 2,5 a 2,7 μm de largo, bacilos rectos de 0,5 a 0,7 μm de ancho por 1,5 a 2,0 μm de largo (Figura 1), bacilos rectos de extremos redondos de 0,6 μm de ancho por 2,5 μm de largo, solos o en pares, y bacilos rectos de extremo redondo de 0,6 μm de ancho por 2,0 μm de largo. También se observó el desarrollo de una colonia compuesta de bacilos rectos o ligeramente curvos de extremos redondos, de aproximadamente 0,4 a 0,5 μm de ancho por 1,25 a 3 μm de largo, adheridos entre sí posiblemente por la producción de exopolisacáridos (Figura 2). Además, se observó la presencia de células ligeramente englobadas de 3,5 a 4,0 μm de ancho por 5,5 μm de largo, con una pequeña elongación uno de sus extremos (Figura 2), que por su tamaño podrían catalogarse como protozoos según la clasificación de **Sieburth, et al.** (1978). Estos organismos fagotróficos y depredadores podrían tener influencia en la composición de la comunidad microbiana del manantial en estudio.

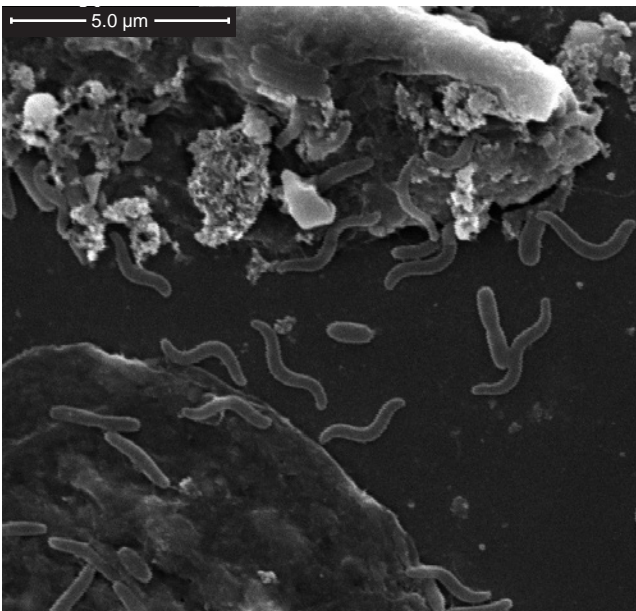


Figura 1. Microscopía electrónica de barrido del manantial SC. 12000X.

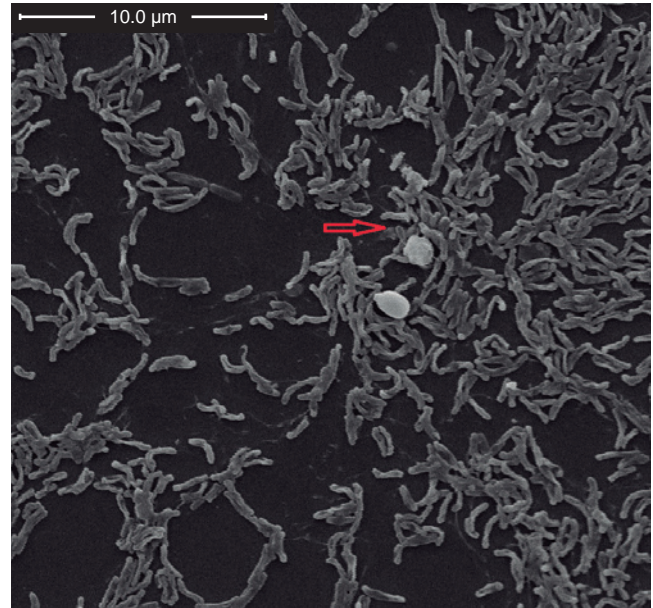


Figura 2. Microscopía electrónica de barrido del manantial SC. Se indica con una flecha la presencia de células redondas y ligeramente englobadas y de bacilos ligeramente curvos.

Los morfotipos dominantes en las muestras del manantial SP fueron los bacilos rectos o ligeramente curvos con terminación en punta, de 0,6 μm de ancho por 6 μm de largo, los bacilos ligeramente curvos con extremos redondos, de 0,4 μm de ancho por 1,5 a 2,0 μm de largo, los bacilos rectos de extremo redondo, de 0,15 μm de ancho por 1,2 μm de largo, los bacilos de 0,3 μm de ancho por 0,6 μm de largo, y los bacilos de 0,5 a 0,6 μm de ancho por 0,7 a 1,15 μm de largo en pares o individuales; los cocos estaban presentes en menor proporción. También se observaron células filamentosas de más de 0,2 a 0,3 μm de ancho por más de 20 μm de largo (Figura 3). La presencia de diatomeas, principalmente del género *Nitzschia*, fue evidente en este manantial, lo que se ha reportado comúnmente en ambientes marinos (**Salm, et al.**, 2009) y lagos metasalinos (**Gell & Gasse**, 1990) (Figura 4).

En general, mediante microscopía electrónica de barrido se detectaron diferencias en la morfología celular en los manantiales SC y SP. En el primero predominaban los bacilos curvos o espirilos, mientras que en el segundo predominaron los bacilos rectos y los cocos. Por otra parte, en el manantial SC se observaron células similares a las de los protozoos, posibles causantes de la mortalidad bacteriana en la mayoría de los ambientes acuáticos, lo que restringe su superpoblación. La presencia de diatomeas, que hacen parte del fitoplancton y participan en procesos de producción primaria, se observó únicamente en el manantial SP; los cambios en la composición de la comunidad fitoplanctónica pueden influenciar la composición de las comunidades bacterianas (**Rooney-Varga, et al.**, 2005). El fitoplancton libera aproximadamente el 25 % del total del carbono

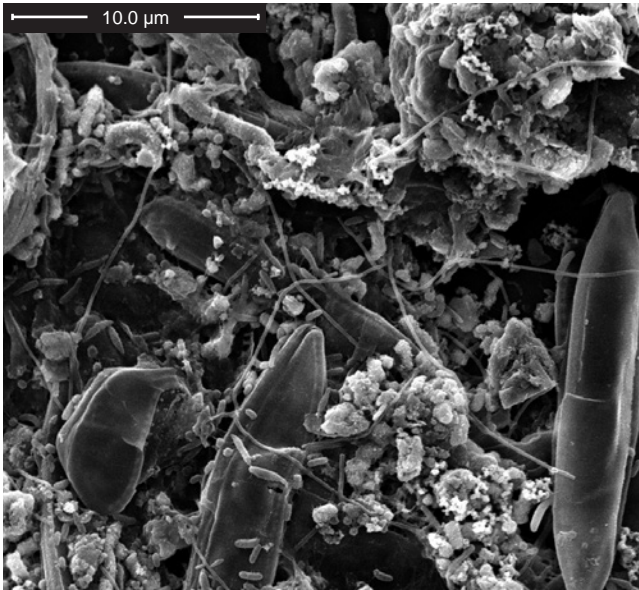


Figura 3. Microscopía electrónica de barrido. Se observan los morfotipos dominantes en el manantial salino SP.

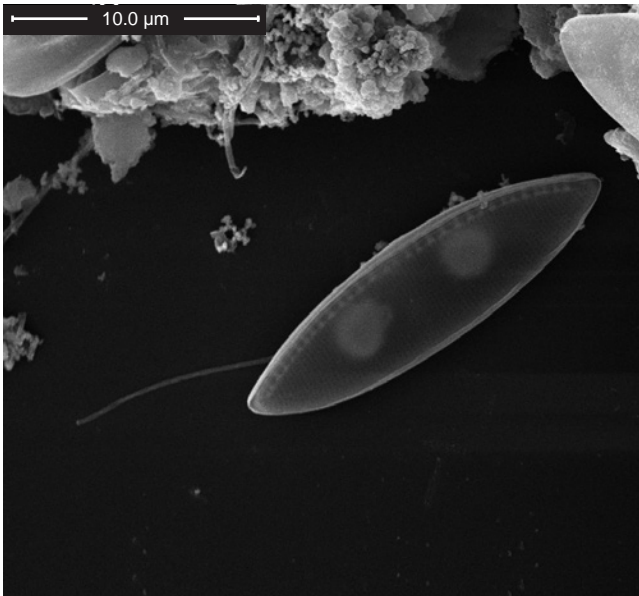


Figura 4. Microscopía electrónica de barrido del manantial SP. Se observa la presencia de diatomeas del género *Nitzschia*.

orgánico fijado por fotosíntesis (DuRand, *et al.*, 2001) y posteriormente la materia orgánica disuelta es rápidamente consumida y remineralizada por la comunidad bacteriana, por lo cual, los cambios en su composición se ven reflejados en la composición de la comunidad microbiana (Obernosterer & Herndle, 1995).

Los recuentos de células totales durante los tres muestreos variaron entre 1,8 y 2,8 x 10⁶ células/mL en el manantial SC, entre 1,0 y 2,6 x 10⁶ células/mL en el manantial LC y

entre 1,7 y 4,8 x 10⁶ células/mL en el manantial SP (Tabla 2). Estos valores son mayores a los reportados por Bohórquez, *et al.* (2011) en muestras de aguas de manantiales termales del Parque Nacional Natural Los Nevados en Colombia (2,35 (±0,7) x 10⁵ células/mL), y se encuentran en los rangos de 10⁵ a 10⁶ células/mL reportados por Sogin, *et al.* (2006) para aguas superficiales oceánicas. El análisis estadístico no arrojó diferencias significativas entre los sitios de muestreo ($p=0,7$), pero sí entre las épocas de muestreo ($p=0,025$) en cada manantial, lo que sugiere cambios en la abundancia de las comunidades microbianas al interior de cada hábitat a lo largo del tiempo. Por otra parte, en los tres manantiales se observó el predominio de organismos del dominio *Bacteria* (detectados con la sonda EUB338) en comparación con los del dominio *Archaea* (detectados con la sonda ARCH915) (Figura 5). Los recuentos del dominio *Bacteria* no presentaron diferencias significativas entre los sitios de muestreo ($p=0,7$), mientras que los recuentos de *Archaea* sí ($p=0,004$). Por el contrario, al evaluar en cada manantial las diferencias entre los recuentos obtenidos a lo largo del tiempo de muestreo, se detectaron diferencias significativas para los organismos del dominio *Bacteria* ($p=0,025$), pero no para los organismos del dominio *Archaea* ($p=0,13$). Los resultados sugieren que al interior de cada comunidad en cada manantial, la abundancia de *Bacteria* cambia constantemente, mientras que la abundancia de las poblaciones de *Archaea* puede ser más estable a lo largo del tiempo. Estas variaciones podrían estar relacionadas principalmente con las características geológicas y con los factores ambientales locales, tal como se ha reportado en diferentes sistemas acuáticos (Pedersen, *et al.*, 1996). Se requieren, sin embargo, estudios posteriores para identificar las variables ambientales que afectan la distribución y la abundancia de las poblaciones microbianas.

Por otra parte, en el recuento de organismos pertenecientes a las alfa proteobacterias, las beta proteobacterias y las gamma proteobacterias, se encontró que en los tres manantiales predominaban las gamma proteobacterias, como se ha reportado en otros ambientes salinos (Wu, *et al.*, 2006). En el manantial SC el porcentaje de células del dominio *Bacteria* que hibridó con la sonda GAMM42a osciló entre el 41 y el 67 %, en LC, entre el 27 y el 39 % y en SP, entre el 30 y el 40 %. Los resultados con la sonda ALF968 para organismos de la clase de las alfa proteobacterias indicaron que estos representaban menos del 20 % del total de células del dominio *Bacteria* en los tres manantiales y durante los tres muestreos. Con respecto a los recuentos con la sonda BETA42a para organismos de la clase de las beta proteobacterias, se obtuvieron recuentos inferiores al 0,2 % del total de células de *Bacteria* en los manantiales SC y LC durante los tres muestreos, pero en el manantial SP estos recuentos fueron más altos (7 a 12 %), en tanto que el análisis estadístico indicó diferencias significativas entre los tres manantiales para esta sonda, lo cual evidencia variaciones en la composición de las comunidades microbianas a escala espacial.

Tabla 2. Cuantificación de células microbianas y de los organismos pertenecientes a los dominios *Bacteria* (α , β , γ -*Proteobacteria*) y *Archaea*.

| Muestra | DAPI Células/mL \pm DE* | ARCH915 \pm DE* | EUB338 \pm DE* | ALF968 \pm DE* | BET42a \pm DE* | GAM42a \pm DE* |
|---------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| SC I | 1,87 \pm 1,03x10 ⁶ | 7,82 \pm 4,1x10 ⁴ | 2,45 \pm 3,5x10 ⁵ | 4,49 \pm 3,9x10 ⁵ | 1,55 \pm 1,4x10 ³ | 1,02 \pm 2,5x10 ⁶ |
| SC II | 2,85 \pm 3,52x10 ⁶ | 4,63 \pm 5,9x10 ⁵ | 1,46 \pm 1,1x10 ⁵ | 6,1 \pm 3,0x10 ⁵ | 1,24 \pm 0,5x10 ³ | 1,06 \pm 1,5x10 ⁶ |
| SC III | 2,85 \pm 1,42x10 ⁶ | 3,64 \pm 1,7x10 ⁵ | 1,32 \pm 1,7x10 ⁵ | 1,34 \pm 1,4x10 ⁵ | 2,3 \pm 0,2x10 ³ | 8,22 \pm 1,0x10 ⁵ |
| LC I | 1,16 \pm 1,45x10 ⁶ | 8,73 \pm 2,8x10 ⁴ | 6,63 \pm 2,1x10 ⁵ | 1,15 \pm 1,2x10 ⁵ | 9,04 \pm 0,3x10 ³ | 2,64 \pm 0,8x10 ⁵ |
| LC II | 1,49 \pm 1,03x10 ⁶ | 6,77 \pm 2,46x10 ⁴ | 8,23 \pm 1,3x10 ⁵ | 1,04 \pm 0,9x10 ⁵ | 1,03 \pm 1,0x10 ³ | 2,23 \pm 1,1x10 ⁵ |
| LC III | 2,65 \pm 3,04x10 ⁶ | 4,54 \pm 1,0x10 ⁴ | 9,52 \pm 1,1x10 ⁵ | 9,04 \pm 0,7x10 ⁴ | 6,04 \pm 0,5x10 ³ | 3,20 \pm 1,2x10 ⁵ |
| SP I | 1,74 \pm 1,24x10 ⁶ | 4,22 \pm 2,8x10 ⁵ | 6,33 \pm 2,1x10 ⁵ | 1,22 \pm 0,9x10 ⁵ | 7,37 \pm 0,2x10 ⁴ | 2,07 \pm 1,8x10 ⁵ |
| SP II | 2,19 \pm 2,5x10 ⁶ | 7,79 \pm 2,1x10 ⁴ | 8,44 \pm 1,8x10 ⁵ | 1,09 \pm 0,6x10 ⁵ | 8,03 \pm 1,0x10 ⁴ | 2,51 \pm 0,1x10 ⁵ |
| SP III | 4,8 \pm 1,04 x 10 ⁶ | 3,54 \pm 1,2x10 ⁵ | 1,52 \pm 2,4x10 ⁶ | 3,18 \pm 1,5x10 ⁵ | 1,04 \pm 0,5x10 ⁵ | 6,20 \pm 0,5x10 ⁵ |

* : Media; DE: Desviación estándar

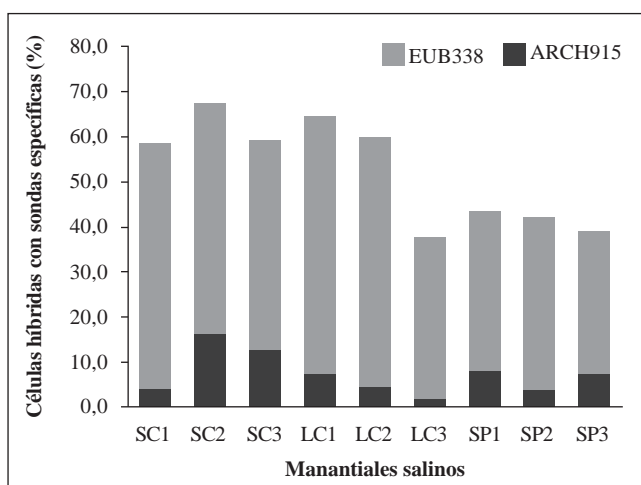


Figura 5. Porcentaje de células híbridas con las sondas EUB338 y ARCH915.

Al evaluar en cada manantial la abundancia de las poblaciones de organismos de las tres clases de proteobacterias, se encontraron diferencias significativas para los recuentos obtenidos con las sondas ALF968 ($p=0,02$) y GAMM42a ($p=0,02$), lo cual confirma que la abundancia de poblaciones del dominio *Bacteria* cambia constantemente a lo largo del tiempo para cada sitio de muestreo.

La técnica de FISH es una herramienta útil para cuantificar microorganismos en ambientes naturales, sin embargo, como cualquier otra técnica también tiene limitaciones asociadas con la dificultad de detectar células microbianas con bajo contenido de ribosomas, ya que generan poca intensidad en la señal de fluorescencia, lo que dificulta su detección, así como en la penetrabilidad y especificidad de la sonda (Yeates, et al., 2003). Es posible que debido a estas limitaciones las sondas utilizadas para la detección de organismos de los dominios *Bacteria* y *Archaea* hayan permitido detectar solamente entre el 40 y el 70 % del total de células identificadas con el DAPI.

Nuestros resultados sugieren que en la comunidad microbiana de los tres manantiales predominan más los organismos del dominio *Bacteria* que los del dominio *Archaea*, lo cual se ha reportado en ambientes con salinidad de hasta 16 % (p/v) (Dong, et al., 2006; Perreault, et al., 2007; Clementino, et al., 2008); por otra parte, Swan, et al. (2010) encontraron que en ambientes moderadamente hipersalinos (5 % (p/v) los organismos del dominio *Archaea* eran más que los del dominio *Bacteria*. Con respecto a la predominancia de *Bacteria* sobre *Archaea*, se ha discutido la razón de que en un mismo ambiente se tienda a encontrar menor diversidad en *Archaea* que en *Bacteria*, pese a que las arqueas contribuyen en gran proporción al total de los filotipos procariontes presentes en la mayoría de los ambientes en los que se han estudiado organismos de ambos dominios (Aller & Kemp, 2008). Tal como lo señalan estos autores, las arqueas pueden colonizar microambientes que son mas restrictivos para la mayoría de las bacterias, y estas últimas pueden estar más dispersas en los diferentes microambientes de un mismo macroambiente, lo cual dificulta establecer la razón de los bajos recuentos de *Archaea* frente a *Bacteria* cuando se analiza la diversidad procarionte a partir de muestras que no discriminan entre estos posibles microambientes. Aunque los recuentos de *Archaea* hayan sido bajos, su presencia podría indicar interacciones metabólicas con *Bacteria* necesarias para el establecimiento de comunidades microbianas funcionales en estos ambientes.

Generación de inventarios biológicos

Se observó crecimiento microbiano en todas las series de cultivo, pero no se obtuvieron aislamientos en los cultivos puros de todas ellas. Una de las limitantes del aislamiento fue la purificación, así como la carencia de información para recrear las condiciones naturales de crecimiento en términos de, entre otros, los nutrientes y elementos traza presentes en el agua de los manantiales. Además, los medios de cultivo son a menudo poco eficientes para reproducir las condiciones endógenas bióticas y abióticas requeridas y, por otro

lado, los microorganismos no se adaptan inmediatamente a estos cambios en las condiciones de crecimiento. Esto es lo que se ha llamado *great plate count anomaly*, que alude al fenómeno de que solo es posible recuperar un bajo porcentaje de células viables de comunidades microbianas en cultivo puro mediante los métodos tradicionales con agar o cualquier otro agente gelificante (Tanaka, *et al.*, 2014), aunque los recuentos totales de microorganismos obtenidos mediante DAPI o FISH sean altos, como se observó en este estudio. El análisis de la secuencia del gen ARNr 16S permitió identificar estos aislamientos como pertenecientes al dominio *Bacteria*. Los medios selectivos y la utilización de kanamicina y ampicilina no fueron suficientes para favorecer la recuperación de arqueas. Los organismos aislados se identificaron taxonómicamente en los filos *Proteobacteria* (alfa, delta y gama), *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Synergistetes* y *Actinobacteria*. La mayor parte de los géneros microbianos se aislaron de los grupos de alfaproteobacterias y gamaproteobacterias, datos que fueron sustentados con los recuentos bacterianos hechos con sondas de FISH.

A partir de las diferentes series de cultivo se aislaron y purificaron 62 cepas bacterianas. Del manantial SC se aislaron 31 cepas bacterianas, la mayoría previamente reportadas en ambientes salinos, principalmente marinos, relacionadas con

los géneros *Roseovarius*, *Thalassospira*, *Thalassobaculum*, *Labrenzia*, *Stappia*, *Thioclava*, *Dethiosulfovibrio*, *Vibrio* y *Prolixibacter*. Del manantial LC se obtuvieron 14 cepas puras, cinco de las cuales han sido reportadas en ambientes marinos y se relacionan con los géneros *Oceanibaculum*, *Dethiosulfovibrio* y *Vibrio*; las nueve cepas restantes presentaron una distribución cosmopolita. Del manantial SP se aislaron 17 cepas, de las cuales cuatro, relacionadas con los géneros *Desulfovibrio*, *Dethiosulfovibrio*, *Nitratireductor* y *Shewanella*, han sido previamente reportadas en ambientes salinos o marinos. Estas cepas se conservan en glicerol (20 % v/v) a -70 °C y están depositadas en la colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana.

En la Tabla 3 se presentan las características identificadas en los aislamientos. Más del 70 % de las cepas bacterianas son móviles, lo cual puede ser relevante en manantiales donde la materia orgánica disuelta de bajo peso molecular (azúcares, fosfatos y aminoácidos) está disponible en un tiempo y espacio limitado en la columna de agua, por lo cual una conducta sensorial móvil proporciona a las células ventajas competitivas que favorecen su supervivencia (Alexandre, *et al.*, 2004).

Las cepas USBA 369, USBA 355 y USBA 82 se destacaron por presentar rasgos fenotípicos y valores de similitud del gen ARNr 16S inferiores al 97 %, umbral usado corrientemente para la diferenciación de especies (Chun & Rainey, 2014).

Tabla 3. Cepas aisladas de los tres manantiales estudiados utilizando diferentes series de cultivo y relación taxonómica.

| Manantial | No. Deposito Cepa | Serie de aislamiento | Organismos más cercano (% de similitud de la secuencia 16S ARNr con este organismo más cercano) | Grupo taxonómico |
|-----------|-------------------|--------------------------------|---|------------------|
| SC | USBA 38 | MB-AMP Acetato de sodio | <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> (99) | g-proteobacteria |
| SC | USBA 40 | MB-AMP Acetato de sodio | <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> (99) | g-proteobacteria |
| SC | USBA 76 | MB-KANA Piruvato | <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 78 | MB-AMP Glicerol | <i>Thalassospira xiamenensis</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 83 | MB-AMP Glicerol | <i>Thalassospira xiamenensis</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 85 | MB-AMP Casaminoácidos | <i>Lysobacter</i> sp. OC7 (99) | g-proteobacteria |
| SC | USBA 349 | MB-AER Gelatina | <i>Roseovarius mucosus</i> (99) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 350 | MB-ANA- Tween 80 | <i>Clostridium bifermentans</i> (99) | Firmicutes |
| SC | USBA 351 | MB-AER Tributíil | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-proteobacteria |
| SC | USBA 352 | MB-AMP Piruvato | <i>Stappia indica</i> (99) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 353 | MB-ANA- Aceite de oliva | <i>Lysobacter</i> sp. OC7 (99) | g-Proteobacteria |
| SC | USBA 354 | MB-ANA- Tributíil | <i>Vibrio alginolyticus</i> (99) | g-Proteobacteria |
| SC | USBA 355 | MB-AER Almidón | <i>Thalassobaculum</i> sp. (90) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 356 | MB-AER Glucosa, xilosa, ribosa | <i>Vibrio vulnificus</i> (99) | g-proteobacteria |
| SC | USBA 357 | MB-AER Gelatina | <i>Prolixibacter bellariivorans</i> (98) | Bacteroidetes |
| SC | USBA 358 | MB- AER Almidón | <i>Thioclava pacifica</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 359 | MB-AMP Acetato de sodio | <i>Stappia indica</i> (99) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 360 | MB-AER Metanol | <i>Vibrio natriegens</i> (99) | g-Proteobacteria |
| SC | USBA 361 | MB-ANA- Peptona | <i>Desulfovibrio acrylicus</i> (90) | d-Proteobacteria |
| SC | USBA 362 | MB-ANA- Almidón | <i>Cellulomonas bogoriensis</i> (97) | Actinobacteria |

| | | | | |
|----|----------|---|--|------------------|
| SC | USBA 363 | MB- AER Trioleato | <i>Thioclava pacifica</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 364 | MB-ANA Aceite de oliva | <i>Clostridium bifermentans</i> (99) | Firmicutes |
| SC | USBA 365 | MB-AER Xilosa | <i>Vibrio vulnificus</i> (99) | g-Proteobacteria |
| SC | USBA 366 | MB-ANA- Almidón | <i>Vibrio vulnificus</i> (99) | g-Proteobacteria |
| SC | USBA 367 | MB-ANA- Peptona | <i>Clostridium bifermentans</i> (99) | Firmicutes |
| SC | USBA 368 | MB-ANA- Tween 80 | <i>Pleomorphomonas oryzae</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 369 | MB-ANA Tributítil | <i>Aurantimonas altamirensis</i> (95) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 371 | MB-AMP- Piruvato | <i>Labrenzia aggregata</i> (99) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 482 | MB-AMP Casaminoácidos | <i>Caenispirillum bisanense</i> (98) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 483 | MB-AMP Acetato de sodio | <i>Stappia indica</i> (99) | a-Proteobacteria |
| SC | USBA 484 | MB-AMP Acetato de sodio | <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> (97) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 36 | MB-AMP Etanol | <i>Oceanibaculum indicum</i> (99) | a-Proteobacteria |
| LC | USBA 37 | MB-AMP Piruvato | <i>Lysobacter</i> sp. OC7 (99) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 86 | MB-AMP Piruvato | <i>Caenispirillum bisanense</i> (98) | a-Proteobacteria |
| LC | USBA 140 | MB-AMP- Casaminoácidos | <i>Caenispirillum bisanense</i> (98) | a-Proteobacteria |
| LC | USBA 151 | MB-ANA- Peptona | <i>Dethiosulfovibrio peptidovorans</i> (94) | Synergistetes |
| LC | USBA 370 | MB-ANA- Almidón | <i>Prolixibacter bellariivorans</i> (98) | Bacteroidetes |
| LC | USBA 372 | MB-ANA- Tween-80 | <i>Lysobacter</i> sp. (99) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 373 | MB-ANA- Tributítil + NO ₃ | <i>Lysobacter</i> sp. (99) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 374 | MB-ANA- Gelatina | <i>Vibrio alginolyticus</i> (99) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 376 | MB-ANA- Peptona | <i>Dethiosulfovibrio peptidovorans</i> (94) | Synergistetes |
| LC | USBA 377 | MB-ANA Tween 80 | <i>Vibrio vulnificus</i> (100) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 378 | MB-ANA Xilosa | <i>Vibrio alginolyticus</i> (99) | g-Proteobacteria |
| LC | USBA 485 | MB-AMP Piruvato | <i>Caenispirillum bisanense</i> (98) | a-Proteobacteria |
| LC | USBA 486 | MB-AMP Piruvato | <i>Bacillus licheniformis</i> (96) | Firmicutes |
| SP | USBA 82 | MB-ANA Peptona | <i>Dethiosulfovibrio peptidovorans</i> (94) | Synergistetes |
| SP | USBA 84 | MB-ANA Piruvato | <i>Desulfovibrio dechloracetivorans</i> (98) | d-Proteobacteria |
| SP | USBA 340 | MB-AER Aceite de oliva | <i>Vibrio vulnificus</i> (99) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 341 | MB-ANA Ácido oleíco | <i>Providencia rettgeri</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 342 | MB-ANA-Peptona | <i>Lysobacter</i> sp.OC7 (99) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 343 | MB-ANA Glucosa | <i>Lysobacter</i> sp.OC7 (99) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 344 | MB-AER peptona | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 345 | MB-ANA Aceite de oilva | <i>Lysobacter</i> sp. OC7 (99) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 346 | MB-ANA Tween 80 + S ₂ O ₃ | <i>Clostridium bifermentans</i> (99) | Firmicutes |
| SP | USBA 347 | MB-ANA Tween 80 | <i>Clostridium bifermentans</i> (99) | Firmicutes |
| SP | USBA 348 | MB-AER Gelatina | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 822 | MB-AER Glucosa | <i>Nitratireductor aquibiodomus</i> (99) | a-Proteobacteria |
| SP | USBA 823 | MB-AER Glucosa | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 824 | MB-AER Glucosa | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 825 | MB-AER Glucosa | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 826 | MB-AER Glucosa | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |
| SP | USBA 827 | MB-AER Glucosa | <i>Shewanella algae</i> (98) | g-Proteobacteria |

Dichos datos indican que estas cepas podrían catalogarse como nuevas especies bacterianas. Se realizaron estudios taxonómicos usando el enfoque polifásico, en el que se

consideraron múltiples dimensiones como las características fenotípicas, genotípicas y quimotaxonómicas (datos no mostrados).

La cepa USBA 369, aislada del manantial SC, registró un porcentaje de similitud del gen ARNr 16S con *Aurantimonas altamirensis* de 95 % (Mendes, et al., 2008); esta especie, aislada de la cueva Altamira en España, se reclasificó posteriormente como *Aureimonas altamirensis* (Rathsack, et al., 2011). Esta cepa es un organismo quimioheterotrófico, Gram-negativo, móvil, aerobio facultativo y halotolerante (Figura 6). Debido a sus características genotípicas, fenotípicas y quimotaxonómicas se propuso como una nueva especie del género *Aurantimonas*, denominada *Aurantimonas salsifontis* (Díaz-Cárdenas, et al., 2015, en preparación), aunque también presenta una gran similitud con miembros de los géneros *Aureimonas* (Rathsack, et al., 2011) y *Rhizobium*. El género *Aurantimonas* hace parte del orden Rhizobiales y, debido a las nuevas clasificaciones de las especies antes pertenecientes al género, a la fecha solo la especie tipo *Aurantimonas coralicida* (Denner, et al., 2003), aislada de muestras de corales, hace parte del género.

El bajo porcentaje de similitud de la secuencia del ARNr 16S de la cepa USBA 355 (Figura 7) con organismos del género *Thalassobaculum* (90 % de similitud) y las diferencias fenotípicas encontradas indican que la cepa USBA 355 podría catalogarse como un nuevo género de la familia Rhodospirillaceae, a la cual pertenece el género *Thalassobaculum*, el más cercano a esta cepa. El análisis polifásico (datos no mostrados) mostró que, efectivamente, la cepa USBA 355 se identifica como un nuevo género de

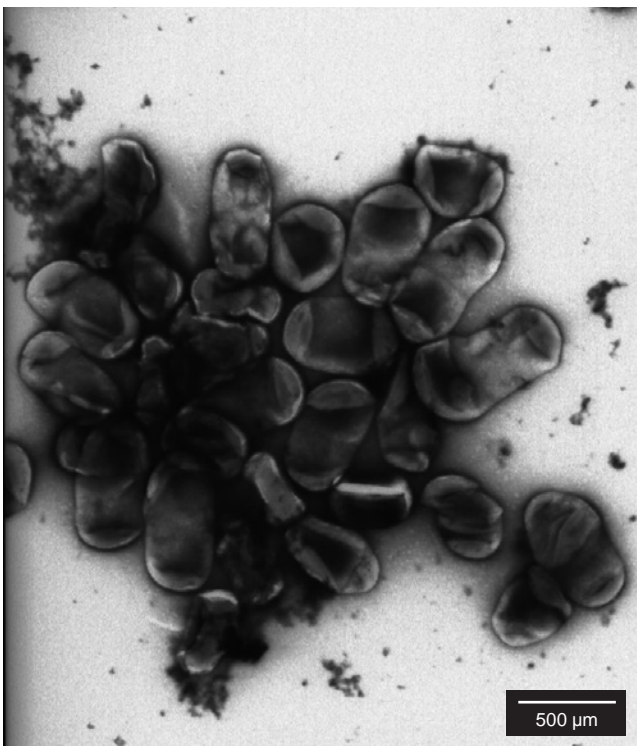


Figura 6. Micrografía electrónica de tinción negativa de la cepa USBA 369.

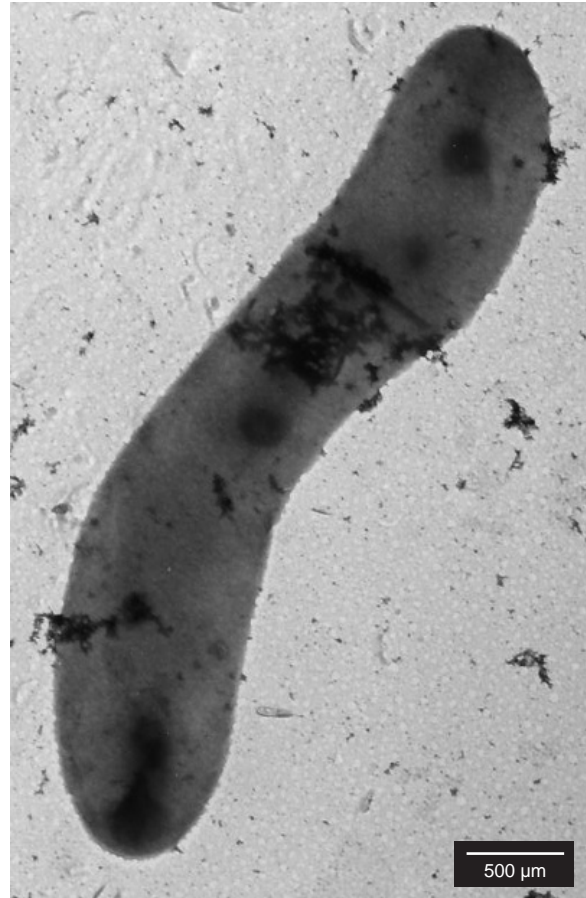


Figura 7. Micrografía electrónica de la cepa USBA 355. Tinción negativa que permite evidenciar la morfología celular.

la familia Rhodospirillaceae denominado *Tistlia*; la especie ha sido denominada *Tistlia consotensis* (Díaz-Cárdenas, et al., 2010b) por su relación con el sitio de aislamiento, el manantial SC. El análisis proteogenómico hecho para dilucidar los mecanismos de adaptación a condiciones de salinidad variables como las de este manantial mostró que hay una expresión diferencial de proteínas cuando el organismo crece en hábitats donde hay ausencia de cloruro de sodio o altas concentraciones de este compuesto comparadas con la concentración promedio (Rubiano-Labrador, et al., 2014).

El análisis preliminar de la secuencia del ARNr 16S de la cepa USBA 82 indicó que está relacionada con *Dethiosulfobaculum peptidovorans* (94 % de similitud) del filo *Synergistetes* (Jumas-Bilak, et al., 2009), el cual incluye los géneros *Dethiosulfobaculum*, *Synergistes*, *Anaerobaculum*, *Aminobacterium*, *Thermanaerovibrio*, *Aminomonas*, *Thermovirga*, *Aminiphilus*, *Jonquetella* y *Cloacibacillus* (Rees, et al., 1997, Baena, et al., 1998, Baena, et al., 1999a; Baena, et al., 1999b; Dahle & Birkeland, 2006, Díaz, et al., 2007, Jumas-Bilak, et al., 2007, Ganesan, et al., 2008), cuya principal característica

es su capacidad para degradar aminoácidos en condiciones anaerobias (Vartoukian, et al., 2007). El análisis polifásico demostró que la cepa aislada correspondía a una nueva especie del género *Dethiosulfovibrio*, que se denominó *Dethiosulfovibrio salsuginis* (Figura 8) (Díaz-Cárdenas, et al., 2010a).

En términos generales, la caracterización fenotípica de los microorganismos aislados, que incluyó la determinación del rango óptimo de salinidad (medida como concentración de cloruro de sodio), demostró que aunque los tres manantiales presentaban una salinidad incluso más alta que la reportada para ambientes marinos, la mayoría de las cepas aisladas no tenía un requerimiento específico del ion Na⁺, ni siquiera aquellas estrechamente relacionadas con organismos de ambientes marinos que requieren de este ión, tales como *Stappia* (Lai, et al., 2010), *Labrenzia* (Biebl, et al., 2007), *Roseovarius* (Biebl, et al., 2005), *Thioclava* (Sorokin, et al., 2005) y *Vibrio*. También vale la pena resaltar que a



Figura 8. Micrografía electrónica de la cepa USBA 82. Tinción negativa que permite evidenciar la morfología celular y la presencia de flagelos laterales.

pesar del elevado pH del manantial LC, que oscila entre 8,4 y 9,8 (lo cual lo diferencia de los otros dos manantiales), ninguno de los organismos aislados se relacionó con organismos alcalófilos. Estos resultados difieren de los obtenidos en otros ambientes salinos alcalinos, en los cuales se han aislado principalmente organismos del filo *Firmicutes* relacionados con bacterias Gram positivas de bajo contenido de G+C pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Alkalibacillus*, *Exiguobacterium*, *Planococcus*, *Enterococcus* y *Vagococcus* (Joshi, et al., 2008). Un elemento común en los tres manantiales fue el aislamiento de organismos relacionados con los géneros *Vibrio* y *Lysobacter*, mientras que los organismos del género *Caenospirillum* y *Prolixibacter* solo se aislaron de los manantiales SC y LC; los organismos de los géneros *Desulfovibrio*, *Shewanella* y *Clostridium*, de los manantiales SC y SP, y los organismos del género *Dethiosulfovibrio*, de los manantiales LC y SP (Figura 9).

Este estudio constituye uno de los pocos desarrollados en Colombia sobre la composición de las comunidades microbianas de manantiales polisalinos y eusalinos que fluyen a partir de aguas subterráneas con más de 50 años de antigüedad. La biodiversidad microbiana de estos manantiales salinos incluye organismos halotolerantes de clase alfa-proteobacteria, delta-proteobacteria y gama-proteobacteria *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Synergistetes* y presentan una gran heterogeneidad fenotípica con respecto a los organismos más relacionados

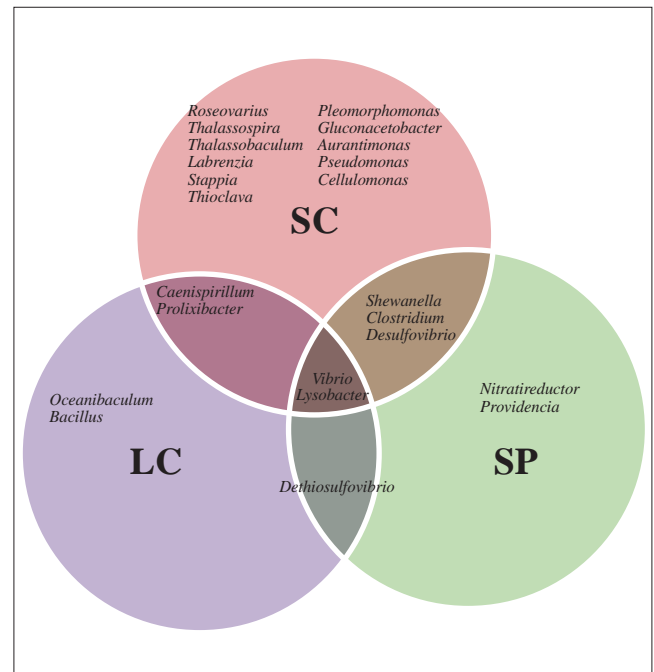


Figura 9. Diagrama de Venn que muestra la afiliación taxonómica de las cepas aisladas en los manantiales Salado de Consotá, La Cristalina y Salpa.

filogenéticamente. En los manantiales SC y LC se aislaron cepas bacterianas relacionadas principalmente con organismos halófilos de ambientes marinos. Por el contrario, la composición microbiana del manantial SP fue bastante heterogénea y se relacionó con organismos halotolerantes y halófilos de agua dulce, sedimentos de

lagunas de cristalización, manantiales sulfurosos marinos, estuarios y suelo. Estos manantiales albergan una diversidad microbiana desconocida que representa un reservorio de diversidad genética inexplorada y podría ser fuente de enzimas, metabolitos y rutas metabólicas de interés ecológico y biotecnológico.

Información suplementaria

Figura 1S. Ubicación geográfica de los manantiales Salado de Consotá, La Cristalina y Salpa en el mapa de Colombia

Tabla 1S. Sondas de oligonucleótidos usadas en este estudio para la detección de organismos.

Tabla 2S. Caracterización isotópica del agua de los manantiales estudiados

Figura 2S. Composición de isótopos estables con respecto a la línea meteórica mundial SMOW.

Agradecimientos

A Luisa Fernanda Bernal Aragón, por su participación en el aislamiento de microorganismos de los manantiales SC y LC. Esta investigación contó con el apoyo financiero de Colciencias y la Pontificia Universidad Javeriana (Proyecto de investigación 1203-405-20235, ID 2743), y con el permiso de acceso a recursos genéticos del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible No. 56 de 2013.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

Bibliografía

- Acevedo A, & Martínez S.** (2004). La sal y las mercaderías en la provincia de Quimbaya. Primeras noticias y crónicas de los salados del río Consotá. En: C. López y M. Cano (Eds). Cambios ambientales en perspectiva histórica. Ecorregión del Eje Cafetero. Proyecto UTP-GTZ, Pereira. p. 167-187.
- Alfaro C.** (2002). Geoquímica del sistema geotérmico de Paipa. Ingeominas, informe inédito. Bogotá. p. 88
- Alexandre, G., Greer-Phillips, S., Zhulin, I.B.** (2004). Ecological role of energy taxis in microorganism. *FEMS Microbiol Reviews*; **28** (1): 113-126.
- Aller, J.Y. & Kemp, P.F.** (2008). Are *Archaea* inherently less diverse than *Bacteria* in the same environments? *FEMS Microbiol Ecol*; **65** (1): 74-87.
- Andrei, A.S., Banciu, H.L., Oren, A.** (2012). Living with salt: Metabolic and phylogenetic diversity of *Archaea* inhabiting saline ecosystems. *FEMS Microbiol Lett* **330**: 1-9.
- American Public Health Association-American Water Works Association & Water Environment Federation.** (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Arbeláez-Cortés, E. (2013). Knowledge of Colombian biodiversity: Published and indexed. *Biodivers Conserv*; **22** (12): 2875-2906.

Baena, S, Fardeau, M.L., Labat, M., Ollivier, B., García, J.L., Patel B.K.C. (1998). *Aminobacterium colombiense* gen. nov. sp. nov., an amino acid-degrading anaerobe isolated from anaerobic sludge. *Anaerobe*. **2**: 241-250.

Baena, S., Fardeau, M.L., Woo, T.H.S., Ollivier, B., Labat, M., Patel, B.K.C. (1999a). Phylogenetic relationships of three amino-acid-utilizing anaerobes, *Selenomonas acidaminovorans*, “*Selenomonas acidaminophila*” and *Eubacterium acidaminophilum*, as inferred from partial 16S rDNA nucleotide sequences, and proposal of *Thermanaerovibrio acidaminovorans* gen. nov., comb. nov. and *Anaeromusa acidaminophila* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. **49**: 969-974.

Baena, S., Fardeau, M.L., Labat, M., Ollivier, B., Thomas, P., Patel, B.K.C. (1999b) *Aminomonas paucivorans* gen. nov., sp. nov., a mesophilic, anaerobic, amino-acid utilizing bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*. **49**: 975-982.

Baena, S., Perdomo, N., Carvajal, C., Díaz, C., Patel, B.K.C. (2011). *Desulfosoma caldarium* gen. nov., sp. nov., a thermophilic sulfate-reducing bacterium from a terrestrial hot spring. *Int J Syst Evol Microbiol*. **61**: 732-736.

