



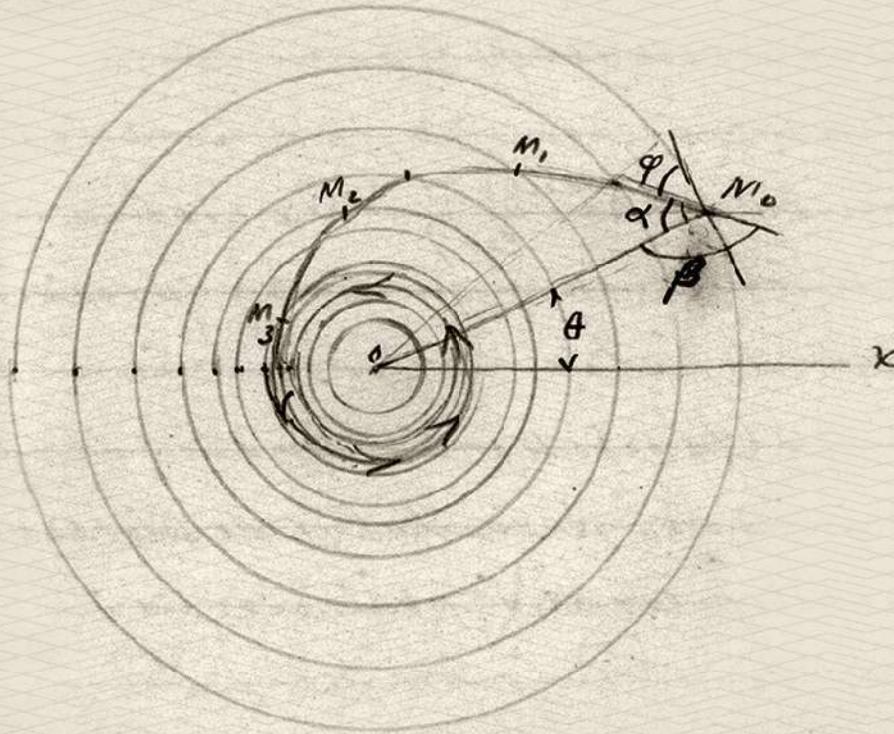
ISSN 0370-3908  
eISSN 2382-4980

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

Academia Colombiana de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 44 • Número 170 • Págs. 1-292 • Enero - Marzo de 2020 • Bogotá - Colombia

Estos círculos se estrechan mas y mas al rededor del centro. Sea (Fig) indica las isobaras en un ciclón



Trataremos de hallar la trayectoria que sigue el aire en las ciclones.

Sea  $M_0$  un punto bastante lejano del centro y para el cual  $r$ , radio de curvatura, sea muy grande, tendremos, poniendo  $\rho = M_0O$  y  $\theta = M_0Ox$ , (Fig)

$$\tan \varphi = \cot \alpha = \frac{V + v'}{2\omega \sin \lambda v} \Rightarrow -\cot \beta = -\frac{\rho d\theta}{d\rho} - \frac{d\rho}{\rho d\theta}$$



ISSN 0370-3908  
eISSN 2382-4980

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

Academia Colombiana de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 44 • Número 170 • Págs. 1-292 • Enero - Marzo de 2020 • Bogotá - Colombia

## Comité editorial

### Editora

- Elizabeth Castañeda, Ph. D.  
Instituto Nacional de Salud,  
Bogotá, Colombia

### Asistente editorial

Carolina Acosta

### Grupo de apoyo

Marta Renza, correctora de estilo  
Johanna Morales, diagramadora  
Bibiana Dimate, Publindex  
César Moreno

### Editores asociados

#### Ciencias Biomédicas

- Luis Fernando García, M.D., M. Sc.  
Profesor emérito, Universidad de Antioquia,  
Medellin, Colombia
- Gustavo Adolfo Vallejo, Ph. D.  
Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia
- Juanita Ángel, Ph. D.  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
- Manuel Franco, Ph. D.  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
- Alberto Gómez, Ph. D.  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
- John Mario González, Ph. D.  
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia
- Gloria Patricia Cardona Gómez, Ph. D.  
Universidad de Antioquia, Medellin, Colombia
- Ángela Restrepo Moreno, Ph. D.  
Corporación para Investigaciones Biológicas,  
Medellin, Colombia
- Helena Groot de Restrepo  
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

#### Ciencias del Comportamiento

- Guillermo Páramo, M.Sc.  
Universidad Central, Bogotá, Colombia
- Rubén Ardila, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- Ana María Groot de Mahecha  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

#### Ciencias Físicas

- Pedro Fernández de Córdoba, Ph. D.  
Universidad Politécnica de Valencia, España
- Diógenes Campos Romero, Dr. rer. nat.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- Román Eduardo Castañeda, Dr. rer. nat.  
Universidad Nacional, Medellín, Colombia
- María Elena Gómez, Ph. D.  
Universidad del Valle, Cali
- Gabriel Téllez, Ph. D.  
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia
- Jairo Roa-Rojas, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

- ⑩ Ángela Stella Camacho Beltrán, Dr. rer. nat.  
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia
- ⑩ Edgar González, Ph. D.  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
- ⑩ Guillermo González, Ph. D.  
Universidad Industrial de Santander,  
Bucaramanga, Colombia
- ⑩ Carlos Duque  
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

#### **Ciencias Químicas**

- ⑩ Sonia Moreno Guaqueta, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Myriam Sánchez de Gómez, M.Sc.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Fernando Martínez, Docteur en Chimie  
Universidad Industrial de Santander,  
Bucaramanga, Colombia
- ⑩ Luis Fernando Echeverry, Ph. D.  
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
- ⑩ Carmenza Duque Beltrán  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Ligia Sierra García  
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
- ⑩ Luz Marina Jaramillo Gómez  
Universidad del Valle, Cali, Colombia

#### **Ciencias Naturales**

- ⑩ José Luis Fernández Alonso, Doctor  
Real Jardín Botánico, Consejo Superior de  
Investigaciones Científicas, Madrid, España
- ⑩ Jaime Cantera, Doctorat d'Etat  
Universidad del Valle, Cali, Colombia
- ⑩ Gabriel Roldán, Dr. rer. nat.  
Universidad Católica de Oriente, Rionegro,  
Antioquia, Colombia
- ⑩ Sandra Baena Garzón, Ph. D.  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
- ⑩ Néstor Hernando Campos Campos, Dr. rer. nat.  
Universidad Nacional de Colombia,  
Sede Caribe, Colombia
- ⑩ Martha Patricia Ramírez Pinilla, Ph. D.  
Universidad Industrial de Santander,  
Bucaramanga, Colombia
- ⑩ Jairo Castaño-Zapata, Ph. D.  
Universidad de Caldas, Manizales, Colombia
- ⑩ Juan Manuel Díaz Merlano, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Gerardo A. Aymard C, Ph. D.  
Universidad Nacional de los Llanos Ezequiel Zamora,  
Venezuela
- ⑩ Néstor Julio García, Ph. D.  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

- ⑩ Arturo Acero, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia,  
Santa Marta, Colombia
- ⑩ Elizabeth Hodson  
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia
- ⑩ Germán Amat  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ John Donato  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Martha R. Campos  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Clara Inés Orozco  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Carolina Romero  
Herbarium, Missouri Botanical Garden, Estados Unidos
- ⑩ Eduardo Flórez  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

#### **Ciencias de la tierra**

- ⑩ Carlos Alberto Vargas, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Carlos Alberto Jaramillo Muñoz, Ph. D.  
Smithsonian Tropical Research Institute, Panamá
- ⑩ José Daniel Pabón, Ph. D.  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Alexander Correa  
Instituto de Geología, Universidad Nacional  
Autónoma de México, Mexico
- ⑩ Ligia Estela Urrego  
Universidad Nacional, Medellín, Colombia
- ⑩ Camilo Montes  
Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia
- ⑩ Germán Bayona  
Corporación Geológica Ares, Bogotá, Colombia
- ⑩ Hernando Dueñas Jiménez  
BIOSS SAS, Antioquia, Colombia

#### **Matemáticas**

- ⑩ Jorge Ivan Cossio Betancur, Ph. D.  
Universidad Nacional, Medellín, Colombia
- ⑩ Luis Español González, Ph. D.  
Universidad de la Rioja, España
- ⑩ Luis Carlos Arboleda, Doctor  
Universidad del Valle, Cali, Colombia
- ⑩ Clara Elena Sánchez  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Fernando Zalamea Traba  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- ⑩ Carlos Enrique Mejía  
Universidad Nacional, Medellín, Colombia
- ⑩ Francisco Marcellán  
Escuela Politécnica Superior, Madrid, España

## Comité científico internacional

• Ángela María Guzmán, Ph. D.  
University of Central Florida,  
Orlando, Estados Unidos

• Antoine M. Cleef, Ph. D.  
University of Amsterdam,  
The Netherlands

Rodolfo Castillo, Ph. D.  
Fort Lauderdale, Florida, USA

• Carlos Jiménez, Ph. D.  
Universidad de La Coruña, España

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

• Alfonso Castro, Ph. D.  
Harvey Mudd College, Claremont, CA,  
USA

• José Rubens Pirani, Ph. D.  
Universidade de São Paulo, Brasil

• Wolfgang Gieren, Ph. D.  
Universidad de Concepción, Chile

• Pedro Joseph Natham, Ph. D.  
Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados, Instituto  
Politécnico Nacional, México

---

## Reseñada en los siguientes índices nacionales e internacionales:

Actualidad Iberoamericana

Agris

Dialnet

EBSCO

Historia Mathematica

Index Kewensis

Latindex

Mathematical Reviews

MathSciNet (on line data base)

OCLC (Online Computer Library Center)

PERIODICA

Publindex, Colciencias

SciELO, Colombia

Zentralblatt für Mathematik

Zoological Record

---

Publindex, Colciencias (convocatoria 768 de 2018), categoría B

**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.

**Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**

Cra. 28 A no. 39A - 63 Bogotá D.C., Colombia, CP 111311 • **PBX:** +57(1)555-0470

**Sitio web:** [www.raccefyn.co](http://www.raccefyn.co) • **Correo electrónico:** [revista@accefyn.org.co](mailto:revista@accefyn.org.co)

---



ISSN 0370-3908  
eISSN 2382-4980

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

Academia Colombiana de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 44 • Número 170 • Págs. 1-292 • Enero - Marzo de 2020 • Bogotá - Colombia

## Contenido - Contents

### Editorial

<b>Centenario de la muerte de Julio Garavito Armero</b> Centenary of the death of Julio Garavito Armero <i>Gregorio Portilla, Clara Helena Sánchez</i> .....	9
<b>Nota sobre la dinámica de los electrones. Vol 2 (5): 13-16, 1938</b> Note on electron dynamics. Vol 2 (5): 13-16, 1938 .....	14
<b>Nota sobre las geometrías planas no euclídeas y nota sobre balística exterior.</b> <b>Vol 2 (8): 566-576, 1939</b> Note on non-Euclidean flat geometries and note on external ballistics. Vol 2 (8): 566-576, 1939 .....	18
<b>Nota sobre la fórmula fundamental de la trigonometría plana no euclídea</b> <b>en la geometría hiperbólica. Vol 3 (9-10): 14-25, 1939</b> Note on the fundamental formula of non-Euclidean plane trigonometry in hyperbolic geometry. Vol 3 (9-10): 14-25, 1939 .....	29
<b>El clima de Bogotá. Vol 3 (12): 361-372, 1940</b> The climate of Bogota. Vol 3 (12): 361-372, 1940 .....	43
<b>Tablas de la Luna. Vol 6 (22-23): 205-213, 1945</b> Tables of the Moon. Vol 6 (22-23): 205-213, 1945 .....	55
<b>Nuevos conceptos económicos: (Causa principal de la guerra de 1914);</b> <b>(Evolución de la distribución de la riqueza). Vol 6 (24): 484-490, 1946</b> New economic concepts: (Main cause of the war of 1914); (Evolution of the distribution of wealth). Vol 6 (24): 484-490, 1946 .....	61
<b>Fórmulas definitivas para el cálculo del movimiento de la luna por el método Hill-Brown,</b> <b>y con la notación usada por Henry Poincaré en el tomo III de su <i>Curso de Mecánica Celeste</i>.</b> <b>Vol 6 (24): 560-570, 1946</b> Definitive formulas for the calculation of the motion of the moon by the Hill-Brown method, and with the notation used by Henry Poincaré in volume III of his <i>Course in Celestial Mechanics</i> . Vol 6 (24): 560-570, 1946 .....	69
<b>El cráter de Garavito. Jorge Arias de Greiff. Boletín Sociedad Geográfica.</b> <b>Vol XXVII (102): 1-7, 1970. Reproducido con permiso de la Sociedad Geográfica de Colombia.</b> The Garavito Crater. Jorge Arias de Greiff. Vol XXVII (102): 1-7, 1970. Reproduced with permission of the Sociedad Geográfica de Colombia. ....	81

Reproducción de artículos  
**Julio Garavito  
Armero**

- Innate trypanolytic factors in triatomine hemolymph against *Trypanosoma rangeli* and *T. cruzi*: A comparative study in eight Chagas disease vectors** (OA)
- Factores tripanolíticos innatos contra *Trypanosoma rangeli* y *T. cruzi* en la hemolinfa de triatomínos: un estudio comparativo en ocho especies de vectores de la enfermedad de Chagas
- Yazmín Suárez-Quevedo, Hamilton Julián Barbosa-Vinasco, Sneider Alexander Gutiérrez-Garnizo, Jenny Lorena Olaya-Morales, Daniel Zabala-González, Julio Cesar Carranza-Martínez, Felipe Guhl-Nannetti, Omar Cantillo-Barraza, Gustavo Adolfo Vallejo* ..... 88

- The effect of aminoglycosides on horizontal gene transfer in *Klebsiella pneumoniae*** (RA)
- El efecto de los aminoglucósidos sobre la transferencia horizontal de genes en *Klebsiella pneumoniae*
- Iván Camilo Acosta, Leonardo Posada, Mónica Gabriela Huertas, María Mercedes Zambrano* ..... 105

- Galileones vectoriales con simetría SU(2) como los generadores de los períodos de inflación primordial y expansión acelerada tardía** (AO)
- Vector galileons with an SU(2) symmetry as the generators of the primordial inflation and late accelerated expansion periods
- Carlos A. Bautista, Andrés A. Navarro, Yeinzon Rodríguez* ..... 121

- The Scalar Field Model of Dark Energy in the Framework of the Holographic Principle** (RA)
- El modelo del campo escalar de la energía oscura en el marco del principio holográfico
- Luis Norberto Granda* ..... 133

- Determinación del espectro de energía de un haz de rayos X terapéutico de kilovoltaje a partir de su curva de atenuación** (AO)
- Determination of energy spectrum of a therapeutic kilovoltage X-ray beam from its attenuation curve
- Ana Carolina Gonçalves, Jorge Homero Wilches Visbal, Alessandro Martins Da Costa* ..... 142

- Efecto de la nanoestructura sobre las propiedades térmicas y magnéticas de nanomateriales tipo 2D y 0D** (AR)
- Effect of nanostructure on the thermal and magnetic properties of 2D and 0D type nanomaterials
- Gustavo Zambrano* ..... 153

- Determinación del rol del tiburón cazón antillano *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae) en el flujo de metilmercurio en las redes tróficas del Caribe colombiano** (AO)
- Determination of the role of the Antillean shark *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae) in the flow of methylmercury within the trophic webs of the Colombian Caribbean
- Ramiro Rueda-Bernal, Arturo Acero P., Néstor Hernando Campos-Campos, José Luis Marrugo-Negrete* ..... 169

- Estado poblacional de *Crocodylus acutus* Cuvier y *Caiman crocodilus fuscus* (Cope) en Puerto Badel y Correa, Bolívar, Colombia** (AO)
- Population status of the American crocodile *Crocodylus acutus* Cuvier and spectacled caiman *Caiman crocodilus fuscus* (Cope) in Puerto Badel and Correa municipalities, department of Bolívar, Colombia
- Waldo Guerra-Cárdenas, Sharon Martínez-García, Adriana Bermúdez, Gabriel R. Navas-S.* ..... 182

- Las tareas zoológicas de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada (1783-1816)** (AR)
- The zoological tasks of the Royal Botanical Expedition to the New Kingdom of Granada (1783-1816)
- Germán Amat-García, Henry D. Agudelo-Zamora* ..... 194

- Efectos del defoliador *Atta cephalotes* Linnaeus. en el crecimiento y el desarrollo fisiológico e hidráulico de árboles juveniles de *Gmelina arborea* Roxb. en condiciones controladas** (AO)
- Effects of the *Atta cephalotes* Linnaeus. defoliator on the growth and physiological and hydraulic development in juvenile trees of *Gmelina arborea* Roxb. under controlled conditions
- Juan Carlos Valverde, Dawa Méndez, Dagoberto Arias* ..... 214

**Nuevos registros de Pucciniales sobre Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae en páramos de Antioquia, Colombia** **AO**

New records of Pucciniales on Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae in páramos of Antioquia, Colombia

*Katherin Maritza Vanegas-Berrouet, Mauricio Salazar-Yepes* ..... 227

**Impacto de los drenajes de mina sobre los microorganismos del suelo** **AO**

Impact of mine drainage on the microbial community of the soil

*María Fernanda Quiceno-Vallejo, María C. Escobar, Yaneth Vásquez* ..... 241

**Electrode cleaning and reproducibility of electrical impedance measurements of HeLa cells on aqueous solution** **OA**

Limpieza de electrodos y reproducibilidad de medidas de impedancia eléctrica en células HeLa en solución acuosa

*Sandra M. Pinto, Edgar F. Pinzón, Ángel M. Meléndez, Stelia Méndez-Sánchez, David A. Miranda* ..... 257

**Towards a density functional theory of molecular fragments.**

**What is the shape of atoms in molecules?** **RA**

Hacia una teoría de funcionales de la densidad de fragmentos moleculares.

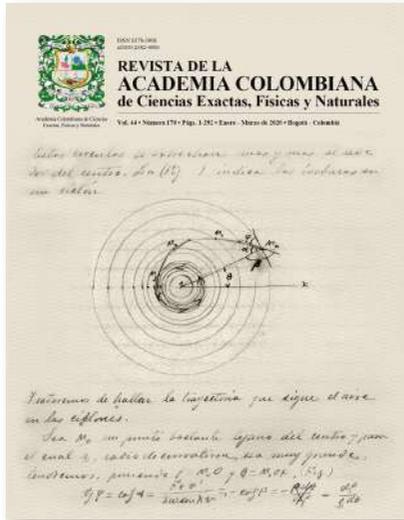
¿Cuál es la forma de los átomos en las moléculas?

*Victor H. Chávez, Adam Wasserman* ..... 269

**Enfoque y alcance**

Focus and Scope ..... 280

## Nuestra portada

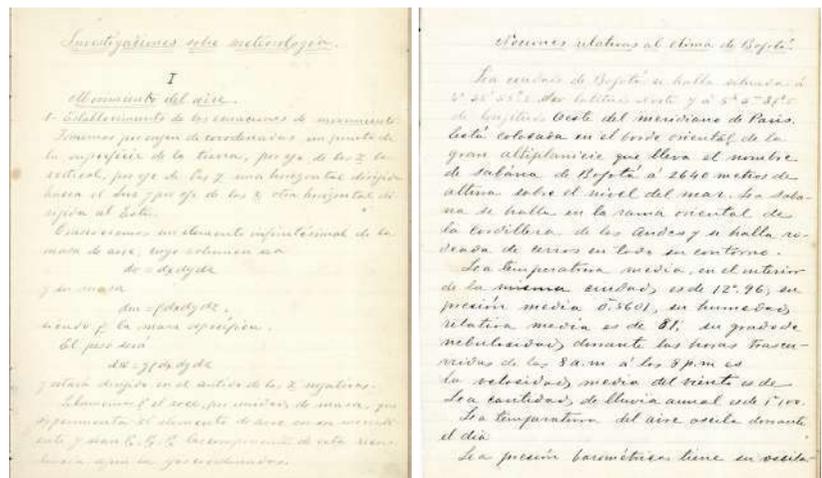


Con motivo del centenario del fallecimiento de Julio Garavito Armero el 11 de marzo de 1920, la Academia se ha vinculado al Comité Interinstitucional encargado de esta importante conmemoración. Se resaltarán su vida y su obra como profesor de la Facultad de Matemáticas e Ingeniería de la Universidad Nacional (nombre con el que se la conoció hasta la reforma Patiño, a principios de siglo XX, la cual separó las facultades de Ingeniería y de Ciencias), y Director del Observatorio Astronómico Nacional. En este número de la Revista hemos incluido una selección de los numerosos documentos que elaboró, algunos publicados y otros inéditos, en los variados campos de su interés.

Como Director del Observatorio Astronómico, Garavito debía informar al Ministro de Instrucción Pública sobre la “marcha del establecimiento”. Sus tareas principales eran tres: 1) del servicio de la hora; 2) de la práctica de las Observaciones Astronómicas (sic) en relación con la geografía del país, y 3) del estudio del Clima (sic) de la región. Con respecto al tercer punto, Garavito tuvo que hacer sus propias investigaciones para dar cuenta del estado del clima de la región, particularmente del de Bogotá, cuyo informe debía entregar al Ministro diariamente.

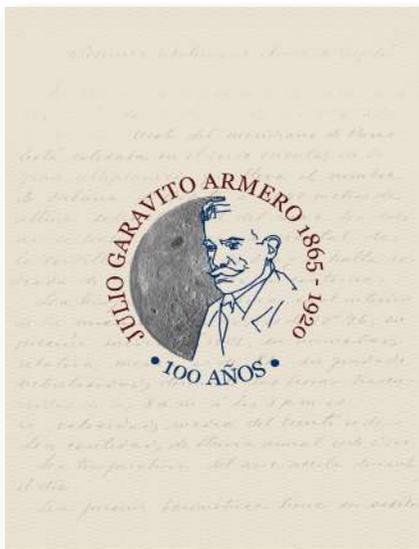
La carátula es un facsímil de una de las páginas del cuaderno No. 19, en el cual quedaron consignadas sus investigaciones meteorológicas. Se trata de una gráfica en la que hace referencia a las “isobaras en un ciclón”, es decir, curvas de igual presión en un gráfico, trazado o mapa, que sirven para apreciar con precisión los mapas del tiempo. Según sus palabras al respecto, “Trataremos de hallar la Trayectoria del aire en un ciclón”.

Acompañamos esta presentación con la primera página de sus investigaciones meteorológicas (Cuaderno No. 19) y con la primera de sus trabajos sobre el clima de Bogotá (Cuaderno No.36).



**Nota:** en el Archivo Histórico de la Universidad Nacional en Bogotá se encuentran los documentos del Archivo del Observatorio Astronómico Nacional. Nuestros agradecimientos a Gabriel Escalante, coordinador servicio de consulta, miembro del Comité Interinstitucional, conocedor como nadie de la ubicación de esos documentos, y de su valor histórico, por facilitarnos los documentos que hemos requerido para este trabajo y las demás actividades que se realizarán con ocasión de la Conmemoración del Centenario del fallecimiento de Julio Garavito Armero.

## Contraportada



El logo fue diseñado por el arquitecto Gonzalo Garavito Silva, sobrino-nieto de Julio Garavito Armero y miembro del Comité Interinstitucional Centenario JGA, que lo aprobó. Gonzalo tuvo el apoyo del ingeniero Carlos Julio Cuartas Chacón, profesor de la Universidad Javeriana, y de Clara Sánchez de la Universidad Nacional de Colombia.

## Centenario de la muerte de Julio Garavito Armero

Con ocasión del centenario de la muerte de Julio Garavito Armero (1865-1920) el próximo 11 de marzo la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales se vincula a las actividades programadas con este motivo publicando un número de la Revista en el cual se recoge una muestra representativa de su obra, seleccionada de entre los artículos publicados en ella desde su primer número en 1936.

En 1914 Jorge Álvarez Lleras (1885-1952) fue nombrado ingeniero ayudante del Observatorio Astronómico Nacional al lado de Julio Garavito Armero, su director, quien había sido su maestro en la Universidad Nacional. Un año después, la Sociedad Colombiana de Ingenieros solicitó a esa universidad que se estudiara la posibilidad de enviar al Congreso Científico Panamericano, programado para celebrarse en Washington en 1915, una presentación de la obra de Garavito. Álvarez y Garavito revisaron cuidadosamente la obra, particularmente sus cuadernos, en los cuales aparecían anotaciones como “inédito”, “publicado”, “borrador”, etc. (Sánchez, 2007). Para esa época la salud de Garavito comenzaba a decaer y Álvarez Lleras tuvo que asumir en buena medida las labores del Observatorio, lo cual le permitió conocer muy de cerca el trabajo del Director y, sobre todo, sus ideas científicas, económicas, filosóficas y políticas. La biografía escrita por Álvarez Lleras a la muerte de Garavito fue, hasta años recientes, una importante fuente (Álvarez-Lleras, 1938) sobre la vida y obra de su maestro, hasta años recientes en que han aparecido varios documentos sobre la vida y obra de Garavito, con motivo del sesquicentenario de su nacimiento en 2015 y este año 2020 con motivo del centenario de su fallecimiento. Fue Álvarez quien acudió al Congreso Panamericano y presentó un trabajo suyo sobre meteorología, pero, aparentemente, la obra de Garavito no pudo ser presentada.

A la muerte de Garavito, Álvarez Lleras ocupó el cargo de Director del Observatorio y, unos cuantos años después, en 1936, al fundarse la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, ocupó el cargo de Presidente y de director de la Revista. En esa posición Álvarez se dio a la tarea de publicar en la recién creada Revista de la Academia los trabajos de su maestro, seleccionando aquellos que a su buen saber y entender merecían divulgarse. Asumió esta tarea animado por el hecho de que todavía no se cumplían las disposiciones de la Ley 128, que rendía honores a la memoria del “sabio Profesor” (1919), entre las cuales estaba la edición de sus obras completas por parte del Estado y la erección de su busto en el jardín del Observatorio Astronómico Nacional. El busto se colocó en 1945, a los 25 años de su fallecimiento, pero la edición de sus obras completas continúa pendiente. Al respecto Álvarez Lleras afirmaba:

*Poco tiempo después de desaparecido el maestro, hubimos nosotros de ocuparnos en este asunto, agitando la cuestión en prensa periódica, de acuerdo con algunos ingenieros interesados en que tal ley no se quedara escrita. Pero solo hasta ahora, veinte años después, se ha podido en esta Revista dar cumplimiento a tan justa disposición, cuya realización es no solo un deber para Colombia, sino una medida atinada que habrá de traerle honra y provecho. (Álvarez-Lleras, 1939).*

Después de señalar lo anterior, Álvarez Lleras citaba extensamente una nota publicada en “alguno de los periódicos de la República” en la que hacía un análisis cuidadoso de la obra de Garavito, la cual, según él, podía condensarse en dos o tres volúmenes de unas cuatrocientas a quinientas páginas y clasificarse según los diversos temas cultivados por el maestro. Se enumeran a continuación, la lista de los trabajos publicados durante la gestión de quien tanto admiró a su maestro y se preocupó porque su memoria permaneciera en la historia de la ciencia colombiana.

Artículos de Julio Garavito Armero publicados en la Revista de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales entre 1936 y 1947 (los marcados con \* eran inéditos).

Título	Volumen (número), páginas, año
1. Teoría de la aberración de la luz	Vol. 1 (1): 59-65, 1936
2. Nota sobre óptica matemática	Vol. 1 (2): 145-158, 1937
3. La paradoja de la óptica matemática. Teoría de la aberración y de la refracción de la luz	Vol. 1 (3): 242-256, 1937
4. Óptica astronómica. Teoría de la refracción y de la aberración anual	Vol. 1 (4): 334-348, 1937
5. Nota sobre la dinámica de los electrones	Vol. 2 (5): 13-16, 1938
6. Una exposición elemental del método de Olbers para el cálculo de una órbita cometaria *	Vol. 2 (6): 241-255, 1938
7. Principes de la Dynamique des Fluides. (Principios de la dinámica de los fluidos) *	Vol. 2 (7): 366-370, 1938
8. Nota sobre las geometrías planas no euclídeas — Nota sobre balística exterior	Vol. 2 (8): 566-576, 1939
9. Nota sobre la fórmula fundamental de la trigonometría plana no euclídea en la geometría hiperbólica	Vol. 3 (9-10): 14-25, 1939
10. Cuestiones referentes a la astronomía — La ley newtoniana es general *	Vol. 3 (11): 243-246, 1940
11. El clima de Bogotá	Vol. 3 (12): 361-372, 1940
12. Equilibrio de los macizos pulverulentos	Vol. 4 (13): 64-69, 1940
13. Los números inconmensurables	Vol. 4 (14): 195-198, 1941
14. Teoría del anemómetro de casquetes hemisféricos	Vol. 5 (17): 61-65, 1942
15. Elementos de algunas funciones trascendentes enteras	Vol. 5 (17): 65-68, 1942
16. Entretencimientos matemáticos (oscilación de una barra prismática sobre un cilindro recto de base circular)	Vol. 5 (19): 370-373, 1943
17. Mecánica celeste — Movimiento elíptico (Método de Jacobi)*	Vol. 5 (20): 497-502, 1944
18. Tablas de la Luna *	Vol. 6 (22-23): 205-213, 1945
19. Nuevos conceptos económicos: (causa principal de la guerra de 1914); (evolución de la distribución de la riqueza)	Vol. 6 (24): 484-490, 1946
20. Fórmulas definitivas para el cálculo del movimiento de la luna por el método Hill-Brown, y con la notación usada por Henry Poincaré en el tomo III de su curso de Mecánica Celeste	Vol. 6 (24): 560-571, 1946
21. Cálculo de la efeméride del cometa de Halley	Vol. 7 (25-26): 34-46, 1946
22. Informe de la comisión observadora del eclipse total de Sol del 3 de febrero de 1916, por Julio Garavito Armero y Jorge Álvarez Lleras	Vol. 7 (27): 328-360, 1947

De la lista anterior hemos escogido los números 5, 8, 9, 11, 18, 19 y 20 para reproducirlos en este número de conmemoración del centenario del fallecimiento de Garavito, con el fin de ofrecer una muestra significativa de su obra científica y de la diversidad de sus intereses.

Los artículos de matemática son cinco, los números 7, 8, 13, 15 y 16, todos ellos publicados en los Anales de Ingeniería entre 1897 y 1921. En *Los Números inconmensurables* Garavito pretende llenar los vacíos que su maestro Indalecio Liévano Reyes (1834-1913) había dejado en la construcción de los números reales, publicada en su *Tratado*

de *Aritmética* de 1856. Al final, el artículo dice “continuará”, pero la continuación nunca apareció. Aunque el trabajo de Liévano es digno de reconocimiento como uno de los más significativos aportes científicos en el siglo XIX (Albis y Soriano, 1977), es claro que Garavito no logró sus propósitos. En *Elementos de algunas funciones trascendentes enteras* el autor demuestra que estas funciones tienen algunas propiedades interesantes y el tema es tratado claramente. Se destaca la forma de encontrar el logaritmo neperiano de un entero por medio de series. *Nota sobre la fórmula fundamental de la trigonometría plana no euclídea en la geometría hiperbólica* es un artículo dedicado al análisis de una fórmula dada por Nicolái Lobatchewsky para la Trigonometría plana no euclídea. En él Garavito intenta demostrar que los planteamientos de este matemático, pionero en las geometrías no euclidianas, están errados por estar basados en una geometría que niega el quinto postulado de Euclides. Asimismo, en su artículo *Nota sobre las geometrías planas no euclídeas*, hace una fuerte crítica de estas geometrías. Dos artículos publicados posteriormente en la Revista, uno del venezolano Duarte (1946) y otro de Albis (1997), muestran con todo detalle los errores cometidos por Garavito. Lo sorprendente es que Álvarez Lleras rechazaba cualquier crítica a Garavito, como en el caso de Duarte, y, es necesario decirlo, no logró justificar, por obvias razones, las evidentes falencias en estos artículos.

En cuanto a la astronomía, sin lugar a dudas el artículo más importante de Garavito es el titulado: *Fórmulas definitivas para el cálculo del movimiento de la Luna por el método de Hill-Brown, y con la notación usada por Henri Poincaré en el tomo III de su curso de mecánica celeste*. Curiosamente, este artículo vio la luz al cabo de más de un cuarto de siglo de muerto Garavito. Contiene fundamentalmente desarrollos en series de potencias que son la solución de ecuaciones diferenciales que describen el movimiento de la Luna alrededor de la Tierra perturbada por el Sol con una serie de suposiciones (Luna y Sol en un mismo plano, excentricidad de la órbita terrestre nula y masa terrestre despreciable frente a la del Sol) en un sistema de coordenadas rotante. La trayectoria resultante se denomina órbita variacional. El modo de obtener las series a través de unos sucesivos e ingeniosos cambios de variable fue conseguido por primero vez por George Hill, quien hizo los desarrollos hasta la novena potencia en un pequeño parámetro. Garavito logró, en su trabajo, extender los desarrollos hasta la doceava potencia de ese parámetro. La historiografía nacional ha insistido que el propósito de Garavito era obtener unas tablas lunares y que esos desarrollos en serie eran los fundamentos para elaborar una teoría lunar “definitiva”. Si ese era el propósito, los desarrollos por él obtenidos eran tan solo el primer paso, pues faltaba lo más complejo: la inclusión del movimiento del perigeo y del nodo, un esfuerzo titánico desde el punto de vista matemático. No existe ninguna evidencia de que Garavito haya emprendido el cálculo de tales desarrollos y, si pensaba hacerlo, su prematura muerte lo impidió. De modo que no es posible hablar de unas tablas lunares (las que solo es posible elaborar con una teoría lunar finalizada) con la rúbrica de Garavito. Sin embargo, Álvarez Lleras insistió numerosas veces en las páginas de la Revista sobre la existencia de tales tablas e incluso insertó unos desarrollos matemáticos en unas cuantas tablas que fundió en un artículo titulado sencillamente *Tablas de la Luna* y colocó el nombre de Garavito como autor. Cualquiera familiarizado con las teorías del movimiento lunar y el uso de tablas puede constatar que las de dicho artículo, por su muy reducida extensión y la omisión de una explicación para su uso, son inútiles para conseguir lo que se supone que un trabajo así debe satisfacer: obtener con gran exactitud la posición de la Luna en cualquier tiempo. Solo al final de su vida Álvarez Lleras reconoció que unas tablas lunares, en el pleno sentido de la palabra, y de cosecha de Garavito, no existían.

Por su tardía aparición, el artículo de las fórmulas definitivas no tuvo impacto alguno en el desarrollo de la teoría de Hill-Brown, utilizada en la mayor parte del siglo XX para explicar el movimiento de la Luna y, hasta donde ha sido posible indagar, solo ha sido referenciado (aparte de en las discusiones historiográficas) por el libro de enseñanza universitaria *Methods of Celestial Mechanics* de D. Brouwer y G. Clemence. Es muy factible que dicha citación haya pesado mucho en el Comité de Nomenclatura de la Unión Astronómica Internacional que en 1970 decidió acoger la propuesta de Jorge Arias de

Greiff, Director del Observatorio en aquellos años, mecánico celeste consumado y, como buen ingeniero civil colombiano, admirador a ultranza de Garavito, de nombrar un cráter de la Luna con el nombre del personaje que nos ocupa.