Biebl, H., Allgaier, M., Lünsdorf, H., Pukall, R., Tindall, B.J., Wagner-Döbler, I. (2005). *Roseovarius mucosus* sp. nov., a member of the *Roseobacter* clade with trace amounts of bacteriochlorophyll a. *Int J Syst Evol Microbiol*. **55**: 2377-2383.

Biebl, H., Pukall, D., Lünsdorf, H., Schulz, S., Allgaier, M., Tindall, B., Wagner-Döbler, I. (2007). Description of *Labrenzia alexandrii* gen. nov., sp. nov., a novel alphaproteobacterium containing bacteriochlorophyll a, and a proposal for reclassification of *Stappia aggregata* as *Labrenzia aggregata* comb. nov., of *Stappia marina* as *Labrenzia marina* comb. nov. and of *Stappia alba* as *Labrenzia alba* comb. nov., and emended descriptions of

- the genera *Pannonibacter*, *Stappia* and *Roseibium*, and of the species *Roseibium denhamense* and *Roseibium hamelinense*. *Int J Syst Evol Microbiol.* **57**: 1095-1107.
- Bohórquez, L.C., Delgado-Serrano, L., López, G., Osorio-Forero, C., Klepac-Ceraj, V., Kolter, R., Junca, H., Baena, S., Zambrano, M.M.** (2012). In-depth characterization via complementing culture-independent approaches of the microbial community in an acidic hot spring of the Colombian Andes. *Microb Ecol.* **63**: 103-115.
- Chun, J. & Rainey, F.A.** (2014). Integrating genomics into taxonomic and systematics of the *Bacteria* and *Archaea*. *Int J Syst Evol Microbiol.* **64**: 316-324.
- Clementino, M.M., Vieira, R.P., Cardoso, A.M., Nascimento, A.P.A., Silveira C.B., Riva, T.C., Gonzalez A.S.M., Paranhos, R., Albano, R.M., Ventosa, A., Martins, O.B.** (2008). Prokaryotic diversity in one of the largest hypersaline coastal lagoons in the world. *Extremophiles.* **12**: 595-604.
- Cortés, L. & Cardona, J.J.** (2006). Cartografía geológica detallada para el Salado de Consotá y sus alrededores. En: López, M. Cano y D. Rodríguez (Compiladores). Cambios ambientales en perspectiva histórica. Ecología histórica y cultura ambiental. Universidad Tecnológica de Pereira-Sociedad Colombiana de Arqueología, Pereira. p. 93-109.
- Dahle, H., & Birkeland, N.K.** (2006). *Thermovirga lienii* gen. nov., sp. nov., a novel moderately thermophilic, anaerobic, amino-acid-degrading bacterium isolated from a North Sea oil well. *Int J Syst Evol Microbiol.* **56**: 1539-1545.
- Delgado-Serrano, L., López, G., Bohórquez, L., Bustos, J.R., Rubiano, C., Osorio-Forero, C., Junca, H., Baena, S., Zambrano, M.M.** (2014). Neotropical Andes hot springs harbor diverse and distinct planktonic microbial communities. *FEMS Microbiol Ecol.* **89**: 56-66.
- Denner, E.B.M, Smith, G.W., Busse, H.J., Schumann, P., Narzt, T., Polson, S.W., Lubitz, W., Richardson, L.L.** (2003). *Aurantimonas coralicida* gen. nov., sp. nov., the causative agent of white plague type II on Caribbean scleractinian corals. *Int J Syst Evol Microbiol.* **53**: 1115-1122.
- Díaz, C., Baena, S., Fardeau, M.L., Patel, B.K.C.** (2007). *Aminiphilus circumscriptus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic amino-acid-degrading bacterium from an upflow anaerobic sludge reactor. *Int J Syst Evol Microbiol.* **57**: 1914-1918.
- Díaz-Cárdenas, C., López, G., Patel, B.K.C., Baena, S.** (2010a). *Dethiosulfobivrio salsuginis* sp. nov., an anaerobic, slightly halophilic bacterium isolated from a saline spring. *Int J Syst Evol Microbiol.* **60**: 850-853.
- Díaz-Cárdenas, C., Patel, B.K.C., Baena, S.** (2010b) *Tistlia consotensis* gen. nov., sp. nov., a novel aerobic chemoheterotrophic free-living nitrogen-fixing α -Proteobacteria, isolated from a Colombian saline spring. *Int J Syst Evol Microbiol.* **60**: 1437-1444.
- Díaz-Cárdenas, C.** (2011) Estudio de la composición de la comunidad microbiana de manantiales salinos ubicados en los departamentos de Risaralda y Boyacá. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. p. 255
- Dong, H., Zhang, G., Jiang, H., Yu, B., Chapman, L., Lucas, C., Fields, M.** (2006). Microbial diversity in sediments of saline Qinghai Lake, China: Linking geochemical controls to microbial ecology. *Microbial Ecol.* **51**: 65-82.
- DuRand, M.D., Olson, R.J., Chisholm, S.W.** (2001). Phytoplankton population dynamics at the Bermuda Atlantic Time-series station in the Sargasso Sea. *Deep Sea Res Part II.* **48**: 1983-2003.
- Elshahed, M., Najar, F., Roe, B., Oren, A., Dewers, T., Krumholz, L.** (2004). Survey of Archaeal diversity reveals an abundance of halophilic *Archaea* in a low-salt, sulfide and sulfur-rich spring. *Appl Environ Microbiol.* **70** (4): 2230-2239.
- Gell, P. & Gasse, F.** (1990). Relationships between salinity and diatom flora from some Australian saline lakes. 11th International Diatom Symposium. California Academy of Sciences, San Francisco, USA. p. 631-641.
- Ganesan, A., Chaussonnerie, S., Tarrade, A., Dauga, C., Bouchez, T., Pelletier, E., Lepaslier, D., Sghir, A.** (2008). *Cloacibacillus evryensis* gen. nov., sp. nov., a novel asaccharolytic, mesophilic, amino-acid-degrading bacterium within the phylum 'Synergistetes', isolated from an anaerobic sludge digester. *Int J Syst Evol Microbiol.* **58**: 2003-2012.
- Glauert, A.M.** (1975). Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. En Glauert, A.M., (Ed.): Practical methods in electron microscopy. Vol. 3. Part I. North-Holland, Amsterdam. p. 1-207.
- Gremm, T., & Kaplan, L.** (1997). Dissolved carbohydrates in streamwater determined by HPLC and pulsed amperometric detection. *Limnology and Oceanography.* **42** (2): 385-393.
- Hungate, R.E.** (1969). A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. En: Norris, J.R. and Ribbons, D.W. (Eds.). *Methods in microbiology*, Vol. 3B. Academic Press, London. p. 117-132.
- Joshi, A.A., Kanekar, P.P., Kelkar, A.S., Shouche, Y.S., Vani, A.A., Borgave, S.B., Sarnaik, S.S.** (2008). Cultivable bacterial diversity of alkaline Lonar Lake, India. *Microbial Ecology.* **55**: 163-172.
- Jumas-Bilak, E., Carlier, J.P., Jean-Pierre, H., Citron, D., Bernard, K., Damay, A., Gay, B., Teyssier, C., Campos, J., Marchandin, H.** (2007). *Jonquetella anthropi* gen. nov., sp. nov., the first member of the candidate phylum 'Synergistetes' isolated from man. *Int J Syst Evol Microbiol.* **57**: 2743-2748.
- Jumas-Bilak, E., Roudière, L., Marchandin, H.** (2009). Description of 'Synergistetes' phyl. nov. and emended description of the phylum 'Deferribacteres' and of the family *Syntrophomonadaceae*, phylum 'Firmicutes'. *Int J Syst Evol Microbiol.* **59** (5): 1028-35.
- Kirchman, D., Sigda, J., Kapuscinski, R., Mitchell, R.** (1982). Statistical analysis of the direct count method for enumerating bacteria. *Appl Environ Microbiol.* **44**: 376-382.

- LaBaugh, J.W.** (1989). Chemical characteristics of water in northern prairie wetlands. En: Valk AV. Ames (Eds). Northern Prairie Wetlands. Iowa University Press. 57-90.
- Lai, Q., Qiao, N., Wu, C., Sun, F., Yuan, J., Shao, Z.** (2010). *Stappia indica* sp. nov., isolated from deep seawater of the Indian Ocean. *Int J Syst Evol Microbiol.* **60**: 733-736.
- López, G., Chow, J., Bongen, P., Lauinger, B., Pietruszka, J., Streit, W.R., Baena, S.** (2014). A novel thermoalkalostable esterase from *Acidicaldus* sp. strain USBA-GBX-499 with enantioselectivity isolated from an acidic hot springs of Colombian Andes. *Appl Microbiol Biotechnol.* **98** (20): 8603-16.
- Obernosterer, I. & Herndle, G.J.** (1995). Phytoplankton extracellular release and bacterial growth: Dependence on the inorganic N:P ratio. *Marine Ecology Progress Series.* **116**: 247-257.
- Pedersen, K., Arlinger, J., Hallbeck, L., Pettersson, C.** (1996). Diversity and distribution of subterranean bacteria in groundwater at Oklo in Gabon, Africa, as determined by 16S rRNA gene sequencing. *Molecular Ecology.* **5**: 427-436.
- Pernthaler, J., Glöckner, F.O., Schönhuber, W., Amann, R.** (2001). Fluorescence *in situ* hybridization with rRNA-targeted oligonucleotide probes. En: J. Paul (Ed.). *Methods in microbiology: Marine microbiology.* Academic Press Ltd, San Diego, USA. vol. 30. p. 207-226.
- Perreault, N.N., Andersen, D.T., Pollard, W.H., Greer, C.W., Whyte, L.G.** (2007). Characterization of the prokaryotic diversity in cold saline perennial springs of the Canadian high Arctic. *Appl Environ Microbiol.* **73** (5): 1532-1543.
- Prakash, O., Shouche, Y., Jangid, K., Kostka, J.E.** (2013). Microbial cultivation and the role of microbial resource centers in the omics era. *Appl Microbiol Biotechnol.* **97**: 51-62.
- Rathsack, K., Reitner, J., Stackebrandt, E., Tindall, B.J.** (2011). Reclassification of *Aurantimonas altamirensis* (Jurado, *et al.*, 2006), *Aurantimonas ureilytica* (Weon, *et al.*, 2007) and *Aurantimonas frigidaquae* (Kim, *et al.*, 2008) as members of a new genus, *Aureimonas* gen. nov., as *Aureimonas altamirensis* gen. nov., comb. nov., *Aureimonas ureilytica* comb. nov. and *Aureimonas frigidaquae* comb. nov., and emended descriptions of the genera *Aurantimonas* and *Fulvimarina*. *Int J Syst Evol Microbiol.* **61**: 2722-2728.
- Redburn, A.C. & Patel, B.K.C.** (1993). Phylogenetic analysis of *Desulfotomaculum thermobenzoicum* using polymerase chain reaction-amplified 16S rRNA-specific DNA. *FEMS Microbiol Letters.* **113**: 81-86.
- Rees, G.N., Patel, B.K.C., Grassia, G.S., Sheehy, A.J.** (1997). *Anaerobaculum thermoterrenum* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic bacterium which ferments citrate. *Int J Syst Bacteriol.* **47**: 150-154.
- Romero, M., Cabrera, E., Ortiz, N.** (2008). Informe sobre el estado de la biodiversidad en Colombia 2006-2007. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá D. C., Colombia. p. 181. http://www.humboldt.org.co/download/INSEB_2006-2007.pdf.
- Rooney-Varga, J.N., Giewat, M.W., Savin, M.C., Sood, S., LeGresley, M., Martin, J.L.** (2005). Links between phytoplankton and bacterial community dynamics in a coastal marine Environment. *Microbial Ecology.* **49**: 163-175.
- Rubiano-Labrador, C., Baena, S., Díaz-Cárdenas C., Patel, B.K.C.** (2013). *Caloramator quimbayensis* sp. nov., an anaerobic, moderately thermophilic bacterium isolated from a terrestrial hot spring. *Int J Syst Evol Microbiol.* **63**: 1396-1402.
- Rubiano-Labrador, C., Bland, C., Miotello, G., Guerin, P., Pible, O., Baena, S., Armengaud, J.** (2014). Proteogenomic insights into salt tolerance by a halotolerant alpha-proteobacterium isolated from an Andean saline spring. *Journal of Proteomics.* **97**: 36-47.
- Salm C.R., Saros, J.E., Martin, C.S., Erickson, J.M.** (2009). Patterns of seasonal phytoplankton distribution in prairie saline lakes of the northern Great Plains (U.S.A.). *Saline Systems.* **5** (1): 1-13.
- Sieburth, J.M., Smetacek, V., Lenz, J.** (1978). Pelagic ecosystem structure-heterotrophic compartments of plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography.* **23**: 1256-1263.
- Sigee, D.C.** (2005). *Freshwater Microbiology: Biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the freshwater environment.* Primera edición. John Wiley & Sons Ltd., Inglaterra. p. 524.
- Sogin, M., Morrison, H., Huber, J., Welch, D.M., Huse, S., Neal, P.R., Arrieta, J., Herndl, G.** (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *PNAS*; **103** (32): 12115-12120.
- Sorokin, D.Y., Tourova, T.P., Spiridonova, E.M., Rainey, F.A., Muyzer, G.** (2005). *Thioclava pacifica* gen. nov., sp. nov., a novel facultatively autotrophic, marine, sulfur-oxidizing bacterium from a near-shore sulfidic hydrothermal area. *Int J Syst Evol Microbiol*; **55**: 1069-1075.
- Swan, B.K., Ehrhardt, C.J., Reifel, K.M., Moreno, L.I., Valentine, D.** (2010). Archaeal and Bacterial communities respond differently to environmental gradients in anoxic sediments of a California hypersaline lake, the Salton Sea. *App Environ Microbiol.* **76** (3): 757-768.
- Tanaka, T., Kawasaki, K., Daimon, S., Kitagawa, W., Yamamoto, K., Tamaki, H., Tanaka, M., Nakatsu, C.H., Kamagata, Y.** (2014). A hidden pitfall in the preparation of agar media undermines microorganism cultivability. *App Environ Microbiol.* **80** (24): 7659-7666.
- Tistl M.** (2004). Sal, cobre y oro en el Consotá. En: López, C, Cano, M. (Eds.) *Cambios ambientales en perspectiva histórica. Ecorregión del Eje Cafetero.* Universidad Tecnológica de Pereira, Programa Ambiental GTZ. Pereira, Colombia. p. 41-53.

- Torsvik, V., Salte, K., Sørheim, R., Goksøyr, J.** (1990). Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. *Appl Environ Microbiol.* **56** (3): 776-781.
- Vartoukian, S., Palmer, R., Wade, W.** (2007). The division “*Synergistes*”. *Anaerobe.* **13** (4): 99-106.
- Ventosa, A., Fernández, A.B., León, M.J., Sánchez-Porro, C., Rodríguez-Varela F.** (2014). The Santa Pola saltern as a model for studying the microbiota of hypersaline environments. *Extremophiles.* **18**: 811-824.
- Wu, Q.L., Zwart, G., Schauer, M., Kamst-van Agterveld M.P., Hahn, M.W.** (2006). Bacterioplankton community composition along a salinity gradient of sixteen high-mountain lakes located on the Tibetan plateau, China. *Appl Environ Microbiol.* **72**: 5478-5485.
- Yeates, C., Saunders, A.M., Crocetti, G.R., Blackall, L.L.** (2003). Limitations of the widely used GAM42a and BET42a probes targeting bacteria in the Gammaproteobacteria radiation. *Microbiology.* **149**: 1239-1247.

Respuesta de la biomasa zooplanctónica a los gradientes de estado trófico y precipitación de un embalse tropical

Silvia Lucía Villabona-González^{1,2,*}, John Jairo Ramírez-Restrepo¹,
Jaime Alberto Palacio-Baena², Claudia Costa Bonecker³

¹Grupo de Investigación en Limnología Básica y Experimental y Biología y Taxonomía Marina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

²Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

³Departamento de Biología, Programa de Pos graduación en Ecología de Ambientes Acuáticos Continentales, Núcleo de Pesquisas en Limnología Ictiología y Acuicultura, Universidad Estadual de Maringá – UEM, Av. Colombo, Maringá, PR, Brazil

Resumen

En la zona fótica del embalse Riogrande II se analizó la distribución de la biomasa zooplanctónica en las escalas espacial (longitudinal - vertical) y temporal en función de los gradientes de estado trófico, de biomasa algal y de la precipitación. Los cladóceros dominaron la biomasa, debido a la alta contribución de *Bosmina freyi*, seguidos de los copépodos y rotíferos. La biomasa de especies de microcrustáceos se asoció a la estación de muestreo eutrófica y de mayor biomasa algal, mientras que la biomasa de especies de rotíferos estuvo ligada a las estaciones de menor estado trófico. La mayor biomasa de microcrustáceos fue en la temporada de mayor estado trófico y la de rotíferos en la de mayor precipitación. En el gradiente vertical, la menor biomasa de todos los grupos fue en subsuperficie, zona que tendió a ser evitada por la mayoría de especies, durante los periodos de muestreo. La expresión de biomasa zooplanctónica en el eje longitudinal y en la escala temporal, respondió principalmente al gradiente de estado trófico y de biomasa algal, y en el eje vertical posiblemente a depredación. Aunque esta respuesta no dependió del hábito trófico de las especies, probablemente por la oferta trófica diversa del embalse y por la plasticidad alimenticia de las especies, sí fue diferente entre microcrustáceos y rotíferos.

Palabras clave: rotíferos, microcrustáceos, biomasa, estado trófico, *Bosmina freyi*.

Response of the zooplankton biomass to the gradient of trophic status, and rainfall of a tropical reservoir

Abstract

The distribution of the zooplankton biomass in the spatial (longitudinal- vertical) and temporal scales based on the gradients of trophic status, algae biomass and the rainfall was analyzed in the photic zone of the reservoir Riogrande II. Cladocerans dominated the biomass due to the large contribution of *Bosmina freyi*, followed by copepods and rotifers. Biomass of species of microcrustaceans was associated to the most eutrophic sampling station related to highest algae biomass, whereas biomass of species of rotifers was linked to stations of lower trophic status. Highest biomass of microcrustacean was in the season of greatest trophic status whereas highest biomass of rotifer was related to the strongest rainfall season. In the vertical gradient, lowest biomass of all groups occurred in the subsurface. This zone tended to be avoided by most species during the sampling seasons. The expression of zooplankton biomass in the longitudinal axis and the temporal scale mainly responded to the gradient of trophic status and algae biomass, and in the vertical axis possibly responded to predation. Although, this response did not depend on the trophic habit of the species probably due to the diverse trophic offer of the reservoir and the alimentary plasticity of these species, it was clearly different between microcrustaceans and rotifers.

Key words: Rotifers, microcrustaceans, biomass, trophic state, *Bosmina freyi*.

Introducción

La biomasa de las poblaciones de zooplancton es una variable fundamental para entender el papel ecológico de cada grupo de esta comunidad y es considerada una estimación más realista y precisa que la densidad en estudios de estructura, debido al amplio rango de tamaño de las especies zooplanctónicas (Matsumura-Tundisi,

Rietzler & Tundisi, 1989). Mientras grupos como rotíferos y protozoarios contribuyen significativamente en densidad, pero tienen una baja representatividad en biomasa, los de

*Correspondencia:

Silvia Lucía Villabona González, silvillabo81@gmail.com

Recibido: 26 de febrero de 2015

Aceptado: 17 de junio de 2015

mayor tamaño, copépodos y cladóceros, pueden contribuir en forma importante a la biomasa (Bonecker, Nagae, Bletller, Machado & Lansac-Tôha, 2007).

Teniendo en cuenta que un gradiente ambiental es un cambio gradual en los factores bióticos y abióticos a través del tiempo y el espacio y que la ocurrencia o abundancia de una especie a lo largo de éste, sigue la ley de tolerancia de Shelford (Odum, 1971), la expresión de biomasa del zooplancton estará determinada por la existencia de los gradientes ambientales dentro de un ecosistema, en especial de estado trófico (Corgosinho & Pinto-Coelho, 2006; Echaniz, Vignatti, Cabrera & José de Paggi, 2012). Estudios sobre el impacto que causa la eutrofización en la abundancia y composición del zooplancton son frecuentes en limnología (Pinto-Coelho, Pinel-Alloul, Méthot & Havens, 2005; Corgosinho & Pinto-Coelho, 2006; Bonecker, Nagae, Bletller, Machado & Lansac-Tôha, 2007). Sin embargo, pocos trabajos analizan la respuesta de la biomasa al gradiente de eutrofización en las escalas longitudinal y temporal.

El gradiente longitudinal en los embalses, creado por los procesos de transporte, está influenciado por el régimen de precipitación y las actividades antropogénicas en las cuencas y puede generar diferencias en el estado trófico y por ende en la dominancia de grupos y / o de especies tanto de fitoplancton como de zooplancton (Sampaio, Rocha, Matsumura-Tundisi, Tundisi, 2002). De acuerdo con Marzolf (1990), los cambios graduales de la biomasa zooplanctónica a lo largo del eje longitudinal de los embalses están relacionados con la velocidad de los flujos de agua y el ingreso de materiales (arcilla, nutrientes, carbono orgánico disuelto y microflora) y según el factor preponderante, las poblaciones se concentrarán en determinada zona.

Debido a que esta dinámica también genera gradientes ambientales en el eje vertical de estos sistemas (Santos, 2009), frecuentemente las especies exhiben patrones heterogéneos de segregación a lo largo del gradiente lumínico en la zona fótica. En esta zona, con la mayor producción algal, el zooplancton exhibe su patrón típico de localización vertical (Alvarez, 2002). El efecto combinado del clima lumínico, la temperatura, el oxígeno disuelto, la disponibilidad de alimento y la depredación, puede ser el principal factor de fuerza en la estructuración vertical de esta comunidad (Wissel & Ramacharan, 2003).

Diversos estudios han indicado el efecto de la estacionalidad de los factores ambientales sobre el zooplancton en los embalses (Simões & Sonoda, 2009; Merayo & González, 2010). De acuerdo con Tundisi & Matsumura-Tundisi (2008) en los sistemas tropicales, las variaciones temporales de sus poblaciones dependen principalmente de las lluvias y del viento. Sin embargo, es probable que la influencia de las variaciones climáticas reportada por estos autores no sea generalizable para el zooplancton de todos los sistemas tropicales.

Desde la década de los setenta la construcción de embalses en Colombia se aceleró considerablemente (Gaviria, 1992; Roldán & Ramírez, 2008). Sin embargo, hoy en día se dispone de muy poca información sobre la dinámica horizontal y temporal de la biomasa del zooplancton en estos ecosistemas en Colombia (Herrera, 1993; Estrada-Posada, 1999; Monroy, 2008; Guevara, Lozano, Reinoso & Villa, 2009), e incluso no hay información sobre la dinámica vertical de la biomasa zooplanctónica de embalses colombianos.

En la presente investigación se plantearon las siguientes preguntas y sus respectivas hipótesis

1) ¿Cómo se estructura la comunidad zooplanctónica del embalse Riogrande II en las escalas espacial (longitudinal) y temporal en relación con el gradiente de estado trófico, biomasa fitoplanctónica y pluviosidad? Si la expresión de biomasa y la dominancia de especies del zooplancton de acuerdo con su hábito trófico responden al gradiente de estado trófico, biomasa fitoplanctónica y pluviosidad, entonces en las estaciones eutróficas y de mayor biomasa fitoplanctónica y en las temporadas de mayor precipitación y caudal esta comunidad presenta su máxima biomasa y está dominada por rotíferos detritívoros y depredadores, cladóceros microfiltradores y copépodos depredadores. En las estaciones oligo y mesotróficas y con menor biomasa algal y en épocas de menor pluviosidad y caudal, la biomasa de la comunidad se reduce y se incrementa la dominancia de rotíferos, cladóceros y copépodos filtradores.

2) ¿Cómo es la distribución vertical de la biomasa zooplanctónica a lo largo de la zona fótica del embalse Riogrande II? Si la selección de profundidad por el zooplancton dentro de la zona fótica responde a la disponibilidad de luz, oxígeno disuelto y biomasa algal, entonces la acumulación de biomasa zooplanctónica es menor en la subsuperficie (0,2 m aproximadamente), donde predominan rotíferos y cladóceros de pequeño tamaño; mientras que al 10 y al 1% de irradiación (*I₀*) es mayor y está dominada por cladóceros y copépodos de gran tamaño.

Materiales y métodos

El embalse Riogrande II se sitúa al Nor-oriente de Colombia en la cuenca del río Grande (6° 33' 50" - 6° 28' 07" N y los 75° 32' 30" - 75° 26' 10" O). Tiene un volumen total hasta la cota de vertedero (2270 m) de 240 millones de m³, un área media de 1214 ha, profundidades máxima y media de 42,0 y 37,9 m, longitud máxima de 10 km y su tiempo de retención es de 72,8 días en promedio. Su aprovechamiento múltiple incluye generación hidroeléctrica y suministro de agua potable (Loaiza-Restano, Ramírez-Restrepo, Echenique, Vallejo & Ortíz, 2011).

El embalse está formado por el represamiento de las aguas de los ríos Grande y Chico y por la quebrada Las Ánimas (Figura 1). El río Grande entra al embalse repartiéndose su volumen

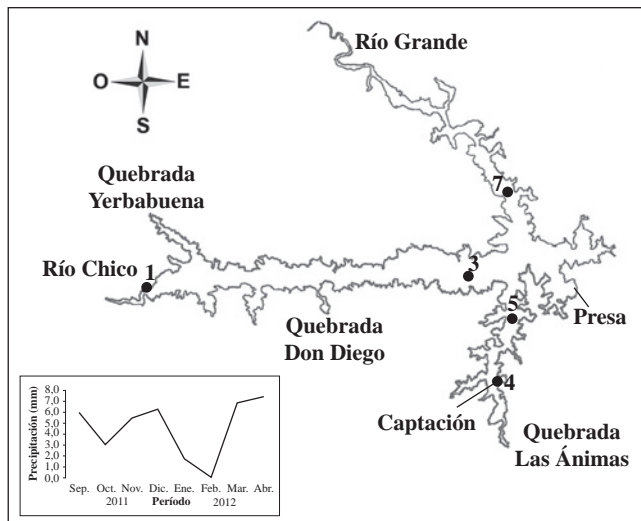


Figura 1. Mapa del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia, con la localización de las cinco estaciones de muestreo y la precipitación media (mm) desde septiembre 2011 a abril 2012.

principalmente sobre el brazo del río Chico, aumentando el tiempo de residencia del agua y demorando el paso de los aportes hacia el interior del embalse (Franco, 2011).

Desde septiembre de 2011 a abril de 2012, se realizaron muestreos mensuales en cinco estaciones localizadas en las áreas de influencia de los tres afluentes más importantes del embalse. El estudio incluyó periodos con niveles de precipitación altos (septiembre, noviembre-diciembre 2011; marzo-abril 2012), medios (octubre 2011) y bajos (enero-febrero 2012) (Figura 1). La numeración de las estaciones de muestreo sigue la codificación fijada por el programa “Estudio de la problemática ambiental de tres embalses de empresas públicas de Medellín para la gestión integral y adecuada del recurso hídrico” (Palacio-Baena, Herrera-Loaiza, López-Muñoz, Palacio-Betancourt & Rodríguez, 2013; Toro, Moreno, Chalarca & Grajales, 2013).

En cada una de las estaciones seleccionadas se midieron *in situ* la transparencia (profundidad del disco de Secchi) y la temperatura del agua, la conductividad eléctrica y el % de saturación de oxígeno disuelto, con un perfilador CTD SBE 25 SeaBird Electronics. Se tomaron muestras de agua en la subsuperficie, al 10 y al 1% de irradiación para análisis en laboratorio de los ortofosfatos (mg P-PO₄⁻³/L) mediante el método colorimétrico-ácido ascórbico (4500-P-E, APHA-AWWA-WEF 2005), y la clorofila *a* se midió por medio un Fluorómetro FluoroProbe bbe-Moldaenke.

La información de la precipitación (estos datos corresponden al promedio de los valores registrados una semana anterior al muestreo y en la semana de muestreo), los caudales de los tributarios, los vertidos y captados, las variables físicas y químicas y de la clorofila *a*, fue generada por el programa “Estudio de la problemática ambiental de tres embalses de

empresas públicas de Medellín para la gestión integral y adecuada del recurso hídrico” (Tabla 1) (Palacio-Baena et al., 2013; Toro et al., 2013).

El estado trófico de las estaciones y de las temporadas, se estableció con base en el índice de estado trófico promedio ponderado de Carlson (IET) modificado por Toledo, Talarico, Chinez & Agudo (1983):

$$IET = \frac{IET(Ds) + 2[IE\ TCl.a + IE\ TP\ T + IE\ TP\ S\ R]}{7}$$

Ds = transparencia Secchi, Cl.a = clorofila *a*, PT = fósforo total, PSR = fósforo soluble reactivo. La regla de decisión es: IET ≤ 44 = oligotrófico; 44 < IET < 54 = mesotrófico e IET ≥ 54 = eutrófico.

Mediante arrastres verticales con una red de zooplancton de 40 μm de luz de malla, en la zona fótica (0,10 - 5,90 m) se tomaron muestras para análisis de biovolumen y peso seco, que fueron fijadas con formaldehído al 4% (v/v, concentración final) (Azevedo, Dias, Magalhães & Bonecker, 2012). Para el análisis de densidades, se filtraron 35 litros de agua proveniente de tres profundidades (subsUPERficie, 10 y 1% de *I₀*) a través de un tamiz de 40 μm de luz de malla. Estas muestras se preservaron con solución Transeau en proporción 1:1 (Estrada-Posada, 2007) y fueron depositadas en la colección de Limnología de la Universidad de Antioquia, CLUA 035. Usando un microscopio óptico y una cámara de Sedgwick-Rafter se contaron tres submuestras de 2 ml que contenían cada una como mínimo 80 individuos adultos (Bottrell et al., 1976).

El biovolumen de las especies de rotíferos se calculó con base en las fórmulas geométricas más semejantes a la forma del cuerpo de cada especie (Ruttner-Kolisko, 1977). Con una cámara SAMSUNG PROFESIONAL SCC-130B/131B se fotografiaron aleatoriamente 30 individuos de cada especie. Estas fotografías se analizaron con el programa MICRO-MANAGER-1.4, en el cual se tomaron las medidas de longitud y ancho del cuerpo, sin tener en cuenta los apéndices, pues estos se establecieron usando ecuaciones específicas para ellos. Los valores de biovolumen fueron convertidos en peso húmedo, suponiendo que 10⁶ μm³ equivalen a 1 μg de peso húmedo (Bottrell et al., 1976) y el peso seco fue estimado como el 10% del peso húmedo (Pace & Orcutt, 1981), excepto para las especies de *Asplanchna* (3,9%; Dumont, Van De Velde & Dumont, 1975).

La biomasa de microcrustáceos se estimó a partir del método del peso seco (Dumont et al., 1975). Para establecer los modelos de regresión longitud-peso se pesaron en una balanza analítica (aproximación 1 μg) un número variable de individuos de las especies que presentaron mínimo 5 μg para un conjunto de individuos de cada clase (Dumont et al., 1975). El intervalo entre clases de tamaño se estimó de acuerdo con las recomendaciones de Bird & Praire (1985) y del número de individuos en las muestras. Antes del pesaje

Tabla 1. Valores medios de las variables ambientales y la clorofila *a* usadas en los análisis de ordenación de la zona fótica del embalse Riogrande II.

| Fecha | Estación | Temperatura del agua (°C) | Saturación de oxígeno (%) | Transparencia (m) | Conductividad eléctrica (µS/cm) | Ortofosfatos (mg P-PO ₄ ⁻³ /L) | Clorofila <i>a</i> (µg/L) | Índice estado trófico | Precipitación (mm) |
|--------|----------|---------------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------------|--|---------------------------|-----------------------|--------------------|
| Sep/11 | E1 | 21,31 | 80,92 | 0,76 | 53,09 | 0,11 | 22,72 | 64,23 | 5,97 |
| | E3 | 20,46 | 86,25 | 1,41 | 39,77 | 0,08 | 17,72 | 58,36 | |
| | E4 | 20,17 | 79,25 | 1,76 | 34,53 | 0,03 | 15,47 | 52,68 | |
| | E5 | 20,69 | 88,10 | 1,35 | 37,53 | 0,06 | 21,54 | 57,05 | |
| | E7 | 21,87 | 83,03 | 1,14 | 43,53 | 0,06 | 22,50 | 57,61 | |
| Oct/11 | E1 | 20,79 | 94,51 | 0,79 | 40,27 | 0,04 | 24,32 | 58,22 | 3,03 |
| | E3 | 19,98 | 92,26 | 1,37 | 36,13 | 0,02 | 13,66 | 47,84 | |
| | E4 | 19,33 | 85,78 | 2,19 | 30,82 | 0,00 | 7,20 | 35,76 | |
| | E5 | 19,41 | 93,97 | 1,99 | 32,67 | 0,00 | 9,81 | 39,44 | |
| | E7 | 19,62 | 93,92 | 1,27 | 33,77 | 0,01 | 18,61 | 48,94 | |
| Nov/11 | E1 | 18,79 | 84,36 | 1,33 | 39,74 | 0,03 | 13,77 | 52,72 | 5,44 |
| | E3 | 18,84 | 83,44 | 1,66 | 39,24 | 0,02 | 14,02 | 48,58 | |
| | E4 | 18,41 | 77,70 | 1,98 | 29,56 | 0,01 | 10,38 | 40,21 | |
| | E5 | 18,65 | 77,14 | 1,68 | 34,54 | 0,01 | 12,46 | 43,87 | |
| | E7 | 18,63 | 74,12 | 1,36 | 34,83 | 0,01 | 16,33 | 46,10 | |
| Dic/11 | E1 | 19,62 | 84,30 | 1,21 | 39,08 | 0,01 | 17,23 | 47,25 | 6,29 |
| | E3 | 18,99 | 85,15 | 1,35 | 39,47 | 0,01 | 20,40 | 47,57 | |
| | E4 | 18,46 | 59,36 | 2,10 | 32,92 | 0,01 | 8,62 | 40,93 | |
| | E5 | 18,55 | 61,67 | 1,73 | 35,97 | 0,01 | 14,65 | 47,75 | |
| | E7 | 18,47 | 78,32 | 1,05 | 33,47 | 0,01 | 23,71 | 47,32 | |
| Ene/12 | E1 | 20,00 | 95,04 | 1,23 | 42,98 | 0,03 | 24,26 | 53,50 | 1,73 |
| | E3 | 19,52 | 95,91 | 1,46 | 38,49 | 0,00 | 26,62 | 43,57 | |
| | E4 | 19,24 | 91,77 | 1,77 | 33,15 | 0,01 | 20,16 | 42,76 | |
| | E5 | 19,25 | 87,59 | 1,45 | 35,59 | 0,00 | 20,16 | 41,02 | |
| | E7 | 18,90 | 88,71 | 1,19 | 35,42 | 0,01 | 19,42 | 45,43 | |
| Feb/12 | E1 | 21,67 | 84,52 | 0,90 | 49,30 | 0,06 | 35,93 | 60,44 | 0,00 |
| | E3 | 20,83 | 89,64 | 1,53 | 42,87 | 0,00 | 28,15 | 43,83 | |
| | E4 | 21,00 | 84,49 | 1,31 | 43,70 | 0,00 | 20,14 | 40,65 | |
| | E5 | 20,93 | 97,81 | 1,43 | 43,37 | 0,00 | 24,86 | 43,76 | |
| | E7 | 19,99 | 95,51 | 1,37 | 39,32 | 0,01 | 24,78 | 44,21 | |
| Mar/12 | E1 | 20,50 | 92,17 | 0,77 | 47,53 | 0,02 | 32,95 | 56,35 | 6,86 |
| | E3 | 19,62 | 90,27 | 1,69 | 42,31 | 0,01 | 8,29 | 41,59 | |
| | E4 | 19,50 | 94,52 | 1,55 | 37,61 | 0,00 | 15,29 | 41,40 | |
| | E5 | 19,58 | 90,59 | 1,62 | 40,29 | 0,01 | 12,42 | 43,99 | |
| | E7 | 18,74 | 77,55 | 1,05 | 36,91 | 0,01 | 19,49 | 45,58 | |
| Abr/12 | E1 | 19,97 | 69,12 | 0,75 | 50,57 | 0,01 | 37,54 | 49,40 | 7,43 |
| | E3 | 19,85 | 81,50 | 1,02 | 43,48 | 0,00 | 42,99 | 43,65 | |
| | E5 | 19,40 | 79,75 | 1,37 | 39,23 | 0,00 | 17,93 | 40,22 | |
| | E7 | 18,97 | 64,19 | 1,05 | 39,10 | 0,00 | 34,69 | 44,42 | |

se removieron huevos, embriones y envolturas gelatinosas (Dumont et al., 1975). Los individuos fueron lavados en agua destilada durante 1 hora y posteriormente transferidos a moldes de papel aluminio (secados previamente a 60°C por 30 minutos) y pesados. Posteriormente, el material de los moldes se expuso a 60°C durante 24 horas y luego, se dejó enfriar en un desecador durante una hora antes del pesaje final por triplicado para obtener un promedio. El peso seco se determinó mediante la diferencia entre el peso final y el peso inicial de la muestra y este valor se dividió por el número de organismos, con el fin de determinar el peso seco de un individuo promedio de la especie o grupo seleccionado (Blettler & Bonecker, 2006).

El tamaño de los cladóceros se tomó desde la extremidad inicial de la cabeza hasta la porción final del caparazón, usando una retícula micrométrica de 10 µm de precisión, adaptada al ocular del microscopio (aumento de 100x). Los copépodos se midieron desde la margen anterior de la cabeza hasta la porción final del urosoma y los nauplios desde la margen anterior hasta la margen posterior del cuerpo (largo total, sin considerar la setas furcales). En la medición de los cladóceros no se incluyeron ni el yelmo, ni los apéndices, ni las espinas (Bottrell et al. 1976).

El peso seco de las especies que no fueron pesadas se estimó mediante ecuaciones de regresión longitud-peso seco propuestas en la literatura (Castilho & Arcifa, 2007; Azevedo et al. 2012; Rodríguez-Zambrano & Aranguren-Riaño (com. pers.), seleccionando al azar 30 individuos de cada especie para medir su longitud (Mc Cauley, 1984). Las especies que no alcanzaron los 30 individuos fueron medidas conforme a su ocurrencia. La biomasa (µg/L) se calculó multiplicando la densidad (ind/L) por el peso individual (µg-peso seco).

La significancia de las diferencias de biomasa total y de cada grupo entre estaciones, profundidades y periodos se evaluó con los datos transformados con ln, mediante análisis de varianza ANOVA de una vía y de Kruskal y Wallis cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad de residuos y homogeneidad de varianzas. Cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicaron las pruebas de Tukey y de U de Mann Whitney para la comparación de las medias y las medianas, respectivamente. Inicialmente se realizaron ANOVAs de dos vías (fecha-estación, fecha-profundidad, profundidad-estación); sin embargo, las interacciones no fueron significativas. Los análisis se realizaron con el software R.x64 2.15.2 (R Development Core Team, 2008).

Para estimar la longitud del gradiente de la biomasa del zooplancton se empleó un Análisis de Correspondencia Sin Tendencia (Detrended Correspondence Analysis, **DCA**, por sus siglas en inglés) por segmentos (Hill & Gauch, 1980) con la biomasa de 23 especies. De acuerdo con los resultados de este análisis, se decidió realizar una ordenación de gradiente directo por Análisis de Redundancia (Redundancy Analysis, **RDA**, por sus siglas en inglés) como el método más robusto

para establecer las variables ambientales determinantes en los patrones de distribución de la biomasa de especies y se utilizó la prueba de Monte Carlo con 999 permutaciones para determinar la significancia de los 15 predictores analizados ($p < 0,05$) (Lepš & Šmilauer 2003). Todos los datos fueron transformados con $(\log(1Y + 1))$. Las ordenaciones se realizaron con el programa CANOCO versión 4.5 (Ter Braak & Šmilauer, 2002).

Mediante el paquete “candisc” para R se realizó un Análisis Discriminante Canónico Generalizado con la biomasa de las especies entre profundidades. Se calcularon las puntuaciones y los vectores canónicos para la representación gráfica de las funciones discriminantes canónicas más importantes en términos de varianza explicada, permitiendo así la interpretación más simple en el espacio canónico de diferenciación entre la biomasa de las especies y la matriz ambiental (Friendly, 2007).

Resultados

La biomasa total de zooplancton alcanzó un valor medio de 257,43 µg/L y varió ampliamente (CV = 141,13%), entre 1,12 µg/L en la subsuperficie de la estación 4 en diciembre 2011 y 2325,63 µg/L en el 10% *Io* de la estación 1 en marzo 2012. Mientras los cladóceros con el 78,09% (0,70-1812,37 µg/L) dominaron la biomasa, los copépodos alcanzaron el 15,41% (0,29-320,87 µg/L) y los rotíferos el 6,50% (0,13-266,17 µg/L) (Tabla 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/203/1012> y Figura 2).

Bosmina freyi (De Melo y Hebert, 1994) contribuyó en un alto porcentaje (60,57%) a la biomasa, *Daphnia gessneri* (Herbst, 1967) aportó el 10,79%, *Asplanchna girodi* (de Guerne, 1888) el 5,64%, *Arctodiaptomus dorsalis* (Marsh, 1907) el 5,33%, los copepoditos de Calanoida el 4,79%, *Chydorus sphaericus* (Müller, 1776) el 3,21%, los nauplios de Calanoida el 3,18% y *Diaphanosoma birgei* (Korinek, 1981) solo el 2,51%. Las demás especies contribuyeron con menos del 1% de la biomasa.

Independiente de la profundidad, los cladóceros dominaron la biomasa y los rotíferos presentaron el menor aporte (Tabla 1S y Figura 2). Adicionalmente, la relación entre cada uno de los grupos y la biomasa fitoplanctónica fue menor en la subsuperficie que en el 10 y 1% de *Io*, al igual que las relaciones biomasa de copépodos adultos: biomasa nauplios, y biomasa de cladóceros de gran porte (*D. gessneri*, *Daphnia ambigua* (Scourfield, 1947) y *Daphnia cf. pulex* (Leydig, 1860)): biomasa de cladóceros de pequeño porte (*B. freyi* y *C. sphaericus*) (Figura 3).