El interés de Garavito en varios aspectos de la física se concentró en la mecánica y la óptica clásica y, en menor grado, en la mecánica de los fluidos y la termodinámica. En este campo, debe reconocerse que estaba al corriente de los avances teóricos y experimentales de su época.

Garavito asume una posición ortodoxa frente a la física, por lo que no es de extrañar que la defensa que hace de la física clásica sea acérrima. Su preocupación se orientó especialmente hacia el fenómeno de la aberración estelar y el movimiento de la Tierra con respecto al éter. Además, se ocupó del problema del crecimiento de la masa de los electrones en los tubos de Crooks, aspectos que intentó resolver desde el paradigma netamente newtoniano.

Cierto es que a finales del siglo XIX y comienzos del XX había resultados experimentales que ocasionaban serias paradojas, lo que obligaba a algunos investigadores a tratar de cambiar los aspectos fundamentales de la ciencia. Garavito juzgaba que eso era extremo. En su lugar, propuso descubrir en dónde radicaban los errores, explicarlos debidamente bajo una hipótesis novedosa, pero todo enmarcado en el contexto de la física clásica. En el caso particular del artículo *Nota sobre la dinámica de los electrones*, en el que señala el comportamiento observado en varios laboratorios de la relación de la carga del electrón ( $q$ ) y su masa ( $m$ ), la cual disminuye a medida que los electrones se acercan a la velocidad de la luz y puede conducir a la conclusión de que la masa de los electrones aumenta con la velocidad (conclusión inadmisibles para algunos en aquella época), Garavito propone que, así como hay discontinuidades en la materia, bien puede suceder que las fuerzas naturales también posean discontinuidades, de modo que las “acciones eléctricas y magnéticas sean debidas a percusiones sucesivas provenientes del campo eléctrico y magnético y cuya intensidad y frecuencia determinan el valor de la fuerza”. Si esto se asume, concluye Garavito, “la explicación del fenómeno es muy sencilla”. Y, en efecto, con tal hipótesis y unos cálculos muy directos, logra mostrar que la desviación que sufren los electrones es proporcional a  $q/m$ . Es, por supuesto, un mecanismo *ad hoc* pero que constituye una muestra de la originalidad del pensamiento de Garavito en su persistente inclinación a velar por el cumplimiento de la mecánica newtoniana.

*El clima de Bogotá* revela otro de los intereses de Garavito, ya que, como director del Observatorio Astronómico Nacional, debía dar un informe diario al Ministro de Instrucción Pública sobre el clima de Bogotá, pero no se limitó a eso, sino que elaboró trabajos teóricos sobre meteorología (Pabón-Caicedo, 2006).

A partir de 1899, según se puede observar en sus cuadernos, Garavito comienza a preocuparse por la situación política y económica del país y a publicar algunas de sus reflexiones al respecto. Entre estos escritos, Álvarez Lleras escogió publicar *Nuevos conceptos económicos: (Causa principal de la guerra de 1914); (Evolución de la distribución de la riqueza)*. Creemos que en la siguiente cita se resumen sus inquietudes, en buena medida válidas hoy en día.

*Se ha atribuido el atraso a las instituciones políticas que han regido al país, a la religión dominante, a la raza, a la lengua, al clima, a las guerras civiles, a la falta de vías de comunicación rápidas, a la ignorancia industrial, etc. Pero, ¿cuál de estas supuestas causas se acerca más a la realidad? (Garavito, 1899)*

### **Gregorio Portilla**

Profesor Titular  
Observatorio Astronómico Nacional

### **Clara Helena Sánchez**

Profesora pensionada de la Universidad Nacional de Colombia  
Miembro Correspondiente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas,  
Físicas y Naturales

## Referencias

- Albis, V. Soriano Lleras, Ll.** (1977). The work of Indalecio Liévano in the foundation of the real number system. *Historia Mathematica*. **3**: 161-166.
- Albis, V.** (1997) Vicisitudes del postulado euclídeo en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **21** (80): 281-293.
- Álvarez Lleras, J.** (1938). Julio Garavito Armero. Estudio biográfico. Homenaje del Cabildo a la Ciudad de Bogotá en el IV centenario de su fundación. 1538-1938. Registro Municipal, Ediciones del Consejo. p. 142-154.
- Álvarez Lleras, J.** (1939). Notas de la Dirección. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **3** (9-10): 1-13.
- Duarte, F. J.** (1946) Sobre las geometrías no euclidianas. Notas históricas y bibliográficas. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **7** (25-26): 63-80.
- Garavito A. Julio.** (1899). Causas del atraso relativo en Colombia, **Cuaderno 3**, 183-193, 195-220, 1899.
- Pabón Caicedo, J. D.** (2006). El clima de Bogotá durante los siglos XVI-XIX a partir de material histórico. *Cuadernos de Geografía Universidad Nacional*. **15**: 75-92.
- Sánchez, C. H.** (2007). Los cuadernos de Julio Garavito. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **31** (119): 253-266.

# NOTA SOBRE LA DINAMICA DE LOS ELECTRONES

JULIO GARAVITO A.

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919.

De aspecto trascendental para la ciencia, por haber dado origen a una interpretación discordante con la Mecánica clásica, son los experimentos efectuados por los físicos modernos, Profesores J. J. Thomson, Kaufmann, Lenard, Simón, Wiechert, Becquerel, etc., referentes a las desviaciones que sufren los rayos catódicos, los rayos *beta* del *radium* y los ultramorados, al someter dichos rayos a la acción de un campo eléctrico y de un campo magnético, simultánea o separadamente.

Se trata de estudiar el movimiento de los electrones dentro de un tubo de Crookes. Supondremos que los rayos catódicos atraviesan, en su movimiento del cátodo al ánodo, una ventanilla estrecha, de manera de formar un pequeño espacio luminoso en la pared opuesta.

Tomaremos por origen de coordenadas el centro de la ventanilla, por eje *Ox* la trayectoria de los electrones, cuando no actúa ningún campo de fuerza transversal, por eje *Oy* la dirección según la cual se establece el campo eléctrico, y *Oz* aquella según la cual se establece el campo magnético.

Los datos del problema son: energía cinética *W* de los rayos catódicos, cantidad *Q* de electricidad en movimiento; *M*(*X*<sub>2</sub> *Y*<sub>2</sub> *Z*<sub>2</sub>) la acción que ejerce el campo eléctrico perturbador, intensidad *H* del campo magnético, y, finalmente, las coordenadas *x=l y=k z=0* del centro del pequeño espacio iluminado después de la desviación producida, sea por el campo eléctrico o por el magnético.

Llamemos *m* la masa del electrón; *E*(*X*<sub>1</sub> *Y*<sub>1</sub> *Z*<sub>1</sub>) la acción que ejerce el campo eléctrico sobre el electrón en movimiento; *M*(*X*<sub>2</sub> *Y*<sub>2</sub> *Z*<sub>2</sub>) la acción que ejerce el campo magnético, y *R*(*X*<sub>3</sub> *Y*<sub>3</sub> *Z*<sub>3</sub>) la que ejercerían los dos campos eléctrico y magnético el actuar en conjunto.

No suponemos que *X*<sub>3</sub>=*X*<sub>1</sub>+*X*<sub>2</sub> *Y*<sub>3</sub>=*Y*<sub>1</sub>+*Y*<sub>2</sub> *Z*<sub>3</sub>=*Z*<sub>1</sub>+*Z*<sub>2</sub> porque ello implicaría la hipótesis de que los dos campos no influyesen el uno sobre el otro al actuar simultáneamente. Esto no es un desconocimiento del postulado de la independencia de los efectos de las fuerzas entre sí y del movimiento adquirido, sino la aplicación correcta de ese principio. En efecto, la acción del campo eléctrico sobre el electrón sería *E* al no actuar el campo magnético; la acción del magnético sería *M* al no actuar el eléctrico. Al actuar simultáneamente, la acción del campo eléctrico podría muy bien no ser *E* sino *E'* y la del magnético no ser *M* sino *M'*. Así *R* sería la resultante de *M'* y *E'* y no la de *E* y *M*.

Las ecuaciones de movimiento son las siguientes:

*Campo eléctrico.*

$$(1) \quad m \frac{d^2x}{dt^2} = X_1 \qquad m \frac{d^2y}{dt^2} = Y_1 \qquad m \frac{d^2z}{dt^2} = Z_1$$

*Campo magnético.*

$$(2) \quad m \frac{d^2x}{dt^2} = X_2 \qquad m \frac{d^2y}{dt^2} = Y_2 \qquad m \frac{d^2z}{dt^2} = Z_2$$

*Campos eléctrico y magnético.*

$$(3) \quad m \frac{d^2x}{dt^2} = X_3 \qquad m \frac{d^2y}{dt^2} = Y_3 \qquad m \frac{d^2z}{dt^2} = Z_3$$

Dos problemas se presentan en los movimientos, a saber: 1.º dado el movimiento, hallar las fuerzas capaces de producirlo; 2.º dadas las fuerzas, hallar el movimiento.

El primer problema condujo a Newton a descubrir la ley de la gravitación como consecuencia de las leyes de Kepler. La fuerza se dedujo del movimiento mismo, es decir, tal como actúa sobre los planetas en movimiento. Después se verificó la identidad entre dicha fuerza y la gravedad; de esta manera se comprobó que la velocidad de que están animados los planetas no tiene influencia sensible sobre el valor de dicha fuerza. Conocida la fuerza, la Mecánica celeste se ha ocupado del problema referente al movimiento de varios cuerpos que se atraen los unos a los otros, y es así como se ha establecido la teoría de los movimientos planetarios. Pero no es eso todo, la Mecánica celeste persigue algo más, y es precisamente el grado de exactitud que puede conferírsele a la ley de gravitación, esto es, si ella basta por sí sola a explicar todas las perturbaciones, o si es necesario introducirle algún pequeño término correctivo. Hasta ahora ella ha bastado, dado el grado actual de precisión en las observaciones astronómicas; pero es natural que dicha ley no sea perfecta; es natural que la velocidad de los planetas tenga alguna influencia, y que, además, haya algunas otras fuerzas en acción, como la fuerza repulsiva de la luz, etc., cuyos efectos se hayan escapado aún por ser muy pequeños, en relación con los de la gravitación.

Al tratar del movimiento de los electrones nos parece más fecundo el primer problema, como que se trata de una investigación en un asunto nuevo, en donde casi todo es desconocido. No sería muy difícil hallar la forma exacta de la trayectoria en cada caso, y aunque esto no sería suficiente para determinar la ley de la fuerza, daría, sin embargo, mucha luz a ese respecto. Pero el método que se empleó corresponde al segundo problema. Se ha supuesto conocida la fuerza, en cada caso, y se ha determinado el movimiento. Si éste concuerda con los hechos, la ley de la fuerza es correcta. ¿Qué se debe concluir si el movimiento previsto no coincide con el movimiento real?

Consideraremos sucesivamente los tres casos tal como han sido tratados por los experimentadores:

*Primer caso — Campo eléctrico uniforme.*

Sea  $F$  la intensidad del campo,  $e$  la carga de un punto electrizado inmóvil en dicho campo; la fuerza que actuaría sobre él sería  $Fe$  paralelamente a la dirección  $Oy$  del campo. Si llamamos  $e$  la carga negativa del electrón, y si se supone que la fuerza desviatriz es la acción del campo, en las mismas condiciones que obraría esta fuerza sobre el electrón en reposo, se tendría para los componentes  $X_1$   $Y_1$   $Z_1$  los siguientes valores:  $X_1 = 0$   $Y_1 = Fe$   $Z_1 = 0$ .

Sustituyéndolas en (1) se halla por integración:  $x = vt$   $y = \frac{1}{2} F \frac{e}{m} t^2$   $z = 0$

La trayectoria sería la parábola  $y = \frac{1}{2} F \frac{e x^2}{m v^2}$  (A) De la cual sólo se conocen dos puntos, el origen y el punto luminoso, cuyas coordenadas son:  $x = l$   $y = k$  y  $z = 0$ . Hay, pues, una verificación, la de que  $z = 0$ . Pero también es claro que el valor nulo de  $z$  se hubiera podido establecer a priori.

Al sustituir en (A) las coordenadas del punto luminoso, se halla:  $k = \frac{1}{2} F \frac{e l^2}{m v^2}$  (a)

Los experimentadores han determinado el valor de  $v$  por métodos correctos, que indicaremos después; pero quedan como incógnitas  $e$  y  $m$  y es necesario utilizar la ecuación (a) para hallar la relación  $\frac{e}{m}$ . Así, pues, dicha ecuación no puede servirnos de verificación a la hipótesis.

*Segundo caso — Campo magnético.*

Se supone que el electrón de carga  $e$  animado de una velocidad  $v$  equivale a un elemento  $ev$  de circuito eléctrico. Llamando  $H$  la intensidad del campo magnético, dirigida según  $Oz$  daría una fuerza  $Hev$  sobre el electrón, según  $Oy$ . En este caso se tendrá:  $X_2 = -He \frac{dy}{dt}$   $Y_2 = He \frac{dx}{dt}$   $Z_2 = 0$ . El valor nulo de  $Z_2$  se puede prever a priori, toda vez que la acción de un campo magnético sobre la electricidad en movimiento es siempre normal al campo magnético.

Sustituyendo en (2) se halla:  $x = a \text{ sen } wt$   $y = a (1 - \text{cos } wt)$   $z = 0$  (B)

tomando por origen del tiempo el instante en que el electrón atraviesa el origen de coordenados y en donde

$$w = \frac{He}{m} \quad \text{y} \quad a = \frac{v}{w} = \frac{m v}{He}$$

La trayectoria debe ser, pues, circular y de radio  $a$ . ¿Se ha verificado esta conclusión? No lo creemos, puesto que sólo se ha dispuesto de dos puntos, el origen y el punto luminoso.

Como  $t$  es muy pequeño, resulta lo propio para  $wt$  y las ecuaciones (B) pueden escribirse, para el movimiento dentro del tubo, de la manera siguiente, despreciando términos de orden superior:

$$x = awt \quad y = \frac{1}{2} a w^2 t^2 \quad \text{Poniendo} \quad T = \frac{l}{v} \quad \text{se halla} \quad k = \frac{1}{2} \cdot \frac{He l^2}{m v} \quad (b)$$

que es la misma fórmula (a) cambiando  $F$  por  $Hv$ .

Algunos autores emplean la igualdad entre la fuerza centrífuga y la fuerza magnética, lo cual conduce a la misma fórmula (b).

Al sustituir el valor de  $R = \frac{l^2}{2k}$  en la ecuación se halla, en efecto  $Hev = \frac{m v^2}{R}$

*Tercer caso — Campos eléctrico y magnético.*

El caso de campos eléctrico y magnético se ha empleado de manera de compensar las dos desviaciones. Llamando, pues,  $F$  y  $H$  las intensidades de los campos cuyas desviaciones se compensan, e igualando los valores de  $k$  correspondientes a los dos casos (a) y (b) se halla:

$$\frac{1}{2} F \frac{e l^2}{m v^2} = \frac{1}{2} \cdot H \frac{e l^2}{m v} \quad \text{De donde se deduce } v \text{ así:} \quad v = \frac{F}{H}$$

Sustituyendo este valor de  $\nu$  en (a) o en (b) se obtiene:

$$(c) \quad k = \frac{1}{2} \frac{H^2 l^2}{F m} e \quad \text{de donde se deduce} \quad \frac{e}{m} = \frac{2 k F}{H^2 l^2}$$

Los autores que han tratado este asunto reemplazan  $\frac{k}{l}$  por  $u$  llamando  $u$  la desviación angular, así:

$$\frac{e}{m} = \frac{2 F u}{H^2 l}$$

En cuanto a los métodos empleados por los experimentadores para determinar la velocidad del electrón, sólo indicaremos someramente el empleado por J. J. Thomson. Este Profesor determinó la carga negativa  $Q$  transportada por los electrones y su energía cinética  $W$  haciendo penetrar el haz de rayos, desviado por un campo magnético, en un conductor hueco, y empleando un electrómetro y un par termo-eléctrico.

Llamando  $N$  el número de electrones,  $e$  su carga y  $m$  su masa, se tendrá:  $Q = Ne$      $W = \frac{1}{2} m v^2 N$

De donde  $v^2 = \frac{2 W e}{Q m}$     Lo que da una nueva relación entre  $v^2$     y     $\frac{e}{m}$

Los Profesores W. Kaufmann y S. Simon determinaron la velocidad del electrón por medio de la energía cinética, equivalente al paso de la carga del potencial del cátodo al del ánodo.

De las fórmulas (a), (b) y (c) se deducen los valores siguientes para  $\frac{e}{m}$  a saber:

$$(a)^* \quad \frac{e}{m} = \frac{2 k v^2}{F l^2} \quad (\text{campo eléctrico})$$

$$(b)^* \quad \frac{e}{m} = \frac{2 k v}{H l^2} \quad (\text{campo magnético})$$

$$(c)^* \quad \frac{e}{m} = \frac{2 k F}{H^2 l^2} \quad (\text{campos eléctrico y magnético})$$

Los valores hallados para  $\frac{e}{m}$  han sido los siguientes:

$231 \times 10^{15}$  (J. J. Thomson);  $191,7 \times 10^{15}$  (Lenard);  $345 \times 10^{15}$  (Lenard);  $300 \times 10^{15}$  (Becquerel por la fórmula (c)\*).  
 $558 \times 10^{15}$  (Kaufmann);  $559,5 \times 10^{15}$  (Simon);  $303 \times 10^{15}$  y  $465 \times 10^{15}$  (Wiechert);  $351 \times 10^{15}$  (J. J. Thomson por la fórmula (b)\*).

Estos resultados son evidentemente discordantes; pero no es posible juzgar si las discrepancias dependen de errores de observación o de error en las hipótesis sobre las cuales se han fundado los cálculos, pues esta clase de observaciones es muy difícil, y no es posible asignar valor alguno a los errores.

Sin embargo, experimentos muy precisos, efectuados por el profesor Kaufmann, han hecho ver que los valores de  $\frac{e}{m}$  disminuyen rápidamente cuando la velocidad del electrón crece, hasta aproximarse a la velocidad de la luz.

La consecuencia que han deducido es la siguiente:

«Or, comme tout porte a croire que la charge est toujours la même pour tous les electrons, il est necessaire de supposer que c'est leur masse qui n'est pas constante, et qu'elle croit rapidement avec leur vitesse, quand celle-ci est voisine de la vitesse de la lumière.» (La theorie moderne des phenomenes physiques -Augusto Righi Professeur a l'Université de Bologne- págs. 107, 108). (1)

Esta conclusión ha tenido gran favor entre las gentes que gozan con toda innovación; pero no ha sido bien acogida por los amantes de la Mecánica clásica, y esto sin que se les pueda tachar de espíritus rutinarios ni retrógrados. El Profesor H. Poincaré ha hecho ver, en efecto, «que, aunque la Mecánica ha nacido de la experiencia, no puede, sin embargo, ser contradicha por ésta».

El conflicto ha provenido, a mi modo de ver, de la elección que se ha hecho entre los dos problemas a que da lugar el estudio de los movimientos. Si en vez de haber elegido el segundo problema, se hubiese escogido el primero, no hubiera habido ningún desacuerdo entre físicos y matemáticos.

De los experimentos de Kaufmann resulta nula la desviación  $k$  para grandes velocidades, y como esta desviación proviene de la aceleración  $\frac{d^2 y}{dt^2}$  resulta que esta aceleración disminuye rápidamente cuando la velocidad del electrón se aproxima a la de la luz. Ahora bien, como en este caso se busca la fuerza y ésta se mide por el producto de la masa por la aceleración, resulta que la fuerza disminuye rápidamente cuando la velocidad toma valores considerables.

Conclusión muy fácil de admitir por todos, pues, por ejemplo, la presión que ejerce el viento contra una superficie se anula cuando se da a ésta una velocidad igual y paralela a la del viento.

(1) «Ahora, como todo conduce a creer que la carga es siempre la misma para todos los electrones, es necesario suponer que es su masa la que no es constante, y que ella crece rápidamente con la velocidad, cuando ésta se aproxima a la velocidad de la luz». (La teoría moderna de los fenómenos físicos -Augusto Righi, Profesor en la Universidad de Bolonia- págs. 107, 108).

\* \* \*

Séanos permitido emitir una explicación del fenómeno a que nos referimos.

La materia nos parece continua a causa de la imperfección de nuestros sentidos, pero no lo es. Esto mismo, y por la misma discontinuidad de la materia, debe ocurrir con las fuerzas naturales. Es probable que las acciones eléctricas y magnéticas sean debidas a percusiones sucesivas provenientes del campo eléctrico y magnético, y cuya intensidad y frecuencia determinan el valor de la fuerza. Si esto se admite, la explicación del fenómeno es muy sencilla.

Sea  $n$  el número de choques que sufre un electrón en la unidad de tiempo; en el tiempo  $T = \frac{l}{v}$  que gasta el electrón en atravesar el campo eléctrico o magnético, el número de choque recibidos será  $nT = \frac{nl}{v}$

En el tiempo  $t$  el número de choques será  $nt$  Y si  $p$  es la impulsión de cada choque, la cantidad de movimiento proyectada, según la dirección  $Oy$  de las percusiones será:

$$m \frac{dy}{dt} = npt \qquad \text{De donde} \qquad y = \frac{1}{2} \frac{np}{m} t^2$$

Por tanto, durante  $T = \frac{l}{v}$  se tendrá, llamando como antes  $k$  la desviación:  $k = \frac{1}{2} \frac{np l^2}{m v^2}$  fórmula que no difiere de las (a) y (b) sino por el cambio de  $np$  en vez de  $Fe$  y  $Hev$  respectivamente.

Mientras  $v$  sea pequeño, todo ocurre como si la fuerza obrase de una manera continua; pero para valores muy grandes de  $v$  en el reducido espacio  $l$  las cosas pasan de otro modo.

Si  $v$  es muy grande,  $T = \frac{l}{v}$  se hará muy pequeño. Así, cuando  $T = \frac{l}{Nn}$  siendo  $N$  número muy grande, resultará que el número de choques que recibe el electrón en su trayecto del cátodo al ánodo será:  $nT = \frac{n}{Nn} = \frac{1}{N}$  Es decir, que de  $N$  electrones, que atraviesan el campo eléctrico o magnético, uno solo recibe choque y será desviado, mientras que  $N-1$  no sufrirá desviación alguna. Ahora bien, como el número  $N-1$  de electrones no desviados es muy grande, ellos serán los que producen el pequeño espacio iluminado en el ánodo, en la misma situación que si no hubiese campo transversal perturbador. Así pues, basta la hipótesis de la discontinuidad de la fuerza, consecuencia directa de la discontinuidad de la materia, para explicar por qué razón la desviación  $k$  de los rayos catódicos disminuye rápidamente cuando la velocidad se acerca a la de la luz.



## NOTA SOBRE LAS GEOMETRIAS PLANAS NO EUCLIDEAS Y NOTA SOBRE BALISTICA EXTERIOR

JULIO GARAVITO A.

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919

### NOTA SOBRE LAS GEOMETRIAS PLANAS NO EUCLIDEAS

Después de que el lector se haya informado bien del juicio crítico en referencia y de la manera como se ha confeccionado la Trigonometría plana hiperbólica, se convencerá de que Gauss, Lobattcheffsky y Riemann, y en general los que han estudiado a fondo y detenidamente el asunto, han tenido forzosamente que llegar a las mismas conclusiones a que hemos llegado nosotros respecto del postulado de Euclides. Habiendo tropezado aquellos sabios con un interesante acertijo, se guardaron de aclararlo para dejar un motivo de entretenimiento a los curiosos, presentando el enigma bajo la forma de verosimilitud de otras Geometrías planas no euclídeas.

El progreso moderno ha sido quizás la causa de que el acertijo no haya sido puesto en claro, pues los quehaceres y entretenimientos impiden al hombre moderno, en esta época de automovilismo y cinematografía, estudiar los asuntos con la debida atención. Por otra parte, se puede afirmar que hoy el mayor número de personas estudiosas, sea por falta de tiempo o sea por desconfianza en la fuerza de su propio entendimiento, prefiere recargar la memoria más bien que cultivar la inteligencia ejercitándola en la investigación de la verdad.

La confusión de conceptos que reina hoy en el mundo sabio respecto de la formación y desarrollo de las ideas cuantitativas, es indudablemente debida a las causas atrás anotadas. Tal confusión de ideas ha sido a su vez causa de que el *juguete* presentado por Lobattcheffsky haya tomado el carácter de inextricable misterio. En efecto, los geómetras kantianos que, antes de Lobattcheffsky, conferían a los axiomas la categoría de verdades necesarias, admitieron después la existencia lógica de espacios no euclídeos! En cambio, otros sabios que prohijan las ideas psicológicas modernas, discuten no obstante sobre las diferencias que existen entre lo que ellos han llamado espacios visual, táctil y motor y el espacio que llaman geométrico, a fin de poder deducir que este último es convencional y que, por tanto, las Geometrías euclídeas o no euclídeas no encierran verdades sino convenciones más o menos ventajosas unas que otras! Tales sabios psicólogos adulteran profundamente la psicología experimental, según la cual el cerebro, centro nervioso, ha venido transformándose paralela y progresivamente bajo la influencia resultante del conjunto de todos los sentidos y simultáneamente con ellos durante toda la historia de la vida en la labor de adaptación del sér al medio en que actúa. Según esta escuela la idea de espacio proviene del efecto resultante de todas las sensaciones en circunstancias variadísimas, pero consecuentes a la modalidad que se llama coexistencia, y además representables en la imaginación.

No se vaya a creer, por lo que acabamos de decir, que el asunto concierne a la alta Filosofía; muy al contrario, es cuestión sencilla al alcance de todos.

La posibilidad de existencia de toda figura geométrica que la imaginación pueda concebir de una manera clara, es el principio fundamental de la Geometría. Las ideas sobre tales figuras son intuitivas; al hablar en el lenguaje cartesiano se diría que son ideas innatas; según la psicología moderna, deben ser tan antiguas en la historia del desarrollo de la vida, como el mismo centro cuya forma han modelado en la lenta labor de adaptación del individuo al medio.

El lenguaje ordinario de que se ha servido la Geometría pura en la exposición de sus proposiciones, no le permite definir categóricamente los lugares geométricos, como podía hacerlo el simbolismo cuantitativo del análisis; sin embargo, la imaginación al reproducir de manera perfecta los lugares geométricos se halla en capacidad de reconocerles algunas propiedades simples, de las cuales se sirve la Geometría pura para designar las figuras, tratando de suplir por ese medio la deficiencia anotada. ¿Pero cuántas de aquellas propiedades bastan para caracterizar los diversos lugares?

Al representar en nuestra imaginación la línea recta, por ejemplo, notamos que es la más corta entre dos cualesquiera de sus puntos, pues nos recuerda la forma del hilo en tensión; igualmente reconocemos como consecuencia de aquélla que dos rectas no pueden tener sino un solo punto común, a menos de confundirse en toda su ilimitada extensión, etc., etc.

Así fue como Euclides designó la línea recta por medio de las dos propiedades indicadas; pero bien pronto necesitó de una nueva propiedad para terminar su Geometría; esta nueva propiedad recibió el nombre de Postulado de Euclides.

Como el geómetra griego no necesitó mayor número de propiedades de la línea recta, se puede concluir que los *axiomas de Euclides son necesarios y suficientes para definir cualitativamente la recta*. Estos axiomas o postulados son:

1º Entre dos puntos de un plano hay una línea que es la más corta, y es la recta. Consecuencia directa de esta propiedad es la de que dos rectas no pueden tener sino un solo punto común a menos de confundirse; y

2º En un plano, por un punto fuera de una recta no puede trazarse sino una sola paralela.

Al decir que las dos propiedades indicadas son a la vez necesarias y suficientes, se quiere significar: a) que sólo la línea recta cumple a la vez las dos condiciones, y b) que, por ejemplo, la primera propiedad no es suficiente para definir cualitativamente la recta por existir otros lugares geométricos que la verifican. Bien entendido que se trata de la manera como se razona en la Geometría pura.

Trazar sobre una faja de papel una raya y llamarla recta con la sola condición de que cumpla la primera propiedad, y considerar al papel como un plano por la condición de que la línea pueda desalojarse sobre él sin cambiar de forma, no son datos suficientes para que se pueda edificar la Geometría del plano. En efecto, ¿se puede estar seguro de antemano de que no habrá líneas que sin ser rectas cumplan sobre ciertas superficies que no son planas, las propiedades conferidas a las rayas y al papel? Es claro que no. Se podría elaborar la Geometría de ciertas superficies de curvatura constante en la creencia de haber hecho una Geometría plana. Tal es lo acontecido con la Geometría llamada hiperbólica, la cual estudia las propiedades de las figuras formadas por círculos máximos de una esfera imaginaria sobre la cual se mueven dichas figuras. El razonamiento geométrico puro puede, pues, conducir a equivocaciones aun no sospechadas antes de Lobattcheffsky.

Se llama *geodésica* la línea más corta que une dos puntos de una superficie. Ahora bien: en las superficies de curvatura constante, las geodésicas son las secciones normales. Si, pues, se hace caso omiso del postulado, el raciocinio geométrico no podría conducir sino a propiedades comunes a todas las superficies de curvatura constante, positiva, nula o negativa. Pero si en vez de suprimir el Postulado de Euclides se le sustituye por el de Lobattcheffsky, se hallan entonces las propiedades de las figuras de curvatura negativa, etc.

Algunos, sea por haberse dado cuenta de que el Postulado de Euclides no venía a ser sino una condición de incompatibilidad de ecuaciones de primer grado, como lo veremos después, sea por intuición directa, creyeron posible deducir el citado principio como consecuencia de que dos rectas no pueden tener sino un sólo punto común sin confundirse en toda su extensión. Sus tentativas no podían tener éxito, pues emplearon el método usual de la Geometría pura, en el cual no es posible distinguir cuándo las rayas y el papel representan rectas en un plano y cuándo son circunferencias de círculos máximos sobre la esfera real o imaginaria, y el postulado siendo como es propiedad exclusiva de la recta, no podía deducirse como consecuencia lógica de raciocinios aplicables a especies distintas de líneas y de superficies.

Los geómetras, no habiéndose dado cuenta en un principio de la circunstancia que hemos anotado, e insistiendo en la demostración de la citada propiedad euclídea, intentaron llegar a ella por el método del *absurdo*. Lobattcheffsky sustituyó al Postulado de Euclides el de que *por un punto fuera de una recta y en el plano del punto y de la recta se pueden trazar infinidad de rectas no secantes contenidas dentro de un ángulo desconocido*. Pero en lugar de llegar a contradicción vio que una nueva Geometría (la de las superficies de curvatura negativa constante) tan lógica como la del plano deducida por Euclides, se desarrollaba ante la fuerza de sus razonamientos. El geómetra ruso estudió las propiedades de tales figuras en la errónea creencia de que descubría una nueva Geometría plana no euclídea.

La línea recta, siendo una línea de curvatura nula podrá considerarse como el límite de una circunferencia de círculo máximo de esfera real o imaginaria, cuando el módulo del radio de la esfera crece más y más. En realidad las fórmulas de la Trigonometría esférica real y de la Trigonometría esférica imaginaria o hiperbólica, se reducen para mod.  $R = \infty$  a las de la Trigonometría rectilínea.

En la deducción de la Geometría plana hiperbólica, las circunferencias de los círculos máximos de esfera imaginaria se consideraron como líneas rectas sin que nada hiciese recelar de su verdadera forma. Se podría creer que el mismo éxito se hallaría al tratar de establecer la Trigonometría esférica imaginaria como si fuese Trigonometría plana no euclídea; pero tal cosa no es posible, lo cual proviene de que si bien es cierto que la recta puede considerarse como el límite de la circunferencia de un círculo de curvatura positiva o negativa, tal límite no es alcanzado, pues hay una diferencia sustancial entre la recta y las líneas de curvatura constante positiva o negativa, como que la recta no cierra mientras las otras son curvas cerradas. Tal diferencia es de capital importancia desde el punto de vista del análisis, pues el espacio descrito por un punto móvil que se desaloja en determinado sentido no puede servir de variable sino a funcio-

nes uniformes de la posición ocupada por aquel punto; mientras que el espacio descrito por un punto que recorre una curva cerrada en determinado sentido puede servir de variable para expresar funciones periódicas de aquel espacio, las cuales no tienen sino un solo valor para cada posición del punto sobre la curva. Tales funciones serán de período real o imaginario según que la circunferencia sea de radio real o de radio imaginario.

Lobattcheffsky no salió de su error sino cuando se propuso crear la Trigonometría correspondiente a su nueva Geometría.

La teoría de las variables complejas debida a Cauchy permite estudiar las funciones circulares y las hiperbólicas independientemente de toda consideración geométrica, como simples series de potencias enteras y positivas convergentes para todos los valores de las variables. Las funciones circulares  $\text{sen } x$  y  $\text{cos } x$  siendo funciones periódicas de  $x$  cuyo período real es designado por  $2\pi$ , pueden determinarse independientemente de toda consideración geométrica por medio de los lazos de Prouet. Las funciones hiperbólicas  $S(x)$  y  $C(x)$  son también periódicas, pero su período  $2\pi\sqrt{-1}$  o  $2\pi i$  es imaginario (1).

Las funciones  $\text{sen } x$  y  $\text{cos } x$  son holomorfas y toman valores iguales pero signos contrarios cuando  $x$  crece en un múltiple impar de semiperíodos  $\pi$ ; en consecuencia la función  $\text{tang } x$  que es el cociente del  $\text{sen } x$  por  $\text{cos } x$  será meromorfa cuyos polos son los ceros de  $\text{cos } x$  y admitirá por período al semiperíodo  $\pi$ . Igualmente  $T(x)$  cociente de  $S(x)$  por  $C(x)$  admite por período a

$$\pi\sqrt{-1} = \pi i.$$

Sea (Fig. 1)  $L'L$  una recta indefinida,  $P$  un punto situado fuera de ella,  $PO$  la perpendicular bajada de  $P$  sobre  $L'L$  y  $O$  el pie de esa perpendicular. Tomando a  $O$  como origen de las distancias contadas sobre la recta  $L'L$  y considerando las magnitudes situadas a la derecha de  $O$  tales como  $Om$  como positivas y las  $Om'$  como negativas, un punto móvil que recorra a  $L'L$  de izquierda a derecha tendrá a cada instante una distancia  $z$  a  $O$  la cual variará de una manera continua desde  $-\infty$  hasta  $+\infty$ . El punto móvil no pasará sino una sola vez por cada punto  $m$  de la recta y no podrá ir de  $m'$  a  $m$  sino pasando por  $O$ , a menos de salirse de la recta.