De acuerdo con las pruebas de Kruskal y Wallis y de U, la biomasa total mostró diferencias significativas entre estaciones. Mientras en la estación 1 (riberaña) la biomasa presentó el mayor valor, en las estaciones 4 y 5 (cercanas a la quebrada Ánimas) se cuantificaron los valores mínimos. El ANOVA y la prueba de Tukey mostraron diferencias

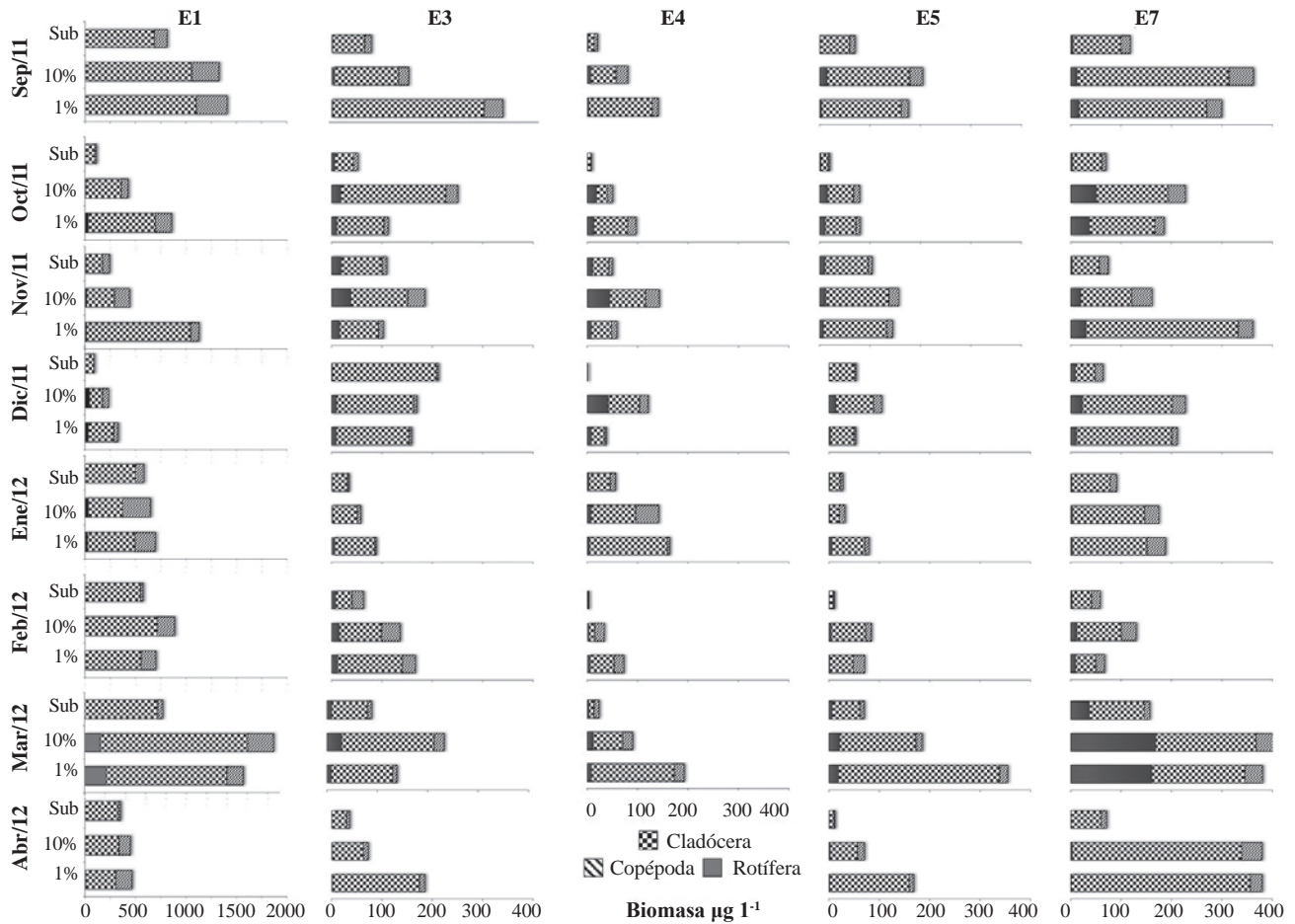


Figura 2. Biomasa del zooplancton en cinco estaciones y a tres profundidades en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia. Las profundidades del 10% y 1% corresponden al porcentaje de extinción de luz en la columna de agua. *Nótese el cambio de escala en la estación 1.

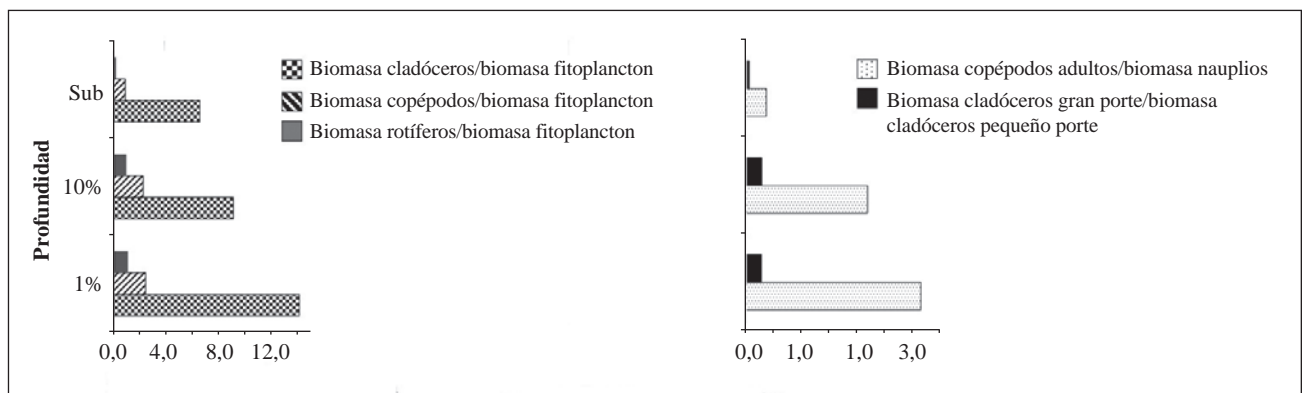


Figura 3. Relaciones entre los grupos de zooplancton y la biomasa fitoplanctónica, biomasa de copépodos adultos/nauplios y biomasa de cladóceros de gran porte/cladóceros de pequeño porte en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia.

de la biomasa a través del eje vertical de la zona fótica, debido a valores medios significativamente menores en la subsuperficie (144,90 $\mu\text{g/L}$) que en el 10% (298,92 $\mu\text{g/L}$) y en el 1% de I_0 (328,46 $\mu\text{g/L}$). Aunque el promedio de

la biomasa fue menor en diciembre 2011 (137,97 $\mu\text{g/L}$) y mayor en septiembre 2011 (373,34 $\mu\text{g/L}$) y marzo 2012 (485,45 $\mu\text{g/L}$), no se registraron diferencias significativas (Figura 4).

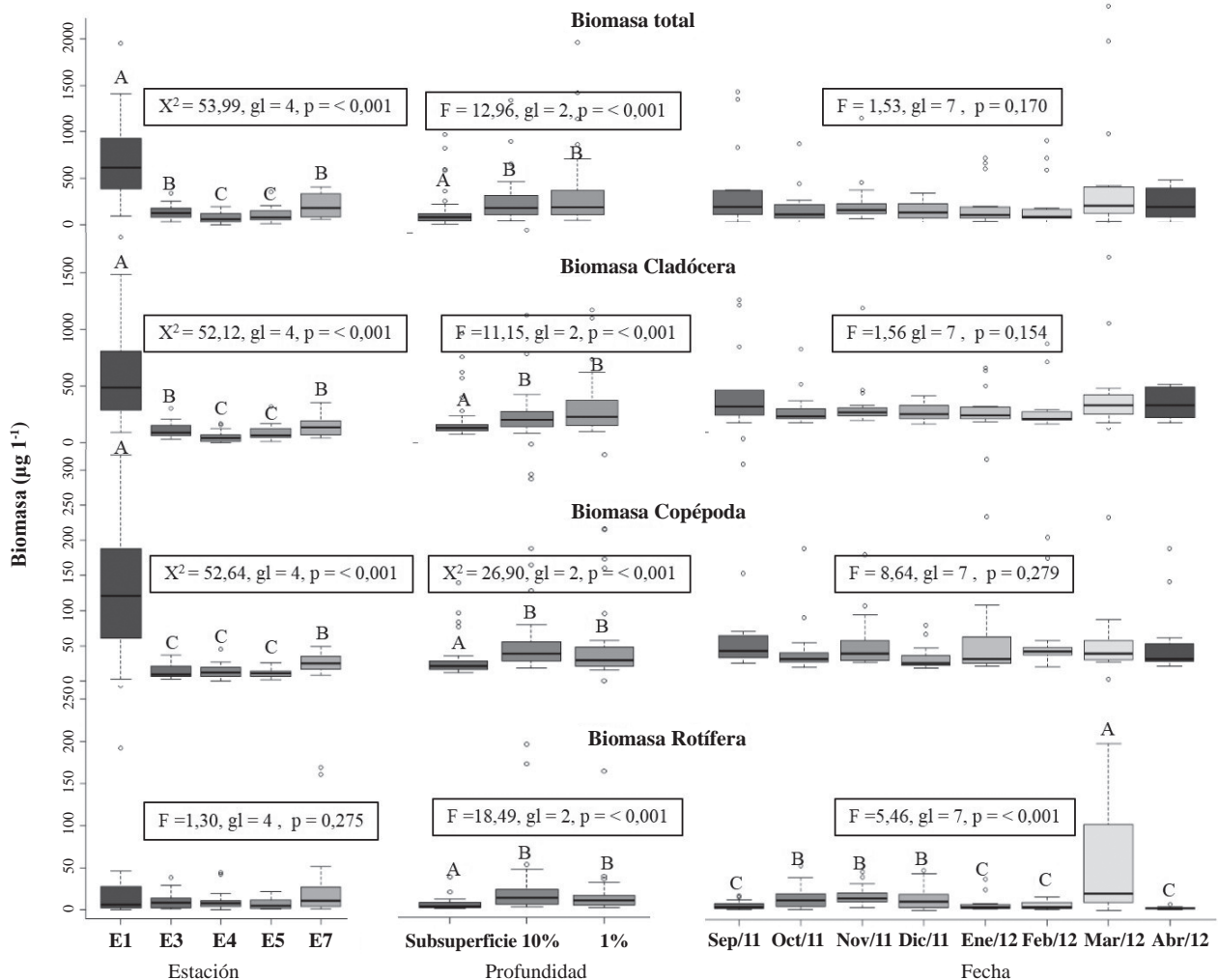


Figura 4. Diagramas de cajas de la biomasa del zooplankton ($\mu\text{g/L}$) en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia. A, B, C = resultados pruebas de Tukey y de U.

La biomasa de cladóceros mostró un patrón similar al de la biomasa total en el tiempo y en el espacio, debido a su notable dominancia durante todo el periodo de estudio y en consecuencia, mostró solo diferencias significativas entre estaciones y profundidades y no en el tiempo (Figura 4). Este patrón fue fundamentalmente el resultado del comportamiento de la biomasa de *B. freyi*, la especie dominante.

De acuerdo con las pruebas de Kruskal y Wallis y de U, la biomasa de los copépodos también presentó diferencias significativas entre estaciones. En las estaciones 1 y 7 (ribereñas) las biomazas de copépodos fueron muy superiores a las encontradas en las demás e incluso, los elevados valores en la estación 1 generaron diferencias significativas con la 7. Los resultados del análisis de Kruskal y Wallis mostraron diferencias significativas en la biomasa de los copépodos entre las profundidades y la prueba de U indicó que los menores promedios en la subsuperficie ($17,41 \mu\text{g/L}$) difieren de los promedios en el 10 % ($55,55 \mu\text{g/L}$) y en el 1% de *Io* ($46,03$). Aunque entre

muestreos la biomasa promedio fluctuó entre $14,47 \mu\text{g/L}$ en diciembre 2011 y $64,40 \mu\text{g/L}$ en septiembre 2011, la variación no fue significativa (Figura 4).

Aunque la biomasa de rotíferos tendió a ser mayor en las estaciones 1 y 7 (ribereñas), no se diferenció significativamente entre estaciones. Los resultados del ANOVA y de la prueba de Tukey indicaron diferencias significativas del promedio de la biomasa de rotíferos entre las tres profundidades en la zona fótica, debido a valores menores en la subsuperficie ($4,75 \mu\text{g/L}$) que en el 10% ($24,32 \mu\text{g/L}$) y en el 1% de *Io* ($21,26 \mu\text{g/L}$). Adicionalmente, el pico promedio de biomasa en marzo 2012 ($59,41 \mu\text{g/L}$), asociado al incremento de *A. girodi*, fue significativamente diferente de las biomazas de septiembre de 2011 y enero, febrero y abril de 2012 (Figura 4).

Los dos primeros ejes del Análisis de Correspondencia Sin Tendencia (DCA) presentaron autovalores de $\lambda = 0,18$ y $\lambda = 0,14$, respectivamente y explicaron 29,40% de la varianza. La

longitud del gradiente en el primer eje fue 2,23 D.E y en el segundo 2,20 D.E. De acuerdo con la prueba de Monte Carlo (499 interacciones), el Análisis de Redundancia Canónica (RDA) fue significativo para todos los ejes canónicos ($F = 5,78, p = 0,002, n = 117$).

De los 15 predictores analizados, el pH, el oxígeno disuelto, los caudales del río Grande y del río Chico y cuatro relacionados con los caudales vertidos y captados, fueron no significativos y presentaron inflación de la varianza (VIFs) > 20 (excepto el pH), por lo que fueron excluidos del análisis.

En el RDA, el primer ($\lambda = 0,11$) y segundo eje ($\lambda = 0,07$) explicaron un 17,10% de la varianza total de la biomasa de las especies de zooplancton y un 63,20% de la varianza total entre la biomasa de las especies y el ambiente. El coeficiente de determinación (r^2), tanto para el eje 1 (0,76) como para el eje 2 (0,82), mostró alta correlación entre el ambiente y la biomasa de especies, que estuvo explicada significativamente ($p < 0,05$) por la temperatura del agua, la conductividad eléctrica, los ortofosfatos, la precipitación, el IET, la transparencia y la clorofila *a* (Tabla 2).

El primer eje del RDA reveló que la distribución de la biomasa de las especies entre las zonas del embalse estuvo determinada principalmente por la transparencia, relacionada de forma negativa al eje, y por el índice de estado trófico (IET), los ortofosfatos y la clorofila *a*, relacionados de forma positiva. El eje 1 del gráfico bidimensional del RDA (Figura 5 a) muestra un gradiente de estado trófico, dentro del cual en el cuadrante positivo se ubican las especies que más aportan a la biomasa como *B. freyi*, *A. dorsalis*, los nauplios y copepoditos de Calanoida, *D. gessneri*, *C. sphaericus* y *D. birgei*, junto con los copepoditos de Cyclopoida, *Metacyclops leptopus* (Kiefer, 1927), *Trichocerca similis grandis* (Hauer, 1965), *T. similis similis* (Wierzejski, 1893) y *Daphnia cf. pulex* que se asociaron a la estación ribereña del río Chico (1), de condiciones eutróficas y mayor biomasa fitoplanctónica.

En la mitad del gradiente se encuentran los rotíferos *A. girodi*, *Ascomorphella volvocicola* (Plate, 1886), *Conochilus dossuarius* (Hudson, 1885), *Polyarthra remata* (Skorikov, 1896), *Ptygura libera* (Myers, 1934), el copépodo *Mesocyclops longisetus* (Thiébaud, 1912) y los nauplios de Cyclopoida, que se relacionaron con las estaciones de carácter mesotrófico, la estación ribereña del río Grande (7) y la zona media del río Chico (3). En el cuadrante negativo se ubican los rotíferos *Hexarthra intermedia* (Wiszniewski, 1929), *Filinia opoliensis* (Zacharias, 1898), *Collotheca trilobata* (Collins, 1872) y *Trichocerca cylindrica* (Imhof, 1981), de baja contribución a la biomasa, que se asociaron con las estaciones oligo-mesotróficas (4 y 5), de menor biomasa algal y transparencia máxima (Figura 5 a).

La precipitación no fue determinante en la dinámica temporal del estado trófico del embalse, pues sólo en septiembre 2011 se presentan condiciones eutróficas, mientras en los demás periodos fueron mesotróficas. Sin embargo, es el predictor

Tabla 2. Análisis de Redundancia (RDA) sobre la relación entre la biomasa de las especies del zooplancton y las variables ambientales y la clorofila *a* en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia.

| Ejes | 1 | 2 |
|---|-------|----------------|
| Autovalores | 0,11 | 0,07 |
| Correlaciones biomasa-ambiente | 0,76 | 0,82 |
| Varianza acumulada | | |
| Especies | 10,50 | 17,10 |
| Especie-ambiente | 38,90 | 63,20 |
| Puntaje especies | | |
| <i>Ascomorphella volvocicola</i> | 0,17 | -0,20 |
| <i>Asplanchna girodi</i> | 0,17 | -0,29 |
| <i>Collotheca trilobata</i> | -0,15 | -0,36 |
| <i>Conochilus dossuarius</i> | 0,16 | -0,53 |
| <i>Filinia opoliensis</i> | -0,18 | 0,00 |
| <i>Hexarthra intermedia</i> | -0,19 | 0,16 |
| <i>Polyarthra remata</i> | 0,07 | -0,22 |
| <i>Ptygura libera</i> | 0,03 | 0,19 |
| <i>Trichocerca cylindrica</i> | -0,12 | 0,43 |
| <i>Trichocerca similis grandis</i> | 0,32 | -0,23 |
| <i>Trichocerca similis similis</i> | 0,24 | -0,19 |
| <i>Bosmina freyi</i> | 0,64 | -0,03 |
| <i>Chydorus sphaericus</i> | 0,45 | 0,19 |
| <i>Daphnia gessneri</i> | 0,31 | -0,04 |
| <i>Daphnia pulex</i> | 0,25 | 0,19 |
| <i>Diaphanosoma birgei</i> | 0,26 | 0,39 |
| <i>Arctodiaptomus dorsalis</i> | 0,49 | 0,15 |
| <i>Mesocyclops longisetus</i> | 0,18 | 0,23 |
| <i>Metacyclops leptopus</i> | 0,34 | -0,13 |
| Copepodito Calanoida (Cope.Cala) | 0,58 | 0,04 |
| Copepodito Cyclopoida (Cope.Cyclo) | 0,36 | 0,36 |
| Nauplio Calanoida (Nau.Cala) | 0,67 | 0,14 |
| Nauplio Cyclopoida (Nau.Cyclo) | 0,11 | -0,17 |
| Variables ambientales | | Puntaje |
| Transparencia $F= 12,22; p= 0,002$ | -0,94 | 0,14 |
| Precipitación $F= 6,91; p= 0,002$ | 0,14 | -0,78 |
| Ortofosfatos $F= 7,20; p= 0,002$ | 0,65 | 0,43 |
| Temperatura del agua $F= 3,32; p= 0,002$ | 0,33 | 0,45 |
| Clorofila <i>a</i> $F= 3,13; p= 0,002$ | 0,61 | 0,00 |
| Conductividad eléctrica $F= 2,22; p= 0,028$ | 0,57 | 0,19 |
| Índice de estado trófico (IET) $F=1,87; p= 0,048$ | 0,86 | 0,23 |

más importante de la biomasa de especies en el segundo eje del RDA, al cual se asocia de forma negativa y el que se denominó “gradiente climático”. El aumento en la biomasa de la mayoría de las especies de rotíferos, en especial de *C.*

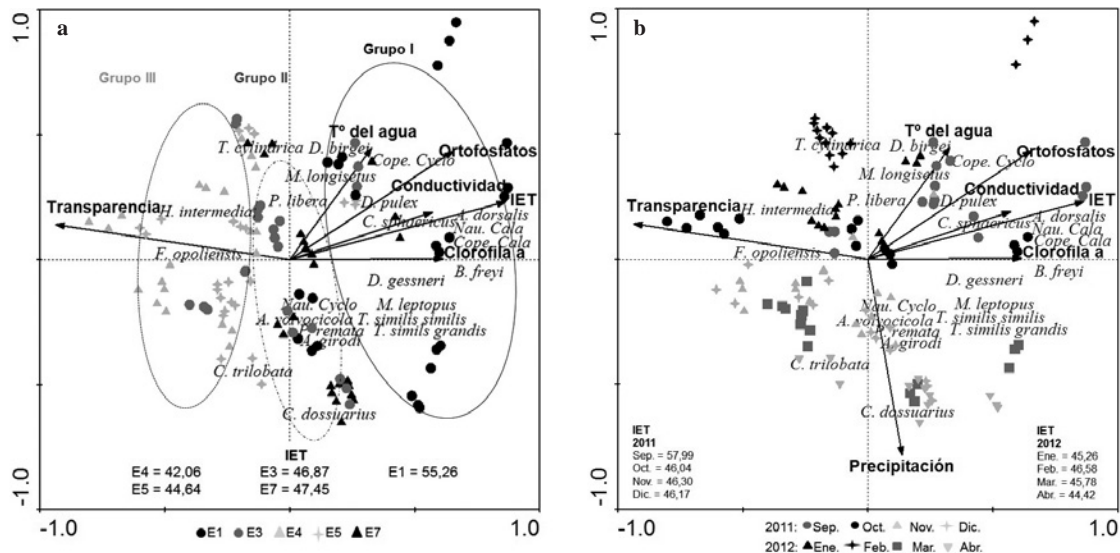


Figura 5. Diagrama bidimensional del análisis de redundancia (RDA) por estaciones de muestreo (a) y periodo climático (b), con la biomasa de las especies del zooplancton, las variables ambientales y la clorofila *a* en la zona fótica del embalse Riogrande II. IET = Índice de estado trófico.

dossuarius, *C. trilobata*, *A. girodi* y *P. remata*, del copépodo *M. leptopus* y los nauplios de Cyclopoida, se relacionó con el incremento de la lluvia, y la disminución de la temperatura y la transparencia en noviembre y diciembre 2011 y marzo 2012 (Figura 5 b).

En contraste con lo anterior, en los muestreos con menor precipitación (octubre 2011, enero y febrero 2012), las aguas más cálidas y la mayor transparencia favorecieron los rotíferos de poca contribución a la biomasa (*T. cylindrica*, *P. libera* y *H. intermedia*), los cladóceros *D. birgei* y *D. pulex*, el copepodo *Mesocyclops longisetus* y los copepoditos de Cyclopoida. Pocos cladóceros y copépodos fueron influenciados por los picos máximos y mínimos de la pluviosidad y la mayoría, incluyendo la especie dominante en biomasa, *B. freyi*, se asoció a valores mayores del estado trófico y de clorofila *a* en septiembre 2012 (Figura 5 b).

El análisis discriminante canónico agrupado por profundidades arrojó un porcentaje de clasificación de 88,03% y de validación cruzada de 66,67%. El primer eje explica el 81,13% de la variación, y el segundo el 18,87%. Aunque no hay una discriminación clara entre las profundidades, el análisis tiende a diferenciar la subsuperficie, donde la biomasa zooplanctónica es mínima, y sólo está asociada parcialmente la biomasa de los rotíferos *P. remata* y *P.libera*, favorecidos principalmente por la mayor temperatura de esta zona.

La biomasa de los demás taxones se asocia al 1 y al 10% de *Io*, donde hubo una mayor concentración de ortofosfatos. Dentro de estos, *F. opoliensis*, los nauplios de Cyclopoida, *A. girodi* y especies de gran porte como *D. gessneri*, *A. dorsalis*, *D. pulex* y *Metacyclops leptopus*, se relacionaron

principalmente con el 1% de *Io*. La clorofila *a* presentó una baja variabilidad entre profundidades y no se asoció a la biomasa de ninguna de las especies analizadas. El oxígeno disuelto tuvo alta disponibilidad a lo largo de la zona fótica (% saturación: mínimo = 78,94 %; máximo = 92,48%; CV = 8,41%), con una tendencia de mayor saturación en la subsuperficie y el 10% de *Io* (Tabla 3 y Figura 6).

Discusión

Los microcrustáceos, principalmente los cladóceros, dominaron la biomasa zooplanctónica del embalse Riogrande II, y en particular *B. freyi* aportó más del 60% de la biomasa total. *B. freyi* tolera un amplio rango de turbidez y posee una amplia plasticidad trófica, pues consume detritos, algas unicelulares, y bacterias entre 0,5-20 µm (Kerner, Ertl & Spitzzy, 2004). De acuerdo con Acharya, Kyle & Elser (2004) *Bosmina* puede diferenciar la calidad alimenticia de las partículas, lo que le confiere una ventaja particular cuando una alta turbidez mineral interfiere con el pastoreo de especies menos selectivas.

Por lo anterior, es esperable la ventaja competitiva y amplia tolerancia de *B. freyi* en un ambiente como Riogrande II, altamente turbio (Loaiza-Restano et al., 2011; Zabala, 2013), con una biomasa algal constituida por ítems poco apetecibles para la mayoría de especies zooplanctónicas como *Staurastrum* (Hansson & Tranvik, 1996; Palacio-Baena et al., 2013) y con alta presencia de cianobacterias coloniales como *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek in Joosen 2006: 209 y filamentosas como *Dolichospermum* sp. (Palacio, 2014). En un embalse eutrófico dominado por las cianobacterias *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska, 1912) y

Tabla 3. Coordenadas de las variables en el primer y segundo eje del Análisis Discriminante Canónico Generalizado para la biomasa de las especies, las variables ambientales y la clorofila *a*. Modelo de regresión lineal para las profundidades en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia.

| Taxón | Eje canónico 1 |
|------------------------------------|----------------|
| <i>Ascomorphella volvocicola</i> | -0,01 |
| <i>Asplanchna girodi</i> | 0,21 |
| <i>Collotheca trilobata</i> | 0,16 |
| <i>Conochilus dossuarius</i> | 0,00 |
| <i>Filinia opoliensis</i> | 0,38 |
| <i>Hexarthra intermedia</i> | 0,06 |
| <i>Polyarthra remata</i> | -0,12 |
| <i>Ptygura libera</i> | -0,12 |
| <i>Trichocerca cylindrica</i> | 0,12 |
| <i>Trichocerca similis grandis</i> | 0,13 |
| <i>Trichocerca similis similis</i> | 0,02 |
| <i>Bosmina freyi</i> | 0,16 |
| <i>Chydorus sphaericus</i> | 0,03 |
| <i>Daphnia gessneri</i> | 0,44 |
| <i>Daphnia pulex</i> | 0,22 |
| <i>Diaphanosoma birgei</i> | 0,11 |
| <i>Arctodiaptomus dorsalis</i> | 0,29 |
| <i>Mesocyclops longisetus</i> | 0,18 |
| <i>Metacyclops leptopus</i> | 0,21 |
| Copepodito Calanoida (Co.Cal) | 0,15 |
| Copepodito Cyclopoida (Co.Cyc) | 0,19 |
| Nauplio Calanoida (N.Cal) | 0,00 |
| Nauplio Cyclopoida (N.Cyc) | 0,28 |
| VARIABLES AMBIENTALES | |
| Temperatura del agua | -0,64 |
| Conductividad eléctrica | -0,30 |
| Ortofosfatos | 0,11 |
| Clorofila <i>a</i> | 0,02 |
| % saturación de oxígeno | -0,32 |

Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing 1846: 6, Bonecker et al., (2007) también encontraron que predominaban pequeños cladóceros en la biomasa del zooplancton.

Según estudios previos (Estrada-Posada, 2007; Zabala, 2013) y los valores del índice de estado trófico (Toledo et al., 1983), Riogrande II es un sistema predominantemente eutrófico, pero con un gradiente de estado trófico que evidencia la influencia espacial de los tres tributarios. Mientras el sector cercano al ingreso de la quebrada Ánimas presenta menor enriquecimiento, la zona ribereña del río

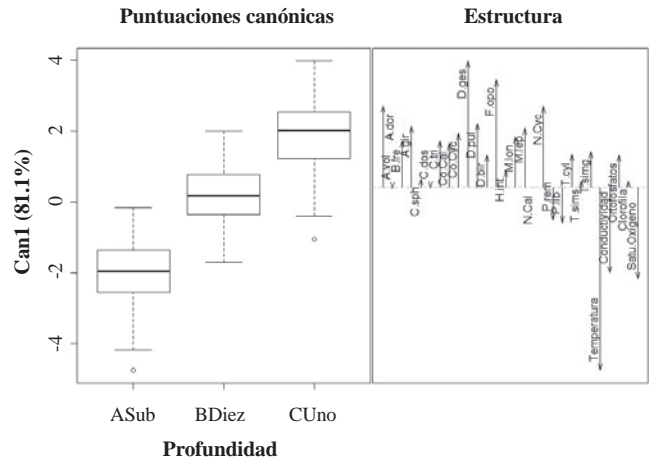


Figura 6. Primer eje canónico del Análisis Discriminante Canónico Generalizado para la biomasa de las especies, las variables ambientales y la clorofila *a*. Modelo de regresión lineal para las profundidades en la zona fótica del embalse Riogrande II.

Grande muestra condiciones intermedias de estado trófico. Por su parte, en la cola del río Chico se registran condiciones eutróficas, que van disminuyendo hacia la zona media.

El valor medio de biomasa zoopláctónica en Riogrande II (257,4 µg/L) fue similar al reportado por Hart (2011) en el embalse eutrófico subtropical de Hartbeespoort (292,6 µg/L) y ligeramente superior a los valores registrados por González, Matos, Peñaherrera & Merayo (2011) en el embalse eutrófico La Perezza en Venezuela (121,8 µg/L) y por Sendacz, Caleffi & Santos-Soares (2006) y Bonecker et al., (2007) en los reservorios de agua brasileros de Guarapiranga (218,8 µg/L) e Iraí (105,6 µg/L), respectivamente.

No obstante, tal como lo señalan Guevara et al., (2009) para un embalse eutrófico colombiano, la biomasa total del zooplancton varió ampliamente, con valores desde típicos de embalses oligotróficos en la estación 4, hasta similares a los registrados en embalses hipereutróficos en la estación 1 (González et al., 2011).

En especial para los microcrustáceos, varios autores han encontrado que el zooplancton de embalses tropicales es afectado por el proceso de eutroficación y que los mayores valores de biomasa se registran en los sitios y periodos con mayor concentración de nutrientes y biomasa fitoplanctónica (Pinto-Coelho, Pinel-Alloul, Méthot & Havens, 2005; Corgosinho & Pinto-Coelho, 2006; Sendacz et al., 2006; Bonecker et al., 2007). Estrada-Posada (2007) también halló una distribución heterogénea del zooplancton en relación con el gradiente de estado trófico en Riogrande II, con mayores densidades hacia la zona ribereña del río Chico (Estación 1). Sin embargo, al considerar la densidad y no la biomasa, los rotíferos dominaron en la zona más eutrófica y de mayor biomasa algal.

En Riogrande II, la biomasa de los microcrustáceos microfiltradores como los estadios larvales de copépodos, *B. freyi* (Kerner et al., 2004) y *C. sphaericus* -que también es raspador (Ventelä et al., 2002)-, de microcrustáceos macrofiltradores, como *D. gessneri*, *D. pulex*, *D. birgei* y *A. dorsalis* (Locascio de Mitrovich, Villagra de Gamundi, Juárez & Ceraolo, 2005), de microcrustáceos raptoriales como *M. leptopus leptopus* (Andrade, com. pers.), y de los rotíferos raptoriales *T. similis similis* y *T. similis grandis* (Paggi, 1995), estuvo relacionada con la estación de muestreo y las épocas más calidas, de mayor estado trófico y con mayor biomasa algal.

De acuerdo con Melão (1999), el aumento de la temperatura afecta directamente el metabolismo de los organismos, disminuye los tiempos de desarrollo e incrementa las tasas de crecimiento poblacional. En cuanto a la biomasa algal, Amarasinghe, Vijverberg & Boersma (1997) reportan que en numerosos lagos y embalses templados, subtropicales y tropicales, los microcrustáceos también exhiben una correlación positiva con esta. No obstante, la gama amplia de hábitos tróficos muestra que además de las algas, otros componentes como los detritos, las bacterias y el zooplancton pequeño pudieron favorecer la acumulación de biomasa de las especies (Corgosinho & Pinto, 2006), pues en estas condiciones no existe limitación de alimento para el zooplancton (González, Matsumura-Tundisi & Tundisi, 2008).

A diferencia de los microcrustáceos, la biomasa de los rotíferos se relacionó con las zonas de menor estado trófico y biomasa algal. Los hábitos tróficos de la mayoría de estas especies no están restringidos al consumo de algas, pues pueden ser detritívoros como *P. libera*, *C. dossuarius*, *H. intermedia* y *F. opoliensis* (Nogrady, Wallace & Snell, 1993), depredadores como *T. cylindrica* (Paggi, 1995) y *C. trilobata* (Meksuwan, Pholpunthin & Segers, 2013) y forrajeros óptimos como *A. girodi* (Giraldo, 2010).

En algunos sistemas se ha encontrado que los detritos pueden ser una forma importante de alimento para el zooplancton (Pinto Coelho et al., 2005) y en particular para los rotíferos cuando el fitoplancton se encuentra en menores concentraciones (Merayo & González, 2010), pues no solo las algas satisfacen todos sus requerimientos nutricionales (Marzolf, 1990).

En general, el zooplancton no respondió a las reglas de operación del embalse ni a los caudales y solo la biomasa de los rotíferos fue influenciada por las condiciones climáticas, tal como lo reportaron Reyes & Monroy (com. pers.) en el embalse de Betania. En Riogrande II las mayores biomásas de especies como *T. cylindrica*, *P. libera* y *H. intermedia* se registraron durante los periodos secos y de mayor temperatura del agua. En contraste, otras especies, como *C. dossuarius* y el rotífero de mayor aporte a la biomasa, *A. girodi*, tuvieron un pico máximo en periodos de alta

precipitación, baja transparencia y menor biomasa algal. En los embalses, los pulsos de origen natural provenientes de las precipitaciones afectan sustancialmente las condiciones físicas, químicas y biológicas (Roldán & Ramírez, 2008). De esta manera, es posible que además de la influencia directa de los ritmos de la precipitación sobre la actividad reproductiva de los organismos (Odum, 1971), exista una relación indirecta entre la precipitación y la biomasa de los rotíferos en Riogrande II. Esta relación puede estar ligada a la dinámica de condiciones como la estructura térmica, los patrones de circulación, el tiempo de retención y en especial la disponibilidad de recursos alimenticios como las bacterias, el detrito, los protozoarios y la materia orgánica provenientes del seston, cuya descarga se relaciona claramente con los pulsos de las precipitaciones (Calijuri, 1988).

En estudios previos, se encontró que la biomasa de *A. girodi* en Riogrande II se incrementó en la época de mayor pluviosidad, gracias probablemente a su capacidad de alimentarse de ítems muy abundantes durante esta época como las bacterias y el detrito (Villabona-González, Buitrago-Amariles, Ramírez-Restrepo & Palacio-Baena, 2014). La mayor disponibilidad de estos recursos también pudo favorecer la biomasa de *C. dossuarius*, ya que este rotífero puede alimentarse tanto de detritos (Nogrady, Wallace & Snell, 1993), como de bacterias (De Manuel, 2000).

Este estudio evidencia un gradiente heterogéneo en la expresión de biomasa del zooplancton a lo largo de tres estratos lumínicos dentro de la zona fótica, que es la zona donde investigaciones previas en el embalse (Estrada-Posada, 2007) y en otros embalses colombianos han reportado mayor concentración de esta comunidad en relación a la hallada en la zona afótica (Alvarez, 2002; Guevara et al., 2009). A diferencia de lo esperado y de lo hallado en otras investigaciones (Bini, Bonecker & Lansac-Tôha, 2001; Cassiano & Rodrigues, 2004; Villabona-González, Gavilán-Díaz & Estrada-Posada, 2007), la distribución vertical de la mayoría de especies de zooplancton no dependió de la disponibilidad de oxígeno y de alimento (biomasa algal), que tendió a ser homogénea entre las profundidades analizadas.

Sólo los rotíferos filtradores *P. remata* y *P. libera*, que también puede ser detritívoro (Nogrady et al., 1993; De Manuel, 2000), se favorecieron por la mayor temperatura en el estrato subsuperficial. Este estrato tendió a ser evitado por las demás especies de rotíferos y por todas las especies de microcrustáceos, por lo que la mayor acumulación de biomasa total y de los tres grupos se dio en los estratos más profundos de la zona fótica (10 y 1% de *Io*).

Wissel & Ramacharan (2003) sugieren que si los factores ambientales no son determinantes en la distribución vertical del zooplancton, la depredación por peces puede dirigir la selección de la profundidad por parte de las especies hacia capas más profundas o remover selectivamente a las especies de mayor tamaño en capas superficiales. Esta afirmación

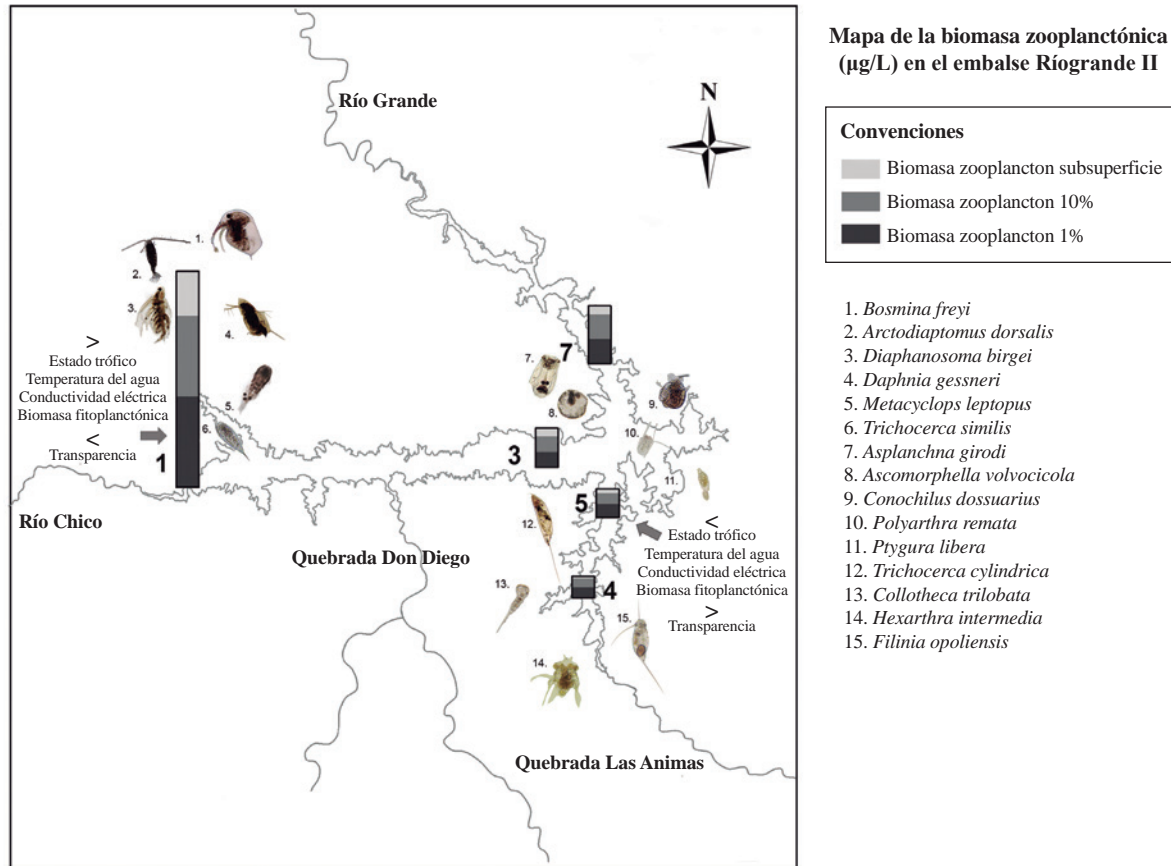


Figura 7. Mapa de la biomasa zooplanctónica (µg/L) en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia.

fue corroborada en este estudio por la asociación de la biomasa de las especies más grandes, *D. gessneri*, *D. pulex* y *A. dorsalis* con la zona más profunda (1% de *Io*) y por las menores relaciones biomasa de organismos de gran porte: biomasa de organismos de pequeño porte en la subsuperficie (Jeppesen, Lauridsen, Mitchell, Christoffersen & Burns, 2000). Además, la menor relación entre la biomasa de todos los grupos y la biomasa fitoplanctónica indicaría un fuerte control de depredación y menores tasas de pastoreo hacia el fitoplancton, como ha sido documentado por Jeppesen et al., (2004).

Conclusiones

Los resultados soportan parcialmente la primera hipótesis, al mostrar que la estructuración del zooplancton basada en biomasa presenta una distribución longitudinal y temporal heterogénea, que responde principalmente al gradiente de estado trófico y de concentración de biomasa algal y en menor medida de la pluviosidad. Aunque dicha estructuración no dependió de los hábitos tróficos de las especies, como se esperaba, debido posiblemente a la oferta trófica diversa del embalse (algas, detrito, bacterias, zooplancton) y a la plasticidad alimenticia de los rotíferos, sí fue diferente entre los grupos de zooplancton, microcrustáceos y rotíferos (Figura 7).

Se concluye que existe el gradiente vertical de la biomasa en la zona fótica postulado en la segunda hipótesis. Sin embargo, a diferencia de lo esperado y a pesar de que en este estudio no se evaluó directamente la depredación, se hipotetiza que este gradiente es consecuencia de una estrategia adoptada para evadir la presión de depredación y no una ubicación en función del oxígeno disuelto y la biomasa algal, pues a lo largo de esta zona, las especies encuentran un ambiente oxigenado y tienen acceso permanente al alimento fitoplanctónico.

Información suplementaria

Tabla 1S. Biomasa total (µg/L), de Rotifera (Rot), Cladocera (Cla) y Copepoda (Cop) en la zona fótica del embalse Riogrande II (Antioquia), Colombia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Empresas Públicas de Medellín y a los integrantes del programa “Estudio de la problemática ambiental de tres embalses de Empresas Públicas de Medellín para la gestión integral y adecuada del recurso hídrico”,

realizado conjuntamente entre los grupos de investigación de la Universidad de Antioquia: GAIA, GDECON y Productos naturales y el posgrado de recursos hidráulicos de la Universidad Nacional, Sede Medellín. A Santiago Gaviria (Viena, Austria), Daniel Monroy (Bogotá) y Patricia Pelayo (Medellín) por sus valiosos aportes al estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

(No se incluyen referencias de los autores taxonómicos)

- Acharya, K., Kyle, M. & Elser, J. J.** (2004). Effects of stoichiometric dietary mixing on *Daphnia* growth and reproduction. *Oecologia*, **138**: 333-340.
- Alvarez, J. P.** (2002). Estimación de la composición y abundancia del zooplancton durante la fase de llenado del embalse Amaní, Norcasia, (Caldas). (Trabajo de grado) (66 pp). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Amarasinghe, P. B., Vijverberg, J. & Boersma, M.** (1997). Production biology of copepods and cladocerans in three south-east Sri Lankan low-land reservoirs and its comparison to other tropical freshwater bodies. *Hydrobiologia*, **350**: 145-62.
- Azevedo, F., Dias, J., Magalhães, L. & Bonecker, C.** (2012). Length-weight regressions of the microcrustacean species from a tropical floodplain. *Acta Limnologica Brasiliensia*, **24** (1): 01 - 11.
- Bini, L. M., Bonecker, C. C. & Lansac-Tôha, F. A.** (2001). Vertical Distribution of rotifers on the Upper Paraná River Floodplain: the role of thermal stratification and chlorophyll-a. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **36** (3): 1241-1246
- Bird, D. F. & Praire, Y. T.** (1985). Practical guidelines for the use of zooplankton length-weight regression equations. *Journal of Plankton Research*, **7**: 955-960.
- Blettler, M. & Bonecker, C.** (2006). Avaliação da biomassa de microcrustáceos em ambientes aquáticos continentais. *Interciencia*, **31** (8): 591-597.
- Bonecker, C. C., Nagae, M. Y., Blettler, M. C., Machado, L. F. & Lansac-Tôha, F. A.** (2007). Zooplankton biomass in tropical reservoirs in southern Brazil. *Hydrobiologia*, **579** (1): 115-123.
- Bottrell, H. H., Duncan, A., Gliwicz, Z. M., Grygierek, E., Herzig, A., Hillbricht-Ilkowska, A., et al.** (1976). A review of some problems in zooplankton production studies. *Norwegian Journal Of Zoology*, **24** (24): 419-456.
- Calijuri, M. N. C.** (1988) Respostas fiseoecológicas da comunidade fitoplanctônica e fatores ecológicos em ecossistemas com diferentes estágios de eutrofização. (Tesis de grado). PPG-Hidráulica e saneamento, SHS, EESC, Universidad de São Paulo, Brasil. En: Roldán, P. G. & Ramírez, J. J. (2008). Fundamentos de limnología neotropical. Segunda edición. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia. 440 pp.
- Cassiano, E. & Rodrigues, E.** (2004). Vertical distribution of zooplankton in the wáter column of lago Amapá, Rio Branco, Acre, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, **21** (2): 169-177.
- Castilho-Noll, M. S. M. & Arcifa, M. S.** (2007). Length-weight relationships for zooplanktonic species of a tropical Brazilian lake: Lake Monte Alegre. *Acta Limnologica Brasiliensia*, **19** (1): 93-100.
- Corgosinho, P. H. C. & Pinto-Coelho, R. M.** (2006). Zooplankton biomass, abundance and allometric patterns along an eutrophic gradient at Furnas Reservoir (Minas Gerais, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia*, **182**: 213-224.
- De Manuel, J.** (2000). The rotifer of Spanish reservoirs: ecological, systematical and zoogeographical remarks. *Limnética*, **19**: 91-167.
- Dumont, H. J., Van De Velde, I., & Dumont, S.** (1975). The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia*, **19** (1): 75-97.
- Echaniz, S. A., Vignatti, A. M., Cabrera, G. C. & José de Paggi, S. B.** (2012). Zooplankton richness, abundance and biomass of two hypertrophic shallow lakes with different salinity in central Argentina. *Biota Neotropical*, **12** (2): 41-48.
- Estrada-Posada, A. L.** (1999). Variação espacial e temporal da comunidade zooplancônica do Reservatório “La Fé”, Antioquia, Colombia. (Tesis de maestría) (78 pp). Universidade de São Paulo. Sao Paulo, Brasil.
- Estrada-Posada, A. L.** (2007). Variación de la estructura y la distribución del zooplancton en función de los gradientes longitudinales en el embalse Riógrande II, Antioquia Colombia. (Tesis de doctorado) (94 pp). Instituto de biología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- Franco, J. D.** (2011). Modelación de la estructura térmica de un embalse ramificado mediante el análisis de los procesos físicos gobernantes. Aplicación al embalse multipropósito Riogrande II. (Tesis de maestría) (83 pp). Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
- Friendly, M.** (2007). HE plots for multivariate general linear models. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, **16**: 421 - 444.
- Gaviria, S.** (agosto, 1992). Situación de la limnología en Colombia y sus perspectivas. En: Troja, J. Memorias Primer Simposio de Limnología Hispanoamericana, Sevilla. Manuscrito sin publicar
- Giraldo, M.** (2010). Composición de la dieta del rotífero *Asplanchna girodi* (De Guerne, 1888) y su variación temporal y espacial en el embalse Riogrande II (Antioquia, Colombia). (Trabajo de grado) (80 pp). Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- González, E. J., Matsumura-Tundisi, T. & Tundisi, J. G.** (2008). Size and dry weight of main zooplankton species in Bariri reservoir (SP, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, **68**: 69-75.