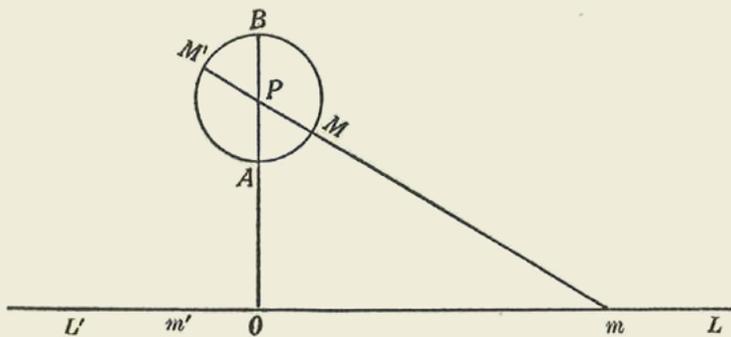


Figura 1a.

Nota.—Obsérvese la posición relativa de las letras que designan los puntos de esta figura con la de los mismos puntos de la figura segunda (página 570) situados sobre la esfera, pues se ha conservado, de propósito, idéntica su designación.

Si se une  $m$  al punto  $P$  se tendrá una nueva recta única, pues por dos puntos no se puede hacer pasar sino una sola recta. Si por  $P$  se traza una recta cualquiera en el plano, ésta no podrá cortar a  $L$  o  $L'$  en más de un punto y sólo a una distancia real  $Om = z$ , la cual podrá hacerse infinita.

Haciendo centro en  $P$  y con un radio cualquiera tracemos el círculo  $AMBM'A$  el cual quedará cortado en dos partes iguales por la recta  $MP$  que formará un diámetro, pues pasa por el centro  $P$ .

Las propiedades de rectas y círculos de que acabamos de servirnos son independientes del Postulado de Euclides y no nos detendremos, pues, a demostrarlas, lo cual sería muy sencillo. Tendremos:

$$\text{arc.MBM}' = \text{arc.M}'AM = \text{media circunferencia} = \frac{1}{2}C$$

llamando  $C$  la circunferencia entera.

Imaginemos un punto móvil que partiendo de  $A$  en el sentido  $AMBM'$  recorra la circunferencia. Dicho punto pasará y repasará sucesivamente por los puntos  $M$  y  $M'$  a cada nueva vuelta. Los espacios recorridos por el móvil cada vez que pasa por  $M$  estarán dados por la fórmula  $AM + n.C$  en donde  $n$  representa el número de vueltas dadas. Los espacios recorridos por el mismo móvil cada vez que pasa por  $M'$  serán  $AM + (n + \frac{1}{2}) C$ .

Tomemos por unidad para medir arcos contados sobre la circunferencia  $AMBM'A$  un arco tal que la circunferencia entera valga  $2\pi$  y por tanto  $\pi$  la semicircunferencia. Llamando  $\beta_0$  la medida, en

(1) El estudio de tales funciones, hecho por Garavito, se expondrá en un número próximo de esta Revista, en donde se entrará a considerar más detenidamente la fórmula fundamental de la Trigonometría plana no euclídea en la Geometría hiperbólica, analizando a fondo las funciones circulares e hiperbólicas independientemente de su interpretación geométrica.—N. de la D.

esa unidad, del arco  $AM$ , las dos series de arcos que terminan en  $M$  y  $M'$  y que determinan una recta única  $M'PM$  serán designadas por los valores siguientes:

$$(A) \quad \text{En } M \dots \beta = \beta_0 + 2n\pi \qquad \text{En } M' \dots \beta' = \beta_0 + (2n + 1)\pi.$$

Ahora bien: a cada valor real y finito de  $z$  corresponde un punto  $m$  de la recta, el cual unido al punto  $P$  por medio de la recta  $Pm$  cortará a la circunferencia en dos puntos opuestos  $M$  y  $M'$  a los cuales corresponden, respectivamente, las dos series de arcos  $(A)$ , las cuales dan para la función  $\text{tang}(\beta)$  un solo valor, a saber:

$$\text{tang}(\beta) = \text{tang}(\beta_0 + 2n\pi) = \text{tang}(\beta_0 + (2n + 1)\pi) = \text{tang} \beta'$$

Sabemos, además, que tanto  $z$  como  $\text{tang} \beta$  pueden variar desde  $-\infty$  hasta  $+\infty$ .

Recíprocamente, dado un valor de  $\text{tang} \beta$ , se hallarán dos series  $(A)$  de arcos, los cuales determinan una recta única  $Pm$ , la cual cortará a  $L'OL$  en un punto único  $m$  a distancia  $z = Om$ . La uniformidad recíproca de las variables  $z$  y  $\text{tang}(\beta)$  está, pues, rigurosamente establecida, pues ambas cantidades son reales, varían de  $-\infty$  a  $+\infty$  y ambas son funciones periódicas del mismo período de una tercera variable cíclica  $\beta$ ; de manera que a cada valor particular de  $z$  no corresponde sino un valor particular de  $\text{tang}(\beta)$  y recíprocamente.

Podemos, pues, concluir que  $z$  y  $\text{tang}(\beta)$  están ligadas por una ecuación de la forma

$$A z \cdot \text{tang}(\beta) + B z + C \text{tang}(\beta) + D = 0. \tag{1}$$

La determinación de los coeficientes es fácil. Para  $z = 0$  se halla  $\beta_0 = 0$  y por tanto  $\text{tang}(\beta) = 0$ . Se tendrá, pues,  $D = 0$ . Así, la ecuación puede reducirse a

$$A z \cdot \text{tang}(\beta) + B z + C \text{tang}(\beta) = 0. \tag{1}'$$

Habiendo tomado las magnitudes  $Om$  hacia la derecha como valores positivos para  $z$  y los arcos siendo medidos en el sentido atrás indicado, resultará que  $z$  y  $\text{tang}(\beta)$  tendrán siempre el mismo signo. Por tanto, haciendo  $z$  negativa, tendremos también que hacer negativa a  $\text{tang}(\beta)$ , lo que da:

$$A z \cdot \text{tang}(\beta) - B z - C \text{tang}(\beta) = 0. \tag{1}''$$

Sumando  $(1)'$  y  $(1)''$  se hallará:  $2 A z \cdot \text{tang}(\beta) = 0$  De donde resulta que  $A = 0$  y por tanto, la relación se reduce a:  $B z + C \text{tang}(\beta) = 0$  O bien a  $z = g \text{tang}(\beta)$   $(I)$

pues  $g = -\frac{C}{B}$  deberá ser una magnitud positiva para que  $z$  y  $\text{tang}(\beta)$  tengan el mismo signo.

Si damos a  $\beta$  cualquiera de las dos series de valores

$$\beta_1 = \left[ \frac{\pi}{2} + 2n\pi \right] \quad \text{ó} \quad \beta_2 = \left[ \frac{\pi}{2} + (2n + 1)\pi \right] \quad \text{se tendrá: } \text{tang} \beta_1 = \text{tang} \beta_2 = \text{tang} \frac{\pi}{2} = \infty$$

Y por tanto  $(I)$  dará:  $z = \infty$ .

Las dos series de arcos no definen sino un mismo diámetro del círculo  $AMB M'A$  el cual es perpendicular a  $PO$ . En consecuencia no habrá sino una sola recta trazada por  $P$  que no corta a  $L'OL$ . Esta recta es la perpendicular a  $PO$ . Cualquiera otro valor de  $\beta$  dará valor finito para  $\text{tang} \beta$  y por tanto, para  $z$ . (Postulado de Euclides).

Grande ha debido ser la sorpresa de Lobattcheffsky al hallarse, cuando menos lo esperaba, frente a frente con el postulado de Euclides. ¿Por qué motivo no había hallado antes contradicción alguna en sus raciocinios impecables al suponer falsa la propiedad euclídea de las rectas? La respuesta era clara: no había razonado con rectas situadas en un plano, sino sobre otra clase de líneas y superficies.

¿Cuáles eran esas superficies y esas líneas? En sus raciocinios, Lobattcheffsky había encontrado que la suma de los tres ángulos de un triángulo era menor que dos rectos; precisamente lo contrario de lo que acontece con los triángulos esféricos en donde el exceso esférico es la relación del área del triángulo al cuadrado del radio de la esfera. Si, pues, el radio de la esfera se hiciese imaginario, su cuadrado se haría negativo y el exceso esférico se convertiría en defecto, tal y conforme corresponde al caso estudiado. Lobattcheffsky había, pues, razonado sobre una esfera imaginaria considerada como plano y con círculos máximos de tal esfera considerados como rectas.

Los razonamientos de la Geometría pura son más delicados de lo que se pudiera creer debido al empleo exclusivo del lenguaje ordinario.

Las fórmulas de la Trigonometría correspondiente a la Geometría de Lobattcheffsky son, pues, las de la Trigonometría esférica imaginaria, como vamos a demostrarlo.

Las fórmulas fundamentales de la Trigonometría esférica real son:

$$\cos a = \cos b \cos c + \text{sen } b \text{ sen } c \cos A \tag{1}$$

$$\frac{\text{sen } a}{\text{sen } A} = \frac{\text{sen } b}{\text{sen } B} = \frac{\text{sen } c}{\text{sen } C} \tag{2}$$

$$\text{cotang } a \text{ sen } b = \cos b \cos C + \text{sen } C \text{ cotang } A. \tag{3}$$

Llamemos  $\alpha$   $\beta$  y  $\gamma$  los lados del triángulo esférico referidos a una unidad definida distinta del radio de la esfera y  $R$  el radio de ésta en la misma unidad. Las fórmulas se harán

$$\cos \frac{\alpha}{R} = \cos \frac{\beta}{R} \cos \frac{\gamma}{R} + \operatorname{sen} \frac{\beta}{R} \operatorname{sen} \frac{\gamma}{R} \cos A \tag{1}$$

$$\frac{\operatorname{sen} \frac{\alpha}{R}}{\operatorname{sen} A} = \frac{\operatorname{sen} \frac{\beta}{R}}{\operatorname{sen} B} = \frac{\operatorname{sen} \frac{\gamma}{R}}{\operatorname{sen} C} \tag{2}$$

$$\operatorname{cotang} \frac{\alpha}{R} \operatorname{sen} \frac{\beta}{R} = \cos \frac{\beta}{R} \cos C + \operatorname{sen} C \operatorname{cotang} A. \tag{3}$$

Si en estas fórmulas hacemos  $R = K\sqrt{-1} = Ki$  tendremos:

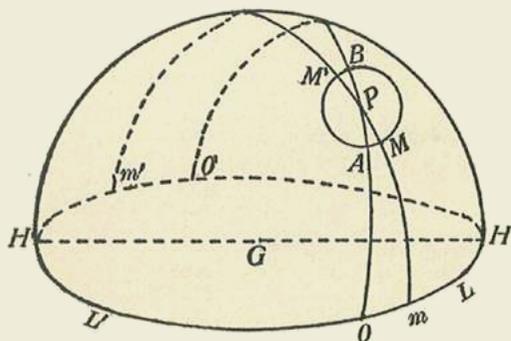


Figura 2a.

$$\operatorname{sen} \frac{\alpha}{R} = \operatorname{sen} \frac{\alpha}{Ki} = \frac{1}{2i} \left[ e^{\frac{\alpha}{k}} - e^{-\frac{\alpha}{k}} \right] = \frac{1}{i} S \left[ \frac{\alpha}{k} \right]$$

$$\cos \frac{\alpha}{R} = \cos \frac{\alpha}{Ki} = \frac{1}{2} \left[ e^{\frac{\alpha}{k}} + e^{-\frac{\alpha}{k}} \right] = C \left[ \frac{\alpha}{k} \right]$$

$$\operatorname{tang} \frac{\alpha}{k} = \operatorname{tang} \frac{\alpha}{Ki} = \frac{1}{i} \cdot \frac{e^{\frac{\alpha}{k}} - e^{-\frac{\alpha}{k}}}{e^{\frac{\alpha}{k}} + e^{-\frac{\alpha}{k}}} = \frac{1}{i} T \left[ \frac{\alpha}{k} \right]$$

Sustituyendo estos valores en las fórmulas anteriores obtendremos las fórmulas fundamentales de la Trigonometría esférica imaginaria, así:

$$C \left[ \frac{\alpha}{k} \right] = C \left[ \frac{\beta}{k} \right] C \left[ \frac{\gamma}{k} \right] - S \left[ \frac{\beta}{k} \right] S \left[ \frac{\gamma}{k} \right] \cos A \tag{1}'$$

$$(2)' \quad \frac{S \left[ \frac{\alpha}{k} \right]}{\operatorname{sen} A} = \frac{S \left[ \frac{\beta}{k} \right]}{\operatorname{sen} B} = \frac{S \left[ \frac{\gamma}{k} \right]}{\operatorname{sen} C} \quad \frac{S \left[ \frac{\beta}{k} \right]}{T \left[ \frac{\alpha}{k} \right]} = C \left[ \frac{\beta}{k} \right] \cos C + \operatorname{sen} C \operatorname{cotang} A. \tag{3}'$$

Hagamos  $A = \frac{\pi}{2}$  y tendremos, en ese caso particular:

$$C \left[ \frac{\alpha}{k} \right] = C \left[ \frac{\beta}{k} \right] C \left[ \frac{\gamma}{k} \right] \quad \operatorname{sen} B = \frac{S \left[ \frac{\beta}{k} \right]}{S \left[ \frac{\alpha}{k} \right]} \quad \operatorname{sen} C = \frac{S \left[ \frac{\gamma}{k} \right]}{S \left[ \frac{\alpha}{k} \right]} \quad \cos C = \frac{T \left[ \frac{\beta}{k} \right]}{T \left[ \frac{\alpha}{k} \right]}$$

De las dos últimas se deduce:

$$\operatorname{tang} C = \frac{S \left[ \frac{\gamma}{k} \right]}{S \left[ \frac{\alpha}{k} \right]} \cdot \frac{T \left[ \frac{\alpha}{k} \right]}{T \left[ \frac{\beta}{k} \right]} = \frac{S \left[ \frac{\gamma}{k} \right]}{C \left[ \frac{\alpha}{k} \right]} \cdot \frac{1}{T \left[ \frac{\beta}{k} \right]} = \frac{S \left[ \frac{\gamma}{k} \right]}{S \left[ \frac{\beta}{k} \right] C \left[ \frac{\gamma}{k} \right]} \cdot \frac{1}{T \left[ \frac{\beta}{k} \right]} \quad \text{O bien} \quad \operatorname{tang} C = \frac{T \left[ \frac{\gamma}{k} \right]}{S \left[ \frac{\beta}{k} \right]}$$

$$\text{O mejor} \quad T \left[ \frac{\gamma}{k} \right] = S \left[ \frac{\beta}{k} \right] \operatorname{tang} C. \tag{\alpha}$$

Volviendo sobre la Figura 2ª supondremos que las líneas que habíamos considerado como rectas no sean sino círculos máximos de la esfera imaginaria cuyo radio  $R$  tuviese por módulo  $K$ .

$$\text{Hagamos } \gamma = z \quad \beta = PO \quad \text{y} \quad C = \theta. \quad \text{Tendremos:} \quad T \left[ \frac{z}{k} \right] = S \left[ \frac{\beta}{k} \right] \operatorname{tang} \theta \tag{\beta}$$

Como el punto  $P$  lo suponemos fijo respecto de  $L/L$  se tendrá que  $\beta$  y por tanto  $S \left[ \frac{\beta}{k} \right]$  será constante; y llamando  $A$  esta constante, se tendrá la fórmula  $T \left[ \frac{z}{k} \right] = A \operatorname{tang} \theta. \tag{\gamma}$

De la fórmula  $(\gamma)$  pueden deducirse las tres fórmulas fundamentales de la Trigonometría esférica imaginaria, como lo ha hecho Lobattcheffsky.

La fórmula  $(\gamma)$  puede, por otra parte, establecerse directamente aplicando la fórmula de la rela-

ción de dos funciones recíprocamente uniformes cuando se cambia el plano por una esfera imaginaria y las rectas por círculos máximos de tal esfera.

Sea (Fig. 2) la representación simbólica de tal esfera;  $H'L'OmLHm'$  un círculo máximo, y  $k$  el módulo de la unidad de longitud, de manera que la circunferencia valga  $2\pi ki$ ;  $P$  un punto cualquiera de la superficie,  $OPO'$  un círculo máximo perpendicular al anterior.

Sea  $m$  un punto de la primera circunferencia, y pongamos  $mO = z$ .