- González, E., Matos, M., Peñaherrera, C. & Merayo, S.** (2011). Zooplankton abundance, biomass and trophic state in some Venezuelan reservoirs. En: Dr. Islam Atazadeh (Eds.). Biomass and Remote Sensing of Biomass, ISBN: 978-953-307-490-0, InTech. Recuperado de: <http://www.intechopen.com/books/biomass-and-remote-sensing-of-biomass/zooplankton-abundance-biomass-and-trophic-state-in-some-venezuelan-reservoirs>.
- Guevara, G., Lozano, L., Reinoso, G. & Villa, F.** (2009). Horizontal and seasonal patterns of tropical zooplankton from the eutrophic Prado Reservoir (Colombia). *Limnologia*, **39**: 128-139.
- Hansson, L. A. & Tranvik, L. J.** (1996). Quantification of invertebrate predation and herbivory in food chains of low complexity. *Oecologia*, **108**: 542 - 551.
- Hart, R. C. (2011). Zooplankton biomass to chlorophyll ratios in relation to trophic status within and between ten South African reservoirs: Causal inferences, and implications for biomanipulation. *Water SA*, **37** (4): 513-522.
- Herrera, Y.** (1993). Estudio del zooplancton del embalse de Betania, Huila. (Trabajo de grado) (61 pp). Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia).
- Hill, M. O., Gauch, H. G.** (1980). Detrended correspondence analysis, an improvised ordination technique. *Vegetation*, **42**: 47-58.
- Jeppesen, E., Lauridsen, T. L., Mitchell, S. F., Christoffersen, K. & Burns, C. W.** (2000). Trophic structure in the pelagial of 25 shallow New Zealand lakes: changes along nutrient and fish gradients. *Journal of Plankton Research*, **22** (5), 951-968.
- Jeppesen, E., Jensen, J. P., Søndergaard, M., Fenger-Grøn, M., Bramm, M. E., Sandby, K., et al.,** (2004). Impact of fish predation on cladoceran body weight distribution and zooplankton grazing in lakes during winter. *Freshwater Biology*, **49**: 432-447.
- Kerner, M., Ertl, S. & Spitz, A.** (2004). Trophic diversity within the planktonic food web of the Elbe Estuary determined on isolated individual species by ¹³C analysis. *Journal of Plankton Research*, **26** (9): 1039-1048.
- Lepš, J. & Šmilauer, P.** (2003). Multivariate analysis of ecological data using CANOCO. New York (U. S. A.): Cambridge University Press, 283 pp.
- Loaiza-Restano, A. M., Ramírez-Restrepo, J. J., Echenique, R. O., Vallejo, A. & Ortiz, L.** (2011). Dinámica espacio-temporal de cuatro especies de *Staurastrum* (Meyen, 1829, emend Ralfs 1848) en un embalse eutrófico colombiano. *Oecologia Australis*, **15** (3): 726-746.
- Locascio de Mitrovich, C., Villagra de Gamundi, A., Juárez, J. & Ceraolo, M.** (2005). Características limnológicas y zooplancton de cinco lagunas de la Puna – Argentina. *Ecología en Bolivia*, **40** (1): 1-14.
- Marzolf, G. R.** (1990). Reservoirs as environments for zooplankton. En: Thornton, K. W., Kimmel, B. L. & Payne, F. E. (eds.). Reservoir Limnology: Ecological perspectives. (pp. 195-208). Nueva York (U.S.A): Wiley.
- Matsumura-Tundisi, T., Rietzler, A. C. & Tundisi, J. G.** (1989). Biomass (dry weight and carbon content) of plankton Crustacea from Broa reservoir (São Carlos, SP, Brasil) and its fluctuations across one year. *Hydrobiologia*, **179** (3): 229-236.
- Mc Cauley, E.** (1984). The estimation of the abundance and biomass of zooplankton in samples, pp 228-261. En Downing, J. A. & Rigler, F. H. (eds.) A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Londres, Reino Unido: Blackwell.
- Meksuwan, P., Pholpunthin, P. & Segers, H.** (2013). The Collothecidae (Rotifera, Collothecacea) of Thailand, with the description of a new species and an illustrated key to the Southeast Asian fauna. *ZooKeys*, **315**: 1-16.
- Melão, M. G.** (1999). Desenvolvimento e aspectos reprodutivos de cladóceros e copépodos de águas continentais brasileiras. En: Pompêo, M. L. M. org (eds.). Perspectivas da Limnologia no Brasil. (pp 45 - 57). São Luís: Gráfica e Editora União.
- Merayo, S. & González, E.** (2010). Variaciones de abundancia y biomasa del zooplancton en un embalse tropical oligo-mesotrófico del norte de Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, **58** (2): 603-619.
- Monroy, D.** (2008). Expresión del zooplancton (excepto Protozoos) en función de las variables de un embalse tropical (La Esmeralda-Colombia). (Tesis de maestría) (74 pp). Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Bogotá, Colombia:
- Nogrady, T., Wallace, R. & Snell, T.** (eds.). (1993). Rotifera. Vol. 1: Biology, Ecology and Systematics. En: Dumont, H. (Coord. Ed.) Guides to the Identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishing, 298 pp.
- Odum, E.** (1971). Ecología. Tercera edición. Georgia: Editorial Interamericana, 639 pp.
- Pace, M. L. & Orcutt, J. D. Jr.** (1981). The relative importance of protozoans, rotifers and crustaceans in a freshwater zooplankton community. *Limnology and Oceanography*, **26** (5): 822-830.
- Paggi, J. C.** (1995). Crustacea Cladocera. En: Lopretto, E. & Tell, G. (eds.) Ecosistemas de aguas continentales: Metodología para su estudio. (pp. 909-951). La Plata, Argentina: Ediciones Sur.
- Palacio, H.** (2014). Dinámica espacio-temporal de las cianobacterias en el embalse Riogrande II. (Tesis de doctorado) (175 pp). Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia:
- Palacio-Baena, J., Herrera-Loaiza, N., López-Muñoz, M., Palacio-Betancourt, H. & Rodríguez, M.** (2013). Limnoecología de los embalses Riogrande II, La Fe y Porce II. En: Estudio de la problemática ambiental de tres embalses de empresas públicas de Medellín ESP para la gestión integral y adecuada del recurso hídrico. Medellín (Colombia): Universidad de Antioquia y Universidad Nacional sede Medellín. Informe técnico, embalse Riogrande II. pp. 444-528.

- Pinto-Coelho, R., Pinel-Alloul, B., Methot, G. & Havens, K. E.** (2005). Crustacean zooplankton in lakes and reservoirs of temperate and tropical regions: variation with trophic status. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **62**: 348-361.
- R Development Core Team.** (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL. Recuperado de <http://www.R-project.org>.
- Roldán, P. G. & Ramírez, J. J.** (2008). Fundamentos de limnología neotropical. Segunda edición. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia, 440 pp.
- Ruttner-Kolisko, A.** (1977). Suggestions for biomass calculations of plankton rotifers. *Archiv für Hydrobiologie Beiheft Ergebnisse der Limnologie*, **8**: 71-76.
- Sampaio, E., Rocha, O., Matsumura-Tundisi, T. & Tundisi, J.** (2002). Composition and abundance of zooplankton in the limnetic zone of seven reservoirs of the Paranapanema river. *Brazilian Journal of Biology*, **62**: 525-545.
- Santos, R.** (2009). Estrutura das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica, com ênfase na produção secundária do zooplankton, e fatores ambientais relacionados nos reservatórios do baixo Rio Tietê. (Tesis de doctorado) (68 pp). Programa de Posgraduación en ecología y recursos naturales, Universidad de San Carlos. São carlos, Brasil.
- Santos, F., Lansac-Toha, F. & Bonecker, C.** (2011). Estrutura das assembleias de cladóceros em reservatórios nos estados de São Paulo E Paraná: Gradientes espaciais e grau de trofia. *Oecologia Australis*, **15** (3): 494-510.
- Sendacz, S., Caleffi, S., Santos-Soares, J.** (2006). Zooplankton biomass of reservoirs in different trophic conditions in the State of Sao Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, **66**: 337-350.
- Simões, N. & Sonoda, S.** (2009). Estrutura da assembleia de microcrustáceos (Cladocera e Copepoda) em um reservatório do semi-árido Neotropical, Barragem de Pedra, Estado da Bahia, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, **31** (1): 89-95.
- Ter Braak, C. & Šmilauer, P.** (2002). CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user guide software for canonical community ordination versión 4.5.
- Toledo, A. P., Talarico, M., Chinez, S. J. & Agudo, E. G.** (1983). A aplicação de modelos simplificados para a avaliação de procesos de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. XIX Congreso interamericano de Engenharia e ambiental. Camboriú, Brasil.
- Toro, M., Moreno, A., Chalarca, D. & Grajales, H.** (2013). Dinámica ambiental de los nutrientes (especies químicas del nitrógeno, fósforo y sílice) en los embalses La Fe, Riogrande II y Porce II a través de modelos conceptuales y matemáticos, como herramienta de gestión de la calidad de agua en los tres sistemas, pp 242-297. En: Palacio J. (eds.), Informe técnico embalse Riogrande II “Estudio de la problemática ambiental de tres embalses de Empresas Públicas de Medellín para la gestión integral y adecuada del recurso hídrico.” Universidad de Antioquia, Universidad Nacional sede Medellín, Empresas Públicas de Medellín. Medellín.
- Tundisi, J. & Matsumura-Tundisi, T.** (2008). Limnología. São Paulo (Brasil): Oficina de Textos, 631 pp.
- Ventelä, A. E., Wiackowski, K., Moilanen, M., Saarikari, V., Vourio, K. & Sarvala, J.** (2002). The effect of small zooplankton on the microbial loop and edible algae during a cyanobacterial bloom. *Freshwater Biology*, **47**: 1807-1819.
- Villabona-González, S., Gavilán-Díaz, R. & Estrada-Posada, A.** (2007). Cambios nictemerales en la distribución vertical de algunos microcrustáceos en un lago artificial del neotrópico (Colombia). *Limnética*, **26** (1): 75-88.
- Villabona-González, S., Buitrago-Amariles, R., Ramírez-Restrepo, J.J. & Palacio-Baena, J. A.** (2014). Biomasa de rotíferos en dos embalses con diferentes estados tróficos (Antioquia, Colombia) y su relación con algunas variables limnológicas. *Actualidades Biológicas*, **36** (101): 149-162.
- Wissel, B. & Ramacharan, C.** (2003). Plasticity of vertical distribution of crustacean zooplankton in lakes with varying levels of water colour. *Journal of Plankton Research*, **25** (9): 1047-1057.
- Zabala, A. M.** (2013). Evaluación del estado trófico del embalse Riogrande II (Antioquia, Colombia) a través del comportamiento espacial y temporal de los nutrientes. (Trabajo de grado) (108 pp). Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Una nueva especie de *Puya* (Bromeliaceae) de los páramos cercanos a Bogotá, Colombia

Santiago Madrián

Laboratorio de Botánica y Sistemática, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Resumen

Se describe una nueva especie de *Puya* de los páramos cercanos a Bogotá, Colombia. *Puya loca* difiere de todas las especies conocidas del género *Puya* por el envés de sus brácteas y sépalos ferrugíneo-tomentosos y pétalos de color púrpura intenso. Esta nueva especie forma masas densas de rosetas en acantilados rocosos. Hasta el momento es endémica de pequeños parches aislados de páramos al noreste de Bogotá, en el complejo de páramos de Chingaza. La nueva especie se compara con otras que tienen flores de color similar y crecen en los alrededores de Bogotá y en otras áreas.

Palabras clave: Bromeliaceae, complejo Chingaza, cerro Tunjaque, páramos, *Puya loca*.

A new species of *Puya* (Bromeliaceae) from the páramos near Bogotá, Colombia

Abstract

A new species of *Puya* from the páramos in the vicinity of Bogotá, Colombia, is described. *Puya loca* differs from all known species of the genus *Puya* by its ferrugineo-tomentose bracts and sepals abaxially, and deep-purple colored petals. It is, until now, endemic to small isolated patches of páramos North-East of Bogotá, in the Chingaza Páramo Complex. It forms dense mats of rosettes on rocky cliffs. The new species is compared to other known species from the surroundings of Bogotá, as well as to species with similar colored flowers from other regions.

Key words: Bromeliaceae, Chingaza Complex, Cerro Tunjaque, Páramos, *Puya loca*.

Introducción

El género *Puya* Molina (Bromeliaceae) comprende especies de plantas terrestres arrossetadas acaules (raramente caulescentes), con inflorescencias terminales, monocaules y hapaxánticas, o ramificadas basitónicamente que forman simpódios pluricaules pleonánticos, y flores vistosas (Smith & Downs, 1974). Sus hojas provistas de espinas a lo largo de las márgenes sugieren el nombre común de “puya” que estas plantas reciben en Hispanoamérica y que fue tomado por el abate chileno Juan Ignacio Molina (1740–1829) para describir *Puya chilensis* Molina (Molina, 1782).

En su revisión más reciente del género, Lyman B. Smith y Robert J. Downs (1974) describen 168 especies y seis variedades. Desde esta revisión, entre los años 1976 y 2013, dos especies preexistentes se han considerado híbridos naturales y 52 especies y cuatro taxones infraespecíficos se han descrito como nuevos, para un total de 222 especies (incluidos tres híbridos naturales) y diez taxones infraespecíficos aceptados (*sensu* Butcher & Gouda, 2015). En la *Encyclopedia of Bromeliads* y demás páginas de internet administradas por Eric J. Gouda (2015), se sugieren varias especies nuevas, lo que ratifica la acusada tendencia al aumento de su número (Figura 1). Lyman

B. Smith y Robert J. Downs (1974) subdividieron el género en dos subgéneros de acuerdo a la composición de sus inflorescencias: el subgénero *Puya*, con las ramas de sus inflorescencias estériles en su parte apical (solo nueve especies), y *Puyopsis*, con las ramas fértiles a todo lo largo del eje.

La mayoría de las especies del género son endémicas de la cordillera de los Andes, con unas pocas especies presentes en las montañas del Escudo Guayanés, y solo dos especies presentes en Costa Rica, la endémica *Puya dasyliroides* Standl., y *Puya floccosa* (Linden) E.Morren ex Mez de amplia distribución compartida entre los Andes de Colombia (La Macarena), Venezuela, y la Cordillera de la Costa y el Escudo Guayanés venezolano (Smith & Downs, 1974). Los países con mayor número de especies reportadas son Perú y Bolivia, con 75 y 52, respectivamente. En Colombia se han registrado 37 especies, de las cuales 26, así como tres variedades, son endémicas (Betancur & Callejas, 1997; Betancur, 2015; Gouda, *et al.*, 2015; Tabla 1).

Correspondencia:

Santiago Madrián, samadrin@uniandes.edu.co

Recibido: 26 de abril de 2015

Aceptado: 23 de junio de 2015

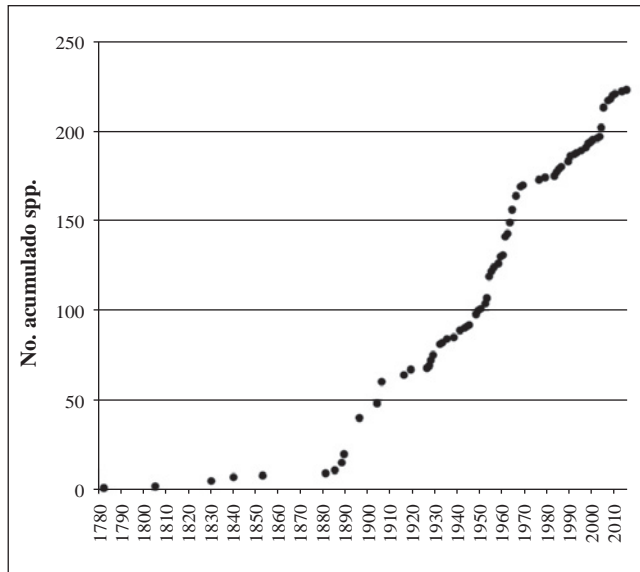


Figura 1. Acumulación de especies aceptadas de *Puya* desde que fue nombrada la primera especie en 1782 hasta 2015.

En estudios moleculares recientes de esta familia llevados a cabo por **Givnish, et al.** (2007), y los adelantados por **Jabaily & Sytsma** (2010, 2012) en la especie *Puya*, los autores sustentan parcialmente la subdivisión genérica pro-puesta por **Smith & Downs** (1974); en ellos se reconocen dos “grupos” (grados) parafiléticos: el primero, de divergencia temprana, incluye la mayoría de las especies del subgénero *Puya*; en el segundo se puede evidenciar un grado para-filético “basal” y un grupo monofilético en el cual se encuentran las especies tropicales de alta montaña de los Andes del Norte.

La mayoría de las especies de *Puya* confinadas a los Andes del Norte se encuentra en los páramos y constituye un grupo monofilético. El autor y los colaboradores dataron el origen del género *Puya* a 9,10 Ma y el clado norandino en particular, a 0,26–0,80–1,58 Ma; dado el número de especies pertenecientes a este clado (46), se estableció una tasa de diversificación extremadamente alta ($r = 12,06-3,92-1,98$), muy superior a cualquier tasa de diversificación conocida (**Madriñán, et al.**, 2013).

Tabla 1. Especies de *Puya* presentes en Colombia y datos de su distribución. Adaptado de **Gouda et al.** (2015) y **Betancur** (2015). El color de los pétalos proviene de diversas fuentes y es aproximado.

| Especie | Elevación (m.s.n.m) | Endémica en Colombia | Departamentos | Otros países | Color de pétalos |
|---|---------------------|----------------------|--|--------------------------------|----------------------------------|
| <i>Puya alpicola</i> L.B.Sm. | 3.140–3.900 | | Magdalena (Sierra Nevada de Santa Marta) | | |
| <i>P. antioquiensis</i> L.B.Sm. & Read | 2.980–3.680 | X | Antioquia | | |
| <i>P. aristeguietae</i> L.B. Sm.* | 2.700–3.550 | | Arauca, Arauca | Venezuela | Verde pálido |
| <i>P. barkleyana</i> L.B.Sm. | 2.800–3.693 | X | Boyacá, Santander | | |
| <i>P. bicolor</i> Mez | 2.423–3.500 | X | Boyacá, Cundinamarca, Norte de Santander | | Verde lila, azul |
| <i>P. boyacana</i> Cuatrec. | 3.300–3.400 | X | Boyacá | | Verde azul |
| <i>P. brachystachya</i> (Baker) Mez | 2.880 | X | Magdalena (Sierra Nevada de Santa Marta) | | Crema, verde pálido |
| <i>P. clava-herculis</i> Mez & Sodiro | 3.200–3.800 | | Cundinamarca, Nariño | Ecuador | Azul verde |
| <i>P. cleefii</i> L.B.Sm. & Read | 3.700 | X | Boyacá | | Verde pálido |
| <i>P. cryptantha</i> Cuatrec. | 3.100–3.950 | X | Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Nariño, Norte de Santander | | Verde, azul pálido |
| <i>P. cuatrecasii</i> L.B.Sm. | 2.800–4.300 | X | Cauca, Nariño, Tolima, Valle | | Blanco cremoso |
| <i>P. dichroa</i> L.B.Sm. & Read | 3.750 | X | Boyacá | | Azul oscuro |
| <i>P. exuta</i> L.B.Sm. & Read | 1.990–2.970 | X | Boyacá, Santander | | |
| <i>P. floccosa</i> (Linden) E.Morren ex Mez | 211–2.500 | | Boyacá, Caquetá, Cauca, Cundinamarca, Guaviare, Huila, Meta, Norte de Santander, Santander, Tolima | Costa Rica Venezuela Brasil | Azul con verde, estambres azules |
| <i>P. furfuracea</i> (Willd.) L.B.Sm. | 2.390–3.200 | X | Cauca, Nariño | | |
| <i>P. gargantae</i> L.B.Sm. | 3.100–3.700 | X | Norte de Santander | | |
| <i>P. gigas</i> André | 3.000–3.300 | X | Nariño | | |
| <i>P. goudotiana</i> Mez | 2.760–3.550 | X | Boyacá, Cundinamarca, Norte de Santander, Santander | | Verde azulado |

| Especie | Elevación (m.s.n.m) | Endémica en Colombia | Departamentos | Otros países | Color de pétalos |
|--|---------------------|----------------------|--|---------------|------------------------------------|
| <i>P. grantii</i> L.B.Sm. | 2.531–3.650 | X | Boyacá, Cesar | | |
| <i>P. grubbii</i> L.B.Sm. | 2.050–2.200 | X | Boyacá | | Verde grisáceo |
| <i>P. hamata</i> L.B.Sm. | 2.500–3.750 | | Cauca, Nariño, Putumayo, Tolima, Valle | Ecuador, Perú | Azul oscuro |
| <i>P. horrida</i> L.B.Sm. & Read | 3.450 | X | Cundinamarca | | |
| <i>P. killipii</i> Cuatrec. | 3.000–3.600 | | Norte de Santander, Santander | Venezuela | Azul |
| <i>P. lehmanniana</i> L.B.Sm. | 1.800–3.200 | | Cauca, Nariño | Ecuador | Azul oliváceo |
| <i>P. lineata</i> Mez | 2.700–3.700 | X | Cundinamarca | | Azul |
| <i>P. loca Madriñán sp. nov.</i> | 3.200–3.550 | X | Cundinamarca | | Púrpura intenso |
| <i>P. nitida</i> Mez | 2.700–3.700 | X | Boyacá, Cundinamarca, Santander | | Verde claro con lila |
| <i>P. nitida</i> var. <i>glabrior</i> L.B.Sm. & Read | 3.300 | X | Boyacá | | |
| <i>P. nivalis</i> Baker | 3.250 | X | Magdalena (Sierra Nevada de Santa Marta) | | Crema, verde pálido |
| <i>P. occidentalis</i> L.B.Sm. | 3.300–3.700 | X | Valle | | |
| <i>P. ochroleuca</i> Betancur & Callejas | 2.850–3.900 | X | Antioquia, Caldas, Quindío, Tolima | | Amarillo pálido |
| <i>P. roldanii</i> Betancur & Callejas | 2.700–3.240 | X | Antioquia | | Verde azul |
| <i>P. sanctae-martae</i> L.B.Sm. | 2.600–3.200 | X | Magdalena, La Guajira (Sierra Nevada de Santa Marta y Serranía del Perijá) | | |
| <i>P. santanderensis</i> Cuatrec. | 2.850–3.500 | X | Norte de Santander | | Blanco con tinte verde amarillento |
| <i>P. santosii</i> Cuatrec. | 2.800–4.285 | X | Arauca, Boyacá, Cundinamarca, Meta | | Azul verdoso |
| <i>P. santosii</i> var. <i>verdensis</i> Cuatrec. | 3.100–3.700 | X | Cundinamarca | | |
| <i>P. thomasiana</i> André | 2.450–2.590 | | Nariño | Ecuador | Azul verdoso |
| <i>P. trianae</i> Baker | 3.000–4.100 | | Antioquia, Arauca, Boyacá, Cundinamarca, Quindío, Santander, Tolima, Valle | Venezuela | Crema, verde pálido |
| <i>P. trianae</i> var. <i>amplior</i> L.B.Sm. & Read | 4.000 | X | Boyacá | | |
| <i>P. venezuelana</i> L.B.Sm. | 3.255–3.960 | | Arauca, Cesar, Norte de Santander | Venezuela | Amarillo verdoso |
| <i>P. vestita</i> André | 3.200–3.400 | | Nariño, Putumayo | Ecuador | Verde pálido |

*Nota: Espécimen recolectado por A.M. Cleef (10026) en 1973 en el Parque Nacional Natural El Cocuy, determinado por L. B. Smith, 1975.

Los estudios moleculares de las especies chilenas hechos mediante la técnica de polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados (*Amplified Fragment Length Polymorphism*, AFLP) (Jabaily & Sytsma, 2010; Schulte, et al., 2010), agrupan a algunas de las especies estudiadas según el color de sus pétalos, estableciendo un clado de *Puya* con flores amarillas y otro con flores azules y evidenciando eventos de hibridación e introgresión entre ellos. Quizás uno de los caracteres más sobresalientes en la identificación de especies de *Puya* es el color de los pétalos, los cuales se presentan en fuertes tonos de blanco, amarillo, verde, azul o lila a púrpura y en tonos intermedios. Comúnmente, el color de los pétalos contrasta con el color de los sépalos. Estos colores y contrastes sugieren un síndrome de polinización ornitofílico, en tanto que la disposición de las flores en inflorescencias sobresalientes, con las flores expuestas sin

estructuras de percha y presencia de néctar copioso, son típicas de una polinización mediada por colibríes, como se ha observado frecuentemente. En un estudio reciente sobre polinizadores de especies de *Puya* en Chile se estableció una correlación entre la ausencia de flores apicales en las ramas secundarias (subgénero *Puyopsis*), los pequeños volúmenes con alta concentración de néctar y la polinización por colibríes (Hornung-Leoni, et al., 2013). Por otro lado, dicho estudio relacionó especies de *Puya*, subgénero *Puya*, con los ápices estériles de las ramas de la inflorescencia que forman una percha, y la baja concentración y altos volúmenes de néctar con la polinización por *Passerina* generalistas.

Las inflorescencias inmaduras y los primordios foliares de las especies de *Puya* son el alimento predilecto del oso de anteojos (*Tremarctos ornatus*) en la puna (Rivadeneira-Canedo, 2008) y los páramos (DeMay, et al., 2014). En este

último estudio se sugiere que la topografía puede ser un factor que influye en la intensidad del forrajeo por parte de los osos, por lo que aquellas plantas localizadas en pendientes estarían sujetas a un menor grado de herbivoría. Es muy probable que la presencia de espinas en las hojas de las especies de *Puya* constituya una defensa de las inflorescencias inmaduras ante el forrajeo de los osos de anteojos y otros herbívoros y omnívoros andinos. **David J. Mabberley** (1987) menciona que en Chile las puyas son erradicadas, pues pueden atrapar ovejas o aves en sus rosetas (por efecto de sus espinas orientadas hacia el interior de la roseta), lo cual puede constituir una fuente y una forma de absorber nutrientes por vía foliar.

Materiales y métodos

En el marco del proyecto de determinación de la interfaz entre bosque y páramo de los complejos de páramos de Colombia liderado por el Instituto Alexander von Humboldt, durante los meses de octubre a diciembre del 2014 un grupo de trabajo encabezado por el autor estudió la composición de la edafofauna, la herpetofauna, la ornitofauna y la vegetación a lo largo de cinco transectos en el complejo de páramos de Chingaza en cercanías de Bogotá. Uno de estos transectos se ubicó en el cerro Tunjaque ($04^{\circ} 38' 21,49''$ N, $73^{\circ} 55' 53,76''$ O), suroriente del municipio de La Calera, Cundinamarca, a 13 km de distancia horizontal hacia el oriente de la ciudad de Bogotá. Este cerro es un macizo aislado de otras masas montañosas de altura por valles profundos y laderas escarpadas, y forma una isla de páramo de aproximadamente 2 km² ubicada a una distancia horizontal de aproximadamente 10 km en los cuatro puntos cardinales con relación a los páramos más cercanos. Su altura máxima es de 3.550 m.s.n.m. (Figuras 2 y 3). El cerro Tunjaque se encuentra protegido por estar en la reserva privada Tierraleja, propiedad del Sr. Antonio Piñeros.

En la parte más alta del cerro, en un acantilado rocoso, se encontró una población de una especie de *Puya*, la cual se considera aquí como una especie nueva por sus rosetas cespitosas pequeñas, sus flores grandes, el color de sus brácteas y sépalos ferrugíneo-tomontosos y en particular por sus pétalos de color púrpura intenso. A unos 300 m cuesta abajo, en las paredes rocosas de una cascada, se encontró una segunda población aislada. Durante las exploraciones en el páramo aledaño de Buenos Aires (Cerro Verde, $04^{\circ} 43' 42,22''$ N, $73^{\circ} 53' 23,54''$ O, 3.500 m.s.n.m.) por la vía hacia Piedras Gordas en el Parque Nacional Chingaza, se encontró otra población aislada con unos pocos individuos y la presencia de algunos otros de *Puya nitida* Mez con los pétalos de color rosado, los cuales sugieren un posible híbrido natural entre esta última y la nueva especie aquí descrita.

Se realizaron experimentos de germinación de semillas de la especie nueva y su híbrido putativo mediante el aislamiento de semillas, esterilización en solución de hipoclorito al 10 % durante 10 minutos y siembra en platos de Petri con algodón humedecido.



Figura 2. Imagen satelital del área de distribución de la especie *Puya loca*. Los marcadores verdes indican las localidades donde se han encontrado poblaciones de la especie y los amarillos, páramos grandes circundantes. El área resaltada en verde corresponde al Parque Natural Nacional Chingaza. Imagen de GoogleEarth.

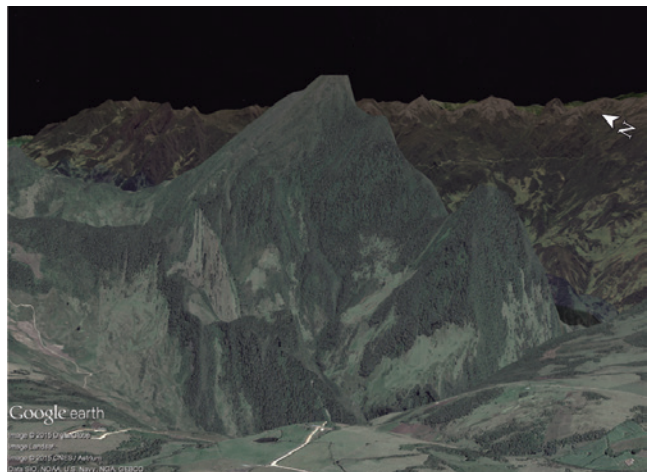


Figura 3. Vista digital sobrepuesta en una imagen satelital del cerro Tunjaque desde el páramo de Cruz Verde hacia el nororiente, en la cual se evidencia su carácter aislado, rodeado de valles profundos. Imagen de GoogleEarth.

La descripción de la especie se basa en el espécimen tipo y en las observaciones en campo de especímenes vivos de la población tipo. Los caracteres y su orden en la descripción siguen las sugerencias de **Eric J. Gouda** para la familia Bromeliaceae (1998; **Scharf & Gouda**, 2008).

Taxonomía

Puya loca Madriñán *sp. nov.* (Figuras 4 y 5)

Tipo: COLOMBIA. Cundinamarca: Municipio La Calera, cerro Tunjaque, reserva Tierraleja, $04^{\circ} 38' 21,49''$ N, $73^{\circ} 55' 53,76''$ O, 3.550 m, 30 noviembre de 2014, S. Madriñán & A. Piñeros 2910 (holotipo: ANDES; isotipo: COL).



Figura 4. Fotografías de *Puya loca* en su localidad típica, el cerro Tunjaque. **A–D.** hábita y hábito. **E.** inflorescencia. **F.** infrutescencia. Fotografías de S. Madriñán.

Diagnosis: *Puya loca* difiere de todas las demás especies conocidas de *Puya* por sus rosetas cespitosas pequeñas que forman masas densas de hasta 3 m de diámetro, inflorescencias tres veces más largas que la roseta, brácteas y sépalos ferrugíneo-tomentosos y flores de pétalos grandes de color púrpura intenso.

Planta acaule, simpodial, cespitosa, que forma conjuntos densos de rosetas, de 25 a 40 cm de alto, densas, polísticas con cerca de 30 hojas maduras, verde lustrosas, con inflorescencia tres veces más larga que la roseta. **Hojas** coriáceas, de cerca de 30 cm de largo, mucho más cortas que las inflorescencias; **vainas** carnosas, glabras, discoloras con la lámina, blancas, deltoides, no pecioladas, no infladas,

de 3 a 4 cm de largo, 4 a 5 cm de ancho, de margen entera, membranácea; **láminas** homomórficas, arqueadas, rígidas, coriáceas, acanaladas, lanceoladas, de 25 a 30 cm de largo, 4 a 5 cm de ancho en la base, aserradas, espinas distanciadas 10 a 15 mm, hialinas incoloras, antrorsas, de 2,4 a 3,0 mm de largo, delgadas; láminas atenuadas hacia el ápice, ápice agudo, discoloras, verde brillantes y glabras por el haz, verde opacas y densamente lepidotas por el envés, con escamas densas, minúsculas, grisáceas. **Inflorescencia** terminal, simple, espigada, densa, porción fértil de 25 a 30 cm de largo, 15 a 18 cm de ancho, subcilíndrica, longitud total de la inflorescencia de 70 a 85 cm, ferrugíneo-tomentosa; **pedúnculos** elongados, erectos a levemente curvos, de 45 a 55 cm de largo, 3 a 4 cm de diámetro,

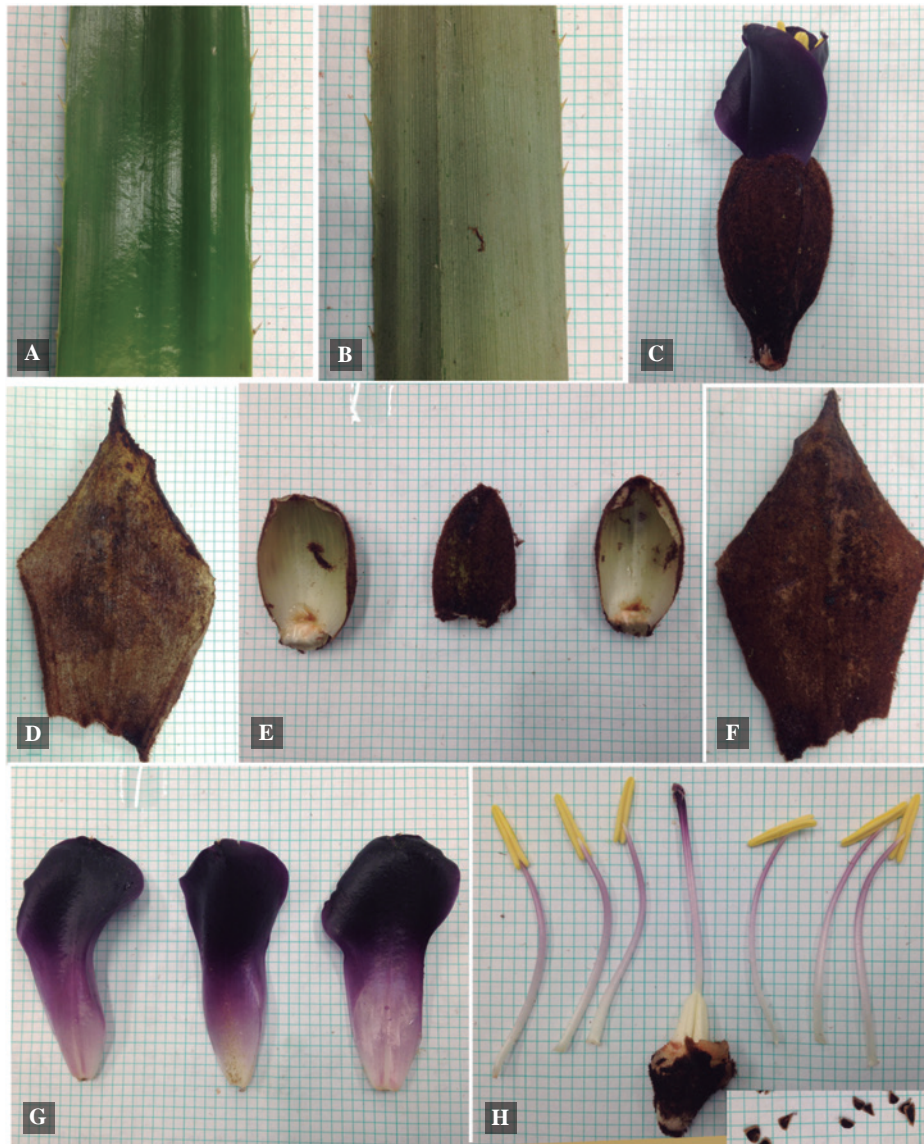


Figura 5. Detalles de las hojas y disección floral de *Puya loca*. **A.** Porción medial de una hoja (haz). **B.** Porción medial de una hoja (envés). **C.** Flor entera. **D.** Bráctea floral (haz). **E.** Sépalos. **F.** Bráctea floral (envés). **G.** Pétalos. **H.** Estambres y receptáculo con pistilo (inserto semillas). Escalas: 10 cm. Fotografías de S. Madriñán.

densamente ferrugíneo-tomentosos; **brácteas** pedunculares foliáceas en la base, imbricadas a laxamente imbricadas acrotónicamente, coriáceas, lanceoladas, finamente aserradas, ápice agudo, cortas en relación con la longitud del pedúnculo, diminutamente lepidotas, verde grisáceas; **eje** parcialmente expuesto, rígido, recto a levemente flexuoso, terete, densamente ferrugíneo-tomentoso, glabrescente, epidermis verde clara; **espigas** erectas, polísticas, densas, con 20 a 50 flores, solo unas 6 a 9 en anthesis, linear-lanceoladas, subcilíndricas, ápice redondeado; raquis oculto; **brácteas florales** abundantes, amplexifloras las flores, imbricadas, membranáceas, sin nerviación prominente, sin carina, ampliamente obovadas a romboides, margen entero, ápice acuminado, incurvadas, de 7 a 8 cm de largo, 4,5 a 5 cm de

ancho, varias veces más largas que los entrenudos, un poco más largas que los sépalos, márgenes delgadas, densamente ferrugíneo-tomentosas por ambas caras, indumento persistente, epidermis verde. **Flores** péndulas, de 7,5 a 8,5 cm de largo, subsésiles; receptáculo obcónico de 1,5 a 2,0 cm de largo, 1,5 a 1,8 cm de ancho, densamente ferrugíneo-tomentoso; **sépalos** rígidos, carnosos, sin nerviación prominente, ovado oblongos a orbiculares, simétricos, margen entera, desarmados, ápice obtuso, fuertemente incurvados, iguales, de 3,6 a 3,8 cm de largo, 6,1 a 6,3 cm de ancho, margen gruesa, sin carina, no fusionados, glabros por el haz, densamente ferrugíneo-tomentosos por el envés, epidermis crema-verdosa; **pétalos**, levemente carnosos, espatulados, en la base envolviendo los estambres, el ápice de la lámina amplio, redondeado,

reflexos, de 6,1 a 6,3 cm de largo, 1,5 a 1,7 cm de ancho en su porción medial, de 3,0 a 3,3 cm de ancho en su porción más ancha, libres, color lila pálido en la base, intensificándose acrotónicamente a un color púrpura intenso en la porción apical, sin lígulas; **estambres** igual de largos al pistilo, un poco más cortos que los pétalos; filamentos aplanados en la base, teretes hacia el ápice, no plicados, iguales, curvos, de 5,1 a 5,2 cm de largo, libres, blancos en la base, cambiando a lila acrotónicamente, anteras dorsifijas, unidas al filamento a un tercio de su longitud, versátiles, tubulares a levemente sagitadas, de 1,2 a 1,5 cm de largo; **pistilo** igual de largo a los estambres, ovario súpero, ovoide a piramidal, estriado, de 1,0 a 1,2 cm de largo, 0,8 cm de ancho en la base, contraído hacia el estilo, estilo, delgado, elongado, varias veces más largo que el ovario, blanco en la base, cambiando a lila acrotónicamente y terminando en un estigma púrpura intenso, estigmas lineares, espiralados. **Fruto** con pedicelo elongado post-antesis, de 2,0 a 2,5 cm de largo, 0,5 cm de diámetro, cápsula globosa, de 2,5 a 3,0 cm de largo, 2,0 a 2,3 cm de diámetro, apocárpica secundaria, dehiscencia septicida, levemente excediendo las brácteas florales, ápice atenuado, glabro, marrón a negro lustroso. **Semillas** cuneiformes, de 3,0 mm de largo, 2,0 mm de ancho, rojizas, aladas, alas marrón claro.

Distribución y hábitat: esta especie se ha encontrado solamente en los páramos aislados del cerro Tunjaque y Cerro Verde en el municipio de La Calera aledaño a la ciudad de Bogotá, entre los 3.500 y los 3.550 m.s.n.m. Una población azonal se encontró a 2.250 m.s.n.m. Es muy probable que se encuentre, igualmente, en el cerro Los Quemados (04° 42' 2,71" N, 73° 53' 36,12" O), el cual también alcanza los 3.550 m.s.n.m. Habita laderas rocosas de acantilados altos expuestos a vientos fuertes, frecuentemente envueltos en nubes densas.

Comparación: en la Tabla 2 se presenta una comparación entre la especie *Puya loca* y las demás especies presentes en los alrededores de Bogotá según J. Betancur (2000). Otras especies de *Puya* con flores de color semejante al púrpura intenso de *Puya loca* son: *Puya coerulea* Lindl. (Chile), *Puya harmsii* (A.Cast.) A.Cast. (Argentina), *Puya macrura* Mez (Perú) y *Puya meziana* Wittm. (Bolivia).

Etimología: el nombre de la especie rinde honor a la 'puya loca', canción popular del Caribe colombiano compuesta por Diofante Jiménez Robles, del conjunto folclórico 'Cumbia Soledaña', que se interpreta al compás de la 'puya', un subgénero musical de la cumbia caracterizado por su ritmo rápido y jocoso. El epíteto específico proviene del adjetivo femenino 'loca', utilizado algunas veces como sinónimo de excéntrica, y que se refiriere al color inusual de sus flores.

Fenología: florece en la época de lluvias, entre los meses de noviembre y diciembre. Entre las otras especies reportadas para la región (Betancur, 2000), solo *Puya nitida* y *Puya santosii* florecen en sincronía con *P. loca*.