Sea  $m'$  el punto diametralmente opuesto; se tendrá:

$$OmHm' = z + \pi k \sqrt{-1} \quad \text{O representando a } \sqrt{-1} \text{ por } i \quad OmHm' = z + \pi ki.$$

Supongamos un punto ficticio que describe la circunferencia  $OmLHO'm'H'$ ; cada vez que pasa por  $m$  y por  $m'$  el arco descrito tendrá por valor:

$$\text{En } m \dots z + 2\pi ki \qquad \qquad \qquad \text{En } m' \dots z + (2n + 1)\pi ki$$

Tomando por variable cíclica la relación del arco descrito al módulo  $k$  de la unidad elegida, los valores de tal variable  $\varphi$  serán:

$$\text{En } m \dots \varphi = \frac{z}{k} + 2\pi ni \qquad \qquad \qquad \text{En } m' \dots \varphi' = \frac{z}{k} + (2\pi + 1)ni.$$

Como la tangente hiperbólica admite por período  $\pi i$  resultará que

$$T(\varphi) = T\left[\frac{z}{k} + 2\pi ni\right] = T\left[\frac{z}{k} + (2\pi + 1)ni\right] = T(\varphi').$$

Tracemos la circunferencia  $AMBM'$  con polo en  $P$  y consideremos un punto móvil que la recorra. Tomemos una variable cíclica representada por la relación del arco descrito por el punto a una unidad tal que la circunferencia valga  $2\pi$ . El círculo máximo  $mPm'$  cortará la circunferencia en cuestión en dos puntos opuestos  $M$  y  $M'$  los cuales corresponden a los valores de la variable cíclica  $\theta$ , así:

$$\text{En } M \dots \theta = AM + 2\pi n \qquad \qquad \qquad \text{En } M' \dots \theta' = AM + (2\pi + 1)n.$$

Como la tangente circular admite por período  $\pi$  resultará que

$$\text{tang } \theta = \text{tang } (AM + 2\pi n) = \text{tang } (AM + (2\pi + 1)n) = \text{tang } \theta'.$$

Cuando el móvil que recorre la circunferencia  $H'L'OmLH$ , cada vez que pasa por  $m$  si se traza la circunferencia máxima  $mMPM'm'$  se tendrá un valor para la tangente hiperbólica de la variable  $\varphi$  y también un valor para la tangente circular de la variable  $\theta$ . Si se da el valor de  $T(\varphi)$  se tendrán dos puntos  $m$  y  $m'$  correspondientes a una sola circunferencia máxima, la cual corta en dos puntos  $M$  y  $M'$  a la circunferencia de polo  $P$  y por tanto, un solo valor de  $\text{tang } \theta$ . Recíprocamente a un valor de  $\text{tang } \theta$  corresponden dos puntos  $M$  y  $M'$  opuestos, por los cuales no pasa sino una sola circunferencia máxima  $mPm'$ . A los puntos  $m$  y  $m'$  corresponden dos series de valores de la variable cíclica  $\varphi$  y  $\varphi'$  los cuales dan un valor único para la tangente hiperbólica  $T(\varphi)$ .

Las funciones  $T(\varphi)$  y  $\text{tang } \theta$  son recíprocamente uniformes, de lo cual se deduce fácilmente la fórmula ( $\beta$ ):

$$T\left[\frac{z}{k}\right] = A \text{ tang } \theta. \qquad (\beta)$$

Considerando, pues, las líneas como circunferencias de círculos máximos de esfera imaginaria, se puede establecer la fórmula ( $\beta$ ) y por tanto, las fórmulas de la Trigonometría esférica imaginaria.

Cuando se consideran rectas las líneas  $L/L$  no es posible establecer con rigor la fórmula ( $\beta$ ) sino haciendo caso omiso de los valores imaginarios de la variable, a saber:

$$\varphi = \frac{z}{k} + 2\pi ni \qquad \qquad \qquad \text{y} \qquad \qquad \qquad \varphi' = \frac{z}{k} + (2\pi + 1)n \qquad \text{lo cual no es admisible.}$$

Además, ¿cómo se podría justificar la introducción de la constante  $k$ ? ¿Qué significaría esa, entonces, misteriosa constante? (1).

Si en lugar de considerar imaginario el radio de la esfera lo hubiésemos considerado real, los arcos terminados en  $m$  y  $m'$  serían:

$$\text{En } m \dots \varphi = \frac{z}{k} + 2\pi n \qquad \qquad \qquad \text{En } m' \dots \varphi' = \frac{z}{k} + (2\pi + 1)n$$

Como la tangente circular admite por período  $\pi$  resulta que  $\text{tang } \varphi = \text{tang } \varphi'$  y habría perfecta uniformidad recíproca entre ésta y  $\text{tang } \theta$ , de donde se deduciría que  $\text{tang } \frac{z}{k} = A \text{ tang } \theta$  de la cual se deducirían, a su vez, las fórmulas de la Trigonometría esférica real.

(1) Volveremos sobre este punto al estudiar con Garavito, como se dijo en la nota anterior, la fórmula fundamental de la Trigonometría plana no euclídea en la Geometría hiperbólica.—N. de la D.

*En resumen:* La Geometría de Lobattcheffsky es verdadera, sin que por ello dejen de serlo las de Euclides y Riemann; pero mientras la primera se refiere al estudio de las propiedades de las figuras situadas sobre superficies de curvatura negativa y la última al estudio de las figuras situadas sobre esferas reales, la de Euclides se refiere a las figuras planas. No hay, en el fondo, contradicción entre el postulado de Euclides y los de Lobattcheffsky y Riemann. La suma de los ángulos de un triángulo esférico es mayor que dos rectos, sin que dejen de valer dos rectos la suma de los ángulos de un triángulo rectilíneo.

El error consiste en designar con los nombres de Geometrías planas no euclídeas a las Geometrías esféricas y en poner en duda el postulado de Euclides.

\* \* \*

Llamemos *espacio* a un continuo ilimitado de tres variables independientes; *punto*, al conjunto de valores particulares de cada una de las variables (un valor para cada variable); *superficie*, al conjunto de los puntos cuyas características numéricas satisfacen a una ecuación entre las tres variables; *línea*, al conjunto de puntos cuyas características numéricas satisfacen a dos ecuaciones entre las tres variables.

Las *superficies* más sencillas serán las representadas por las ecuaciones más sencillas, esto es, por ecuaciones de primer grado entre las tres variables. Llamemos *planos* a estas superficies.

Las *líneas* más sencillas serán las designadas por parejas de las ecuaciones de primer grado entre las tres variables. Llamemos *rectas* a estas *líneas*.

Las propiedades de las ecuaciones de primer grado con dos o con tres variables, traducidas al lenguaje convencional que hemos adoptado, nos permiten enunciarlas en la forma siguiente:

*Dos rectas que tengan dos puntos comunes se confunden en toda su ilimitada extensión.*

*Dos planos que tengan tres puntos comunes no situados en línea recta, se confunden en uno solo.*

*Si por dos puntos de un plano se hace pasar una recta, ésta estará íntegramente situada en el plano.*

*Una recta y un punto situado fuera de ella determinan un plano.*

*Por un punto situado fuera de un plano no se puede trazar sino un solo plano que sea incompatible (paralelo) al primero.* (Postulado referente a los planos).

*Por un punto situado fuera de una recta y en el plano determinado por el sistema de la recta y del punto, no se puede hacer pasar sino una sola recta que sea incompatible (paralela) a la primera.* (Postulado de Euclides).

En todo lo que acabamos de decir nos hemos referido al Algebra pura: las variables no son coordenadas, sino simples cantidades numéricas, y, por tanto, no es el caso de señalar *petición de principio* ni *círculo vicioso*.

Basta un poco de reflexión para comprender que el postulado de Euclides no es una propiedad geométrica fortuita, sino un caso particular de una propiedad analítica aplicable a la cantidad en general.

En nada se alterarían las consecuencias al considerar un continuo de *n* variables en lugar de tres, siempre que se llame *recta* a un sistema de *n*—1 ecuaciones de primer grado entre las *n* variables, y plano a un sistema de *n*—2 ecuaciones entre las mismas *n* variables independientes.

---

## NOTA SOBRE BALISTICA EXTERIOR

*ADVERTENCIA DE LA DIRECCION.*—Aunque el estudio a continuación no tiene relación alguna con el tema que constituye el fundamento de los apuntes críticos de Garavito, lo insertamos aquí para dar un poco de variedad a la Revista, evitando la pesadez que podría resultar para los lectores de ella, de la insistencia sobre estos tópicos. Así continuaremos en el número próximo con el estudio de Garavito sobre las funciones hiperbólicas, que comprende la nota anterior referente a las Geometrías planas no euclídeas.

### I—Presión de los gases.

Sea *n* el número de moléculas del gas que chocan contra la unidad de superficie, esto es, que atraviesan la unidad de superficie en un solo sentido. Nada nos impide reducir toda la superficie a un punto situado sobre su plano, puesto que todos los puntos de ésta están en condiciones semejantes respecto de las moléculas del gas. Esto supuesto, sobre el punto que representa todos los de una unidad de superficie, vienen a chocar *n* moléculas del gas en todos los sentidos contenibles en el hemisferio externo del plano.

Sobre una superficie esférica cuyo centro sea el punto *O* pasarán, de afuera para adentro y normalmente a la esfera, *n* moléculas. Por unidad de superficie, en la unidad de tiempo, el número de moléculas será:

$$\eta = \frac{n}{2\pi r^2}$$

Sobre la zona  $SS = r d\theta$  de área  $du = 2\pi r \cdot r d\theta \sin \theta$  será  $\eta du = n \sin \theta d\theta$  las cuales, como van a chocar en el centro, tendrán una inclinación  $\theta$  con la normal *Oz* a la superficie y la componente normal de la velocidad  $\left[\frac{dz}{dt}\right]_0 = -v \cos \theta$  antes del choque.

Sea  $Z$  la resistencia que la superficie opone a la molécula durante el choque; se tendrá:

$$m \frac{d^2 Z}{dt^2} = Z \quad m \frac{dz}{dt} - m \left[ \frac{dz}{dt} \right]_0 = ZT \quad \text{Y como} \quad \frac{dz}{dt} = v \cos \theta$$

después del choque, se tendrá:  $2 m v \cos \theta = ZT$ .

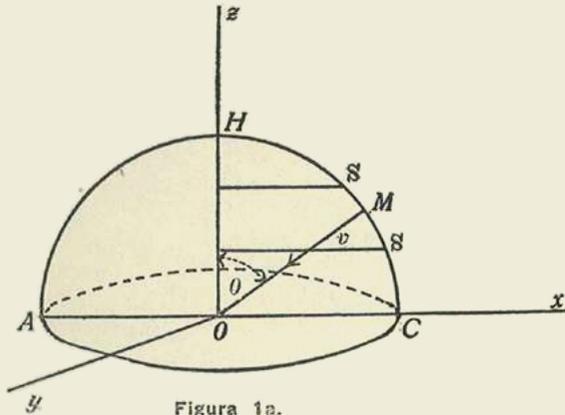


Figura 1a.

Sea  $N$  el número de moléculas contenidas en la unidad de volumen. Nada nos impide llevarlas todas a un punto geométrico y trazar alrededor de éste una superficie capaz de encerrar la unidad de volumen. Así, el radio de esa esfera ficticia será tal que verifica la relación

$$\frac{4}{3} \pi r^3 = 1. \quad (2)$$

Esto supuesto, el espacio recorrido por las  $N$  moléculas, dotadas todas de la velocidad  $v$  será la suma de los espacios  $v$  (en la unidad de tiempo), esto es,  $Nv$ . El número de encuentros con la superficie esférica que rodea al punto, será el cociente, por el radio de esta esfera, del espacio total  $Nv$  (encuentros todos en un solo sentido de adentro para afuera). Así, como sobre la unidad de superficie es  $n$  sobre  $4\pi r^2$  será:

$$4\pi r^2 n = \frac{Nv}{r} \quad \therefore \quad 4\pi r^3 n = Nv \quad \text{Y como} \quad 4\pi r^3 = 3 \quad \text{tendremos:} \quad n = \frac{Nv}{3} \quad (3)$$

Sustituyendo este valor en (1), se halla  $P = \frac{1}{3} m N v^2$

Pero  $mN$  es la masa de las moléculas contenidas en la unidad de volumen. Si llamamos  $w$  el peso del gas en la unidad de volumen, tendremos

$$w = m N g \quad \text{De donde} \quad P = \frac{1}{3} \frac{w}{g} v^2 \quad \text{O bien} \quad \frac{P}{w} = \frac{v^2}{3g} \quad (4)$$

\*\*\*

## II—Presión de un gas sobre una superficie en movimiento.

Buscaremos la velocidad media molecular del gas, relativa a la superficie.

Sean  $u$  = velocidad molecular del aire con relación a la tierra, y  $v \cos a$  = componente de la velocidad normalmente a la superficie =  $v_n$ .

Sea  $N$  el número de moléculas contenidas en la unidad de volumen. Las reduciremos todas a un punto, centro de una esfera de radio  $r$ .

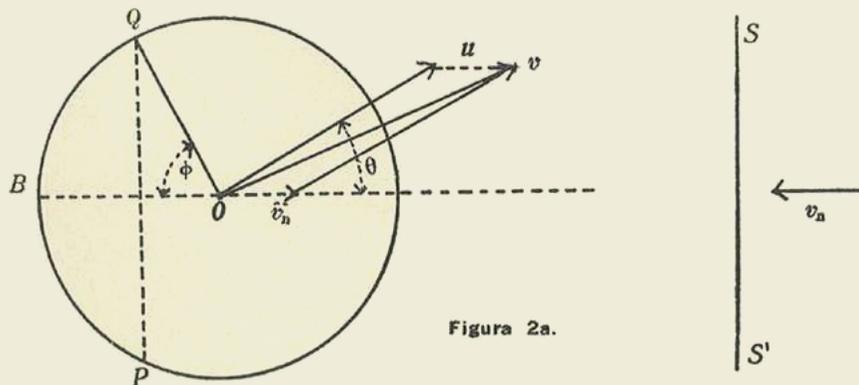


Figura 2a.

Pongamos  $v_n = u \cos \phi$  siendo  $\phi$  el ángulo  $BOQ$ . Es evidente que las moléculas contenidas o que divergen del centro  $O$  al casquete  $PAQ$  chocan contra la superficie  $SS'$  mientras que las que divergen dentro del casquete  $QBP$  no chocan.

Pongamos  $n = \frac{N}{4\pi r^2}$  Y notando que la velocidad relativa de una molécula, estimada normalmente a la superficie, es  $V \cos w = v_n + u \cos \theta$  tendremos, llamando  $U$  la velocidad media normal:

$$\begin{aligned}
 NU &= \int_0^{\pi-\phi} n \cdot 2\pi r \cdot r d\theta \operatorname{sen} \theta (v_n + u \cos \theta) && \text{O bien, notando que} && n \cdot 4\pi r^2 = N \\
 NU_1 &= \frac{N}{2} \left[ \int_0^{\pi-\phi} v_n \operatorname{sen} \theta d\theta + \int_0^{\pi-\phi} u \operatorname{sen} \theta \cos \theta d\theta \right] = \frac{N}{2} \left[ \int_{\pi-\phi}^{\pi} v_n d \cos \theta + u \int_0^{\pi-\phi} \operatorname{sen} \theta d \operatorname{sen} \theta \right] = \\
 &= \frac{N}{2} \left[ v_n [1 - \cos(\pi-\phi)] + \frac{u}{2} \operatorname{sen}^2(\pi-\phi) \right] = \frac{N}{2} \left[ v_n + v_n \cos \phi + \frac{u}{2} - \frac{u}{2} \cos^2 \phi \right] = \frac{N}{2} \left[ v_n + \frac{u}{2} + \frac{1}{2} v_n \cos \phi \right] = \\
 &= \frac{N}{2} \left[ v_n + \frac{u}{2} + \frac{v_n^2}{2u} \right] && \text{Por tanto} && U_1 = \frac{1}{4} \left[ u + 2v_n + \frac{v_n^2}{u} \right]
 \end{aligned}$$

Ahora bien, cuando  $v_n = 0$  se tiene  $U = \frac{1}{4} u$   $\frac{P}{w} = \frac{u^2}{3g} = \frac{(4U)^2}{3g}$

Tendremos pues, para la presión sobre la cara anterior de la superficie:  $\frac{P_1}{w} = \frac{\left[ u + 2v_n + \frac{v_n^2}{u} \right]^2}{3g}$

En la faz posterior las moléculas que chocan contra la superficie son las que divergen, según el casquete  $QBP$ . Por tanto

$$\begin{aligned}
 NU_o &= \frac{N}{2} \left[ \int_{\pi}^{\pi-\phi} v_n \operatorname{sen} \theta d\theta + \int_{\pi}^{\pi-\phi} u \operatorname{sen} \theta d \operatorname{sen} \theta \right] = \frac{N}{2} \left[ \int_{\pi-\phi}^{\pi} v_n d \cos \theta + \frac{1}{2} u \operatorname{sen}^2(\pi-\phi) \right] = \\
 &= \frac{N}{2} \left[ v_n (\cos \pi - \cos(\pi-\phi)) + \frac{1}{2} u \operatorname{sen}^2 \phi \right] = \frac{N}{2} \left[ \frac{1}{2} u - \frac{1}{2} u \cos^2 \phi - v_n + v_n \cos \phi \right] = \frac{N}{2} \left[ \frac{1}{2} u - v_n + \frac{1}{2} \frac{v_n^2}{u} \right]
 \end{aligned}$$

Y por tanto  $4 U_o = \left[ u - 2v_n + \frac{1}{2} \frac{v_n^2}{u} \right]$  y  $\frac{P_o}{w} = \frac{\left[ u - 2v_n + \frac{v_n^2}{u} \right]^2}{3g}$

\*\*\*

### III—Resistencia que experimenta un proyectil cilíndrico-cónico.

Supongamos un proyectil de forma cilíndrica terminada por conos.

A cada elemento  $ds$  de la superficie delantera corresponde otro igual cuya normal interna forma con la dirección del movimiento el mismo ángulo que la normal externa del primero.