Valoración de la conservación según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza

Hasta ahora esta especie se ha encontrado en dos localidades solo en los puntos más elevados de páramos aislados aledaños. A pesar de que una de estas localidades está protegida por la reserva privada Tierraleja, y que la otra forma parte de la franja de amortiguación del Parque Nacional Natural Chingaza, la especie se puede considerar en peligro crítico (CR) dada su pequeña área de distribución naturalmente fragmentada (**Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza - UICN, 2001; Betancur & García, 2006**).

Comentarios

Puya loca es sin duda una especie icónica del género *Puya* dadas sus flores de color púrpura intenso. Es extraño que encontrándose muy cerca de la capital de Colombia, donde se han concentrado las exploraciones botánicas desde los tiempos de la Colonia (Betancur, 2000; Pedraza, *et al.*, 2001, Madriñán, 2010), esta especie haya pasado desapercibida. Probablemente esto se deba a su muy restringida área de distribución y a que su floración se limita a un corto periodo durante la época de lluvias en los meses de noviembre y diciembre.

Las observaciones en campo nos permitieron establecer al menos dos de sus potenciales polinizadores, los colibríes *Colibri coruscans* (*Sparkling violetear*) y *Pterophanes cyanopterus* (*Great sapphirewing*) (según determinación de Juan P. López). Dado su tamaño relativamente grande y su aleteo lento, este último se ve perchando perezosamente, a la manera de los trepatroncos, sobre las flores marchitas inferiores (Figura 6). Ambas especies de colibríes presentan una distribución andina, con una franja altitudinal que abarca desde los 2.500 hasta los 3.500 m aproximadamente; son nectarívoras-insectívoras y altamente eficientes en el proceso de polinización, especialmente en la vegetación de bosques altoandinos y páramo (Juan P. López, comunicación personal).

El hábitat típico de la especie, acantilados rocosos altos, y las espinas frágiles de las hojas, sugieren una adaptación de escape a la herbivoría del oso de anteojos (*T. ornatus*) comúnmente observada en otras especies simpátricas de *Puya*.

La presencia de una población en el páramo aledaño de Buenos Aires (ver Materiales y métodos y Figura 2), con caracteres intermedios entre *P. loca* (con pétalos de color púrpura intenso) y *P. nitida* (con pétalos de color verde pálido), en particular en cuanto al color lila de sus pétalos, sugiere la existencia de un proceso de hibridación natural entre estas dos especies (Figura 7). Después de llevar a cabo los ensayos de germinación de estas dos especies y del híbrido putativo, se obtuvo evidencia adicional de este híbrido natural; los resultados incluyeron una germinación nula del híbrido putativo y un alto porcentaje de germinación de las semillas de individuos de las dos especies parentales.

Tabla 2. Comparación de *Payson loca* con las especies de *Payson* presentes en los alrededores de Bogotá según **Betancur (2000)**.

| | <i>P. bicolor</i> | <i>P. cryptantha</i> | <i>P. goudotiana</i> | <i>P. lineata</i> | <i>P. loca</i> | <i>P. nitida</i> | <i>P. santosti</i> | <i>P. trianae</i> | <i>P. sp. nov. sensu Betancur 2000</i> |
|---|---------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| Hábitat | Arbustales | Pajonales secos | Pajonales húmedos | Pajonales secos | Acantillados o afloramientos rocosos | Arbustales | Pajonales húmedos | Pajonales secos | Pajonales húmedos |
| Hábito | Rosetas densas cespitosas | Rosetas cespitosas laxas | Rosetas cespitosas laxas o solitarias | Rosetas cespitosas densas | Rosetas cespitosas muy densas | Rosetas cespitosas laxas | Rosetas cespitosas laxas | Rosetas cespitosas laxas | Rosetas cespitosas laxas o solitarias |
| Longitud de las hojas (cm) | 70-90 | 18-24 | 140-170 | 50-60 | 30-35 | 35-38 | 31-37 | 24-28 | 55-65 |
| Tomento de las hojas | Lepidotas por el envés | Lepidotas por el envés | Glabras | Lepidotas por el envés | Lepidotas por el envés | Glabras | Glabras | Lepidotas por el envés | Glabras |
| Longitud de la inflorescencia | 120-140 | 15-20 | 100-200 | 12-14 | 75-85 | 58-62 | 32-50 | 25-30 | 100 |
| Raquis | Visible | Visible | Oculto | Oculto | Oculto | Visible | Oculto | Oculto | Oculto |
| Inflorescencia | Erecta | Erecta | Erecta | Erecta o inclinada | Erecta o inclinada | Erecta | Erecta | Erecta | Erecta |
| Ramificación | Bipinnada | Bipinnada | Bipinnada | Simple | Simple | Simple | Bipinnada | Simple | Bipinnada |
| Flores por rama | 2 | 2 | | | | | 2 | | 4 |
| Brácteas florales | No imbricadas | No imbricadas | Imbricadas | Imbricadas | Imbricadas | Imbricadas | Imbricadas | Imbricadas | Imbricadas |
| Longitud de las brácteas (mm) | 15 | 25 | 25-32 | 35-50 | 70-80 | 34-38 | 32-33 | 50-60 | 32-35 |
| Brácteas en relación con los sépalos | - | - | - | + | + | = | + | + | = |
| Carina de las brácteas | no | no | no | no | no | no | si | no | no |
| Margen de las brácteas | Entera | Entera | Entera | Aserrada | Entera | Aserrada | Aserrada | Entera | Entera |
| Color de las brácteas | Cafés | Cafés | Café oscuro | Cafés con márgenes verdes | Ferrugineas | Café negras | Cafés | Cafés | Cafés |
| Longitud del pedicelo (mm) | 5-9 | No | 15-35 | 5 | No | 6-7 | 2-3 | No | 9-12 |
| Longitud de los sépalos (mm) | 17 | 15-16 | 25-30 | 20-21 | 36-38 | 30 | 13-20 | 20 | 12 |
| Longitud de los pétalos (mm) | 34-35 | 26-28 | 50-60 | 42 | 61-63 | 70 | 30-36 | 32 | ? |
| Color de los pétalos | Azules | Azul-verdes | Azul-verdes | Azules | Púrpura intensos | Verdes con lila | Azul-verdes | Verde pálidos | ? |



Figura 6. Polinizadores observados en el cerro Tunjaque. **A.** *Pterophanes cyanopterus* (macho). **B.** *Colibri coruscans*. Fotografías de J. P. López-Ordóñez.



Figura 7. Montaje comparativo de especímenes presentes en la población de Cerro Verde que muestra, a la izquierda, una hoja y la inflorescencia de un espécimen introgreso de *Puya loca* y, a la derecha, el híbrido putativo con *P. nitida*. Escala: 10 cm. Fotografía de S. Madriñán.

Agradecimientos

Mis más sinceros agradecimientos y aprecio a Antonio Piñeros, por su amable atención al permitirnos el acceso a la reserva Tierraleja, cerro Tunjaque, lo que, gracias a esas maravillosas coincidencias de la vida, en este caso auspiciadas por Emilia Restrepo, nos permitió encontrar esta nueva especie. Agradezco asimismo a los miembros del equipo del proyecto de delimitación de páramos: Sandy B. Arroyo, Ghislaine Cárdenas, Mateo Fernández, Luis F. Henao, Juan P. López, Diego Martínez, Juan S. Mendoza, Ariadna Mondragón, Karen L. Pulido y Nicolás Rodríguez, por su valiosa colaboración y amable convivencia en campo. A Kanchi N. Gandhi, del herbario de Harvard,

por su incondicional apoyo en temas de nomenclatura. A Juan P. López, nuevamente, por las fotografías de los colibríes y su determinación. A Alma y Maya Gutiérrez, quienes me ayudaron con las mediciones de los caracteres morfométricos de las flores. Gerardo A. Aymard-Corredor, Ana María Bedoya, Antoine M. Cleef y Gustavo Romero revisaron las versiones iniciales del manuscrito; a ellos, mil gracias por sus correcciones y comentarios.

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Convenio Interadministrativo No. 13-014 - FA No. 005 de 2013) del Fondo de Adaptación y el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos “Alexander von Humboldt” en el marco del convenio No. 14-13-014-171CE con la Universidad de los Andes.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

Betancur, J. (2000). Guía de las Bromelias de Bogotá y sus alrededores. Alcaldía Mayor de Bogotá D.C. - DAMA, Bogotá.

Betancur, J. (2015). *Puya*. Catálogo de plantas y líquenes de Colombia. En: Bernal, R., Gradstein, S. R. & Celis, M. (editores), Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. <http://catalogoplantascolumbia.unal.edu.co>.

Betancur, J. & Callejas, R. (1997). Sinopsis del género *Puya* (Bromeliaceae) en el Departamento de Antioquia. *Caldasia*. **19** (1-2): 71-82.

Betancur, J. & García, N. (2006). Las Bromelias. En: García, N. & Galeano, G. (editores), Libro Rojo de plantas de Colombia. Instituto Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, Bogotá.

- Butcher, D. & Gouda, E.J.** (2015). The New Bromeliad Taxon List. University Botanic Gardens, Utrecht. <http://botu07.bio.uu.nl/bcg/taxonList.php>.
- DeMay, S.M., Roon, D.A., Rachlow, J.L., Cisneros, R.** (2014). Selective foraging on bromeliads by Andean bears in the Ecuadorian páramo. *Ursus* **25** (2): 139-147.
- Givnish, T., Millam, K., Berry, P., Sytsma, K.** (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* **23**: 3-26.
- Gouda, E.J.** (1998). Bromeliaceae - Character list. <http://botu07.bio.uu.nl/brom/chars.txt>
- Gouda, E.J., Butcher, D., Gouda, C.S.** (2015). Encyclopaedia of Bromeliads, Version 3. University Botanic Gardens, Utrecht. <http://encyclopedia.florapix.nl>
- Hornung-Leoni, C.T., González-Gómez, P.L., Troncoso, A.J.** (2013). Morphology, nectar characteristics and avian pollinators in five Andean *Puya* species (Bromeliaceae). *Acta Oecologica* **51**: 54-61.
- Jabaily, R.S. & Sytsma, K.J.** (2010). Phylogenetics of *Puya* (Bromeliaceae): Placement, major lineages, and evolution of Chilean species. *American Journal of Botany* **97**: 337-356.
- Jabaily, R.S. & Sytsma, K.J.** (2012). Historical biogeography and life-history evolution of Andean *Puya* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. **171**: 201-224.
- Mabberley, D.J.** (1987). The plant-book: A portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press, Cambridge.
- Madriñán, S.** (2010). Flora ilustrada del Páramo de Chingaza: guía de campo de plantas comunes. Segunda edición. Ediciones Uniandes, Bogotá. <http://chingaza.uniandes.edu.co/guia2010.htm>
- Madriñán, S., Cortés, A.J., Richardson, J.E.** (2013). Páramo is the world's fastest evolving and coolest biodiversity hotspot. *Frontiers in Genetics* **4**: 1-7.
- Molina, G.I.** (1782). Saggio sulla Storia Naturale del Chili. Stamperia di S. Tommaso d' Aquino, Bologna. Pp. 160-161, 351.
- Pedraza, P., Franco-Rosselli, P., Betancur, J.** (2001). Lista comentada de las angiospermas de Chisacá (Sumapaz, Colombia). *Caldasia* **23**: 247-259.
- Rivadeneira-Canedo, C.** (2008). Estudio del oso andino (*Tremarctos ornatus*) como dispersor legítimo de semillas y elementos de su dieta en la región de Apolobamba-Bolivia. *Ecología en Bolivia* **43**: 29-39.
- Scharf, U. & Gouda, E.J.** (2008). Bringing Bromeliaceae back to homeland botany. *Journal of the Bromeliad Society*. **58**: 123-129.
- Schulte, K., Silvestro, D., Kiehlmann, E., Vesely, S., Novoa, P., Zizka, G.** (2010). Detection of recent hybridization between sympatric Chilean *Puya* species (Bromeliaceae) using AFLP markers and reconstruction of complex relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **57** (3): 1105-1119.
- Smith L.B. & Downs R.J.** (1974). Flora Neotropica Monograph 14, part 1: Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Hafner Press, New York, New York.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.** (2001). Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza y Cambridge. http://www.iucnredlist.org/static/categories_criteria_3_1.

Gases invernadero en aguas con bajo oxígeno en el reservorio eutrófico de Prado (Colombia)

Maribeb Castro-González*, Victoria Torres-Valdés

Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

Resumen

En esta investigación se cuantificó la concentración de gases invernadero (metano y óxido nitroso) y de otros parámetros fisicoquímicos en la columna de agua del reservorio eutrófico de Prado para determinar con experimentos *in situ* el origen del óxido nitroso y la distribución vertical de ambos gases. Los resultados indicaron que la nitrificación contribuyó más activamente que la desnitrificación a la producción de óxido nitroso en la columna de agua, con tasas estimadas en $122,5 \pm 79,9$ nM/d, y que comparado con otras hidroeléctricas y lagos en el mundo, las concentraciones de óxido nitroso (de hasta $38,6 \pm 0,9$ nM) y de metano (de hasta $242 \pm 85,5$ μ M) cuantificadas en el embalse fueron altas. Este es el primer estudio desarrollado en la represa de Prado que muestra la sobresaturación de ambos gases en la columna de agua, lo que sugiere que esta hidroeléctrica podría estar emitiendo cantidades significativas de gases invernadero a la atmósfera.

Palabras clave: hidroeléctrica, embalse tropical, óxido nitroso, metano, nitrificación, desnitrificación.

Greenhouse gases in low-oxygen waters in the eutrophic reservoir of Prado (Colombia)

Abstract

In this study we quantified greenhouse gases concentration (nitrous oxide and methane) and other physicochemical parameters in the water column of Prado eutrophic reservoir to determine with *in situ* experiments the nitrous oxide source and the vertical distribution of both gases. The results indicated that nitrification contributed more actively than denitrification to nitrous oxide production in the water column to estimated rates of 122.5 ± 79.9 nM/d, and that, in comparison with other dams and lakes in the world, the nitrous oxide (up to 38.6 ± 0.9 nM) and methane concentrations (up to 242 ± 85.5 μ M) measured in the reservoir were high. This is the first study in the Prado dam showing the oversaturation of both gases in the water column, which suggests that this reservoir could be emitting significant quantities of greenhouse gases to the atmosphere.

Key words: Dam, tropical reservoir, nitrous oxide, methane, nitrification, denitrification.

Introducción

En los últimos años los estudios sobre las emisiones de gases invernadero desde las hidroeléctricas han demostrado que esta fuente de energía no es limpia ni verde como se esperaba y que estos reservorios pueden emitir hasta 3,6 veces más gases invernadero que los generados por los combustibles fósiles (Fearnside, 2005). Entre estos gases se encuentra el óxido nitroso (N_2O), con un potencial de calentamiento 310 veces mayor que el del CO_2 , una concentración en la tropósfera de 325 ppm y una contribución al calentamiento global del planeta de 5 a 7 % (Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC, 2011). El segundo gas invernadero en orden de importancia es el metano, con un potencial de calentamiento 25 veces mayor que el del CO_2 y cuya concentración en la atmósfera (1.819 ppbv) ha triplicado los niveles de la era preindustrial (IPCC, 2011). Ambos gases se generan en ecosistemas acuáticos, y en el caso del metano se estima

que un 25 % de sus emisiones son antropogénicas y un 69 % son de origen microbiano (Borrel, *et al.*, 2011, Demarty & Bastien, 2011); de ellas 6 a 16 % son emisiones provenientes de lagos, ríos y reservorios, estos últimos con emisiones estimadas de aproximadamente 3 Tg C- CH_4 (Barros, *et al.*, 2011), producto de la metanogénesis en sedimentos y en la columna de agua anóxica (Borrel, *et al.*, 2011, Sturm, *et al.*, 2013). Por su parte, el N_2O se deriva de procesos antropogénicos (procesos industriales y agrícolas) y biogénicos en ambientes terrestres, marinos y de aguas dulces (United States Environmental Protection Agency-EPA, 2010). Mediante estudios isotópicos se ha estimado que la contribución a las emisiones globales de los ambientes de agua dulce es de 24 % (Snider, *et al.*,

*Correspondencia:

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

Recibido: 12 de mayo de 2015

Aceptado: 6 de agosto de 2015

2015), y que los embalses tropicales aportan entre 130 y 6.9 μg de $\text{N}_2\text{O}/\text{m}^3/\text{d}$ (Guérin, *et al.*, 2008, Yang, *et al.*, 2014) debido a los procesos de nitrificación y desnitrificación, los cuales contribuyen con un 89 % ($\sim 16 \text{ Tg}/\text{N}/\text{año}$) a las emisiones anuales de N_2O (Loescher, *et al.*, 2012, Stocker, *et al.*, 2013). En la nitrificación el N_2O es un producto secundario de la oxidación de amonio a nitrito por la acción de bacterias y arqueobacterias (Casciotti & Buchwald, 2012, Hatzenpichler, 2012, Santoro, *et al.*, 2011). En dicha oxidación se distinguen dos fuentes de este gas: la primera producida por la descomposición química de la hidroxilamina, y la segunda, por la reducción de nitrito en condiciones de bajos niveles de oxígeno (O_2), proceso también denominado desnitrificación nitrificante (Casciotti & Buchwald, 2012). En la desnitrificación, el N_2O es un producto intermedio de la reducción del óxido nítrico en niveles bajos de O_2 , por lo que puede darse acumulación de N_2O si su reducción a nitrógeno atmosférico (N_2) se inhibe por la presencia de O_2 , lo que se conoce como desnitrificación parcial.

Aunque desde 1990 se ha venido observando que las hidroeléctricas contribuyen de manera significativa a la remoción del nitrógeno y a la emisión de gases invernadero (Rudd, *et al.*, 1993, Harrison, *et al.*, 2009), lo cual afecta el equilibrio global del N_2O (St. Louis, *et al.*, 2000), pues este se produce tanto en el epilimnio en condiciones óxicas como en el hipolimnio bajo condiciones subóxicas o anóxicas, son pocos los estudios que se han hecho en hidroeléctricas (24 de 741) en áreas tropicales (Goldenfum, 2012), a pesar de que su número ha aumentado en la última década alrededor del mundo y que las alteraciones hidrológicas asociadas con su construcción han alterado el ciclo de agua terrestre (Liu, *et al.*, 2011).

Teniendo en cuenta estos antecedentes y dado que, a pesar de ser una de las más grandes e importantes de Colombia, en la represa de Prado en el sur del Tolima no se habían hecho estudios en este sentido, esta investigación se propuso analizar en muestras tomadas en campo la distribución de N_2O , CH_4 , nutrientes y otros parámetros fisicoquímicos en la columna de agua, así como determinar en el laboratorio qué procesos microbianos estaban involucrados en la producción de N_2O en el embalse.

Materiales y métodos

Descripción del área de estudio

La represa de Prado, una de las más grandes (39 km^2) y antiguas de Colombia (42 años), está ubicada al suroeste del departamento de Tolima. Tiene un espejo de agua de 3.900 hectáreas, una profundidad promedio de 45 m, estratificación térmica y química y fuerte eutrofización (Roldán, 2003). Las muestras de agua para el estudio se recolectaron en septiembre de 2012 (estación seca) en tres áreas del embalse cercanas a las veredas de Tomogó

(03°43'37,2" N, 74°53'51,0" O), Isla del Sol (03°45'58,1" N, 74°51'27,7" O) y Lozanía (03°52'19,18" N, 74°48'16,5" O) (Figura 1).

Métodos de muestreo en campo

En cada estación se hizo un perfil de oxígeno disuelto, pH y temperatura en la columna de agua (0-10 m de profundidad) con un equipo multiparámetro marca Oakton®. Las muestras de agua se tomaron con botellas Van Dorn cada dos metros de profundidad para obtener los perfiles verticales de gases (N_2O y CH_4) y de nutrientes (NH_4^+ , NO_3^- y NO_2^-).

Las muestras de agua para determinar las cantidades de N_2O y CH_4 se pasaron directamente de las botellas de muestreo a tubos Labco Exetainer de tapa rosca de 11 ml, especiales para la toma de gases cuidando de eliminar todas las burbujas de aire durante el llenado por reflujo. Luego se agregaron 50 μl de solución saturada de HgCl_2 en cada tubo y se refrigeraron las muestras boca abajo a 4 °C hasta el momento de cuantificarlas en el laboratorio.

Para la determinación de nutrientes, se filtraron 500 ml de las muestras de agua sobre membranas de 0.22 μM (Millipore, Durapore), y se congelaron a -20 °C hasta su cuantificación.

Para realizar los experimentos de producción de N_2O , se llenaron tres de las botellas con agua tomada a 4 m de profundidad en la estación Tomogó y se refrigeraron bajo oscuridad hasta el desarrollo de los experimentos en el laboratorio.

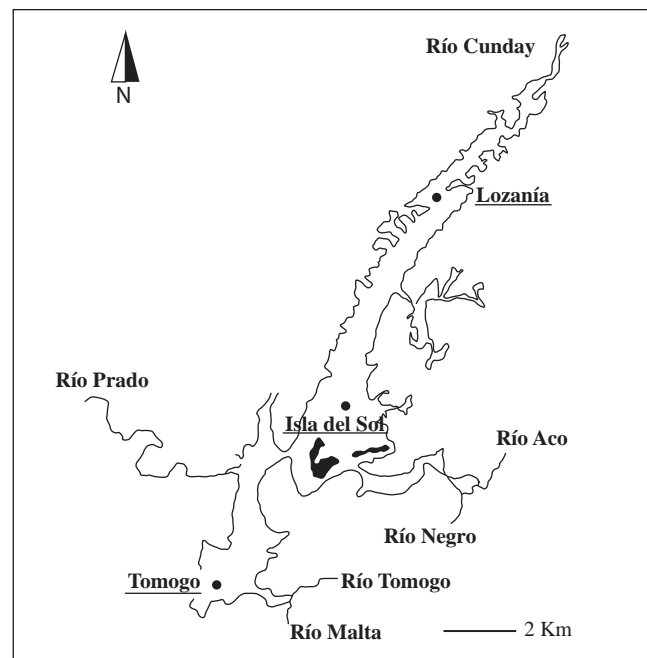


Figura 1. Ubicación de las estaciones de muestreo en el embalse de Prado, Tolima. (Modificada de Guevara, *et al.*, 2009)

Experimentos de laboratorio y cuantificación de gases y nutrientes

Estimación de la producción de N_2O en muestras de agua. Los experimentos se hicieron bajo atmósfera de nitrógeno, con el fin de evitar la oxigenación de las muestras de agua tomadas en campo. A cada una de las tres botellas (1 litro) se le agregó cloranfenicol (1g/l) para evitar la síntesis enzimática durante el desarrollo de los ensayos. Una botella se usó para estimar la producción neta de N_2O (botella de control), y las otras dos botellas se utilizaron para estimar la producción de N_2O por nitrificación agregando el inhibidor alitiourea (ATU) en una y acetileno en la otra.

Estimación de la producción neta de N_2O . La producción neta de N_2O se estimó como la producción de este gas por desnitrificación y por nitrificación en los ensayos control. Para ello, las muestras de agua (1 litro) con cloranfenicol se distribuyeron en frascos de 60 ml que se sellaron con gomas de butilo y tapas metálicas. Posteriormente, los frascos se incubaron durante 24 horas en la oscuridad y a temperatura ambiente (23 °C) y cada seis horas (0, 6, 12, 24 h) se tomaban tres de ellos y se les añadían 100 μ l de $HgCl_2$, y se refrigeraban a 4 °C hasta el momento de cuantificar el N_2O en la fase gaseosa de cada uno.

Estimación de la producción de N_2O por nitrificación. Para este ensayo, a una de las botellas se le agregó 1g/l de ATU, la cual se conoce como inhibidor de la oxidación de amonio a nitrito (Ginestet, *et al.*, 1998), evitando así la producción de N_2O por nitrificación. Posteriormente, esta muestra de agua con ATU se distribuyó en frascos de suero de 60 ml que se sellaron con gomas de butilo y tapas metálicas. Simultáneamente se desarrolló otro ensayo en el cual se inyectó suavemente a través de la goma de butilo 15 % v/v de acetileno en los frascos de 60 ml sellados herméticamente en los cuales se habían mantenido las muestras de agua, para lo cual se tuvo en cuenta que también se ha reportado su acción inhibitoria sobre la amonio monooxigenasa (Wrage, *et al.*, 2004). A continuación, los frascos de ambos tratamientos se incubaron y se manipularon bajo las condiciones ya indicadas para cuantificar el N_2O en la fase gaseosa. La producción de N_2O por nitrificación se estimó con base en la diferencia entre las tasas cuantificadas en los experimentos de producción neta de N_2O y las tasas cuantificadas en los experimentos con ATU o con acetileno.

Cuantificación de nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos. La determinación de nitrógeno amoniacal se hizo mediante el método de Kjeldahl y la de los nitratos y nitritos mediante lecturas espectrofotométricas a 220-275 nm y 510 nm, respectivamente, según los métodos descritos para el análisis de nutrientes en aguas en el manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1999).

Cuantificación de N_2O y CH_4 en las muestras de agua y en los experimentos. Para esto se utilizó la técnica de equilibrio de la fase gaseosa y líquida descrita por McAuliffe (1971):

se inyectó suavemente 1 ml de helio ultrapuro en los tubos de 11 ml correspondientes a los perfiles verticales, y 10 ml en los frascos de los experimentos (60 ml). Posteriormente, se incubaron durante una hora a 40 °C con agitación para generar el equilibrio de gases entre ambas fases. A continuación, se tomó una muestra de la fase gaseosa (1 ml de los tubos y 10 ml de los frascos) y se inyectó en viales evacuados para su cuantificación con un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC), equipado con un detector de captura de electrones ^{63}Ni a 350 °C, con fase móvil de nitrógeno de alta pureza. Se usaron los estándares Scotty de metano y óxido nitroso balanceados en nitrógeno con una precisión de ± 5 %. La concentración de N_2O disuelto se calculó usando la fórmula de solubilidad de Weiss & Price (1980), y la concentración de CH_4 disuelto, con los datos de solubilidad de Wiesenburg & Guinasso (1979).

Análisis estadístico

Para estimar las tasas de producción y consumo de óxido nitroso (nM/d) se hizo un análisis de regresión lineal con los datos obtenidos durante las 24 horas del experimento, y la tasa se estimó a partir de la pendiente obtenida en dicho análisis. Los valores positivos indicaron producción o acumulación de N_2O y los valores negativos representaron su consumo.

Resultados

Caracterización fisicoquímica de la columna de agua

Distribución de oxígeno, pH y temperatura. En general, se registró una fuerte oxiclina en las tres áreas de estudio. En Tomogó los niveles de oxígeno descendieron desde 151 μ M en la superficie hasta 34 μ M a los 7 metros de profundidad. Entre los 7 y 10 metros de profundidad la concentración de O_2 se mantuvo más o menos igual, excepto por un leve descenso (31,2 μ M O_2) detectado a 9 metros. En el área de Isla del Sol, la disminución de O_2 fue levemente mayor que en Tomogó, pues partió de 122 μ M en la superficie hasta llegar a los 24 μ M a los 10 metros de profundidad. Sin embargo, fue en el área de Lozanía donde se registró la mayor variación de oxígeno en la columna de agua, con niveles superficiales de 93 μ M O_2 (54 % de saturación), niveles de hipoxia (<62 μ M O_2) entre los 2 y los 4 metros, de suboxia (<4 μ M O_2) entre los 5 y los 6 metros y de anoxia entre los 7 y los 10 metros de profundidad.

En las estaciones de muestreo el pH fluctuó de 9 a 6 entre la superficie y el fondo. La estación que presentó el mayor rango de pH entre superficie y fondo fue Tomogó (8,9 y 6,3), y la que presentó el rango más estrecho en el perfil vertical fue Lozanía (entre 7 y 6,2). La temperatura en la columna de agua de las tres estaciones fluctuó entre los 29 °C en la superficie y los 25 °C en el fondo. En la estación Lozanía se observó un rango de temperatura más estable (± 1 °C) en el perfil vertical con respecto a lo observado en las otras dos estaciones, donde el rango de variación entre la superficie y el fondo fue más amplio (3 – 4 °C) (Figura 2).

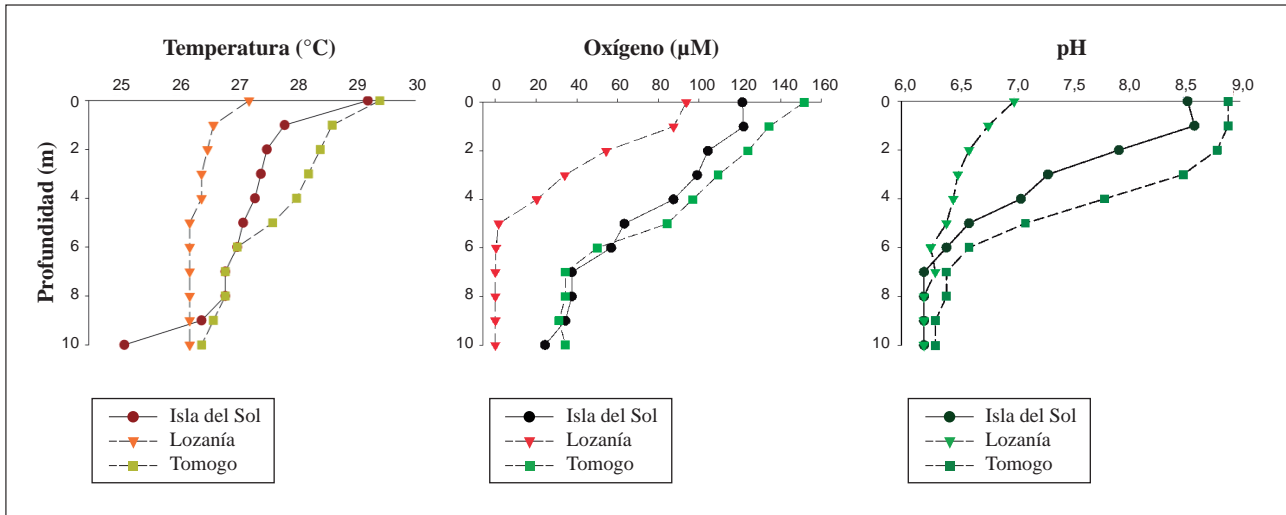


Figura 2. Perfiles verticales de oxígeno, pH y temperatura en las estaciones muestreadas en el embalse de Prado

Distribución de los nutrientes disueltos en la columna de agua. El amonio fue el nutriente que presentó mayor variabilidad y concentración en la columna de agua del embalse de Prado, con valores mínimos de 2,8 μM , y un valor máximo de 50 μM cuantificados en Lozanía a los 8 m de profundidad; allí mismo se detectó anoxia y bajos niveles de pH (6,2). En la Isla del Sol se observó un incremento de amonio de 10 a 35 μM desde los 2 hasta los 8 metros de profundidad (con 37,5 μM de O_2), y un consumo subsiguiente hasta los 10 m. En Tomogó, por el contrario, se observó una disminución en los niveles de amonio de 18 a 3 μM entre los 2 y los 6 metros de profundidad, con dos picos de producción: el primero a los 2 metros (18 μM) y el otro a los 8 metros (21 μM), con un nivel de O_2 de 34,4 μM . Los mismos picos de producción se detectaron un año después en la misma época de muestreo a los 3 y los 7 metros de profundidad en concentraciones de 30 y 50 μM , respectivamente (datos no mostrados). En Lozanía también se presentaron dos picos de producción de amonio, uno a los 4 metros (12 μM) y otro a los 8 metros (50,4 μM), siendo este último el valor máximo de amonio reportado para el área de estudio.

En general, en la columna de agua de las estaciones muestreadas las concentraciones de nitratos fueron bajas (2,6-5 μM). Sin embargo, fueron evidentes dos picos de producción: uno a los 8 metros en Isla del Sol (12,6 μM) y otro en Tomogó a los 4 metros (36,1 μM), lo que indica procesos de nitrificación en ambas profundidades con niveles de oxígeno de 37,5 μM y 97 μM , respectivamente. Los niveles de nitrito fueron muy bajos en las tres estaciones de muestreo (1-1,7 μM) entre los 0 y los 10 metros de profundidad (Figura 3).

Distribución de gases invernadero. En la columna de agua del embalse de Prado el N_2O disuelto fluctuó entre $26 \pm 7,3$ y $38,6 \pm 0,9$ nM. Las concentraciones más bajas

se cuantificaron en Isla del Sol (entre $26 \pm 7,34$ y $33,2 \pm 3,4$ nM), seguidas por las de Tomogó (entre $26,9 \pm 5,9$ y $34,9 \pm 6,4$ nM) y las de Lozanía, en donde se reportaron los valores más altos (entre $30,9 \pm 0,1$ y $38,6 \pm 0,9$ nM) en las muestras recolectadas en época seca. En general, los datos del perfil vertical mostraron una producción de N_2O hacia los 3 metros de profundidad, principalmente en la estación de Lozanía, seguida por Isla del Sol y Tomogó (en menor grado). Se evidenció, asimismo, consumo de N_2O en la profundidad, siendo muy fuerte entre los 6 y los 7 metros en las estaciones de Isla del Sol y Tomogó y un poco menos evidente en la estación de Lozanía entre los 5 y los 8 metros.

El porcentaje de saturación de N_2O en la columna de agua del embalse de Prado osciló entre 222 y 330 %, lo cual significa que se presentaba una alta sobresaturación de este gas invernadero en la represa. La sobresaturación fue similar en todas las estaciones de muestreo, sin embargo, la estación de Lozanía presentó valores por encima del 300 % a lo largo de la columna de agua, con un máximo de 330 % a 3 metros de profundidad, mientras que la estación de Isla del Sol mostró los menores rangos de saturación en el perfil vertical (222-283 %).

En la columna de agua del embalse el CH_4 disuelto osciló entre $0,2 \pm 0,05$ y $242 \pm 85,5$ μM . Las concentraciones más bajas se cuantificaron en Isla del Sol (entre $0,25 \pm 0,05$ y $72,7 \pm 24,4$ μM), seguidas por las de Tomogó ($0,37 \pm 0,08$ y $80 \pm 4,0$ μM) y las de Lozanía, en donde se reportaron los valores más altos (entre $0,3 \pm 0,12$ y $242 \pm 85,5$ μM). En Isla del Sol el metano disuelto se mantuvo uniforme a lo largo de la columna de agua (0,2 - 0,6 μM) hasta los 8 metros y entre los 9 y los 10 metros su concentración incrementó de 15 a 72 μM . En Tomogó se detectaron dos picos de producción: el primero entre los 3 y los 4 metros (1-1,7 μM) y el segundo a los 10 metros (80 μM), en tanto que en Lozanía se detectó

una alta concentración de metano a partir de los 4 metros (11,4 μM), que se incrementó con la profundidad y alcanzó el máximo a los 10 metros (242 μM).

Los resultados mostraron que el porcentaje de saturación de metano en la columna de agua del embalse de Prado en relación con las concentraciones medidas en la atmósfera durante el muestreo (0,10 μM), osciló entre 225 % hasta 235 % (cuantificado a 10 metros de profundidad en la estación Lozanía), lo cual evidencia una alta sobresaturación de este gas invernadero en esta localidad. La estación de Isla del Sol mostró los menores rangos de saturación en el perfil vertical entre los 0 y los 8 metros (225 - 582 %), y la estación de Lozanía presentó los más altos valores de saturación (>11.000 %) desde los 4 metros de profundidad hasta el fondo, lo que se asoció a la observación en campo de burbujas de metano que ascendían del fondo a la superficie (Figura 4).

Experimentos de producción de óxido nitroso en la columna de agua

Los resultados de los experimentos (Tabla 1) mostraron que en el área de Tomogó se produjo N_2O a una tasa de $141,6 \pm 91,46$ nM/d por procesos tanto de nitrificación como de desnitrificación a los 4 metros de profundidad y bajo condiciones subóxicas (3,5 mg/l O_2).

Los experimentos con acetileno, por su parte, mostraron una fuerte inhibición de la producción de N_2O por parte de la comunidad nitrificante (se inhibió la oxidasa de amonio de bacterias y arqueobacterias), lo que supuso observar en los ensayos consumo de óxido nitroso a tasas de $49,6 \pm 31$ nM/d sugiriendo una reducción de N_2O a N_2 por acción de la comunidad desnitrificante presente a esta profundidad.

En los experimentos con ATU se observó una inhibición de la producción de N_2O por nitrificación, lo que llevó a que

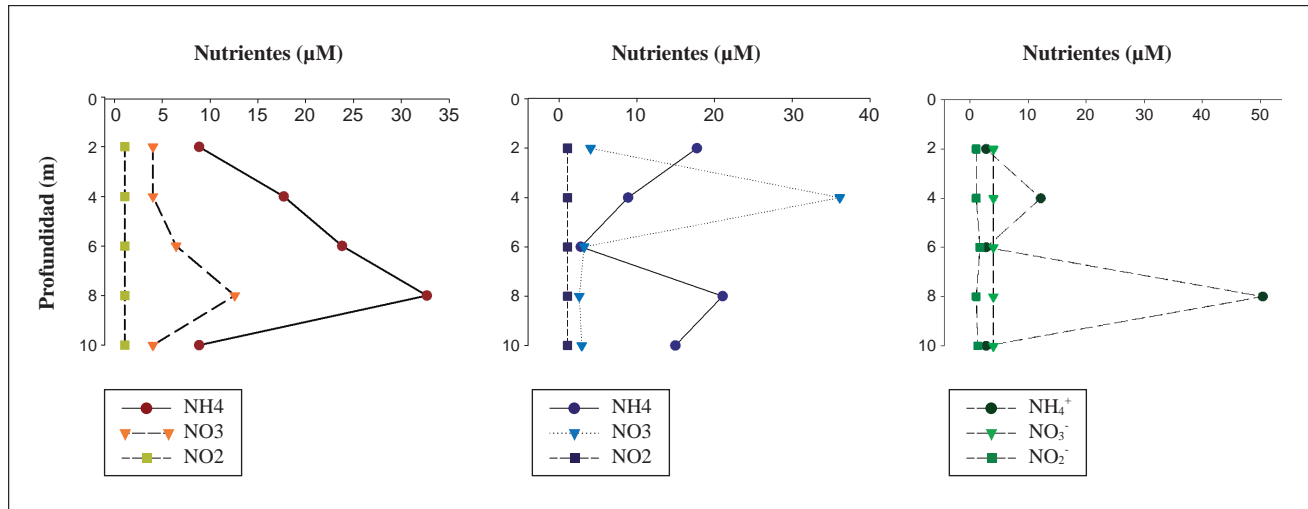


Figura 3. Perfil vertical de nutrientes (amonio, nitrato y nitrito) en las estaciones muestreadas en el embalse de Prado

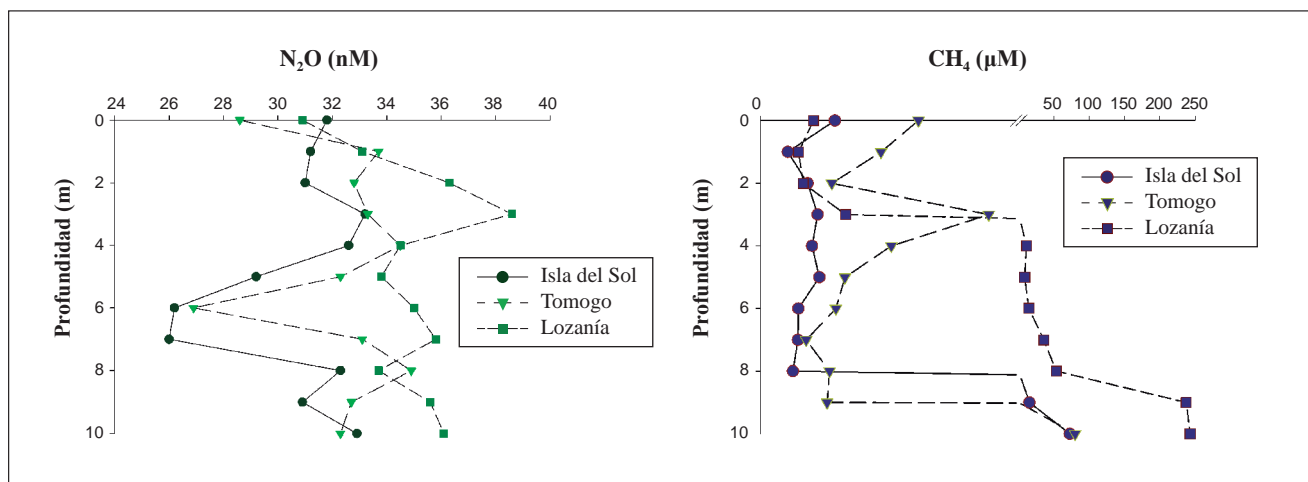


Figura 4. Perfil vertical de N_2O y CH_4 disueltos en la columna de agua de las estaciones muestreadas en el embalse de Prado

Tabla 1. Tasas de producción de óxido nitroso en la estación de Tomogó, embalse de Prado

| Experimento | Proceso que se midió en cada experimento | nM/d |
|---------------------------|--|---------------|
| Control | Producción neta de N ₂ O tanto por nitrificación como por desnitrificación | 141,6 ± 91,46 |
| Con adición de acetileno | Inhibición del N ₂ O producido por nitrificación y su probable consumo por desnitrificación | -49,6 ± 31,0 |
| Con adición de alitiourea | Inhibición de N ₂ O producido por nitrificación y su probable producción por desnitrificación | 19,08 ± 11,5 |
| | N ₂ O producido por nitrificación estimado a partir de la diferencia entre las tasas obtenidas en el experimento control y las del experimento con alitiourea | 122,5 ± 79,9 |

la tasa de producción del gas bajara a niveles de $19,08 \pm 11,5$ nM/d. Muy probablemente esta tasa correspondía únicamente a la producción de N₂O generada por las bacterias desnitrificantes presentes en la columna de agua que no fueron inhibidas por la ATU.

La diferencia entre la tasa estimada en los experimentos de control y la estimada en los experimentos con ATU permitió determinar que en Tomogó se estaba produciendo N₂O por nitrificación a tasas de $122,5 \pm 79,9$ nM/d.

Discusión

Los perfiles verticales de temperatura, oxígeno y nutrientes hallados en este estudio coinciden con estudios previos que mostraban la estratificación térmica y química del embalse (Márquez & Guillot, 1988). El pH básico de entre 8,5 y 8,9 en la superficie de las estaciones de Tomogó e Isla del Sol registrado en este estudio difiere de los valores de 6,1 a 7,4 reportados previamente (Roldán, 2003). Por otro lado, en este estudio se observó que los niveles de pH, nitrato y oxígeno en la columna de agua en la estación de Lozanía fueron más bajos que los reportados (Márquez & Guillot, 1988, Roldán, 2003), lo que indica que en la actualidad la anoxia tiende a ser más somera a partir de los 7 metros de profundidad.

Tanto los perfiles verticales de oxígeno como los de nutrientes permiten sugerir que varios procesos microbianos están teniendo lugar en el área de estudio, lo que respalda las hipótesis planteadas anteriormente con respecto a la distribución de formas nitrogenadas en los embalses eutróficos (Roldán, 2003). Uno de ellos es la amonificación que se observó al cuantificar altas concentraciones de amonio tanto en aguas superficiales, entre los 2 y los 4 metros de profundidad ($35 \mu\text{M}$), como en aguas un poco más profundas, a los 8 metros ($50 \mu\text{M}$). En el primer caso, probablemente la excreción de amonio por parte de los organismos y los procesos de remineralización de la materia orgánica contribuyen a los altos niveles de este compuesto encontrados en el epilimnio. Teniendo en cuenta los bajos niveles de oxígeno ($<40 \mu\text{M}$) en la profundidad (8 m), es probable que la elevada producción de amonio sea producto del proceso de reducción desasimilatoria del nitrato, sobre todo en la estación de Lozanía, donde los niveles de nitrato y de oxígeno estuvieron en el límite de detección en toda la columna de agua. Este proceso se ha observado con

frecuencia en otros ecosistemas acuáticos con niveles limitados de nitrato y ricos en carbono orgánico (Bruner & García-Gil, 1996, Kelso, *et al.*, 1997, Burgin & Hamilton, 2007, Figueiredo, *et al.*, 2012), sin embargo, para corroborar esta hipótesis es necesario adelantar estudios en el área que permitan confirmar si se está dando dicha reacción.

Los resultados también sugieren que la nitrificación y desnitrificación tienen lugar en la columna de agua. En el primer caso, la oxidación de amonio a nitrato podría explicar los dos picos de producción de nitrato observados a 4 metros en Tomogó ($36,1 \mu\text{M}$) bajo condiciones óxicas y a 8 metros en Isla del Sol ($12,6 \mu\text{M}$) bajo condiciones hipóxicas. Esta observación se corroboró indirectamente en Tomogó al observar los altos niveles de N₂O ($34,5 \pm 1,2$ nM) en los perfiles verticales y los resultados de los experimentos que indicaron que la nitrificación contribuyó en mayor medida a la producción de N₂O, dado que este gas es un producto obligado de la oxidación de amonio a nitrito causada por bacterias y arqueobacterias (Hiorns, *et al.*, 1995, Hastings, *et al.*, 1998, Speksnijder, *et al.*, 1998, Santoro, *et al.*, 2011).

En el caso de la desnitrificación, esta también parece darse en la columna de agua, ya que se observaron bajos niveles de nitrato en todas las estaciones (entre los 2 y los 6 metros en Isla del Sol, entre los 6 y los 10 metros en Tomogó y en toda la columna de agua en Lozanía), a lo que se suma la detección de una leve reducción del N₂O entre los 4 y los 8 metros de profundidad en las estaciones de Tomogó e Isla del Sol a medida que el oxígeno disminuía. Esto sugiere que se produjo la reducción del N₂O a N₂ por desnitrificación, evidenciada, además, en los experimentos llevados a cabo con las muestras de agua de Tomogó, en los cuales hubo consumo de N₂O ($-49,6 \pm 31,0$ nM/d) durante la incubación, probablemente por la acción de bacterias desnitrificantes.

Además, los resultados de los perfiles verticales de N₂O y CH₄ indican que varios procesos microbianos podrían explicar los altos niveles de saturación de ambos gases de efecto invernadero cuantificados en el área. Para el caso del N₂O se observó una alta concentración y saturación en los perfiles verticales, lo que concuerda con los datos reportados en lagos eutróficos (hasta 557 %) (Wang, *et al.*, 2006, 2009, 2010), en estuarios subtropicales (hasta 435 %) (Musenze, *et al.*, 2014), en embalses subtropicales en Australia (hasta 220 %) (Sturm, *et al.*, 2013), en reservorios chinos (entre

201 y 689 % (**Liu, et al.**, 2011) y en el lago eutrófico Lacamas (hasta 750 %) (**Deemer, et al.**, 2011). Dado que las aguas superficiales registran niveles elevados de saturación con respecto a las concentraciones de N_2O atmosféricas en equilibrio (325 ppbv; **IPCC**, 2011), se puede decir que la represa de Prado es una fuente de emisiones de N_2O a la atmósfera, con lo que se ratifica lo reportado por **Guérin, et al.** (2008), quienes indicaron que la contribución a las emisiones globales de gases invernadero de las emisiones netas de N_2O de los reservorios tropicales puede ser del orden de 10 %.

Los altos niveles de saturación de N_2O cuantificados en la columna de agua pueden explicarse por varios factores: primero, su producción *in situ* por bacterias de vida libre o aquellas asociadas al material en partículas, como se ha cuantificado en lagos mesotróficos (**Abe, et al.**, 2000), y por nitrificantes en el epilimnio y desnitrificantes en el hipolimnio; en este último caso, se ha reportado una correlación negativa entre el N_2O producido por desnitrificación y los niveles de oxígeno disuelto en aguas profundas o cercanas al sedimento (**Liu, et al.**, 2011, **Deemer, et al.**, 2011). Segundo, por la estratificación, que implica tiempos de residencia del agua estimados entre 50,3 y 136 días (**Márquez & Guillot**, 2001, **Roldán**, 2003), evitando que los gases se mezclen y se difundan hacia la superficie. Tercero, por la liberación y transporte del N_2O del sedimento hacia la superficie como lo han reportado **Liu, et al.** (2011). Cuarto, por oxidación aeróbica y anaeróbica del metano causada por bacterias y arqueobacterias, pues el CH_4 se encontró en todas las estaciones y, específicamente en la estación de Lozanía, se observó que los niveles de N_2O fueron los más altos y se mantuvieron más o menos estables a lo largo de la columna de agua y a pesar de la anoxia a partir de los 7 metros, lo que indica que, probablemente, la desnitrificación fue reemplazada por la oxidación del CH_4 . Sin embargo, aunque se ha reportado la producción de N_2O mediante este proceso en lagos (**Borrel, et al.**, 2011), es necesario verificar si dicha reacción se está dando en el embalse.

En el caso del CH_4 , los perfiles verticales indicaron claramente que había una gran producción de este gas por debajo de los 8 metros de profundidad en el embalse, probablemente por metanogénesis en los sedimentos y en la columna de agua anóxica, principalmente en el área de Lozanía, donde se alcanzaron concentraciones de hasta 242 μM , por lo que la columna de agua se mantiene sobresaturada, convirtiendo la represa en una importante fuente de emisión del gas hacia la atmósfera, como fue evidente por el burbujeo o ebullición del CH_4 propia de este gas en la superficie. Actualmente se estima que entre 6 y 16 % de las emisiones naturales de CH_4 provienen de los lagos y ríos; en ese sentido, los datos aquí registrados concuerdan con lo reportado por **Palma-Silva, et al.**, (2013) en otros lagos en los cuales se registró claramente el proceso de metanogénesis en los sedimentos (con producciones de hasta 1.727 $\mu mol/g$) y

en la columna de agua (hasta 19,9 $\mu mol/l$), así como en la columna de agua anóxica (**Borrel, et al.**, 2011, **Furlanetto, et al.**, 2012), e incluso en la columna de agua oxigenada de algunos lagos (**Grossart, et al.**, 2011). En general, los valores de saturación superficial encontrados en Prado (420-1.200 %) estaban en el mismo rango reportado para otras hidroeléctricas, con valores de hasta 600 μM (**Sturm, et al.**, 2013, **Soumis, et al.**, 2004), aunque por debajo de lo reportado en la superficie de lagos someros (entre 2.000 y 8.000 %) por **Wang, et al.**, (2010).

Si bien los resultados de sobresaturación en los primeros 10 metros de la columna de agua indican que después de 40 años de construida, la represa de Prado es una fuente de gases invernadero (metano y óxido nitroso), hay que tener muy en cuenta que para estimar acertadamente las emisiones y los flujos totales de ambos gases desde cualquier ecosistema acuático debe recopilarse información de otros factores ambientales además de los analizados en esta investigación (nivel de oxígeno, temperatura), como son la competencia por sustratos o aceptores de electrones, la calidad y cantidad de la materia orgánica (**Borrel, et al.**, 2011), el tiempo de residencia del agua, la edad y la forma del reservorio, la velocidad y la dirección del viento, la biomasa de organismos planctónicos y bentónicos, la concentración de carbono y nitrógeno inorgánico disuelto, la variación diaria en las concentraciones de gases y la producción neta de ambos gases comparando la producción antes y después de la construcción de la hidroeléctrica (**Goldenfum**, 2012, **Wang, et al.**, 2010).

Los resultados de este estudio indican, por otra parte, que en el área de Tomogó se está dando un acople en la producción de N_2O , tanto por procesos de nitrificación como de desnitrificación, a bajos niveles de oxígeno (109 μM de O_2) y a 4 metros de profundidad. La nitrificación fue el proceso que más contribuyó a la producción de este gas invernadero, con tasas de 122,5 nM/d, mientras que la desnitrificación lo hizo a tasas de 19 nM/d. Dichos resultados concuerdan con reportes previos sobre la mayor contribución de la nitrificación a la producción de N_2O en el hipolimnion del lago Lacamas (**Deemer, et al.**, 2011), en el lago Nakaumi (**Senga, et al.**, 2002) y en dos hidroeléctricas en China (**Liu, et al.**, 2011), en tanto que la desnitrificación se ha reportado como fuente de N_2O en la columna de agua del lago Taihu (China) en relación con bajos niveles de oxígeno y nitrato (**Wang, et al.**, 2010). La tasa estimada de producción de N_2O por desnitrificación en este estudio concuerda con lo reportado en el hipolimnion del lago Kizaki (hipóxico y mesotrófico), en donde se han cuantificado entre 11 y 240 nM de N_2O al día (**Abe, et al.**, 2000), tasas estas más bajas que las tasas potenciales (38,2 nM de N_2O al día) reportadas en el hipolimnion del reservorio meromóctico Lacamas (**Deemer, et al.**, 2011). Estos datos corroboran lo hallado en estudios previos en el área, que evidenciaron la presencia de bacterias desnitrificantes de tipo *nosZ* en la columna de agua

óxica e hipóxica de Isla del Sol (Castro-González, 2014), y la riqueza y diversidad de las bacterias que pueden reducir el N_2O a N_2 en el agua de bajo oxígeno de Tomogó y Lozania (Castro-González & Pacheco, 2014).

Aunque a partir de los experimentos se estimó la tasa de producción de N_2O por nitrificación y desnitrificación, es importante resaltar algunas observaciones que se hicieron durante los ensayos con respecto al efecto de los inhibidores. En primer lugar, en relación con el efecto de la ATU, Jensen, *et al.*, (2007) han reportado que en una concentración final de 886 μM en sedimentos, puede inhibir en un 20% la desnitrificación y la oxidación anaerobia del ion amonio (anammox) e, incluso, producir la inhibición de las bacterias metanótrofas (Deutzman & Schink, 2011), por lo cual la disminución en la producción de N_2O detectada durante los experimentos con inhibidores puede afectar el acople entre los diferentes microorganismos presentes en la columna de agua. En este caso fue evidente que la inhibición producida por la ATU en el consumo de N_2O alcanzó 75 %, lo que sugiere un efecto significativo sobre la comunidad responsable de este último paso de la reducción a N_2 , o, quizá, mediante la estimulación de la desaparición de nitrato y la disminución de la desnitrificación, como se ha reportado previamente en experimentos *in situ* (Hall, 1984). Por otra parte, el acetileno que se agregó durante los experimentos (15 % v/v), no inhibió la comunidad desnitrificante, a pesar de que dicha concentración se ha usado con efectividad en muestras acuáticas (Abe, *et al.*, 2000, Beaulieu, *et al.*, 2010, Wang, *et al.*, 2012, Baxter, *et al.*, 2012). Esto probablemente se debe a los bajos niveles de nitrato en el agua, lo cual se ha reportado como un factor negativo para la acción del acetileno, sin embargo, otros estudios reportan que algunas muestras han requerido más de 290 μM (>0,7 KPa) y hasta 0,3 mM de acetileno (30 ml) para que se produzca la inhibición total de la comunidad desnitrificante (Mosier & Francis, 2010), mientras que con solo 29 μM ya se inhibe la comunidad anammox y la nitrificante.

En el futuro deben desarrollarse estudios sobre las variaciones espacio-temporales (diarias, mensuales e interanuales) de las emisiones netas y los flujos de N_2O , así como de los procesos microbianos involucrados en el reciclaje de ambos gases invernadero, que permitan determinar la importancia del aporte natural y antropogénico de la hidroeléctrica de Prado a las emisiones globales de gases invernadero.

Conclusiones

En general, con esta investigación se determinó que la nitrificación contribuye activamente a la producción de N_2O en el epilimnio del embalse de Prado y que en comparación con otras hidroeléctricas y lagos en el mundo, las concentraciones de N_2O y CH_4 cuantificadas en la columna de agua fueron moderadamente altas. Sin embargo, la sobresaturación estimada para ambos gases en las aguas

superficiales y profundas sugiere que el embalse podría estar liberando cantidades significativas de estos gases invernadero a la atmósfera.

Agradecimientos

A la Universidad del Tolima y a su oficina de investigaciones y desarrollo científico, por la financiación de esta investigación y a A. Castro y M. Pacheco, por su colaboración en el trabajo de campo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Abe, D.S., Kato, K., Adams, D.D., Terai, H., Tundisi, J.G. (2000). Contribution of free-living and attached bacteria to denitrification in the epilimnion of a mesotrophic Japanese lake. *Microbes and Environments*. **15** (2): 93-101.
- Barros, N., Cole, J.J., Tranvik, L.J., Prairie, Y.T., Bastviken, D., Huszar, V.L.M., del Giorgio, P., Roland, F. (2011). Carbon emission from hydroelectric reservoirs linked to reservoir age and latitude. *Nature Geoscience*. **4**: 593-596.
- Baxter, A.M., Johnson, L., Edgerton, J., Royer, T., Lef, L.G. (2012). Structure and function of denitrifying bacterial assemblages in low-order Indiana streams. *Freshwater Science*. **31** (2): 304-317.
- Beaulieu, J.J., Tank, J.L., Hamilton, S.K., Wollheims, W.M., Hall, R.O., Mulholland, P.J., Peterson, B.J., Ashkenas, L.R., Cooperi, L.W., Dahmj, C.N., Dodds, W.K., Grimm, N.B., Johnson, S.L., McDowell, W.H., Poole, G.C., Valett, H.M., Arango, C.P., Bernot, M.J., Burgins, A.J., Crenshaw, C.L., Helton, A.M., Johnson, L.T., O'Brien, J.M., Pottern, J.D., Sheibley, R.W., Sobotka, D.J., Thomas, S.M. (2010). Nitrous oxide emission from denitrification in stream and river networks. *PNAS*. **1**: 1-6.
- Borrel, G., Jézéquel, D., Bidarré-Petit, C., Morel-Desrosiers, N., Morel, J.-P., Peyret, P., Fonty, G., Lehours, A.-C. (2011). Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems. *Research in Microbiology*. **162**: 832-847.
- Bruner, R.C. & García-Gil, L.J. (1996). Sulfide-induced dissimilatory nitrate reduction to ammonia in anaerobic freshwater sediments. *FEMS Microbiology and Ecology*. **21**: 131-38.
- Burgin, A.J. & Hamilton, S.K. (2007). Have we overemphasized the role of denitrification in aquatic ecosystems? A review of nitrate removal pathways. *Frontiers in Ecology and the Environment*. **5** (2): 89-96.
- Casciotti, K.L. & Buchwald, C. (2012). Insights on the marine microbial nitrogen cycle from isotopic approaches to nitrification. *Frontiers in Microbiology*. **3** (356): 1-14.
- Castro-González M. (2014). Evaluación de la comunidad desnitrificante de tipo *nosZ* en la columna de agua de Isla del Sol, embalse de Prado, Tolima. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **38** (149): 385-92.

- Castro-González, M. & Pacheco, M.** (2014). Diversity of *nosZ*-type denitrifiers in a tropical hydroelectric reservoir in the south east of Colombia. Abstracts 15th International symposium on microbial ecology-ISME-15.
- Deemer, B.R., Harrison, J.A., Whitting, 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.
- Demarty, M. & Bastien, J.** (2011). GHG emissions from hydroelectric reservoirs in tropical and equatorial regions: Review of 20 years of CH₄ emission measurements. *Energy Policy*. **39** (7): 4197-4206.
- Deutzman, J.S. & Schink, B.** (2011). Anaerobic oxidation of methane in sediments of Lake Constance, an oligotrophic freshwater lake. *Applied and Environmental Microbiology*. **77**: 4429-4436.
- US Environmental Protection Agency.** (2010). Methane and Nitrous Oxide Emissions from Natural Sources. Washington, DC, 330 p.
- Fearnside, P.M.** (2005). Do hydroelectric dams mitigate global warming? The case of Brazil's Curná-Una dam. *Mitigation and Adaptation Strategies to Global Change*. **10** (4): 675-691.
- Figueiredo, V, Santoro, A.L., van Weerelt, M., Enrich-Prast, A.** (2012). Sediment denitrification, DNRA and anammox rates in tropical floodplain lake (Pantanal, Brazil). *Oecologia Australis*. **16** (4): 734-744.
- Furlanetto, L.M, Marinho, C.C., Palma-Silva, C., Albertoni, E.F., Figueiredo-Barros, M.P., de Assis, F.** (2012). Methane levels in shallow subtropical lake sediments: Dependence on the trophic status of the lake and allochthonous input. *Limnologia*. **42**: 151-155.
- Ginestet, P., Audic, J.M., Urbain, V., Block, J.C.** (1998). Estimation of nitrifying bacterial activities by measuring oxygen uptake in the presence of the metabolic inhibitors allylthiourea and azide. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**: 2266-2268.
- 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.
- Grossart, H-P, Frindte, K., Dzialis, C., Eckert, W., Tang, K.W.** (2011). ZCYCLES. **18** (3): GB3022. <http://dx.doi.org/10.1029/2003GB002197>
- Speksnijder, A.G.C.L, Kowalchuk, G.A., Roest, K., Laanbroek, H.J.** (1998). Recovery of a *Nitrosomonas*-like 16S rDNA sequence group from freshwater habitats. *Systematic and Applied Microbiology*. **21**: 321-30.
- 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.
- Stocker, T.F, Qin, D., Plattner, G-K., Tignor, M., Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, Y.X., Bex, V., Midgley, P.M (Editors).** (2013). The Physical Science Basis. Contributions of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press. 1535 p.
- Sturm, K, Yuan, Z., Gibbes, B., Grinham, A.** (2013). Methane and nitrous oxide sources and emissions in a subtropical freshwater reservoir, south east Queensland, Australia. *Biogeosciences Discussions*. **10**: 19485-19508.
- Wang, H.J., Wang, W.D., Yin, C.Q., Wang, Y.C., Lu, J.W.** (2006). Littoral zones as the "hotspots" of nitrous oxide emission in a hyper-eutrophic lake in China. *Atmospheric Environment*. **40**: 5522-5527.
- Wang, S.L, Liu, C.Q., Yeager, K.M., Wan, C.J., Li, J., Tao, F.X., Lue, Y.C., Liu, F., Fan, C.X.** (2009). The spatial distribution and emission of nitrous oxide in a large eutrophic lake in eastern China: Anthropogenic effects. *Science of the Total Environment*. **407**: 3330-3337.
- Wang, S, Yeager, K.M., Wan, G., Liu, C., Tao, F., Fan, C.** 2010. Short-term field observations of nitrous oxide saturations in lake Taihu, China: The need for high temporal resolution studies. *Journal of Environmental Quality*. **39**: 1858-1863.
- Wang, C, Zhu, G., Wang, Y., Wang, S., Yin, Ch.** (2012). Nitrous oxide reductase gene (*nosZ*) and N₂O reduction along the littoral gradient of a eutrophic freshwater lake. *Journal of Environmental Science*. **25** (1): 44-52.
- Weiss, R.F. & Price, B.A.** (1980). Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Marine Chemistry*. **8**: 347-359.
- Wiesenburg, D.A. & Guinasso, N.L.** (1979). Equilibrium solubilities of methane, carbon monoxide, and hydrogen in water and sea water. *Journal of Chemical and Engineering Data*. **24** (4): 356-360.
- Wrage, N., Velthof, G.L., Oenema, O., Laanbroek, H.J.** (2004). Acetylene and oxygen as inhibitor of nitrous oxide production in *Nitrosomonas europaea* and *Nitrospira briensis*: A cautionary tale. *FEMS Microbiology and Ecology*. **47**: 13-18.
- Yang, L, Lu, F., Zhou, X., Wang, X., Duan, X., Sun, B.** (2014). Progress in the studies on the greenhouse gas emissions from reservoirs. *Acta Ecologica Sinica*. **34**: 204-212.

Estructura de tallas, talla media de madurez sexual y razón sexual de camarones de aguas profundas de importancia comercial en el Caribe colombiano

Jorge Paramo^{1,*}, Samuel Núñez²

¹ Programa de Ingeniería Pesquera, Universidad del Magdalena, Grupo de Investigación "Ciencia y Tecnología Pesquera Tropical" (CITEPT), Santa Marta, Colombia

² Programa de Biología, Universidad del Magdalena, Grupo de Investigación "Ciencia y Tecnología Pesquera Tropical" (CITEPT), Santa Marta, Colombia

Resumen

Con el fin de presentar información biológica de los camarones de profundidad de importancia comercial para una eventual pesquería en el mar Caribe colombiano, en el presente estudio se propuso suministrar información sobre la estructura de tallas, la talla media de madurez y la razón de sexos de los camarones de profundidad *Aristaeomorpha foliacea*, *Pleoticus robustus* y *Penaeopsis serrata*. Las muestras se recolectaron con pesca de arrastre en profundidades entre los 200 y los 550 m (estratos de profundidad de 100 m) en el Caribe colombiano. Se registró la longitud total, el peso total, el sexo y el número de individuos por especie en cada estación. La talla media de madurez sexual se modeló ajustando la función logística de la proporción de especímenes maduros con un intervalo de 5 mm de la longitud total. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tallas y pesos entre los sexos para las tres especies de camarones de aguas profundas, lo que reveló el dimorfismo sexual. La proporción sexual en todos los camarones de profundidad mostró diferencias significativas ($p=0,000$) entre el número de hembras y machos por clase de talla al compararla con una constante de referencia de 50 % de razón sexual. La relación entre la razón sexual con la talla y la distribución de la frecuencia demostró claramente una predominancia de hembras en los grupos de menor talla en *A. foliacea* y *P. robustus*. Sin embargo, en *P. serrata* la proporción de sexos fue igual en los grupos con las menores tallas.

Palabras clave: estructura de tallas, razón sexual, talla media de madurez, Caribe colombiano, camarones de aguas profundas.

Size structure, size at sexual maturity and sex ratio of deep-sea shrimps of commercial importance in the Colombian Caribbean Sea

Abstract

We present biological information of commercially important deep-sea shrimps for a potentially new fishery in the Colombian Caribbean Sea. To do so, our study aimed at providing information on the size structure, the size at sexual maturity and the sex ratio of the deep-sea shrimps *Aristaeo morphafoliacea*, *Pleoticus robustus*, *Penaeopsis serrata*. The samples were collected by trawling in depths ranging between 200 and 550 m (100 m strata intervals) in the Colombian Caribbean Sea. We recorded the total weight, total length, sex and number of individuals per species from each station. The size at sexual maturity was determined by adjusting the logistic function of the proportion of mature specimens to 5 mm intervals of the total length. We found statistically significant differences in size and weight between sexes for the three species, thus revealing sexual dimorphism. The sex ratio in all deep-sea shrimp showed statistically significant differences ($p=0,000$) between the number of females and males by size class when compared to a 50% constant reference sex ratio. The relationship between the sex ratio and the size frequency distribution clearly showed a predominance of females in the smaller size groups in *P. robustus* and *A. foliacea*. However, in *P. serrata* the sex ratio was equal in the smaller sizes.

Key words: Size structure, sex ratio, size at 50% maturity, Colombian Caribbean, deep-sea shrimps.

Introducción

Los cambios en la estructura de las tallas debidos a la actividad pesquera se pueden atribuir a la vulnerabilidad diferencial de las especies, los cambios en la composición

de las tallas, las historias de vida, los cambios genéticos, las relaciones predador-presa, y los efectos de la competencia (Jennings & Dulvy, 2005). Por esta razón, se han utilizado indicadores para hacer el seguimiento de los cambios ecológicos y evaluar el desempeño del manejo pesquero

desde un enfoque ecosistémico y con base en la estructura de la talla de las poblaciones marinas (Jennings & Dulvy, 2005, Shin, et al., 2005, Yemane, et al., 2008).

Se han propuesto el tamaño medio, el tamaño en la madurez y la longitud media en la madurez (L_{max}) como indicadores del nivel de población por efecto de las pesquerías (Rochet & Trenkel, 2003; Rice, 2003). De hecho, se ha demostrado que un cambio en la estructura del tamaño de un ensamblaje tiene gran influencia en la estructura y el funcionamiento del ecosistema (Borgmann, 1987; Boudreau & Dickie, 1992; Calder, 2001), de tal manera que la selectividad de los tamaños hace que las pesquerías influyan en la organización estructural y funcional de los ecosistemas marinos (Haedrich & Barnes, 1997, Shin, et al., 2005; Yemane, et al., 2008). Sin embargo, las proporciones relativas de los tamaños de las clases en las comunidades marinas cambian no solo con el nivel de explotación (Daan, et al., 2005), sino que también están asociados con la razón sexual en crustáceos marinos (Wenner, 1972). Como posibles causas de los cambios en la razón sexual en relación con el tamaño se han planteado la mortalidad diferencial, la restricción en la nutrición, la mayor actividad de un sexo, la migración de uno de los sexos en determinado momento y el uso de hábitats diferentes por parte de los dos sexos (Wenner, 1972; Charnov, et al., 1978; King & Moffit, 1984; Company & Sarda, 1997; Koeller, et al., 2000; Charnov & Hannah, 2002; Chiba, et al., 2006; Lizárraga-Cubedo, et al., 2008; Baeza & Piantoni, 2010; Pongtippatee, et al., 2012; Grabowsky, et al., 2014).

En estudios previos se ha determinado el potencial de nuevas pesquerías de crustáceos de profundidad con alto valor comercial, tales como la gamba española (*Aristaeomorpha foliacea*), el camarón rojo real (*Pleoticus robustus*) (Paramo & Saint-Paul, 2012a), el camarón rosado manchado (*Penaeopsis serrata*) (Paramo & Saint-Paul, 2012b) y la langosta de aguas profundas del Caribe (*Metanephrops binghami*) (Paramo & Saint-Paul, 2012c). La gamba española (*A. foliacea*) se encuentra en las aguas profundas del mar Mediterráneo y es un camarón comercialmente importante (D'Onghia, et al., 1998; Figueiredo, et al., 2001; Papaconstantinou & Kapiris, 2003; Politou, et al., 2004; Mytilineou, et al., 2006; Mouffok, et al., 2008). Esta especie tiene una amplia distribución geográfica que se extiende desde el mar Mediterráneo y el Atlántico oriental, el Atlántico occidental y el océano Índico y el Pacífico occidental, y desde Japón hasta Australia, Nueva Zelanda y las islas Fidji, y se le captura activamente debido a su alto valor comercial (Tavares, 2002). Gracia, et al., (2010) exploraron las aguas profundas de la península de Yucatán en México y demostraron que *A. foliacea* y *P. robustus*

representan un potencial recurso pesquero. *A. foliacea* constituye una pesquería valiosa de camarón de profundidad en la costa sur y sureste de Brasil (Pezzuto, et al., 2006; Dallagnolo, et al., 2009). Esta especie también se captura en gran abundancia frente a la costa del noreste de Florida, en el delta del río Misisipi (Tavares, 2002). El camarón rosado manchado (*P. serrata*) es de importancia comercial en el Atlántico oriental y en el occidental (Holthuis, 1980); se le encuentra en el Atlántico oriental frente al noroeste de África (Marruecos, Río de Oro), y en el Atlántico occidental desde Carolina del Norte (EE.UU.) hasta Surinam, las islas Bahamas, y el golfo de México en el mar Caribe (Holthuis, 1980; Pérez-Farfante, 1980); en el mar Mediterráneo se le encuentra fuera de la costa de la isla Alborón y en el canal de Cerdeña (Mura, et al., 2002). Con base en esta información, el objetivo del presente estudio fue suministrar datos sobre la estructura de las tallas, la talla media de madurez y la razón de sexos de los camarones de profundidad de potencial importancia comercial en el mar Caribe colombiano.

Materiales y métodos

Área de estudio

Las muestras se recolectaron en el mar Caribe colombiano con pesca de arrastre en profundidades entre los 200 y los 550 m, en estratos de profundidad de 100 m con un mínimo de dos lances por cada estrato de profundidad (aunque el último estrato fue de 50 m). Se hicieron muestreos en agosto y diciembre de 2009 en la zona sur y en marzo y mayo de 2010 en la zona norte a bordo del barco camaronero comercial "Tee Claude" con una red de arrastre de tamaño de malla al final del copo de 44,5 mm de nudo a nudo, sobre una grilla de 87 estaciones (Figura 1). No fue posible recolectar muestras entre Cartagena y el río Magdalena debido a la irregularidad del fondo. La ubicación de los arrastres se estableció usando una ecosonda comercial FURUNO FCV 1150 con un transductor de 28 Khz de frecuencia. La duración de cada arrastre fue de 30 minutos y la distancia

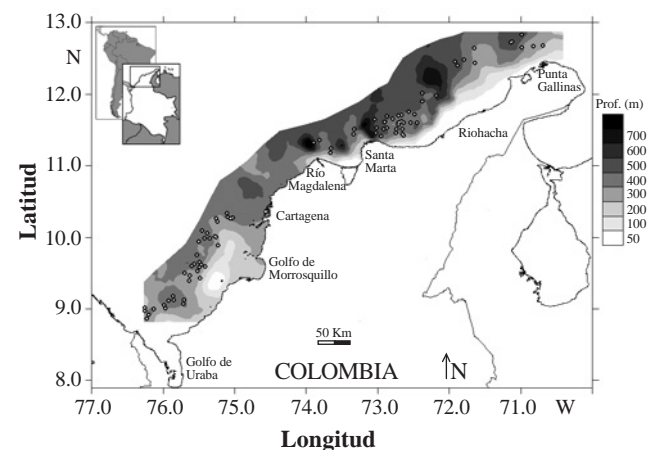


Figura 1. Área de estudio en el Caribe colombiano. Los círculos indican las estaciones de muestreo.

*Correspondencia:

Jorge Paramo, jparamo@unimagdalena.edu.co

Recibido: 09 de junio de 2015

Aceptado: 24 de agosto de 2015

arrastrada por la red y la velocidad del barco (2,5 nudos en promedio) se estimó con un GPS Garmin MAP 76CSx. La abertura de la red fue de 11,58 m.

Estructura de las tallas

Se registraron el peso total, el sexo y el número de individuos por especie en cada estación. Todos los especímenes se pesaron (peso total, PT) con una precisión de 0,1 g; la longitud total (LT) se midió desde la punta del rostro hasta la punta del telson con una precisión de 0,01 mm usando calibradores digitales. Se evaluaron las diferencias en la distribución de frecuencias de las tallas y los pesos entre hembras y machos mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Gotelli & Ellison, 2004). La separación de las distribuciones de la frecuencia de la longitud total para hembras y machos permitió calcular la razón sexual para cada clase de talla. Se hizo la prueba de ji al cuadrado para establecer la significancia estadística de las diferencias entre el número de hembras y machos por clase de talla, con una constante de referencia de 50 % de razón sexual.

Talla media de madurez

Los estadios de madurez macroscópica para las hembras de camarones de profundidad (*A. foliacea*, *P. robustus* y *P. serrata*) se determinaron visualmente siguiendo la escala de madurez de cinco estadios: I, inmaduras; II, desarrollo temprano; III, desarrollo tardío; IV, en desove; V, posterior al desove (Levi & Vacchi, 1988; Figueiredo, et al., 2001). Para estimar la talla media de madurez ($LT_{50\%}$) se consideraron los estadios I y II como inmaduros y los estadios III, IV y V como maduros. La $LT_{50\%}$ se modeló ajustando la función logística de la proporción de especímenes maduros con un intervalo de 5 mm de LT. La curva se ajustó mediante mínimos cuadrados usando una regresión no lineal para estimar los parámetros y la $LT_{50\%}$.

$$P(l) = \frac{1}{1 + \exp(a + b * LT)}$$

donde P(l) es la proporción de hembras maduras, a y b son los parámetros estimados y LT es la longitud total. La talla en el 50 % de madurez es $LT_{50\%} = (-a/b)$ (King, 2007).

Resultados

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tallas de los sexos para las especies de camarones de aguas profundas estudiadas (Figura 2; Tabla 1), lo que reveló el dimorfismo sexual ($p=0,00$). Los machos fueron más pequeños que las hembras en todas las especies. La estructura de las tallas para las hembras de *A. foliacea* varió entre 72,53 y 225,00 mm de LT (talla media $163,95 \pm 27,59$ mm de LT) y para los machos entre 87,67 y 203,00 mm de LT (talla media $130,60 \pm 15,63$ mm de LT). La distribución de frecuencia de LT para las hembras de *P. robustus* varió entre 99,05 y 232,00 mm de LT (talla media $179,98 \pm 26,14$ mm de LT) y en machos entre 111,00 y 207,00 mm de LT (talla

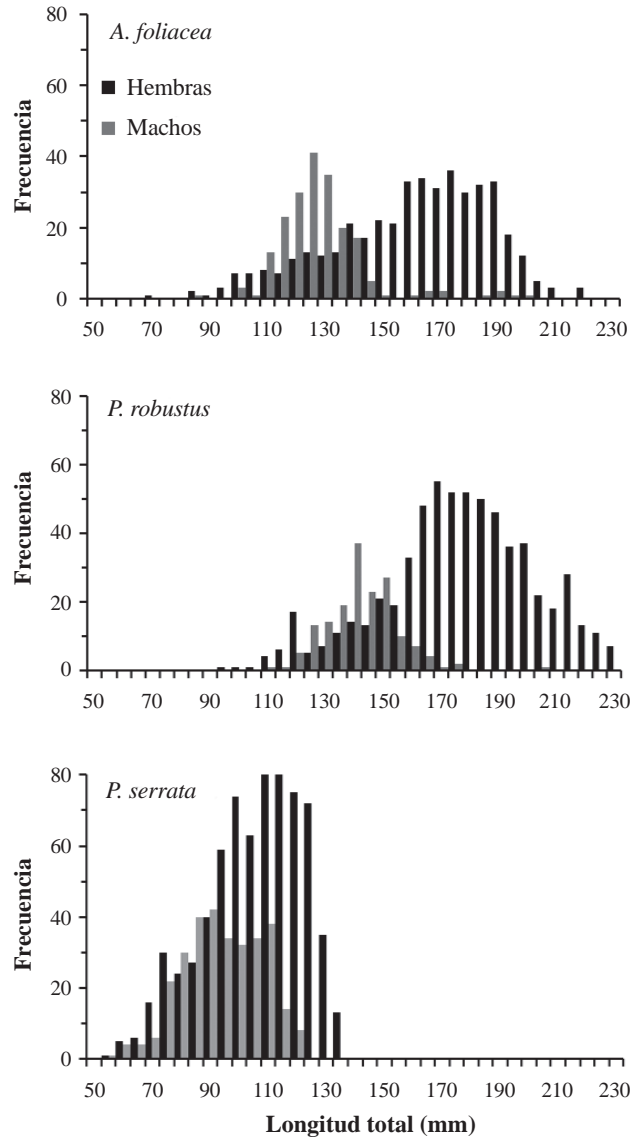


Figura 2. Distribuciones de frecuencia de la longitud total de los camarones de profundidad del Caribe colombiano

media $144,83 \pm 12,55$ mm de LT). La estructura de tallas para *P. serrata* en las hembras estuvo entre 56,07 y 139,95 mm de LT, con una talla media de $108,10 \pm 16,77$ mm de LT, mientras que las tallas de los machos oscilaron entre 59,71 y 123,13 mm de LT, con una talla media de $96,15 \pm 13,49$ mm de LT.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los pesos entre los sexos de las especies estudiadas (Figura 3; Tabla 1), lo que reveló el dimorfismo sexual ($p=0,00$). En todas las especies de camarones de profundidad los machos tuvieron menos peso que las hembras. La estructura del peso en las hembras de *A. foliacea* varió entre 2,00 y 57,20 gr (peso medio $27,35 \pm 12,83$ gr) y para los machos entre 3,50 y 48,50 gr (peso medio $15,99 \pm 6,64$ gr). La distribución de frecuencia del peso en las hembras de *P. robustus* varió

Tabla 1. Estadística descriptiva de la estructura de tallas (longitud total, LT) y peso total en hembras (H) y machos (M) de los camarones de profundidad del Caribe colombiano

| Especies | Sexo | Longitud total (mm) | | | | | | Peso total (gr) | | | | |
|--------------------|------|---------------------|--------|--------|--------|---------------------|------|-----------------|------|-------|---------------------|-------|
| | | n | Media | Min. | Máx. | Desviación estándar | p | Media | Min. | Máx. | Desviación estándar | p |
| <i>A. foliacea</i> | F | 436 | 163,95 | 72,53 | 225,00 | 27,59 | 0,00 | 27,35 | 2,00 | 57,20 | 12,83 | 0,000 |
| | M | 200 | 130,60 | 87,67 | 203,00 | 15,63 | | 15,99 | 3,50 | 48,50 | 6,64 | |
| <i>P. robustus</i> | F | 628 | 179,98 | 99,05 | 232,00 | 26,14 | 0,00 | 43,34 | 5,10 | 96,10 | 19,02 | 0,000 |
| | M | 165 | 144,83 | 111,00 | 207,00 | 12,55 | | 21,47 | 8,70 | 67,40 | 6,72 | |
| <i>P. serrata</i> | F | 707 | 108,10 | 56,07 | 139,95 | 16,77 | 0,00 | 7,21 | 0,80 | 16,30 | 2,83 | 0,000 |
| | M | 309 | 96,15 | 59,71 | 123,13 | 13,49 | | 5,00 | 1,50 | 10,40 | 1,66 | |

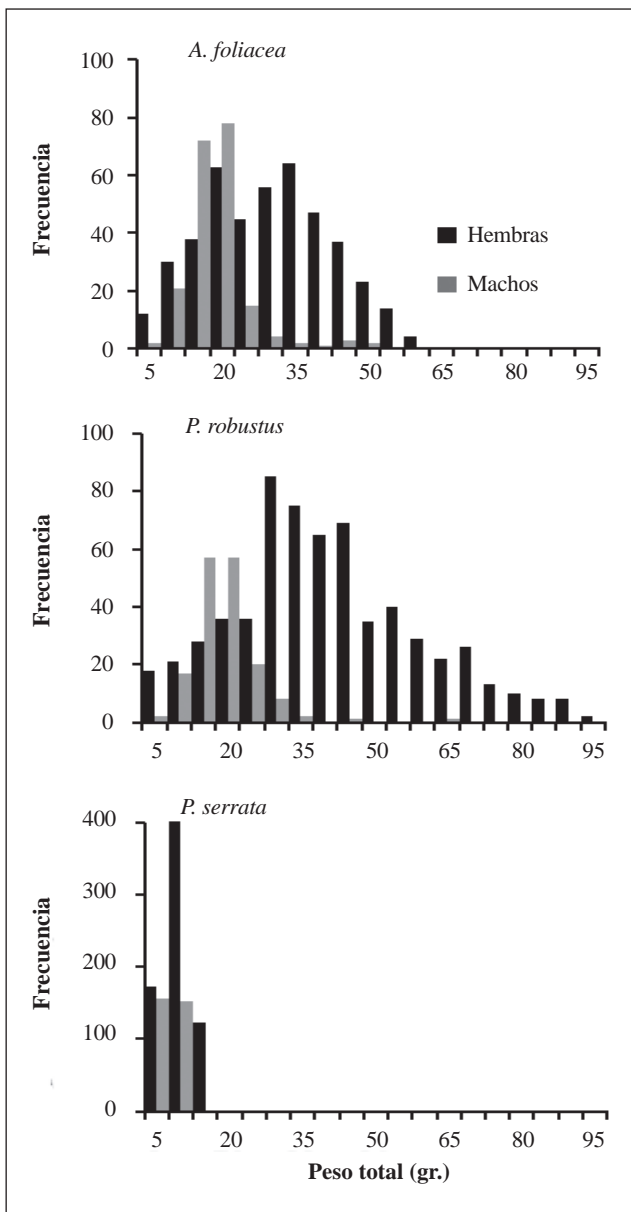


Figura 3. Distribuciones de frecuencia del peso total de los camarones de profundidad del Caribe colombiano

entre 5,10 y 96,10 gr (peso medio 43,34±19,02 gr) y en machos, entre 8,70 y 67,40 gr (peso medio 21,47±6,72 gr). La estructura del peso en las hembras de *P. serrata* estuvo entre 0,80 y 16,30 gr, con un peso medio de 7,21±2,83 gr, mientras que los pesos de los machos oscilaron entre 1,50 y 10,40 gr, con un peso medio de 5,00±1,66 gr.

La proporción sexual en todos los camarones de profundidad mostró diferencias significativas (p=0,000) entre el número de hembras y machos por clase de talla al compararla con una constante de referencia de 50 % de razón sexual. La razón sexual de acuerdo a la clase de talla evidenció que la proporción de hembras fue alta en las tallas menores. Se encontró una gran proporción de hembras de gamba española (*A. foliacea*) de hasta 100 mm de LT, aunque dicha medida fue variable, pues disminuyó hasta 29,41 % a los 110 mm de la LT, y a partir de 130 mm y hasta los 140 mm de LT volvió a incrementarse a 63,33 % para luego mantenerse en 97,72 % en las tallas mayores de 150 mm de LT (Figura 4). El 100 % de las hembras de camarón rojo real (*P. robustus*) tuvo tallas menores hasta la clase de 100 mm de LT, pero la proporción disminuyó en las hembras a partir de la clase de talla de 110 mm de LT a 83 % y después siguió disminuyendo hasta llegar a 35,29 % en las hembras en la clase de tallas de 130 mm de LT y 31,03 % en la clase de tallas de 140 mm de LT. Posteriormente, la razón sexual aumentó en favor de las hembras hasta alcanzar 97,27 % en la clase de tallas de 170 mm de LT. En las tallas menores de camarón rosado manchado (*P. serrata*) se encontró la proporción sexual de 50 % en la clase de talla de 50 mm de LT, la cual aumentó hasta 62,16 % en la clase de 70 mm de LT para luego disminuir hasta 42,15 % en la clase de 80 mm de LT; en la clase de talla de 90 mm de LT la razón sexual llegó a 56,57 % de hembras y siguió aumentando hasta llegar a 100 % en la clase de tallas de 130 mm de LT.

La talla media de madurez sexual (LT_{50%}) para las hembras de *A. foliacea* fue de 144,42 mm LT (32,3 % inmaduras y 67,7 % maduras); para *P. robustus* fue de 147,36 mm LT (26,8 % inmaduras y 73,2 % maduras), y para *P. serrata* fue de 75,71 mm LT (12,4 % inmaduras y 87,6 % maduras) (Figura 5; Tabla 2).