Las presiones sobre dichos elementos proyectados según la dirección normal al movimiento, se componen en un esfuerzo paralelamente a la dirección del movimiento y de sentido opuesto, así:

$$\begin{aligned}
 (P_1 - P_o) ds \cos \phi &= \frac{w}{3g} \left[ \left( u + v \cos \phi + \frac{v^2 \cos^2 \phi}{2} \right)^2 - \left( u - 2v \cos \phi + \frac{v^2 \cos^2 \phi}{u} \right)^2 \right] ds \cos \phi = \\
 &= \frac{w}{3g} \left[ 2u + \frac{2v^2 \cos^2 \phi}{u} \right] 4v \cos \phi ds \cos \phi = 8 \frac{w}{3g} \left[ 1 + \frac{v^2 \cos^2 \phi}{u} \right] \cos \phi u v ds \cos \phi.
 \end{aligned}$$

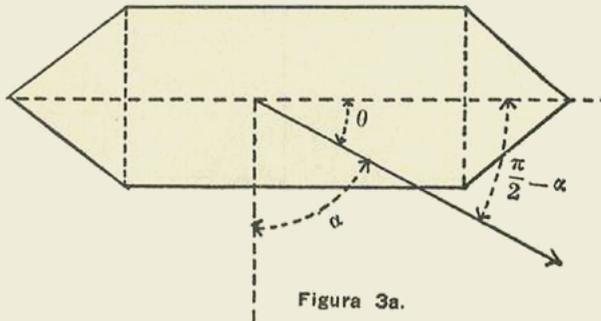


Figura 3a.

$A = \iint \cos \phi ds$  De donde

Integrando en toda la superficie del proyectil, tendremos la resistencia  $R_1$

$$R_1 = 8 \frac{w}{3g} u v \iint \left[ 1 + \frac{v^2 \cos^2 \phi}{u^2} \right] \cos^2 \phi ds.$$

Llamando  $a$  el valor medio de  $\phi$ , tendremos:

$$R_1 = 8 \frac{w}{3g} u v \left[ 1 + \frac{v^2 \cos^2 a}{u^2} \right] \cos a \iint \cos \phi ds.$$

Llamando  $A$  el área opuesta al viento, se tendrá:

$$R_1 = 8 A \frac{w}{3g} u v \cos a \left[ 1 + \frac{v^2 \cos^2 a}{u^2} \right]$$

Si llamamos  $s$  la superficie total del proyectil y  $A$  el área de la sección normal a la velocidad, se tendrá evidentemente:

$$\frac{2A}{s} = \cos a \quad \text{y} \quad R_1 = 8A \frac{w}{3g} u v \frac{2A}{s} \left[ 1 + \frac{4A^2 v^2}{s^2 u^2} \right] \quad \text{O bien} \quad R_1 = 16 \frac{A^2 w}{s 3g} u v \left[ 1 + \left( \frac{2A v}{s u} \right)^2 \right] \quad (4)$$

El ángulo  $\frac{\pi}{2} - a$  que hace la longitud del proyectil con la velocidad, es muy pequeño, por tanto  $\frac{2A}{s}$  es también muy pequeño, y a mayor razón  $\left[ \frac{2Av}{su} \right]^2$ . Pues las mayores velocidades de los proyectiles no sobrepasan la velocidad molecular  $u$  de las moléculas del aire. Resulta de esto que el paréntesis apenas excede de 1, y los más grandes cambios en la velocidad  $v$  del proyectil en su movimiento, apenas modifican ligeramente el valor de este factor, al cual podremos considerar como prácticamente constante.

Así, llamando  $K = 16 \frac{A^2}{s} \left[ 1 + \left( \frac{2Av}{su} \right)^2 \right]$  tendremos:  $R_1 = K w u v$ .

Llamando  $B$  la presión atmosférica, tendremos por la fórmula (4)

$$B = w \frac{u^2}{3g} \quad \therefore \quad w u = \frac{3g}{u} B \quad \text{y} \quad \frac{u^2}{3g} = R \theta \quad \therefore \quad u = \sqrt{3g R \theta} \quad \therefore \quad \frac{3g}{u} = \sqrt{\frac{3g}{R \theta}}$$

Y por tanto  $w u = \sqrt{\frac{3g}{R \theta}} B \quad \therefore \quad R_1 = \sqrt{3g} \frac{KB}{\sqrt{R \theta}} v = C \sqrt{\frac{g}{\theta}} B v \quad (I)$

siendo  $\theta = 273^\circ + t$  la temperatura del aire.

Queda, pues, la resistencia que opone el aire a un proyectil en movimiento, expresada en función de la presión barométrica, la temperatura absoluta del aire, la intensidad de la gravedad y la velocidad del proyectil.

Para cada trayectoria  $g$  y  $R$  pueden considerarse constantes; pero  $B$  y  $\theta$  varían según la estación del año y la altura sobre el mar.

Llamando  $m = \frac{p}{g}$  la masa del proyectil, pondremos  $H = \frac{C}{m} \sqrt{\frac{g}{\theta}} B$  y  $R_1 = m H B v \quad (5)^*$

\* \* \*

#### IV—Movimiento del proyectil.

Las ecuaciones de movimiento del proyectil son:

$$\frac{d^2x}{dt^2} + H B v \frac{dx}{ds} = 0 \quad \frac{d^2y}{dt^2} + H B v \frac{dy}{ds} + g = 0 \quad (a)$$

en donde el plano de las  $xoy$  es el plano vertical de la trayectoria, el eje  $ox$  es horizontal y el  $oy$  la vertical hacia arriba.

Las ecuaciones (a) se reducen a la forma lineal siguiente, notando que  $v = \frac{ds}{dt}$ :

$$\frac{d^2x}{dt^2} + H B \frac{dx}{dt} = 0 \quad \frac{d^2y}{dt^2} + H B \frac{dy}{dt} + g = 0 \quad (b)$$

Para fijar las constantes de integración, supondremos que el origen de coordenadas es la boca del arma y que el origen del tiempo es el instante en que el proyectil parte del origen. Llamaremos  $v_0$  la velocidad inicial y  $\theta_0$  el ángulo que hace el eje del arma con el horizonte, esto es, con  $ox$ .

Esto supuesto, la integración no presenta ninguna dificultad.

Poniendo  $x = A e^{at} + C \quad \therefore \quad A + C = 0$  se halla  $\frac{dx}{dt} = A a e^{at} \quad v_0 \cos \theta_0 = A a$

$$\frac{d^2x}{dt^2} = A a^2 e^{at} \quad \therefore \quad a = -HB \quad \text{De donde} \quad x = \frac{v_0 \cos \theta_0}{HB} \left[ 1 - e^{-HBt} \right] \quad \frac{dx}{dt} = v_0 \cos \theta_0 e^{-HBt}$$

La ecuación en  $y$  contiene término independiente. Pondremos  $y = y_0 + u$  haciendo  $u = c_1 t + c_0$ .

$$\frac{du}{dt} = c_1 \quad \frac{d^2u}{dt^2} = 0 \quad \text{y} \quad \frac{d^2y_0}{dt^2} + HB \frac{dy_0}{dt} = 0 \quad HB \frac{du}{dt} + g = 0 \quad \therefore \quad e_1 = -\frac{g}{HB}$$

Haremos  $y_0 = A_0 e^{a_0 t} \quad \frac{dy_0}{dt} = A_0 a_0 e^{a_0 t} \quad \frac{d^2y_0}{dt^2} = A_0 a_0^2 e^{a_0 t} \quad \text{De donde} \quad a_0 = -HB$

Por tanto  $y = A_0 e^{-HBt} - \frac{g}{HB} t + c \quad \therefore \quad A_0 = -c$  Y como  $\frac{dy}{dt} = -A_0 HB e^{-HBt} - \frac{g}{HB}$

$$\left[ \frac{dy}{dt} \right]_0 = v_0 \sin \theta_0 = -A_0 HB - \frac{g}{HB} \quad \text{De donde} \quad A_0 = -\frac{1}{HB} \left[ v_0 \sin \theta_0 + \frac{HB}{g} \right]$$

Así  $y = \frac{1}{HB} \left[ v_0 \sin \theta_0 + \frac{g}{HB} \right] \left[ 1 - e^{-HBt} \right] - \frac{g}{HB} t \quad \frac{dy}{dt} = \left[ v_0 \sin \theta_0 + \frac{g}{HB} \right] e^{-HBt} - \frac{g}{HB}$

Tendremos, pues

$$(A) \begin{cases} x = \frac{v_0 \cos \theta_0}{HB} [1 - e^{-HBt}] \\ \frac{dx}{dt} = v_0 \cos \theta_0 e^{-HBt} \\ y = \frac{1}{HB} \left[ v_0 \sin \theta_0 + \frac{g}{HB} \right] [1 - e^{-HBt}] - \frac{g}{HB} t \\ \frac{dy}{dt} = \left[ v_0 \sin \theta_0 + \frac{g}{HB} \right] e^{-HBt} - \frac{g}{HB} \end{cases}$$

El presente trabajo tiene por objeto hallar la influencia de la presión en el empleo del *alza* de los cañones, a fin de poder aplicar las tablas de tiro en los países montañosos, como el nuestro, en donde la artillería funciona en condiciones muy diferentes de aquellos en los cuales han sido determinadas las constantes de cada cañón.

La resistencia que el aire opone al movimiento de los cuerpos ha sido objeto de gran número de experimentos, pero las fórmulas halladas son todas empíricas, y, por consiguiente, aplicables sólo en las mismas condiciones experimentadas, por lo que no podrían servirnos para el estudio en cuestión. De ahí la necesidad de estudiar el problema partiendo de alguna hipótesis racional.

Elegimos para este efecto aquella sobre la cual se funda la teoría cinética de los gases; pero como dicha hipótesis presume que las moléculas del aire no choquen unas contra otras, o por lo menos que el número de choques sea muy pequeño, lo cual no es probable, por razones que no sería posible expresar aquí, el coeficiente de la resistencia debe ser afectado de un factor desconocido, que la experiencia podría indicar y que lo hemos representado por *H*. La resistencia presenta un término proporcional a la velocidad y otro al cuadrado de ésta; pero este último, en las condiciones del proyectil, tiene un valor pequeño respecto del primero. Al despreciarlo, la fórmula no quedará evidentemente rigurosa, pero tiene la enorme ventaja de hacer integrables las ecuaciones de movimiento, y, por tanto, de servir, no sólo como una primera aproximación, sobre la cual se pueden fundar experimentos y estudios, sino que la creemos suficiente en la práctica.



**TRABAJOS ACADEMICOS**

**NOTA SOBRE LA FORMULA FUNDAMENTAL DE LA TRIGONOMETRIA PLANA NO EUCLIDEA EN LA GEOMETRIA HIPERBOLICA**

**JULIO GARAVITO A.**

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919.

*Exposición preliminar*

Lobatchewsky haciendo caso omiso del postulado de las paralelas, o postulado de Euclides, fundó la Trigonometría plana no euclídea sobre una fórmula que dedujo de consideraciones analíticas en las cuales admitió explícitamente los siguientes postulados:

- 1.º La línea recta es ilimitada;
- 2.º No puede ser cortada por otra recta sino a lo más en un punto; y
- 3.º La forma y dimensiones de las figuras planas son independientes de la posición que ocupan en el plano. Esto último no lo enunció sino lo aplicó en su Geometría en las demostraciones por superposición de figuras.

Sea  $L$  una recta indefinida (figura 1.ª) y  $P$  un punto situado fuera de ella (\*). Bajemos la perpendicular  $PO$ , tracemos la oblicua  $Pm$ , llamemos  $\theta$  el ángulo  $mPO$  entre la perpendicular y la oblicua, y  $z = mO$  al segmento de recta comprendido entre el pie  $O$  de la perpendicular y el  $m$  de la oblicua.

Lobatchewsky llamó  $k$  un parámetro constante, pero desconocido. Con estos datos y convenciones estableció la siguiente fórmula: (I)  $T\left[\frac{z}{k}\right] = \frac{\text{tang } \theta}{\text{tang } \Delta}$  en la cual  $\text{tang } \Delta$  es una constante que tiene por valor  $\text{tang } \Delta = \frac{\text{tang } \theta_0}{T\left[\frac{z_0}{k}\right]}$  Siendo  $\theta_0$  y  $z_0$  dos valores de  $\theta$  y  $z$  correspondientes.

Al ser verdadera la fórmula (I), el ángulo  $\Delta$  sería el ángulo máximo que podría hacer la oblicua  $Pm$  con la perpendicular, y el ángulo formado por las dos paralelas sería:

$$\varepsilon = \pi - 2\Delta.$$

En rigor la fórmula (I) debería ser considerada como una ecuación en  $k$  y todo se reduciría a fijar su valor numérico de manera que satisfaga la relación

$$T\left[\frac{z}{k}\right] \text{tang } \theta_0 = T\left[\frac{z_0}{k}\right] \text{tang } \theta$$

para todos los valores correspondientes de  $z$  y  $\theta$ . Pero no fue este el punto de vista de Lobatchewsky, seguramente por razón de que el parámetro  $k$  fue introducido sin previa justificación, y no figura como condición efectiva.

No conocemos el raciocinio original de Lobatchewsky mediante el cual pudo establecer la fórmula (I) pero estamos seguros de que ha debido ser muy hábilmente presentado.

La demostración que se halla publicada en el tomo 2.º del "Traité de Geometrie" por Eugène Rouché et Ch. de Comberousse - 1891 (nota II, páginas 585, 586 y 587) debe ser diferente de la original, pues es manifiestamente inadmisibles; lo cual puede explicarse por la brevedad de la exposición. Tal demostración se funda en que las funciones  $T\left[\frac{z}{k}\right]$  y  $\text{tang } \theta$  son recíprocamente uniformes, lo cual es falso: puesto que ambas son periódicas, pero sus períodos son distintos, toda vez que la primera admite un período imaginario y la segunda período real.

Las fórmulas que Lobatchewsky presentó como correspondientes a la Geometría plana no euclídea son las que resultan de la Trigonometría esférica cuando se supone imaginario el radio de la esfera. Las funciones trigonométricas de los lados o caras del triedro se vuelven funciones hiperbólicas, pues los arcos se hacen imaginarios. El exceso esférico que es la relación entre el área del triángulo esférico y el cuadrado del radio de la esfera, se hace negativo, y la suma de los tres ángulos del triángulo esférico imaginario se hace menor que dos ángulos rectos.

(\*) Véase el número anterior de esta Revista: página 568.

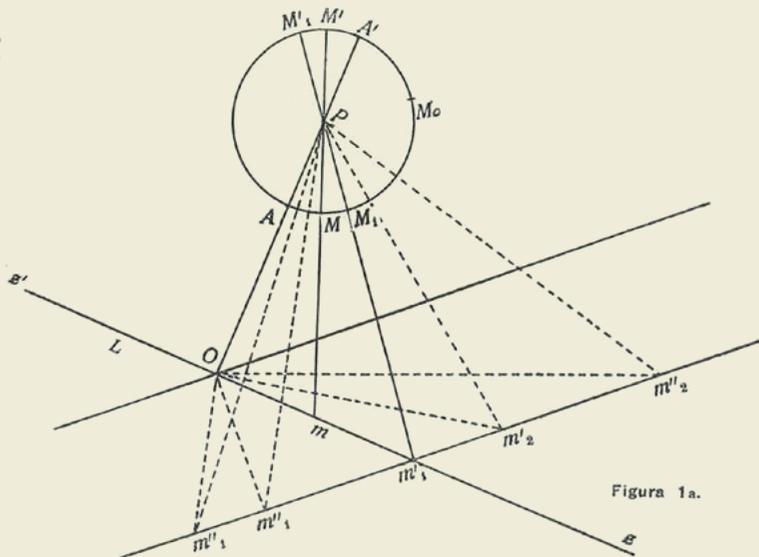


Figura 1a.

Si se nos admitiese la fórmula evidentemente falsa:  $\text{tang} \left[ \frac{z}{k} \right] = A \text{ tang } \theta$ . (II) en el caso que represente segmentos de la recta  $L$ , podríamos concluir, siguiendo paso a paso la exposición de Lobatchewsky, las fórmulas de la Trigonometría esférica como correspondientes a la Trigonometría plana. Ambas fórmulas son igualmente falsas. En lo que respecta a la (II) el error es fácil de ver. A cada valor de  $\text{tang } \theta$  corresponde un valor de  $\text{tang} \left[ \frac{z}{k} \right]$ . Pero a cada valor de  $\text{tang} \left[ \frac{z}{k} \right]$  corresponden infinidad de puntos de la recta  $Oz$  separados unos de otros por segmentos  $\pi k$  a los cuales corresponden otros tantos valores de  $\theta$  y, por tanto, de  $\text{tang } \theta$ .

Este error manifiesto es el mismo que presenta la fórmula (I) de Lobatchewsky, sólo que como los valores de  $z$  correspondientes a un valor  $\text{I} \left[ \frac{z}{k} \right]$  son imaginarios, pasa desapercibido para la mayoría de los lectores poco familiarizados con las fórmulas de la Trigonometría hiperbólica.

Después de esta breve exposición nos proponemos demostrar rigurosamente la falsedad de la fórmula (I) que sirve de fundamento a la Trigonometría plana no euclídea.

Es evidente que las fórmulas de las Trigonometrías esféricas, real e imaginaria, se identifican a las de la Trigonometría plana, cuando se hace  $k = \infty$ , precisamente, por hacerse planas las dos esferas, puesto que su curvatura se anula. Pero tal cosa no agrega nada a la viabilidad de las fórmulas (I) y (II).

\* \* \*

*Estudio de las funciones circulares e hiperbólicas independientemente de su interpretación geométrica*

1—Las trascendentes elementales dependen de la exponencial  $e^x$ . En consecuencia sus propiedades son independientes de toda interpretación geométrica.

Los expositores de Análisis acostumbra presentar rápidamente el estudio analítico de las funciones circulares como introducción al de las funciones elípticas con el objeto único de servirse de aquéllas como ejemplo aclaratorio. Las funciones circulares se presuponen conocidas en los estudios anteriores para que haya necesidad de preocuparse especialmente de ellas. De ahí que tales exposiciones no estén exentas de crítica. Se acostumbra representar las variables complejas por medio de funciones circulares de su argumento, y sin cambiar la forma representativa de estas variables se las emplea en el estudio analítico de las funciones circulares, lo cual presenta la apariencia de un círculo vicioso.