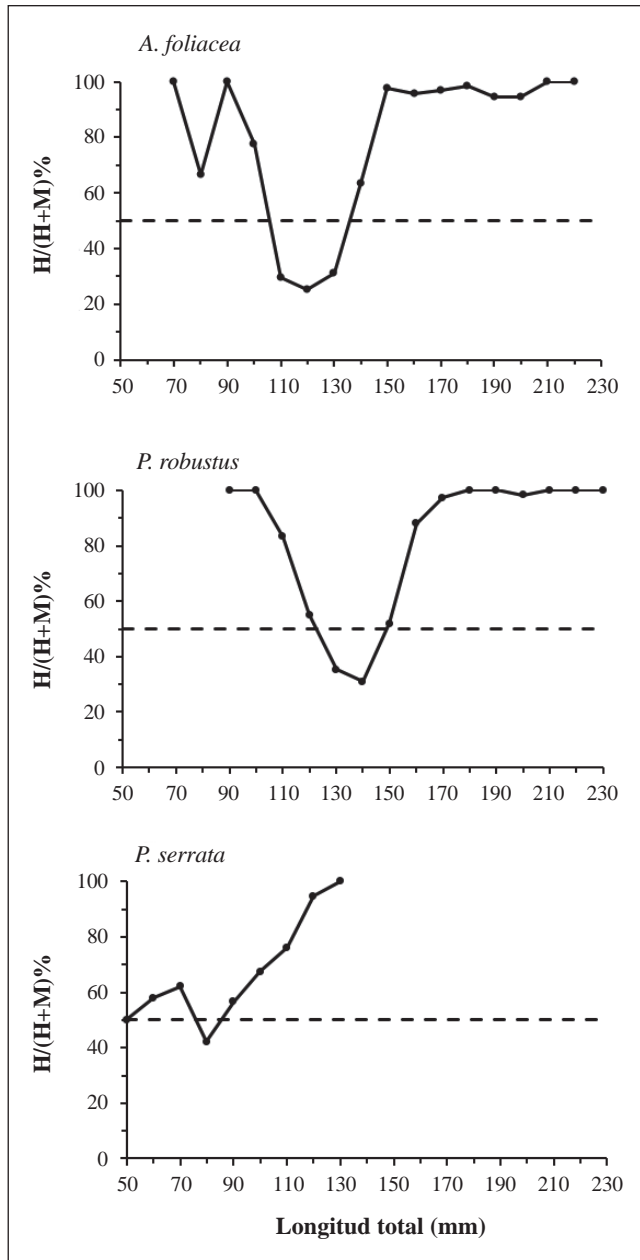


Figura 4. Razón sexual de hembras (H) y machos (M) de los camarones de profundidad del Caribe colombiano

Discusión

La talla media de captura de *A. foliacea* (hembras: 163,95 mm LT; machos: 130,60 mm LT) fue similar a la talla media reportada para una región de pesca sin explotación en el mar Jónico en Grecia (Papaconstantinou & Kapiris, 2003). En *P. robustus* la talla media fue similar a la reportada en una región de pesca sin explotación frente a la península de Yucatán en México (Gracia, et al., 2010). En el mar Jónico en Grecia se encontraron diferencias significativas entre los sexos de *A. foliacea*: la talla media de las hembras fue de 156,85 mm LT y la de los machos de 120,43 mm

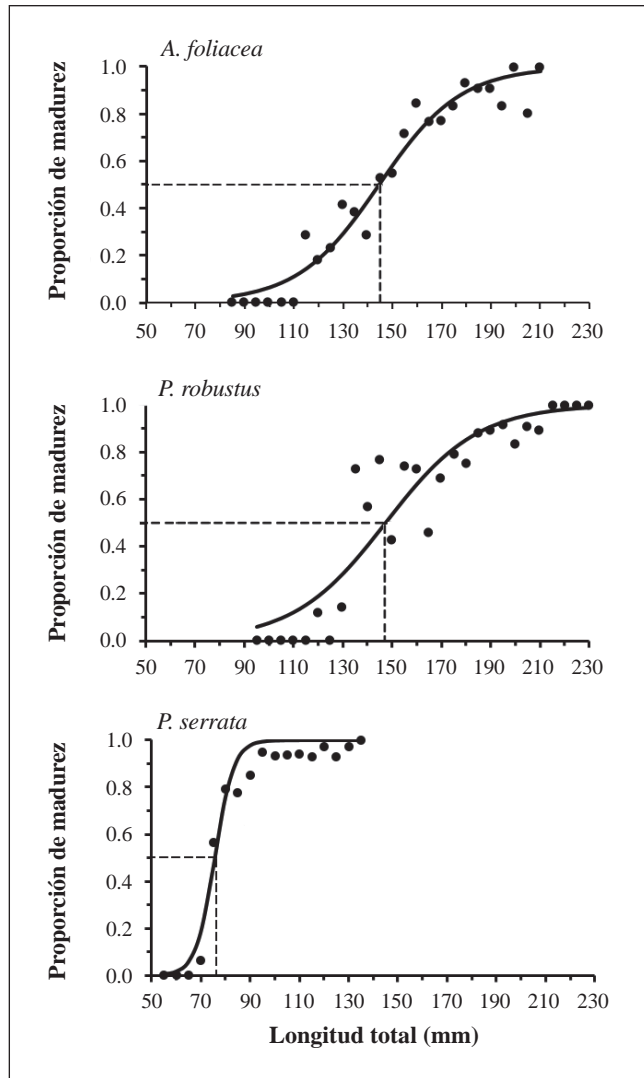


Figura 5. Talla media de madurez sexual ($LT_{50\%}$) de los camarones de profundidad del Caribe colombiano

Tabla 2. Parámetros de talla media de madurez ($LT_{50\%}$) de los camarones de profundidad del Caribe colombiano

| Parámetro | <i>A. foliacea</i> | <i>P. robustus</i> | <i>P. serrata</i> |
|------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| a | 8,74 | 7,89 | 19,90 |
| b | -0,06 | -0,05 | -0,26 |
| $LT_{50\%}$ (mm) | 144,42 | 147,36 | 75,71 |
| r^2 | 0,95 | 0,86 | 0,96 |

LT (Papaconstantinou & Kapiris, 2003), lo cual coincide con nuestros resultados (Tabla 1; Figura 2). La talla media de madurez de las hembras de *A. foliacea* en el presente estudio fue similar a la talla media de madurez en el oeste del Mediterráneo (150,81 mm LT, Belcari, et al., 2003) y en el noroeste del mar Jónico en el Mediterráneo (160,72 mm LT) (Carlucci, et al., 2006). En cuanto a los

aspectos reproductivos de *A. foliacea*, se ha sugerido que el desarrollo de los ovarios es inducido por la copulación. Los machos tienen una actividad reproductiva más extensa que las hembras. Las hembras inmaduras reciben los espermátóforos de los machos maduros y los conservan hasta su maduración sexual (**Kapiris & Thessalou-Legaki**, 2009). Las hembras de *A. foliacea* comienzan su actividad reproductiva en el segundo año de vida (**Politou, et al.**, 2004), por lo tanto, la gran proporción de individuos de crustáceos de profundidad con tallas grandes encontrada en este estudio, y el hecho de que la talla media de captura fue mayor que la $LT_{50\%}$, refleja la existencia de poblaciones sin explotar en el Caribe colombiano.

La relación de la razón sexual con la talla y la distribución de frecuencia mostró claramente un predominio de hembras en los grupos de talla menor en *A. foliacea* y *P. robustus*. Sin embargo, en los grupos de talla menor de *P. serrata* la proporción de sexos fue igual. La razón sexual de *A. foliacea* registrada en el occidente del mar Mediterráneo se inclinó significativamente en favor de las hembras, aunque favoreció a los machos en las clases de talla intermedia y a las hembras en las clases de talla mayor (**Belcari, et al.**, 2003). Otro estudio en el mar Mediterráneo encontró que, en general, la razón sexual en *A. foliacea* estuvo a favor de las hembras; en los individuos de menos de 118,09 mm de LT estuvo a favor de las hembras y en las clases de más de 118,09 mm de LT estuvo a favor de los machos (**Politou, et al.**, 2004). Sin embargo, la razón sexual de *A. foliacea* en el mar Jónico en Grecia mostró un predominio de los machos. El patrón general es que en los machos se presentan dos modas anuales mientras que en las hembras se dan tres o cuatro. Además, las hembras presentan una alta tasa de crecimiento y la mortalidad natural es mayor en los machos que en las hembras (**Papaconstantinou & Kapiris**, 2003). La explicación de la relación de la razón sexual con la talla puede responder a las diferencias sexuales en el crecimiento, a la mortalidad o a la migración (**Siegel, et al.**, 2008). De hecho, las diferencias en la mortalidad natural entre los sexos es un factor que contribuye potencialmente a la desigualdad de la razón sexual (**Wenner**, 1972). En este sentido, si las tasas de crecimiento y mortalidad de machos y hembras fueran las mismas, la razón sexual debería permanecer constante; por el contrario, para que haya aumentos y reducciones en ciertas clases de talla debe haber diferencias en las distribuciones de frecuencia de talla entre hembras y machos con altas tasas de crecimiento en un sexo comparado con el otro. Por lo tanto, el patrón de la razón sexual es un resultado de los efectos mezclados de las diferencias en la tasa de crecimiento entre machos y hembras, de las tasas de mortalidad y de la composición de las edades (**Siegel, et al.**, 2008).

En el estrecho de Sicilia (mar Mediterráneo), el desembarco de *A. foliacea* se estima en 1.000 toneladas por año, con un valor de alrededor de 15 millones de dólares (**Ragonese, et**

al., 1997, 2002). *A. foliacea* representa un tercio de la biomasa total que se desembarca en el puerto Santo Stefano (Italia), lo que se traduce en altos ingresos económicos (**Belcari, et al.**, 2003). En estudios anteriores en el Caribe colombiano se ha señalado el potencial de una nueva pesquería de crustáceos de profundidad con gran valor comercial no solo a nivel local sino en mercados internacionales. Sin embargo, se necesita más investigación biológica para entender los parámetros del ciclo de vida de los crustáceos de aguas profundas en el Caribe colombiano, tales como el crecimiento, la reproducción, el reclutamiento, la mortalidad, las áreas y épocas de desove, las áreas de crianza y la biodiversidad asociada, antes de la iniciar una iniciativa de ese tipo (**Paramo**, 2011; **Paramo, et al.**, 2011; **Paramo & Saint-Paul**, 2012a, b, c). Esta información ayudará a desarrollar estrategias apropiadas para iniciar, manejar y sostener una nueva pesquería comercial con criterio ecosistémico (**Bianchi**, 2008). Por último, se recomienda hacer un estudio mensual para conocer los aspectos reproductivos de los crustáceos de aguas profundas: la época reproductiva y el máximo potencial reproductivo con la presencia de espermátóforos en el telicum, lo cual indicaría que ha habido apareamiento, así como estudios histológicos para comprobar los estadios de madurez gonadal y la actividad de mudas durante el año y estudios de selectividad y uso de dispositivos excluidores de fauna acompañante.

Agradecimientos

Agradecemos a la tripulación del barco "Tee Claude" y al Capitán José Guillén. Este proyecto fue financiado por Colciencias (código 117-452-21288), la Universidad del Magdalena, el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) a través de la Subgerencia de Pesca y Acuicultura, y la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP) (convenio No. 790).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- Baeza, J.A., Piantoni, C.** 2010. Sexual system, sex ratio, and group living in the shrimp *Thor amboinensis* (De Man): Relevance to resource-monopolization and sex-allocation theories. *Biol. Bull.* **219**:151-165.
- Belcari, P., Viva, C., Mori, M., De Ranieri, S.** 2003. Fishery and biology of *Aristaeomorphafoliacea* (Risso, 1827) (Crustacea: Decapoda) in the Northern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean). *J. Northw. Atlant. Fish. Sci.* **31**:195-204.
- Bianchi, G.** 2008. The concept of the ecosystem approach to fisheries. In: Bianchi, G., Skjoldal, H.R. (editors). *The ecosystem approach to fisheries*. CAB and FAO, Rome, p. 20-38.
- Borgmann, U.** 1987. Models on the slope of, and biomass flow up, the biomass size spectrum. *Can J Fish Aquat Sci.* **44** (2):136-140.

- Boudreau, P. R., Dickie, L. M.** 1992. Biomass spectra of aquatic ecosystems in relation to fisheries yield. *Can J Fish Aquat Sci.* **49** (8): 1528-1538
- Carlucci, R., D'Onghia, G., Sion, L., Maiorano, P., Tursi, A.** 2006. Selectivity parameters and size at first maturity in deep-water shrimps, *Aristaeo morphafoliacea* (Risso, 1827) and *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), from the North-Western Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Dev. Hydrobiol.* **184**: 145-154.
- Calder, W.** 2001. Ecological consequences of body size. *Encyclopedia of life sciences*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester. DOI: 10.1038/npg.els.0003208
- Company J.B., Sarda, F.** 1997. Reproductive patterns and populations characteristics of five deep water pandalid shrimps in the western Mediterranean along a depth gradient (150-1100 m). *Mar. Ecol. P.S.* **148**: 49-58.
- Charnov, E.L., Gotshall, D.W., Robinson, J.G.** 1978. Sex ratio: Adaptive adjustments to population fluctuations in pandalid shrimp. *Science*, **200**: 204-206.
- Charnov, E. L. & Hannah, R.W.** 2002. Shrimp adjust their sex ratio to fluctuating age distributions. *Evolutionary Ecology Research.* **4**: 239-246.
- Chiba, S., Yoshino, K., Kanaiwa, M., Kawajiri, T., Goshima, S.** 2006. Maladaptive sex ratio adjustment by e sex changing shrimp in selective fishing environments. *Journal of Animal Ecology.* **82**: 632-641.
- Daan, N., Gislason, H., Pope, J.G., Rice, J.C.** 2005. Changes in the North Sea fish community: Evidence of indirect effects of fishing. *ICES J. Mar. Sci./J. Cons. int. Explor. Mer.* **62**: 177-188.
- Dallagnolo, R., Pérez, J.A.A., Pezzuto, P.R., Wahrlich, R.** 2009. The deep-sea shrimp fishery off Brazil (Decapoda: Aristeidae) development and present status. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* **37** (3): 327-346.
- D'onghia, G., Tursi, A., Maiorano, P., Panza, M.** 1998. Distribution, biology, and population dynamics of *Aristaeo morphafoliacea* (Risso, 1827) (Decapoda, Natantia, Aristeidae) in the north-western Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Crustaceana.* **71**: 518-544.
- Figueiredo, M.J., Figueiredo, I., Machado, P.B.** 2001. Deep-water penaeid shrimps (Crustacea: Decapoda) from off the Portuguese continental slope: An alternative future resource? *Fish. Res.* **51**: 321-326.
- Gracia A., Vázquez-Bader A.R., Lozano-Álvarez E., Briones-Fourzán, P.** 2010. Deep-water shrimp (Crustacea: Penaeoidea) off the Yucatan peninsula (southern Gulf of Mexico): A potential fishing resource. *J. Shellfish Res.* **29**: 37-43.
- Gotelli, N.J., Ellison, A.M.** 2004. *A primer of ecological statistics.* Sinauer Associates. Sunderland, MA.
- Grabowsky, R., Morilhas-Simoes, S., Castilho, A.** 2014. Population structure, sex ratio and growth of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Decapoda, Penaeidae) from coastal waters of southern Brazil. *ZooKeys.* **457**: 253-269.
- Haedrich, R.L. & Barnes, S.M.** 1997. Ecological consequences of body size. *Fish Res.* **31**: 229-239.
- Holthuis, L.B.** 1980. Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. (FAO Species Catalogue, 1). *FAO Fisheries Synopsis.* **125** (1): 1-271.
- Jennings, S. & Dulvy, N.K.** 2005. Reference points and reference directions for size-based indicators of community structure. *ICES J. Mar. Sci.* **62**: 397-404.
- Kapiris, K. & Thessalou-Legaki, M.** 2009. Comparative reproduction aspects of the deep-water shrimps *Aristaeo morphafoliacea* and *Aristeus antennatus* (Decapoda, Aristeidae) in the Greek Ionian Sea (Eastern Mediterranean). *International Journal of Zoology.* Article ID 979512, 9 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2009/979512>
- King, M.** 2007. *Fisheries Biology, Assessment and Management.* Wiley-Blackwell. Oxford, UK. 400 p.
- King, M.** 1984. The species and depth distribution of deep water Caridean shrimps (Decapoda, Caridea) near some southwest Pacific Islands. *Crustaceana.* **47** (2): 174-191.
- Koeller, P., Mohn, R., Etter, M.** 2000. Density dependant sex change in Northern shrimp *Pandalus borealis* on the Scotian Shelf. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* **27**: 107-118.
- Lizárraga-Cubedo, H.A., Pierce, G.J., Santos, M.B.** 2008. Reproduction of crustaceans in relation to fisheries: 169-222 (en) MENTE, E. (editor) *Reproductive biology of crustaceans.* Science Publishers, Enfield. 565 p.
- Levi, D. & Vacchi, M.** 1988. Macroscopic scale for simple and rapid determination of sexual maturity in *Aristaeo morphafoliacea* (Risso, 1826) (Decapoda: Penaeidae). *J Crustacean Biol.* **8**: 532-538.
- Mytilineou, S., Kavadas, C., Politou, Y., Kapiris, K., Tursi, A., Maiorano, P.** 2006. Catch composition on red shrimps' (*Aristaeomorpha foliacea* and *Aristeus antennatus*) grounds in the Eastern Ionian Sea. *Dev. Hydrobiol.* **184**: 155-160.
- Mouffok, S., Massuti, E., Boutiba, Z., Guijarro, B., Ordines, F., Fliti, K.** 2008. Ecology and fishery of the deep-water shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) off Algeria (South-western Mediterranean). *Crustaceana.* **81** (10): 1177-1199.
- Mura, M., Murenu, M., Cau, A.** 2002. The occurrence of *Penaeopsis serrata* Bate 1881 (Decapoda, Penaeidae) in the Middle-West Mediterranean Sea. *Crustaceana.* **75** (10): 1263-1269.
- Papaconstantinou, C. & Kapiris, K.** 2003. The biology of the giant red shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) at an unexploited fishing ground in the Greek Ionian Sea. *Fish. Res.*, **62**: 37-51.
- Paramo, J.** 2011. *Deep-sea fishery in the Colombian Caribbean Sea: Management and conservation strategies for an ecosystem approach to fisheries.* PhD Thesis. Universität Bremen, Alemania. 141 p.
- Paramo, J., Saint-Paul, U., Moreno, F., Pacheco, M., Almanza, M., Rodríguez, E., Ardila, G., Borda, C., Barreto, C., González, H.** 2011. *Crustáceos de profundidad en el Caribe*

- colombiano como nuevo recurso pesquero. Informe final. ISBN: 9789584485236. 26 p.
- Paramo, J. & Saint-Paul, U.** 2012a. Deep-sea shrimps *Aristaeomorpha foliacea* and *Pleoticus robustus* (Crustacea: Penaeoidea) in the Colombian Caribbean Sea as a new potential fishing resource. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **92** (4): 811-818.
- Paramo, J. & Saint-Paul, U.** 2012b. Spatial structure of the pink speckled deep-sea shrimp *Penaeopsis serrata* (Bate, 1881) (Decapoda, Penaeidae) during November-December 2009 in the Colombian Caribbean Sea. *Crustaceana.* **85** (1): 103-116.
- Paramo, J. & Saint-Paul, U.** 2012c. Spatial structure of deep sea lobster (*Metanephrops binghami*) in the Colombian Caribbean Sea. *Helg. Mar. Res.* **66**: 25-31.
- Pérez-Farfante, I.** 1980. Review of the penaeid shrimp genus *Penaeopsis* (Crustacea: Decapoda). *Fish. Bull., U.S.* **77** (4): 721-763.
- Pezzuto, R., Pérez, J.A.A., Wahrlich, R.** 2006. Deep-sea shrimps (Decapoda: Aristeidae): New targets of the deep-water trawling fishery in Brazil. *Braz. J. Oceanog.* **54**: 123-134.
- Politou, Ch-Y., Kapiris, K., Maiorano, P., Capezzuto, F., Dokos, J.** 2004. Deep-sea Mediterranean biology: The case of *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) (Crustacea: Decapoda: Aristidae). *Sci. Mar.* **68** (3): 129-139.
- Pongtippatee, P., Laburee, K., Thaweethamsewee, P., Hiranphan, R., Asuvapongpatana, S., Weerachatanukul, W., Srisawat, T., Withayachumnarnkul, B.** 2012. Triploid *Penaeus monodon*: Sex ratio and growth rate. *Aquaculture.* **356-357**: 7-13.
- Ragonese, S., Bertolino, F., Branchini, M.L.** 1997. *Biometric relationships of the red shrimp, Aristaeomorpha foliacea Risso 1827, in the Strait of Sicily (Mediterranean Sea).* *Sci. Mar.* **61** (3): 367-377.
- Ragonese, S., Branchini, M.L., Di Stefano, L.** 2002. *Trawl cod-end selectivity for deepwater red shrimp (Aristaeomorpha foliacea, Risso 1827) in the strait of Sicily (Mediterranean Sea).* *Fish. Res.* **57**: 131-144.
- Rochet M.J. & Trenkel, V.** 2003. Which community indicators can measure the impact of fishing? A review and proposals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **60**: 86-99.
- Rice, J.** 2003. Environmental health indicators. *Ocean. Coast. Manag.* **46** (3): 235-259.
- Shin, Y.J., Rochet, M.J., Jennings, S., Field, J.G., Gislason, H.** 2005. Using size-based indicators to evaluate the ecosystem effects of fishing. *ICES J. Mar. Sci.* **62**: 384-396.
- Siegel, V., Damm, U., Neudecker, T.** 2008. Sex-ratio, seasonality and long-term variation in maturation and spawning of the brown shrimp *Crangon crangon* (L.) in the German Bight (North Sea). *Helgol. Mar. Res.* **62** (4): 339-349.
- Tavares, M.** 2002. Shrimps: 251-291 (en) CARPENTER, K. E. (editor) *The living marine resources of the western central Atlantic, species identification guide for fisheries purposes.* FAO, Rome. 600 p.
- Yemane, D., Field, J.G., Leslie, R.W.** 2008. Indicators of change in the size structure of fish communities: A case study from the south coast of South Africa. *Fish. Res.* **93**: 163-172.
- Wenner, A.M.** 1972. Sex ratio as a function of size in marine Crustacea. *Amer. Naturalist.* **106**: 321-351.

A case of regional metamorphism of Buchan type (andalusite-cordierite) in the Northern Santander Massif, Eastern Cordillera (Colombia)

Oscar M. Castellanos¹, Carlos A. Ríos^{2,*}

¹Grupo de Investigación en Geofísica y Geología (PANGEA), Programa de Geología, Universidad de Pamplona, Colombia

²Grupo de Investigación en Geología Básica y Aplicada (GIGBA), Escuela de Geología, Universidad Industrial de Santander, Colombia

Abstract

The Lower Paleozoic Silgará Formation in the northern Santander Massif was affected by Caledonian prograde regional metamorphism, which varies from low to medium grade and is represented by greenschist, epidote-amphibolite and amphibolite facies. The Silgará Formation shows evidence of a regional metamorphism of Buchan type (andalusite-cordierite) attributed to a crust that was affected by a considerable addition of heat due to magmas which was overimposed on the Barrovian metamorphism that characterize this massif. An anticlockwise PT path reveals that the initial conditions are represented by the mineral assemblage of chloritoid+pyrophyllite+chlorite (all assemblages with quartz+muscovite) in greenschist facies and the final conditions correspond to the mineral assemblage of sillimanite+biotite+cordierite (+muscovite+quartz+garnet if sufficient MnO and CaO are present) in amphibolite facies due to the reaction andalusite = sillimanite occurred at 600 °C and 2.4 kbar. Additionally, in these rocks several deformation events and evidences of shearing and intracrystalline deformation were found.

Key words: Silgará Formation, Santander Massif, mineral assemblages, metamorphism, P-T path.

Un caso de metamorfismo regional tipo Buchan (andalucita-cordierita) en la región Norte del Macizo de Santander, Cordillera Oriental (Colombia)

Resumen

La Formación Silgará del Paleozoico Inferior en la parte norte del Macizo de Santander fue afectada por un metamorfismo regional progrado Caledoniano, el cual varía de bajo a medio grado y está representado por las facies esquistos verdes, epidota-anfibolita y anfibolita. La Formación Silgará muestra evidencia de un metamorfismo regional de tipo Buchan (andalucita-cordierita) atribuido a una corteza que ha sido afectada por una adición considerable de calor debido a magmas, el cual fue sobreimpuesto al metamorfismo Barroviense que caracteriza a este macizo. Una trayectoria de PT antihoraria revela que las condiciones iniciales están representadas por la asociación mineral de cloritoide+pirofilita+clorita (todos las paragénesis con cuarzo+moscovita) en la facies de esquistos verdes y las condiciones finales corresponden a la asociación mineral de silimanita + biotita + cordierita (+moscovita+cuarzo+granate si suficiente MnO y CaO están presentes) en la facies anfibolita debido a la reacción andalucita = silimanita que ocurrió a 600 °C y 2.4 kbar. Adicionalmente, en estas rocas se encontraron varios eventos de deformación y evidencias de cizallamiento y deformación intracristalina

Palabras clave: formación Silgará, Macizo de Santander, paragénesis minera, metamorfismo, trayectoria P-T.

Introduction

The Santander Massif is situated in the Eastern Cordillera (Colombian Andes), where it is divided into the NE–SW-trending Perijá range in Colombia and the ENE–WSW-trending Mérida Andes in Venezuela (Figure 1). During the last decades, the Santander Massif's metamorphic rocks have been focus of interest in several studies (e.g., Restrepo-Pace, 1995; Restrepo-Pace *et al.*, 1997; Schäfer *et al.* 1998; Ríos, 1999, 2001, 2005; Castellanos, 2001; Mantilla *et al.*, 2001, 2002, 2003; Ríos *et al.* 2003a, 2003b, 2008a, 2008b;

Cardona, 2003; Castellanos *et al.*, 2004, 2008, 2010; García *et al.*, 2005), which mostly were directed towards the estimation of metamorphic conditions, considering the importance of this ancient massif as key to understanding the complex geotectonic evolution of the northwestern continental margin of South America. The pre-Devonian

*Corresponding author:

Carlos A. Ríos, carios@uis.edu.co

Recibido: 20 de enero de 2015

Aceptado: 2 de junio de 2014

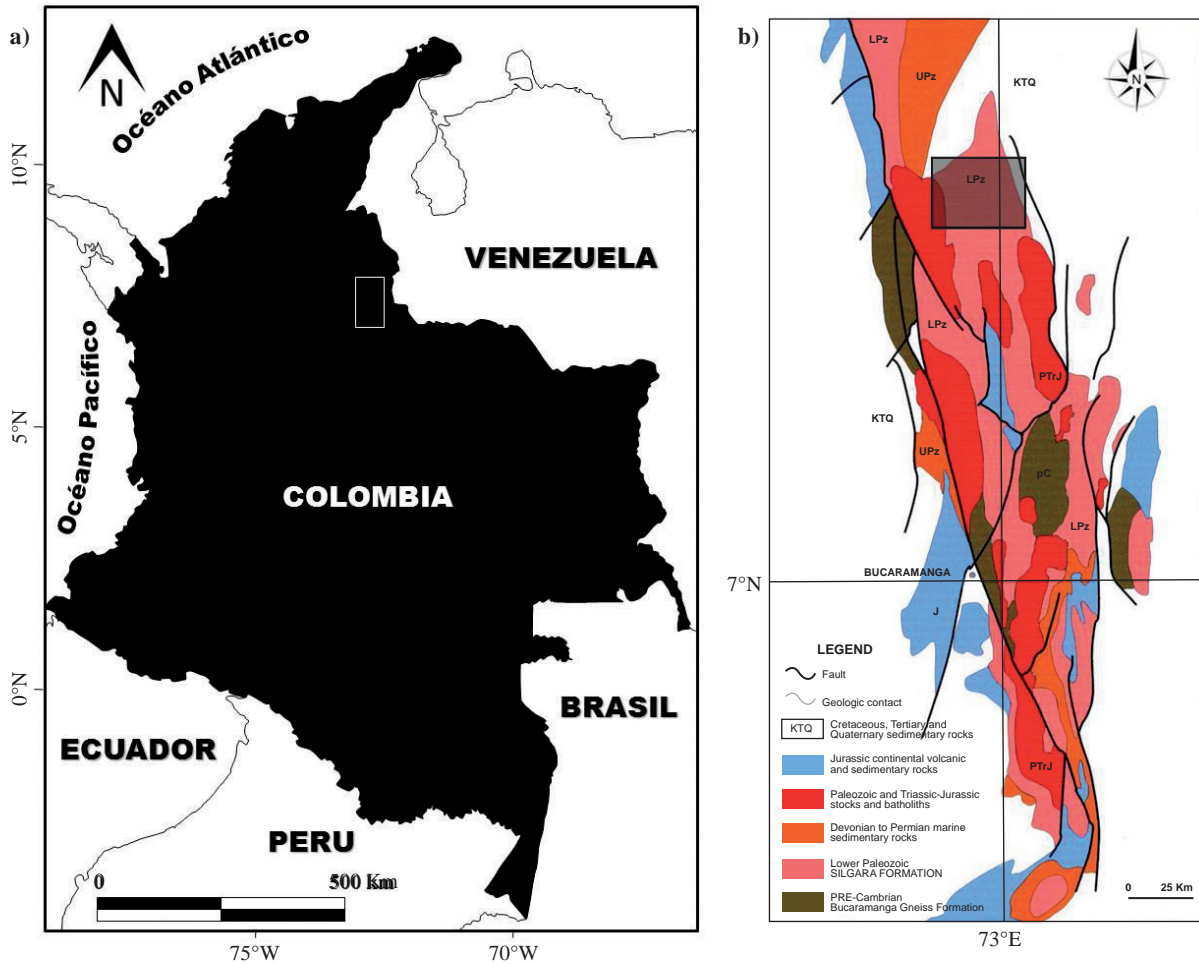


Figure 1. (a) General sketch of the location of the Santander Massif. (b) Generalized geological map of the Santander Massif (adapted and modified after Goldsmith *et al.*, 1971).

metamorphic complex of the Santander Massif have been divided into the following geological units, in ascending order of tectono-stratigraphic level: Bucaramanga Gneiss Complex, Silgará Schists Formation, Chicamocha Schists Formation, Orthogneiss and San Pedro Phyllites Formation (e.g., Ward *et al.*, 1973; Mantilla *et al.*, 2015), all of which are cut by intrusive rocks that recorded magmatic events of Caledonian to Jurassic age (Goldsmith *et al.*, 1971; Banks *et al.*, 1985; Boinet *et al.*, 1985; Dörr *et al.*, 1995; Restrepo-Pace, 1995; Ordóñez, 2003; Ordóñez and Mantilla, 2005). Mantilla *et al.* (2015) reported the following U-Pb ages from detrital zircons: a Neo-Proterozoic age (~900 Ma) for the Silgará Schists Formation, and a Middle Cambrian age (~500 Ma) for the Chicamocha Schists Formation. According to Mantilla *et al.* (2015), the climax of the metamorphism that affected these metamorphic units occurred during the main event of the Fammatinian orogeny (Early Ordovician; 480-470 Ma), which can be related to the emplacement of syntectonic granitoids of ages between 480 and 472 Ma that form part of the Orthogneiss (e.g., Mantilla *et al.*, 2012). On the other hand, the San Pedro Phyllites Formation

represents the youngest metamorphic unit in the Santander Massif, with a Late Ordovician age (>450 Ma), although the metamorphism that affected it has not been determined by geochronologic methods (Mantilla *et al.*, 2015). This metamorphic event, which has produced very low grade metamorphic rocks (e.g., phyllites and metasedimentary rocks, such as those observed in the sutu area), can be related with a minor event of the Fammatinian orogeny (Mantilla *et al.*, 2015). The basement of the Santander Massif is unconformably overlain by sedimentary sequences of Devonian to Tertiary age (Ward *et al.*, 1973). Ríos and co-workers (Ríos, 1999, 2001, 2005; Ríos and Takasu, 1999; Campos, 1999; Montenegro y Barragán, 1999; García y Campos, 2000; Ríos and García, 2001; Castellanos, 2001; Mantilla *et al.*, 2001, 2002, 2003; Gévez and Márquez, 2002; Ríos *et al.* 2003a, 2003b, 2008a, 2008b; Cardona, 2003; Castellanos *et al.*, 2004, 2008, 2010; García *et al.*, 2005; Gómez y Avila, 2006) have conducted in the last decade numerous studies on the geological evolution of the different metamorphic units outcropping in the Santander Massif, emphasizing on the metamorphic rocks

of the Silgará Formation, modifying the classic scheme of metamorphic zones and isograds proposed by **Ward *et al.*** (1969, 1970), revealing a complex history of metamorphism and deformation for this geologic unit. The purpose of this work is to reconstruct the tectono-metamorphic evolution of the metamorphic sequence of the Silgará Formation exposed in the Northern Santander Massif (NSM) as a contribution to knowledge and understanding of the development of orogenic processes in the Colombian Andes.

Geological context

The rocks of interest in this study correspond to the metapelitic sequence Silgará Formation exposed in the NSM, which generally trend NW and dip in a moderate to steep angles toward NE or NW. The main regional structure is represented by the NW-trending, nearly vertical Bucaramanga - Santa Marta Fault in the southwest of the study area, which is probably strike-slip with protracted deformation (**Goldsmith *et al.***, 1971), strongly influencing the tectonic in the study area as revealed by a very complex tectonic history. This fault is the responsible of a NW fault system, within which are the San Calixto, Las Mercedes, El Tarra and Hacari, the first two of them representing the

tectonic limits (thrusting faults) of the metapelitic sequence described above. The San Calixto Fault promotes the thrusting of Precambrian rocks on the igneous-metamorphic complex, whereas the Las Mercedes Fault promotes the thrusting of promotes the igneous-metamorphic complex on Cretaceous and Tertiary rocks. The metapelitic sequence of the Silgará Formation is divided in three long stripes; Western (Hacari - La Playa - Guayabal - Abrego - Tarra sector), Central (Tarra - La Curva sector), and Eastern (La Fortuna - Sardinata sector), as shown in Figure 2. It was affected by the quartzmonzonite Aguablanca Batholith and the Intrusive - Extrusive Igneous Complex (quartzmonzonite intrusive phase and rhyolite effusive - explosive volcanism series) of approximate NS direction. Here, the Silgará Formation is composed mainly of pelitic rocks with thin interlayers of psammitic, semipelitic, metabasic and metacarbonate rocks, which were affected by a regional metamorphism during the Caledonian orogeny, recognizing a different type of metamorphism as revealed by a progressive mineral sequence that defined a pattern of metamorphic zonation (biotite → andalusite → cordierite → sillimanite) after a metamorphism of Buchan type under low-P and high-T conditions. Pelitic rocks were affected by

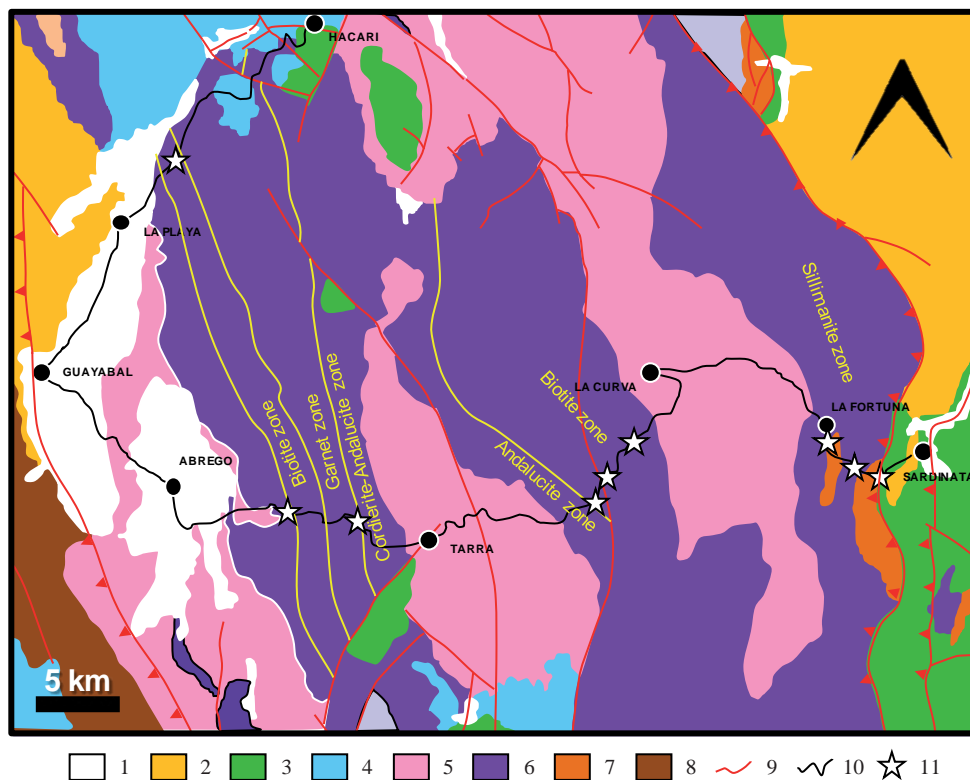


Figure 2. Generalized geological map of the study area, showing the three stripes in which the metapelitic sequence of the Silgará Formation is divided (modified after **Clavijo**, 1977). 1 (Quaternary sedimentary deposits); 2 (Tertiary continental sedimentary rocks); 3 (Cretaceous epicontinental sedimentary rocks); 4 (Jurassic continental sedimentary rocks); 5 (Jurassic acid and intermediate plutonic and volcanic rocks); 6 (Pre-Devonian metamorphic rocks of sedimentary protolith - Silgará Formation); 7 (Cambrian metamorphic rocks of igneous protolith - Orthogneiss); 8 (Precambrian metamorphic rocks of sedimentary protolith - Bucaramanga Gneiss Complex); 9 (Fault); 10 (Road); 11 (Sampling locality).

multiple deformations, giving rise to interference patterns. This metamorphism can be attributed to the igneous activity operating as metamorphism proceeds.

Figure 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/186/550>, illustrates several features about the field occurrence of metapelitic rocks of Silgará Formation in the NSM, particularly, in the western, central and eastern stripes, which are described as follows:

Western stripe (Figures 1Sa-1Sb). In this sector the metamorphic sequence is represented mainly by phyllites, quartzites, metasandstones and schists, the former being the predominant lithotype. These rocks show a tabular geometry (10-60 cm thick) and poorly developed schistose structure, slightly subparallel foliation, intense jointing, and yellowish brown to gray depending on the degree of alteration. In some cases, biotite aggregates giving a mottled appearance to the rock. Quartz veins (approximately 0.1 cm thick) are locally observed. Phyllites show a foliation with direction N5°E and dip 60°SE or 60°NW, although almost vertical foliations were also observed. Schists occur in two varieties; micaschists with or without cordierite and andalusite. The first of them occur as highly jointed massive bodies with schistose and mottled structure and subparallel foliation (direction 30-65°NW, dipping 60°NE and 60°SW, although almost vertical foliations were also observed); in some parts a compositional banding (0.4 cm thick) can be observed. The latter of them occur as highly jointed massive bodies with schistose structure and undulating subparallel foliation (N10°W/70°NE or N5°E/45°NW), but NS foliations and vertical dip were also observed. Quartz veins (0.5-1.5 cm thick) are locally observed. Other varieties of rocks are represented by quartzites, metasandstones and metaconglomerates cropping out along the Los Angeles and Paramillo streams, developing highly jointed tabular bodies with variable thickness (20-50 cm), with thin interbedded phyllites. Quartzites show a massive structure and they are very compact and are cross cut by quartz veins (0.1 cm thick). Metasandstones and metaconglomerates display a massive structure, although they locally develop a banded structure, with the last of them containing rounded boulders of about 0.5-1 cm in average diameter. Quartz veins (0.2 cm thick) were also observed. Micaschists and metawackes crop out towards the sector La Playa - Hacarí. Fine- to coarse-grained micaceous schists show a well-developed schistose and locally banded structure, parallel to undulating subparallel foliation. They are yellow-reddish depending on the degree of alteration and show little compaction because they break easily following the foliation surface. Fine-grained metawackes show a reddish color and present quartz porphyroclasts. In this stripe the average foliation is approximately of direction 5-35°NW and dip 45-60°NW or NS/60°E.

Central stripe (Figures 1Sc-1Se). Highly jointed and weathered medium-grained andalusite-bearing schists crop out in this sector, displaying a banded and slightly schistose

structure and parallel plane foliation (approximately N50°W/45°NE). Additionally, graphite slates with and without andalusite cropping out as structurally very complex bodies due to their high degree of jointing. The average foliation of these rocks is N60°W/45°NE. Very fine-grained andalusite-bearing graphite slates of light to dark gray color and silky luster show a poor-developed schistose structure, lepidoblastic texture and slightly subparallel foliation. Andalusite-absent graphite slates show similar features to those observed in andalusite-bearing graphite slates, except by the absence of andalusite. They generally show a dark gray color and higher weathering with rusty surfaces. Fine-grained graphite phyllites of dark gray and orange in rusty bands and silky luster occurs along with graphite slates described above, cropping out as tabular bodies of different thickness characterized by compositional banding of rusty appearance (approximately of 0.7-1.2 cm thick), lepidoblastic texture and coarse foliation. The average foliation of these rocks is N80°W/60°NE. Towards the center of this stripe, a sequence of interbedded slates and quartzites occurs. Quartzites crop out as thick tabular and very jointed bodies, which are characterized by a massive structure, compact appearance and granoblastic texture. They show light to dark gray and greenish gray color quartz veins of 0.1-0.2 cm thick. Sometimes, the quartzites show a compositional banding with very thin straight and parallel bands (≤ 0.1 cm) of dark green color. Highly jointed very fine-grained greenish gray slates crop out as tabular bodies of variable thickness (5-30 cm thick). They display a foliation of direction EW and vertical dipping or N85°W/60°NE. These rocks show a greenish gray color and silky luster, lepidoblastic texture and coarse foliation. In some cases, a distinct compositional banding is observed with green bands in different tones and thickness. Toward the right edge of this stripe, a sequence of interbedded quartzites and phyllites crops out, predominating the first of them. Very jointed and fine- to medium-grained quartzites occur as tabular bodies with average thickness of 40-70 cm. They are characterized by a massive structure, compact appearance, and lepidogranoblastic texture. Microveins of quartz (0.3 cm thick) and microfaults cross cut these rocks, which are mainly composed of quartz (some of this of coarse size), with muscovite and plagioclase. Fine-grained phyllites occur as tabular bodies of variable thickness, which are characterized by their poor-developed schistose structure, compact appearance, subparallel foliation, and dark bluish-gray color and silky luster.

Eastern stripe (Figures 1Sf). A sequence of medium- to coarse-grained micaceous schists characterized by the presence of sillimanite occurs in this stripe. These rocks show a gneissic to schistose structure, coarse to slightly subparallel foliation, lepidogranoblastic to granolepidoblastic texture, dark gray color, containing biotite, quartz, muscovite and plagioclase, among others. In parts quartz veins of 0.4 cm thickness are observed.

Metapelitic rocks are the major constituents of the Silgará Formation, with minor intercalations of metamafic rocks. They display a well-developed schistosity, though sedimentary bedding is locally preserved and well displayed in low-grade metamorphic rocks of the biotite zone. The lithology of the sequence is characterized by the occurrence of the following lithotypes: phyllites, metasandstones, metawackes, micaschists, quartzites, andalusite-bearing slates and schists, garnet-bearing sillimanite schists, andalusite- and cordierite-bearing micaschists and metagabres. General macroscopic characteristics of the metapelitic rocks Silgará Formation observed at the NSM are shown in Figure 2S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/186/551>.

Materials and methods

Petrographic analyses of different metapelitic rocks were carried out to establish their textural and structural features as well as their mineralogy, using the transmitted light microscopy (Nikon triocular microscope, model Labophot2-POL) of the School of Geology at the Universidad Industrial de Santander. On the other hand, this was very useful to deduce the reaction history of the metapelitic sequence, and its PT metamorphic conditions, constructing a PT path. The interpretations are based on the observed mineral assemblages in equilibrium in the lithotypes identified in this study, and the comparison between these mineral assemblages and results obtained by Ríos and co-workers (e.g., Ríos, 1999; Castellanos, 2001; Ríos *et al.* 2003a, 2008a; García *et al.*, 2005; Castellanos *et al.*, 2008) in other regions of the Santander Massif.

Petrography

A detailed petrographic study of thin sections was developed on all specimens. Figure 3 illustrates the main petrographic aspects of the Silgará Formation metapelitic rocks at the NSM. Mineral abbreviations are after Kretz (1983) and Bucher and Frey (1994). Mineral assemblages reveal that these rocks were affected by a regional metamorphism of Buchan type (andalusite-cordierite).

Slates

These rocks are composed mainly of biotite and ilmenite, and the typical mineral assemblage is quartz + biotite + muscovite. Plagioclase occurs as an accessory mineral. The protolith of the slates corresponds to very fine-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show lepidoblastic to granolepidoblastic textures, which are defined by the orientation of biotite and ilmenite. Figures 3a1 and 3a2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Phyllites

These rocks are characterized by the presence of muscovite and quartz, and the typical mineral assemblages are quartz +

muscovite + biotite; quartz + muscovite + chlorite. Epidote, chloritoid, titanite and zircon occur as accessory minerals. Their protolith corresponds to fine-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a lepidoblastic to granolepidoblastic textures, which are defined by the alignment of muscovite. Figures 3b1 and 3b2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Slightly conglomeratic metasandstones

These rocks are characterized by the following mineral assemblages: quartz + muscovite + biotite; quartz + biotite + plagioclase ± K-feldspar; quartz + biotite + microcline. Apatite is the main accessory mineral. Their protolith corresponds to coarse-grained detritic quartz-rich sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a lepidogranoblastic texture, although a porphyroblastic texture with granolepidoblastic matrix can be locally recognized. Figures 3c1 and 3c2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Metawackes

These rocks are composed of quartz, muscovite, chlorite, and oxide minerals in a muddy matrix of brown color and earthy character. They show porphyroblasts of quartz, muscovite and oxide phases. Apatite is the main accessory mineral.

Micaschists without garnet

These rocks are composed mainly of biotite and muscovite, and the typical mineral assemblages are quartz + biotite + muscovite; quartz + plagioclase + muscovite; quartz + plagioclase + biotite. Epidote, zircon and tourmaline are the main accessory phases. Their protolith corresponds to medium- to coarse-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a lepidogranoblastic to granolepidoblastic texture, which is defined by the alignment of mica minerals, developing a schistose structure. Figures 3d1 and 3d2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Micaschists with garnet

These rocks are composed mainly of muscovite, with minor quartz, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite ± garnet. Tourmaline occurs as the main accessory phase. Their protolith corresponds to medium- to coarse-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a porphyroblastic texture with granolepidoblastic matrix, which is defined by the alignment of muscovite. Figures 3e1 and 3e2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

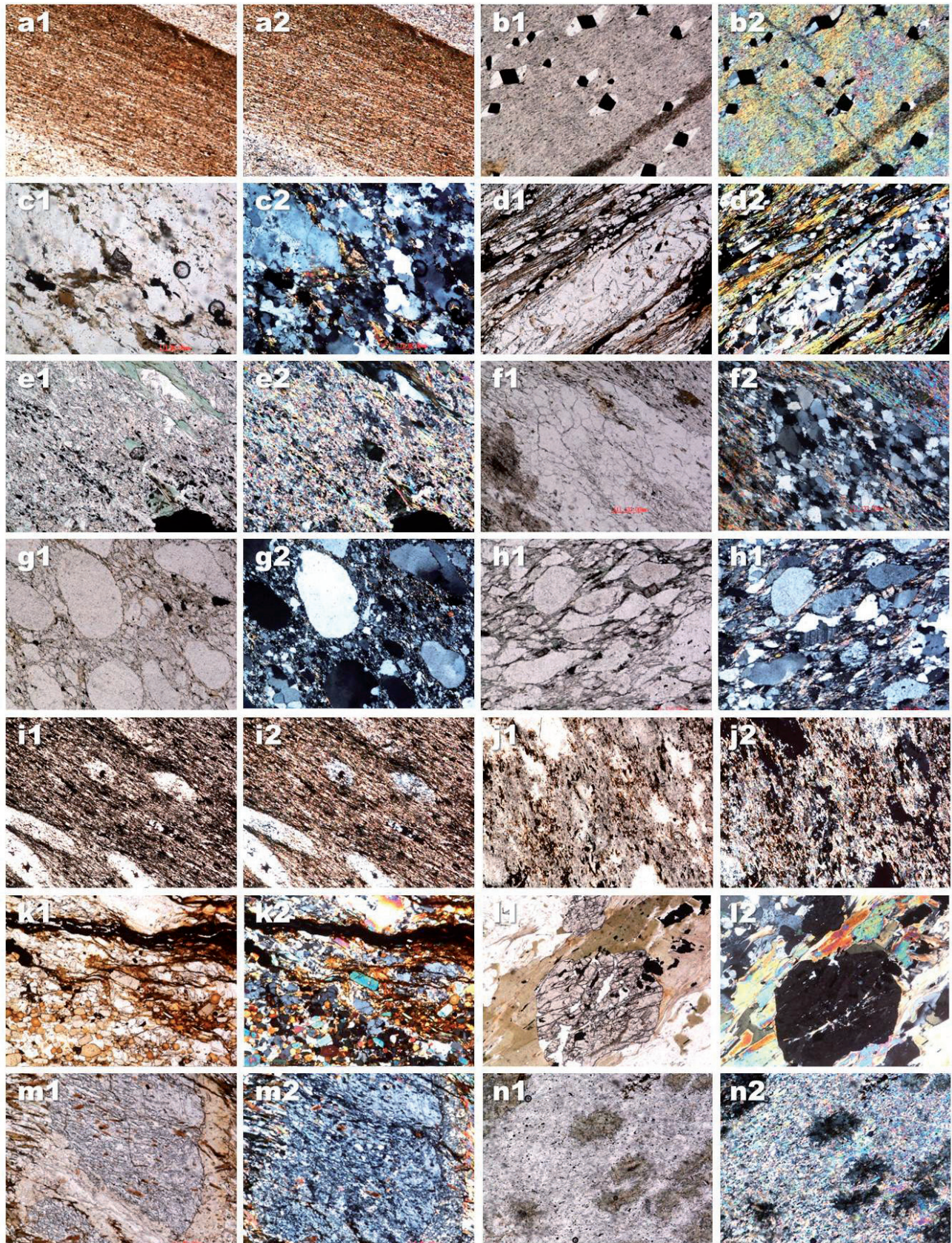


Figure 3. Photomicrographs in plane-polarized light and crossed-polarized light, respectively, of the different lithotypes identified in the metapelitic rocks of the Silgará Formation at the NSM.

Muscovite schists

These rocks are composed mainly of muscovite, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite + biotite. Zircon and epidote occurs as the main accessory phases. Their protolith corresponds to medium- grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a granolepidoblastic to lepidogranoblastic texture, which is defined by the alignment of muscovite. Figures 3f1 and 3f2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Quartzites

These rocks are characterized by the following mineral assemblages: quartz + muscovite + biotite; quartz + plagioclase + muscovite. The accessory minerals are tourmaline, zircon and apatite. Their protolith corresponds to medium- to coarse-grained detritic quartz-rich sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a granoblastic texture Figures 3g1 and 3g2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Micaceous quartzites

These rocks are characterized by a high content of micaeous minerals, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite ± plagioclase. The accessory minerals are tourmaline, zircon and apatite. Their protolith corresponds to medium- to coarse-grained detritic quartz-rich sediments, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a lepidogranoblastic texture. Figures 3h1 and 3h2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Andalusite-bearing graphite slates

These rocks are characterized by the presence of andalusite porphyroblasts and high content of muscovite and graphite, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite ± andalusite. Epidote occurs as an accessory mineral. Their protolith corresponds to fine- to medium-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the amphibolite facies. They show a porphyroblastic texture with lepidoblastic matrix, which is defined by the alignment of muscovite and graphite. Figures 3i1 and 3i2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Andalusite-bearing muscovite schists

These rocks are characterized by the presence of andalusite porphyroblasts in a matrix mainly composed of muscovite, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite ± andalusite. Their protolith corresponds to medium-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the amphibolite facies. They show a porphyroblastic texture with lepidoblastic matrix, which is

defined by the preferred orientation of muscovite. Figures 3j1 and 3j2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Tourmaline- and andalusite-bearing schists

These rocks are characterized by the presence of tourmaline and andalusite porphyroblasts, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite + andalusite. Their protolith corresponds to medium- to coarse-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the amphibolite facies. They show a porphyroblastic texture with granoblastic, lepidogranoblastic and poiquiloblastic matrix. Figures 3k1 and 3k2 illustrates the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Garnet-bearing sillimanite schists

These rocks are characterized by the presence of garnet porphyroblasts and sillimanite, and the typical mineral assemblages are sillimanite + biotite + muscovite; biotite + muscovite + quartz; sillimanite + muscovite + quartz; K-feldspar + sillimanite + biotite + muscovite; garnet + muscovite + biotite ± quartz. Epidote, zircon, apatite and tourmaline are the main accessory phases. Their protolith corresponds to medium- to coarse-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the amphibolite facies. They show a porphyroblastic texture with a granolepidoblastic to lepidogranoblastic and poiquiloblastic matrix, which is defined by the alignment of mica minerals and sillimanite developing subparallel bands in a schistose structure. Figures 3l1 and 3l2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Andalusite- and cordierite-bearing micaschists

These rocks are characterized by the presence of andalusite and cordierite porphyroblasts in a matrix mainly composed of muscovite, biotite and quartz, and the typical mineral assemblage is quartz + muscovite + biotite + andalusite; quartz + muscovite + biotite + cordierite; quartz + muscovite + biotite + andalusite + cordierite. The main accessory minerals are tourmaline and epidote. Their protolith corresponds to fine- to medium-grained pelitic sediments, which were affected by a metamorphism reaching the pyroxene-hornfels facies. They show a porphyroblastic texture with granolepidoblastic to lepidogranoblastic and poiquiloblastic matrix. Figures 3m1 and 3m2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

Metagabres

These highly altered rocks are characterized mainly of muscovite and aggregates of chlorite + epidote, the last of them as a product of alteration of amphibole. The following mineral assembles can be recognized: quartz + muscovite + biotite; garnet + quartz + muscovite. Their protolith

corresponds to mafic rocks, which were affected by a metamorphism reaching the greenschist facies. They show a porphyroblastic texture with lepidoblastic matrix. Figures 3n1 and 3n2 illustrate the main microstructural and textural features observed in this lithotype.

The backscattered electron (BSE) images in Figure 4 illustrate some examples of the andalusite-cordierite facies metamorphic rocks revealing some interesting relationships between ghost cordierite and relictic andalusite porphyroblasts and matrix. Figures 4a-4b reveal the occurrence of pelitic schists with pseudomorphs of biotite, muscovite and pinnite after cordierite, with numerous quartz inclusions and ilmenite as the main accessory phases. Note the irregular contact between a ghost cordierite porphyroblast and matrix mineral phases (biotite+muscovite). Figure 4c shows a typical pelitic schist with a pseudomorph of sericite after andalusite, which is preserved as relics. It is included in a large ghost cordierite porphyroblast similar to those described above. Note the high concentration of biotite in this contact. Ilmenite occurs as the main accessory phase

in the matrix, whereas fluorapatite is locally observed as scarce inclusions in the relictic andalusite. Chlorite is commonly observed as a replacement product of biotite in the matrix. Figure 4d illustrates a very fine-grained pelitic schist with numerous biotite and muscovite pseudomorphs. The BSE images in Figure 3S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/186/552> and 4S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/186/553>; show not only the textural relationships between ghost cordierite and relictic andalusite porphyroblasts and matrix but also the semiquantitative energy dispersive spectrum (EDS) analysis at different points.

In Figure 3S, the EDS spectrum of biotite (1) reveals that it mainly consists of O, Si, Al, Fe, K and Mg elements, with minor Ti and Mn. The mass ratios of O:Si:Al:Fe:K:Mg were 29.72:18.49:12.82:17.85:7.44:5.81. The EDS spectrum of muscovite (2) shows that is mainly composed by O, Si, Al, K, Fe and Na elements, with mass ratios of O:Si:Al:K:Fe:Na of 34.99:25.40:22.46:8.28:2.10:1.13. The presence of quartz (3) was confirmed in the EDS spectrum, which shows very

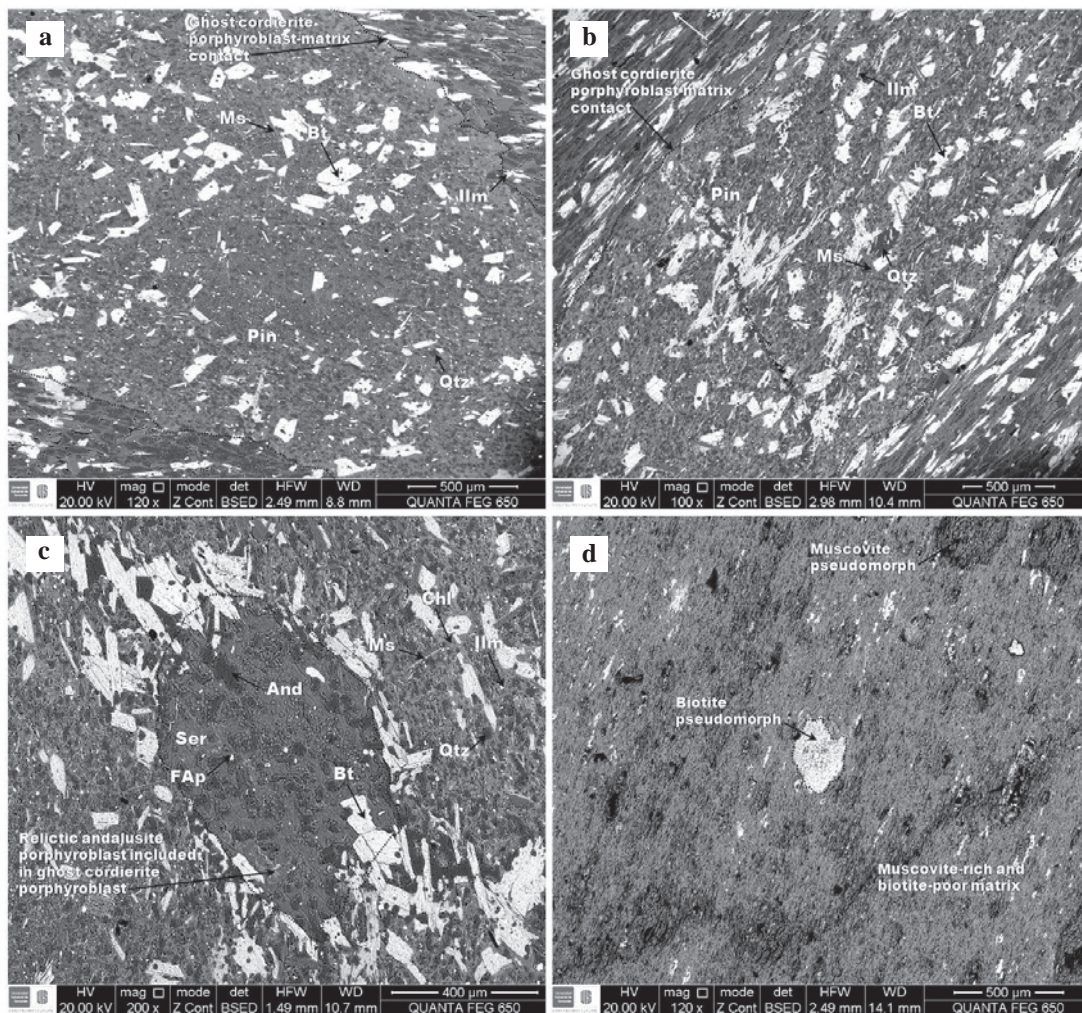


Figure 4. Backscattered electron (BSE) images of pelitic schists from the andalusite-cordierite facies.

high intensity peaks for Si and O (mass ratios of Si:O = 41.63:58.37). The EDS spectrum of ilmenite (4) shows that is mainly composed by O, Ti and Fe elements, with mass ratios of O:Ti:Fe of 23.80:32.56:30.75, with minor Mn. The presence of Si, Al and V can be attributed to contamination of the surface of the sample. The EDS spectrum of pinnite (5) shows that is mainly composed by O, Si, Al, K, Fe and Mg elements, with mass ratios of O:Si:Al:K:Fe:Mg of 34.38:24.27:19.71:7.16:5.32:2.11. EDS spectra are in agreement with literature data (<http://www.sfu.ca/~marshall/sem/mineral.htm>).

In Figure 4S, the EDS spectrum of andalusite reveals that it mainly consist of O, Si and Al elements (mass ratios of O:Si:Al of 34.56:45.46:11.01). The EDS spectrum of biotite (2) reveals that it mainly consists of O, Si, Al and K elements, with minor Na, Mg and Fe. The mass ratios of O:Si:Al:K were 33.58:24.92:22.89:8.64. The EDS spectrum of muscovite (3) shows that is mainly composed by O, Si, Al, K, Fe and Na elements, with mass ratios of O:Si:Al:K:Fe:Na of 34.99:25.40:22.46:8.28:2.10:1.13. The presence of quartz (4) was confirmed in the EDS spectrum, which shows very high intensity peaks for Si and O (mass ratios of Si:O = 37.41:54.06). The EDS spectrum of fluorapatite (5) reveals the presence of Ca, O, P and minor F elements (mass ratios of Ca:O:P:F = 43.32:25.45:20.27:3.41). The EDS spectrum of sericite (6) shows that is mainly composed by O, Si, Al and K elements, with minor Fe and Mg, with mass ratios of O:Si:Al:K of 34.01:27.77:18.24:8.11. EDS analysis of chlorite (7) indicates that this alteration mineral show high intensity peaks for O, Si, Al and Fe and low intensity peaks of K and Mg (mass ratios of O:Si:Al:Fe:K:Mg = 31.39:

20.26:16.23:13.90:6.40:5.44). EDS spectra are in agreement with literature data (<http://www.sfu.ca/~marshall/sem/mineral.htm>).

Figure 5 illustrates X-ray elemental maps of Si, Al, Mg, Fe Na and K contents from a pelitic schist with a ghost cordierite porphyroblast, which are very useful to discuss the elemental distribution of mineral phases. Note the contrast between Si and Al, Mg and Fe contents. There is a strong correlation between Al, Mg and Fe in biotite (in green colors), whereas there is a reverse correlation between Al (high content – pink color) and Mg and Fe (low content - dark blue to black colors) in sericite and muscovite. The low Mg and Fe regions in the matrix can be attributed to muscovite. The distribution of Na and K shows a reverse behavior and is strongly related to the occurrence of sericite in the pseudomorph after cordierite or muscovite in the matrix. The corresponding maps derived from the X-ray peaks for Ca, Ti and P (not shown) reveal very low contents.

Metamorphism and structural features

The mineral paragenesis and textures in the rocks of interest in this study contribute to interpret the relative metamorphism sequence and its associated deformation events. Most rocks in the study area have mineral assemblages from the greenschist facies (especially on the western part), although in the central and eastern parts, mineral assemblages from the amphibolites facies are observed along the contact with Jurassic intrusive bodies and orthogneisses. We suggest a regional metamorphic zonal scheme of Buchan type (andalusite-cordierite) based on our field observations and petrographic analysis, with the following metamorphic

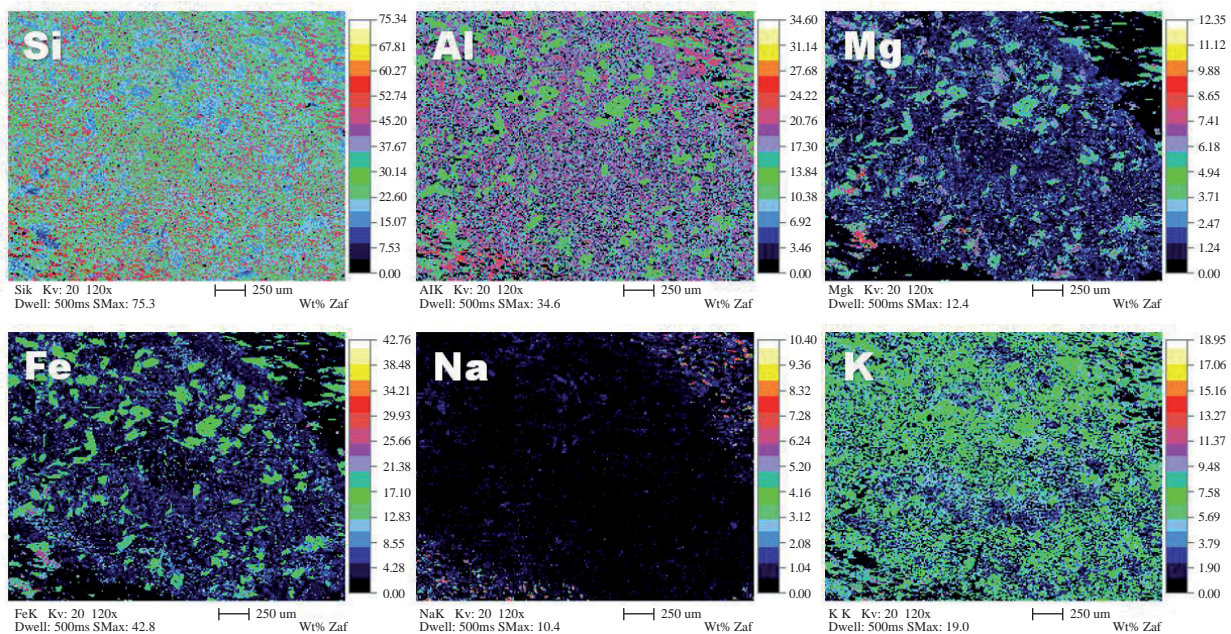


Figure 5. Si, Al, Mg, Fe, Na and K compositional maps of a ghost cordierite porphyroblast (andalusite-cordierite facies). Light colors show areas of high concentration while dark colors represent areas of low concentration (black is very low concentration).

zones in increasing order of metamorphism: biotite, garnet, andalusite, andalusite-cordierite and sillimanite. The biotite zone is represented by the occurrence of phyllites with thin interbedded slates. Locally, arkose to graywacke metasediments, metaconglomerates, micaceous schists are observed. These rocks belong to the greenschist facies and the biotite subfacies. The typical mineral assemblage in this metamorphic zone is Bt + Ms + Chl + Qtz. The garnet zone is represented by the occurrence of garnet-bearing schists, which belong to the greenschist facies and the garnet subfacies. The typical mineral assemblage in this metamorphic zone is Bt + Ms + Grt + Pl + Qtz. The andalusite zone is represented by the occurrence of graphite schists with andalusite porphyroblasts, which belong to the amphibolite facies and the andalusite-almandine subfacies. The typical mineral assemblage in this metamorphic zone is And + Grt + Bt + Ms + Qtz. The cordierite-andalusite zone is represented by the occurrence of schists with cordierite, andalusite and garnet porphyroblasts, which belong to the amphibolite facies and the andalusite-almandine subfacies. The typical mineral assemblage in this metamorphic zone is And + Grt + Bt + Ms + Qtz. The sillimanite zone is represented by the occurrence of sillimanite-bearing schists, which belong to the amphibolite facies and the sillimanite-almandine-orthoclase subfacies. The typical mineral assemblage in this metamorphic zone is Sil + Grt + Or + Pl + Bt + Qtz. The concepts of metamorphic facies and subfacies were modified after **Smulikowski et al.** (2007). The mineral assemblages described above indicate their crystallization under high-T and low-P conditions of metamorphism. The Silgará Formation pelitic rocks experienced retrograde metamorphism during the last stage. Retrograde reactions are observed mainly in the higher grade metamorphic zones, including partial replacement of chlorite after garnet rims and fractures, chlorite after biotite, sericite after plagioclase and andalusite and pinnite after cordierite.

A polyphase deformation is revealed by the relationships between the microstructure and mineral assemblages defining it. Several steps of deformation can be recognised in these rocks. The first step of deformation (S_n) is revealed by a dominant foliation (slaty cleavage) defined by chlorite and muscovite in very fine-grained slates and phyllites, chlorite, muscovite and graphite in micaceous schists, and biotite and sillimanite in schists. On the other hand, elongated quartz, and sometimes plagioclase and orthoclase are concordant with the schistosity, which suggests a simultaneous growth during the deformation. The second step of deformation (S_{n+1}) is recognized in all rocks by the folding of the schistosity, developing a crenulation cleavage and/or fracture cleavage developed after S_n . It is important to highlight that quartz, muscovite and biotite occur in the hinges of folds; however, the first of them does not occur in the flanks of folds, which suggest that during this step of deformation dissolution and recrystallization of quartz happened. A third step of deformation (S_{n+2}) was also

observed and is represented by a folding of the flanks in crenulation cleavage (S_{n+1}) and defined by graphite, muscovite, biotite or sillimanite. Later structures, such as kink bands, overprint the main foliation. The Silgará Formation pelitic rocks show evidences that reflect the effect of a shearing process under fragile conditions, which is manifested in the presence of microfaults, shearing, broken crystals and S-C shear bands. These rocks also show shearing zones in ductile conditions, as reflected in the formation of garnet porphyroclasts with development of pressure shadows. In addition, these rocks display other microstructural features, such as wavy extinction in quartz, deformation twinning in plagioclase and dynamic recrystallization processes.

Discussion

Regional metamorphism of Barrovian type occurs over large areas of the Earth's crust due to crustal thickening in the roots of an orogenic belt. The classic example of a regionally metamorphosed area is the Dalradian series of Scotland, where **Barrow** (1893) recognized and mapped for the first time a metamorphic field gradient by determining a sequence of metamorphic zones in pelitic rocks based on mineral assemblages as representing increasing grade of metamorphism. The first appearance of an index mineral was taken by Barrow as the beginning of a new metamorphic zone. This mapping was later extended across the Scottish Highlands to cover most of the Dalradian and Moinian Series. The prograde series of Barrovian metamorphic zones is: chlorite - biotite - garnet - staurolite - kyanite - sillimanite. Other authors (e.g., **Tilley**, 1924, 1925; **Kennedy**, 1948) confirmed the Barrow zones and extended them across the area between the Highland Boundary Fault and into the Moinian Series. The boundaries connecting the first appearance of a mineral and separating the zones are isograds (**Tilley**, 1924). **Wiseman** (1934) mapped the metabasic rocks, whereas **Kennedy** (1948) and **Winchester** (1974) mapped the metacalcareous sediments. On the other hand, in northeastern Scotland a regional metamorphism of Buchan type is characterized by the presence of andalusite and sometimes cordierite, in mineral assemblages of intermediate grade pelitic rocks, revealing that the metamorphic conditions were at lower pressure and along a higher metamorphic field gradient than that recorded in a regional metamorphism of Barrovian type. The prograde series of Buchan metamorphic zones is: chlorite - andalusite - sillimanite. Following the concept of index minerals introduced by Barrow to map metamorphic zones, **Ríos** and co-workers (e.g., **Ríos et al.**, 2003; **García et al.**, 2005; **Ríos and Castellanos**, 2008) recognized and mapped a medium to high temperature/medium pressure Barrovian sequence of metamorphic zones (biotite, garnet, staurolite and sillimanite) that defines the regional thermal structure of the early Paleozoic Silgará Formation pelitic rocks in the Santander Massif, which range in grade from

greenschist to upper amphibolites facies conditions. We report for the first time the occurrence of a typical Buchan metamorphic sequence in pelitic rocks of the Silgará Formation at the NSM, which is defined by the presence of chlorite, andalusite and sillimanite zones.

A Buchan metamorphic sequence

At the NSM, pelitic rocks of the Silgará Formation were affected by a prograde metamorphism, which was followed by a retrograde event after reaching the maximum pressure and temperature conditions. In this study, we recognized a metasedimentary sequence of andalusite-bearing graphite slates, phyllites, garnet-bearing sillimanitic schist, micaschists with or without garnet, andalusite and cordierite-bearing micaschists, quartzites, slightly conglomeratic metasandstones, metawackes and metagabbros. In these rocks the occurrence of andalusite is evident, which indicates that the orogenic metamorphism of Buchan (andalusite-cordierite) type defined in this study occurred at low pressure and high metamorphic field gradient conditions below the Al_2SiO_5 triple point as demonstrated by the absence of kyanite and the occurrence of andalusite in pelitic rocks. Pelitic rocks of the Silgará Formation contain low-grade mineral assemblages similar to those of the Barrovian Facies Series previously described in the Santander Massif since the work of **Ward et al.** (1970, 1973). The greenschist facies rocks show a similar mineralogical composition to that in Barrovian metamorphic sequence, whereas the amphibolite facies rocks, which contain andalusite and cordierite, revealing how the lower-pressure Buchan rocks is distinguished from the higher-pressure Barrovian rocks of the Silgará Formation. The Buchan Facies Series recognized at the NSM may be attributed to a regional metamorphism, which is a result of the emplacement of several intrusions at moderate depths in a continental collision context. According to **Miyashiro** (1961), a Buchan metamorphism, developing andalusite-sillimanite-(cordierite) sequences, has been documented in orogenic belts around the world, such as Scottish Highlands (Caledonian), Pyrenees (Hercynian) and Japan (Mesozoic-Tertiary), among others. These sequences appear to be part of the pattern of orogenic metamorphism and are not related to local causes, such as igneous intrusions (**Johnson**, 1963). On the other hand, **Miyashiro** (1961) determined that belts of high-pressure/low-temperature metamorphism on the oceanic side in the Circum-Pacific region were associated with belts of high-pressure/high-temperature metamorphism on the continental side, which were termed as “Paired Metamorphic Belts”. They have been recognized throughout the world, such as the classic paired metamorphic belts of Ryoke and Sambagawa in Japan, as well as other examples in western U.S., New Zealand, Indonesia, Chile, northern coast of South America, Jamaica, Alps of central Europe, among others. We suggest a Caledonian metamorphic belt at the NSM similar to that observed in the classical case

in the Scottish Highlands, which Miyashiro described as a lower P/T ratio metamorphic belt from an ancient continental margin. Therefore, according to what is reported by Ríos and co-workers (e.g., **Ríos et al.**, 2003; **García et al.**, 2005; **Ríos and Castellanos**, 2008) and taking into account the results of this study, we consider that the ancient metapelitic sequence of the Santander Massif can be divided into the following regions: a low-P/T region (Buchan type metamorphism) and a medium-P/T region (Barrovian type metamorphism). However, we consider that the low-P/T Buchan type metamorphism has been overimposed on the medium-P/T Barrovian type metamorphism at the NSM. This conclusion is based on petrological evidence obtained in several parts of the Santander Massif, where the authors have investigated the metapelitic rocks, defining mineral assemblages of different metamorphic conditions. Therefore, in this work is suggested to conduct further studies aimed at determining the conditions of metamorphism and P-T paths in order to elucidate different histories of heating, burial, uplift and erosion in the two regions described above.

Metamorphic PT conditions

We adopt in this study a petrogenetic grid based on previous works on pelitic rocks (e.g., **Spear and Cheney**, 1989; **Spear**, 1993), which provides an internally consistent framework and incorporates the effect of Fe–Mg solid solution behavior in all mineral phases. On the other hand, it is in agreement with the sequence of mineral reactions found in pelitic schists of the Silgará Formation as shown in Figure 6. We proposed an anticlockwise PT path, which can be attributed to a crust that was affected by a considerable addition of heat due to magmas (**Spear**, 1993).

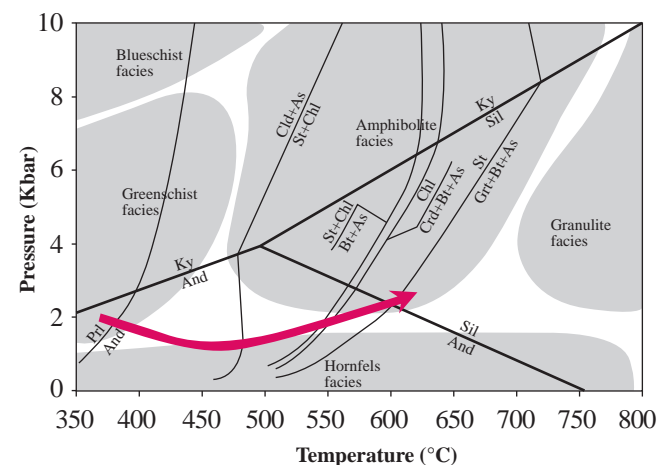


Figure 6. Mineral reactions in the KFMASH system petrogenetic grid (modified after **Spear and Cheney** (1989), **Yardley** (1989), and **Bucher and Frey** (1994)) documented in the metapelitic rocks of the Silgará Formation at the NSM. Al_2SiO_5 triple point, after **Holdaway** (1971). The light gray area represents the metamorphic facies. An anticlockwise PT path (red arrow) followed by the Silgará metapelitic rocks typical of a region that has undergone contact metamorphism.

The initial conditions along the PT path are in the lowest grade, with a typical mineral assemblage of pyrophyllite + chlorite (all assemblages with quartz + muscovite) in the greenschist facies include below 320 °C. Recently, authors recognized chloritoid in the Silgará Formation pelitic rocks, which occurs at 350 °C and 2 kbar. Therefore, it is probably that the initial conditions can be represented by the mineral assemblage of chloritoid + pyrophyllite + chlorite (all assemblages with quartz + muscovite). Taking into account that the Fe-Mg aluminosilicates are more Fe-rich at low-P than at middle-P, the mineral assemblages will probably lose the major KFMASH isograd producing reactions such as garnet-in and staurolite-in (Spear, 1993), which can explain the absence of garnet and staurolite. At approximately 500 °C and 1.5 kbar, the mineral assemblage can be chlorite + biotite (all assemblages with quartz + muscovite), although garnet (reported in this study) is present due to sufficient MnO or CaO in the chemical system. Following the PT path, at approximately 545 °C and 1.7 kbar, the chemical reaction staurolite + chlorite = andalusite + biotite is crossed, with the production of andalusite in the mineral assemblage andalusite + chlorite + biotite (all assemblages with quartz + muscovite). With an additional increase of the PT conditions, the reaction chlorite = cordierite + andalusite + biotite is crossed at approximately 550 °C and 1.8 kbar, which explain the appearance of cordierite and the terminal stability reaction of chlorite + quartz in the chemical system. Finally, the reaction andalusite = sillimanite occurred at 600 °C and 2.4 kbar, and

according to Spear (1993), it is responsible of the final mineral assemblage of sillimanite + biotite + cordierite (+ muscovite + quartz + garnet if sufficient MnO and CaO are present) in amphibolite facies although, we have not a clear evidence on the occurrence of cordierite.

Conclusions

The Silgará Formation shows evidence of a regional metamorphism of Buchan type (andalusite-cordierite) attributed to a crust that was affected by a considerable addition of heat due to magmas which was overimposed on the Barrovian metamorphism that characterizes this massif. Petrographic analyses of the Silgará Formation metapelitic rocks at the NSM reveal the occurrence of several lithotypes, which include: slates, phyllites, metasandstones, metawackses, micaschists without or with garnet, quartzites, andalusite-bearing slates and schists, garnet-bearing sillimanite schists, andalusite- and cordierite-bearing micaschists and metagabbros. Polyphase deformation is revealed by the relationships between the microstructure and mineral assemblages defining it. Several steps of deformation can be recognized in these rocks. An anticlockwise PT path reveals that the initial conditions are represented by the mineral assemblage of chloritoid + pyrophyllite + chlorite (all assemblages with quartz + muscovite) in greenschist facies and the final conditions correspond to the mineral assemblage of sillimanite + biotite + cordierite (+ muscovite + quartz + garnet if sufficient MnO and CaO are present) in amphibolite facies due to the reaction andalusite = sillimanite occurred at 600 °C and 2.4 kbar.

Información suplementaria

Figure 1S. Field photographs of the lithostratigraphic features observed in the western (a)-(c), central (c)-(e) and eastern (f) stripes of the Silgará Formation at the NSM.

Figure 2S. Photographs of hand specimens at different scales of the different lithotypes determined in the Silgará Formation metamorphic rocks at the NSM.

Figure 3S. Backscattered electron (BSE) image and EDS spectra at the marked stars on the image of a ghost cordierite

porphyroblast (andalusite-cordierite facies). The appearance of C element is attributed to the carbon coating on the sample before SEM analysis.

Figure 4S. Backscattered electron (BSE) image and EDS spectra at the marked stars on the image of a relictic andalusite porphyroblast (andalusite-cordierite facies). The appearance of C element is attributed to the carbon coating on the sample before SEM analysis.

Acknowledgments

This research forms part of the undergraduate thesis of D. Niño. The authors gratefully acknowledge the Universidad Industrial de Santander and the Universidad de Pamplona for supporting research facilities. This study has benefited from these entities and their human resources. Thanks to 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 its professional staff for assistance with SEM data acquisition. Authors also thank members of the Research Group in Basic and Applied Geology for their helpful discussions and

constructive comments. We express thanks to anonymous reviewers for helpful comments and suggestions of this manuscript. We are most grateful to the above-named people and institutions for support.

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest of any kind.

Bibliography

- 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.

- Barrow G.** (1893). On an intrusion of muscovite-biotite-gneiss in the south-eastern Highlands of Scotland, and its accompanying metamorphism. *Quarterly Journal of the Geological Society of London.* **49**: 330-358.
- Barrow G.** (1912). On the geology of Lower Dee-side and the southern Highland border. *Proceedings of the Geologists' Association.* **23**: 272-290.
- 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** (II): 445-450.
- Bucher K. & Frey M.** (1994). *Petrogenesis of Metamorphic Rocks.* 6th edition Complete revision of Winkler's textbook. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 318p.
- Campos N.** (1999). Estudio Mineralógico y Petrográfico de las Metamorfitas al Occidente del Municipio de Mutiscua (Norte de Santander). Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga (Colombia).
- Cardona A.** (2003). Correlações entre fragmentos do embasamento Pré-Mesozoico da terminação setentrional dos Andes Colombianos, com base em dados isotópicos e geocronológicos. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto de Geociências, 149pp.
- 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**: 91-98.
- Castellanos, O.M., Ríos, C.A. & Takasu A.** (2008). A new approach on the tectonometamorphic mechanisms associated with P-T paths of the Barrovian-type Silgará Formation at the Central Santander Massif, Colombian Andes. *Earth Sciences Research Journal.* **12**: 125-155.
- Castellanos, O.M., Ríos, C.A. & 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.
- Clavijo J.** (1997). Mapa Geológico Generalizado del Departamento de Norte de Santander, Escala 1:250000. Ingeominas.
- Dörr W., Grösser J., Rodriguez 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** (2): 187-194.
- García C.A. & Campos N.** (2000). Composición química y mineralogía de las biotitas metamórficas del sector central del Macizo de Santander, Colombia. *Boletín de Geología* **22** (37): 18-27.
- 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.
- Gélvez J. & Márquez R.** (2002). Caracterización textural del granate y de sus elementos de deformación asociados, y modelamiento de su historia de nucleación y crecimiento en las rocas metapelíticas de la Formación Silgará en la región suroccidental del Macizo de Santander. Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga (Colombia).
- 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).
- Gómez S.I. & Avila G.A.** (2006). Petrogénesis de las rocas calcosilicatadas que ocurren como bandas de reacción entre mármoles y rocas metapelíticas de la Formación Silgará, región Central del Macizo de Santander. Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga (Colombia).
- Kennedy W.Q.** (1948). Zones of Progressive Regional Metamorphism in the Moine Schists of the Western Highlands of Scotland. *Geological Magazine.* **86** (1): 43-56.
- Kretz R.** (1983). Symbols for rock-forming minerals. *American Mineralogist.* **68**: 277-279.
- Holdaway M.** (1971). Stability of andalusite and the aluminum silicate phase diagrams. *American Journal of Sciences.* **271**: 97-131.
- Johnson M.R.W.** (1963). Some time relations of movement and metamorphism in the Scottish Highlands. *Netherlands Journal of Geosciences / Geologie en Mijnbouw.* **42**: 121-142.
- Mantilla L.C., Ordoñez J., Cepeda S. & Ríos, C.A.** (2001). Study of the paleofluids in the Silgará Formation and their relationship with deformation processes, Aratoca-Pescadero area (southwestern Santander Massif). *Boletín de Geología.* **23** (38): 69-75.
- Mantilla L.C., Ríos, C.A. & Castellanos, O.** (2002). Study of the rehydration process of the Silgará Formation metamorphic rocks, from the compositional analysis of chlorite, southwestern Santander Massif. *Boletín de Geología.* **24** (39): 7-17.
- Mantilla L.C., Ríos C.A., Gélvez J., Márquez R., Ordoñez J. & Cepeda, S.** (2003). New evidences on the presence of a shear band in the metapelitic sequence of the Silgará Formation, Aratoca-Pescadero area (southwestern Santander Massif). *Boletín de Geología.* **25** (40): 81-89.
- Mantilla L.C., Bissig, T., Cottle, J.M. & Hart, C.** (2012). Remains of early Ordovician mantle-derived magmatism in the Santander Massif (Colombian Eastern Cordillera). *Journal of South American Earth Sciences.* **38**: 1-12.
- Mantilla, L.C., García, C.A. & Valencia, V.** (2015). Propuesta de escisión de la denominada "Formación Silgará" (Macizo de Santander, Colombia) a partir de edades U-Pb en circones detríticos. *Boletín de Geología* (En edición).
- Miyashiro, A.** (1961). Evolution of metamorphic belts. *Journal of Petrology.* **2**: 277-311.

- Montenegro G. & Barragán M.** (1999). Metamorfismo y evolución metamórfica del área comprendida entre los municipios de Vetás (Santander) y Mutiscua (Norte de Santander). Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga (Colombia).
- Ordoñez J.C.** (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.C. & Mantilla, L.C.** (2004). Significance of an early Cretaceous Rb-Sr age in the Pescadero Pluton, Santander Massif. *Boletín de Geología*. **26** (43): 115-126.
- 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, 195pp.
- Restrepo-Pace P., Ruiz J., Gehrels G. & Cosca, M.** (1997). Geochronology and Nd isotopic data of Grenville-age rocks in the Colombian Andes: New constraints for late Proterozoic-early Paleozoic Paleontinental reconstruction of the Americas. *Earth and Planetary Sciences Letters*. **150**: 427-441.
- 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. & Marquez 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 exoscar". *Earth Sciences Research Journal*. **12**: 72-106.
- Schäfer J., Grösser J. & Rodríguez G.** (1998). Proterozoic Formación Silgará, Cordillera Oriental, Colombia: metamorphism and geochemistry of amphibolites. *Zentralblatt für Geologie und Paläontologie (Teil I)* (3-6) (531-546).
- Smulikowski W., Desmons J., Fettes D., Harte B, Sassi F.P. & Schmid R.** (2007). A systematic nomenclature for metamorphic rocks: 2. Types, grade and facies of metamorphism. Recommendations by the IUGS Subcommission on the systematics of metamorphic rocks. SCMR website (HUwww.bgs.ac.uk/SCMRUH).
- Spear F.** (1988). Thermodynamic projection and extrapolation of high variance mineral assemblages. *Contributions to Mineralogy and Petrology*. **98**: 346-351.
- Spear, F.** (1993). Metamorphic phase equilibria and pressure-temperature-time paths, Monograph Series, Mineralogical Society of America, Washington, DC, 799pp.
- Spear F. & Cheney J.** (1989). A petrogenetic grid for pelitic schists in the system $SiO_2-Al_2O_3-FeO-MgO-K_2O-H_2O$. *Contributions to Mineralogy and Petrology*. **101**: 149-164.
- Tilley C.E.** (1924). Contact-Metamorphism in the Comrie Area of the Perthshire Highlands. *Quarterly Journal of the Geological Society of London*. **80**: 22-71.
- Tilley C.E.** (1925). A Preliminary Survey of Metamorphic Zones in the Southern Highlands of Scotland. *Quarterly Journal of the Geological Society of London*. **81**: 100-112.
- Ward D.E., Goldsmith R., Jimeno V., Cruz B.J., Restrepo H. & Gómez, R.** (1969). Mapa Geológico del Cuadrángulo H-12, Bucaramanga, Colombia. Ingeominas.
- Ward D.E., Goldsmith R., Cruz B.J., Jaramillo, C.L. & Vargas, L.R.** (1970). Mapa Geológico del Cuadrángulo H-13, Pamplona, Colombia. Ingeominas.
- Ward D.E., Goldsmith R., Cruz B.J., Jaramillo C.L. & Restrepo, H.** (1973). Geología de los Cuadrángulos H-12, Bucaramanga y H-13, Pamplona, Departamento de Santander. U.S. Geological Survey e Ingeominas. *Boletín Geológico XXI*(1-3), 1-132.
- Wiseman J.D.H.** (1934). The Central and South-West Highland Beidiorites: A Study in progressive Metamorphism, *Quarterly Journal of the Geological Society of London*. **90**: 354-417.
- Winchester J.A.** (1974). The zonal pattern of regional metamorphism in the Scottish Caledonides. *Journal of the Geological Society of London*. **130** (6): 509-524.
- Yardley B.** (1989). *An Introduction to Metamorphic Petrology*, Longman, Harlow, England, 248pp. <http://www.sfu.ca/~marshall/sem/mineral.htm> Mineral Energy Dispersive Spectra (EDS) Consulted on 25 March, 2014.

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, sicología, 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) 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 de 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).

Parafraseo 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).

| To our readers and authors

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 transferance 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), 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. Ex. Fis. Nat. 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 (ACCFYN), 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.