La crítica es justa en lo que respecta a la forma expositiva; pero ella no alcanza al fondo de la cuestión, pues la cantidad compleja tiene su manera de ser independientemente del signo, más o menos adecuado, que sirve para simbolizarla. Por ejemplo, las propiedades de los números primos son independientes del sistema de numeración que haya sido adoptado para representarlos.

La Trigonometría plana hiperbólica se funda en la teoría analítica de tales funciones, lo cual fue una luminosa idea de Lobatchewsky.

Creemos útil exponer las propiedades de las funciones circulares independientemente de su interpretación geométrica y de la forma trigonométrica que se suele dar a la variable compleja.

La exposición que hacemos sólo diferirá de la clásica en la notación, pues basta variar ligeramente ésta para que desaparezca toda apariencia de círculo vicioso.

\* \* \*

2—En lugar de representar las cantidades imaginarias por el producto del módulo y la exponencial imaginaria, las representaremos por el módulo como valor y el signo, o sea, el sentido. El signo es propiamente el argumento, pero expresado en vueltas completas y fracción de vuelta. El signo vuelve a tomar el mismo significado después de un número completo de vueltas. Conviniendo en representar la vuelta completa por  $C$ , por  $r$  el módulo, y por  $\theta$  la desviación respecto del sentido de las cantidades reales, o sea la fracción sobrante de vuelta, se tendrá que las expresiones:  $r(\theta)$  y  $r(\theta + nC)$  sirven para representar la misma cantidad imaginaria cuando  $n$  representa un número entero.

La unidad real tendrá por representación:  $1(o)$  O también:  $1(nC)$ .

El producto de dos cantidades complejas  $r(\theta)$  y  $r'(\theta')$  será una tercera cantidad  $R(\phi)$  que se compone de  $r(\theta)$  como  $r'(\theta')$  se compone de  $1(o)$  según la definición newtoniana de producto. Según esto  $R$  será  $r'$  veces  $r(\theta)$ . Esto es:  $rr'(\theta)$  desviada, además, en  $\theta'$  Y por tanto  $R(\phi) = rr'(\theta + \theta')$ .

Consideremos la raíz cuadrada  $\sqrt{z-a}$  y pongamos:  $z-a = r(\theta + nC)$ .

Tendremos:  $\sqrt{z-a} = \sqrt{r} \left[ \frac{\theta}{2} + \frac{n}{2} C \right]$

Si  $n$  es par, se tendrá para valor inicial del radical:  $\sqrt{r} \left[ \frac{\theta}{2} + mC \right] = \sqrt{r} \left( \frac{\theta}{2} \right)$

Si  $n$  es impar, su valor inicial será:  $\sqrt{r} \left[ \frac{\theta}{2} + mC + \frac{C}{2} \right] = -\sqrt{r} \left( \frac{\theta}{2} \right)$

pues la media vuelta  $\frac{C}{2}$  hace cambiar de sentido a la cantidad. Así, pues, cuando la variable  $z$  da una vuelta alrededor del cero  $a$  del radical, su signo cambia de  $+$  a  $-$ , o también de  $-$  a  $+$ .

\* \* \*

3—Otro punto por considerar se refiere a la integral

$$I = \int \frac{dz}{\sqrt{1-z} \sqrt{1+z}} = \frac{dz}{\sqrt{1-z^2}}$$

alrededor de los puntos críticos +1 y -1 sobre un círculo infinitesimal de radio  $\varepsilon$  y de centro en el punto crítico respectivo.

Se tiene, integrando en una vuelta alrededor de +1:

$$I = \int_C \frac{dz}{\sqrt{1-z} \sqrt{1+z}} = - \int_C 2 \frac{d\sqrt{1-z}}{\sqrt{1+z}}$$

Y haciendo  $z = 1 - \varepsilon(\theta)$  se tendrá: 
$$I = -2 \int_C \frac{d\sqrt{\varepsilon(\theta)}}{\sqrt{2 + \varepsilon(\theta)}} = -2 \frac{\sqrt{\varepsilon\left(\frac{C}{\varepsilon}\right)}}{\sqrt{2 + \varepsilon\theta_m}} = -\frac{\sqrt{\varepsilon}}{\sqrt{2}} C = 0$$

Pues  $\varepsilon = 0$ .

Estas consideraciones bastan para poder hacer el estudio analítico de las funciones circulares e hiperbólicas independientemente de toda consideración referente a la Geometría euclídeana.

\* \* \*

4—Designemos por  $X_j$  la serie de potencias siguiente:

$$X_j = 1 + \frac{X^j}{j!} + \frac{X^{2j}}{2j!} + \frac{X^{3j}}{3j!} + \dots$$

Tendremos evidentemente:  $e^x = X_1 = X_2 + X'_2 = X_4 + X''_4 + X'_4 + X^1_4$  en donde los acentos o tildes representan los órdenes de las derivaciones.

Consideremos las funciones: (A) 
$$u(x) = X_2 \quad v(x) = X'_2$$
  

$$\zeta(x) = X_4 - X''_4 \quad \eta(x) = X'''_4 - X^1_4$$

Tendremos evidentemente: 
$$e^x = u(x) + v(x) \quad \text{De donde:} \quad u^2 - v^2 = 1 \quad (1)$$
  

$$e^{-x} = u(x) - v(x)$$

Llamando 1,  $i^1$ ,  $i^2$ ,  $i^3$  las cuatro raíces cuartas de la unidad tendremos:

$$e^{ix} = X_4 + iX'''_4 + i^2X''_4 + i^3X^1_4 \quad \text{O bien:} \quad e^{ix} = \zeta(x) + i\eta(x) \quad \text{De donde:} \quad \zeta^2 + \eta^2 = 1 \quad (1^*)$$
  

$$e^{-ix} = \zeta(x) - i\eta(x)$$

De (A), (1) y (1\*) se deduce: 
$$dx = \frac{du}{\sqrt{u^2 - 1}} \quad dx = \frac{dv}{\sqrt{1 + v^2}}$$
  

$$dx = \frac{d\zeta}{\sqrt{1 - \zeta^2}} \quad dx = \frac{d\eta}{\sqrt{1 - \eta^2}}$$

De estas fórmulas se deduce el valor de  $x$  tomando sucesivamente como variables las cantidades  $u$ ,  $v$ ,  $\zeta$  y  $\eta$ .

Para efectuar el estudio nos basta considerar la integral

$$x_I = \int_{\circ}^z \frac{dz}{\sqrt{1-z^2}} = \int_{\circ}^z \frac{dz}{\sqrt{1-z} \sqrt{1+z}}$$

Los puntos de ramificación son +1 y -1 y los lazos de Prouet se reducen a:

$$\omega = 2 \int_{\circ}^I \frac{dz}{\sqrt{1-z^2}} = 2 \int_{\circ}^I (1-z^2)^{-1/2} dz = \int_{\circ}^I \left[ 1 + \frac{1}{2} z^2 + \frac{1/2 \cdot 3/2}{1 \cdot 2} z^4 + \dots \right] dz$$

O también: 
$$\omega = 2 \left[ 1 + \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{3} + \frac{1/2 \cdot 3/2}{1 \cdot 2} \cdot \frac{1}{5} + \frac{1/2 \cdot 3/2 \cdot 5/2}{1 \cdot 2 \cdot 3} \cdot \frac{1}{7} + \dots \right] = 3.1459 \dots$$

El otro lazo es: 
$$2 \int_{\circ}^{-I} \frac{dz}{\sqrt{1-z^2}} = -\omega.$$
 Al punto  $z$  corresponden, pues, dos series de valores para  $x$  a saber: 1.ª serie  $x_1 + 2n\omega$  2.ª serie  $(2n+1)\omega - x_1$ .

\* \* \*

5—Valores de  $x$  para un valor de  $\eta$

Se tiene: 
$$dx = \frac{d\eta}{\sqrt{1-\eta^2}} \quad \text{Y como para} \quad x=0 \quad \eta=0 \quad \text{se tendrá:} \quad x = \int_{\circ}^{\eta} \frac{d\eta}{\sqrt{1-\eta^2}}$$

De donde 
$$\eta(x_1) = \eta(x_1 + 2n\omega) = \eta[(2n+1)\omega - x_1].$$

\* \* \*

Valores de  $x$  para un valor de  $\zeta$ .

La función  $\zeta$  es par, y, por tanto,  $\zeta(x_2) = \zeta(-x_2)$ . Por otra parte para  $x=0$  se tiene  $\zeta(0) = 1$ .

Hagamos  $\zeta(x_2) = \eta(x_1)$  Tendremos:  $dx_2 = -\frac{d\zeta(x_2)}{\sqrt{1-\zeta^2(x_2)}} = -\frac{d\eta(x_1)}{\sqrt{1-\eta^2(x_1)}} = -dx_1$

Por tanto:  $d(x_1+x_2) = 0$  O bien:  $x_1+x_2 = \text{constante}$ .

Pero  $x_1 = \int_0^\eta \frac{d\eta}{\sqrt{1-\eta^2}} = \int_0^1 \frac{d\eta}{\sqrt{1-\eta^2}} + \int_1^\eta \frac{d\eta}{\sqrt{1-\eta^2}}$  (Punto +1 a la derecha)

O bien:  $x_1 = \frac{\omega}{2} - \int_0^\zeta \frac{d\zeta}{\sqrt{1-\zeta^2}} = \frac{\omega}{2} - x_2$  Pues para  $\eta=1$ :  $\zeta=0$ .

Por tanto:  $\eta(x_1) = \zeta(-x_2) = \zeta\left[\frac{\omega}{2} - x_1\right]$  Además  $\zeta(x_1) = \zeta(-x_1) = \zeta(2n\omega \pm x_1)$ .

Los ceros de  $\eta$  son:  $x = n\omega$ . Los ceros de  $\zeta$  son  $x_2 \left[ 2n\omega \pm \frac{\omega}{2} \right]$ .

\* \* \*

Valores de  $x$  para un valor de  $u$ .

Se tiene:  $dx = \frac{du}{\sqrt{u^2-1}} = \frac{i du}{\sqrt{1-u^2}}$  O bien  $d(ix) = -\frac{du}{\sqrt{1-u^2}}$  Se tendrá, pues:

$u(x) = \zeta(ix)$ . Por tanto:  $u(0) = u(n\omega i) = 1$   $\therefore u\left[\left(n\omega \pm \frac{\omega}{2}\right)i\right] = 0$ .

\* \* \*

Valores de  $x$  para un valor de  $v$ .

Se tiene:  $dx = \frac{dv}{\sqrt{1+v^2}}$ . Pongamos  $w = iv$ . De donde  $d(ix) = \frac{dw}{\sqrt{1-w^2}}$ .

Se tendrá, pues:  $w(x) = \eta(ix) = iv(x)$ . Así  $v(x) = \frac{1}{i} \eta(ix)$ .

Por tanto:  $v(x) = v(\omega i - x) = v[(2n+1)\omega i - x] = v(2n\omega i + x)$   
 $v(-x) = -v(x)$  etc....

\* \* \*

6-Definición de  $t(x)$  y  $T(x)$ .

Pongamos:  $t(x) = \frac{\eta(x)}{\zeta(x)}$ . Los ceros de  $x = 0 + n\omega$  de  $\eta$  serán  $t(x)$  y los ceros de  $\zeta(x)$

a saber:  $x = \frac{\omega}{2} + n\omega$  serán polos de  $t(x)$ . Por tanto, cuando  $x$  varía de  $-\frac{\omega}{2}$  á  $+\frac{\omega}{2}$   $t(x)$  varía de una manera continua de  $-\infty$  á  $+\infty$ . Además,  $t(x)$  tendrá por período  $\omega$ .

En efecto:  $t(x+\omega) = \frac{\eta(x+\omega)}{\zeta(x+\omega)} = \frac{-\eta(x)}{-\zeta(x)} = \frac{\eta(x)}{\zeta(x)} = t(x)$ . Pongamos:  $T(x) = \frac{v(x)}{u(x)}$ .

Los ceros de  $x = 0 + n\omega i$  de  $v(x)$  serán ceros de  $T(x)$ . Los ceros de  $u(x)$  a saber:  $x = \left[\frac{\omega}{2} + n\omega\right]i$  son los polos de  $T(x)$ . Por tanto:  $T(x)$  no tiene polos reales sino imaginarios.

Además  $T(x)$  tendrá por período  $\omega i$ . En efecto:  $T(x+\omega i) = \frac{v(x+\omega i)}{u(x+\omega i)} = \frac{-v(x)}{-u(x)} = \frac{v(x)}{u(x)} = T(x)$

Para  $x = \pm \infty$   $T(\pm \infty) = \pm 1$ .

\* \* \*

7-Fórmulas fundamentales de las Trigonometrías planas, euclídea y lobattchewskyana (\*).

Sean (véase la figura 1.<sup>a</sup>)  $z'Oz$  una recta  $L$  ilimitada, y un punto  $P$  situado fuera de la recta. Sean  $PO$  y  $Pm$  una perpendicular y una oblicua a  $L$ .

Haciendo centro en  $P$  y con un radio cualquiera  $PA$  describamos una circunferencia. Todo diámetro divide la circunferencia en dos partes iguales o semicircunferencias, lo cual se demuestra sin el auxilio del postulado de Euclides, como lo reconoce Lobattchewsky, en lo cual tiene razón. Tomemos un arco  $AM_0$  por unidad de arco y escogido de manera tal que la circunferencia valga  $2\omega$  siendo  $\omega$  el valor que hemos hallado atrás. La semicircunferencia valdrá pues  $\omega$ .

(\*) Véase el estudio anterior de Garavito "Nota sobre las Geometrías planas no euclídeas", en el número 8 de esta Revista, págs. 569 y 570.

Consideremos un punto móvil que parte de  $A$  y describe la circunferencia en el sentido  $AMM_1M_2A'M_1M_2A$ . Representemos por  $\theta$  el arco descrito por el móvil. Cada vez que  $A$  vuelve al mismo punto  $M$  el arco  $\theta$  habrá crecido en  $2\omega$ . Llamando especialmente  $\theta$  el menor arco  $AM$  se tendrá que siempre que el móvil girando sobre la circunferencia en el sentido positivo o en el negativo, pase por  $M$ , el arco descrito tendrá por valor  $\theta + 2\omega n$  siendo  $n$  el número de vueltas dadas, esto es, siendo  $n$  un número entero positivo o negativo.

Por el punto  $M$  y por el punto  $P$  tracemos una recta indefinida. Esta recta corta a la circunferencia en dos puntos opuestos y a la recta  $z'Oz$  a lo más en un solo punto  $m$ . Tomando una unidad cualquiera, pero finita, podremos definir numéricamente el segmento  $Om$  por su valor  $z$ , el cual sería positivo a la derecha y negativo a la izquierda.

La variable  $z$  es una función de  $\theta$  susceptible de tomar todos los valores reales desde  $-\infty$  hasta  $+\infty$ . Es función periódica de  $\theta$  pues cuando el punto  $M$  pasa por  $M_1$  ó  $M'_1$  la recta  $MP$  corta a la recta  $L$  en el mismo punto  $m$ . Luego a un solo valor de  $z$  corresponde infinidad de valores del arco expresados por  $\theta + \omega n$ . Además, para  $\theta = 0$  ó  $\theta = \omega n$ , se tiene  $z = 0$ .

Consideremos la función analítica  $t(x)$  reemplazando en ella la variable  $x$  por el arco  $\theta$  que describe el punto  $M$ . Se ve claramente que para  $\theta = 0$  ó  $\theta = n\omega$  se tendrá  $t(\theta) = 0$ . Es decir que  $z$  y  $t(\theta)$  tienen los mismos ceros. Igualmente se ve que ambas cantidades tienen el mismo período y el mismo signo. A cada valor de  $z$ , desde  $-\infty$  hasta  $+\infty$ , corresponde una infinidad de valores de  $\theta$  de la forma  $\theta_0 + n\omega$ ; pero a esa infinidad de valores de  $\theta$  no corresponde sino un valor único de  $t(\theta)$ . Se ve, pues, que  $t$  es una función uniforme de  $z$  para todos los valores desde  $-\infty$  hasta  $+\infty$ , sin punto crítico a distancia finita. Se tiene, pues, que  $t$  es desarrollable en serie en función de  $z$ , por la serie de Maclaurin. Así:

$$t = f(0) + z f'(0) + \frac{z^2}{2!} f''(0) + \dots \text{ Serie que será convergente y equivalente para todos los valores de } z.$$

Ahora bien, como a cada valor de  $t$  corresponden infinidad de valores de  $\theta$ , a saber:  $\theta = \theta_1 \pm \omega n$ , para  $n = 1, 2, 3 \dots$ , y para todos estos valores no corresponde sino un valor único de  $z$ , resulta que para un valor de  $t$  no puede corresponder, a lo más, sino un valor único de  $z$ . La serie no podrá contener sino la primera potencia de  $z$ , pues, de lo contrario, para cada valor de  $t$  corresponderían varios valores de  $z$ , lo cual no es posible, pues, una recta que parte de  $P$  no puede cortar la  $Oz$  en más de un punto. Así, pues,  $t = f(0) + f'(0) \cdot z$ . Además, como para  $z = 0$ , se tiene  $\theta = n\omega$  y  $t = 0$ , se deberá tener  $f(0) = 0$ . Por tanto:  $t = f'(0) \cdot z$  (1).

La fórmula (1) no da lugar a ninguna objeción; es perfectamente correcta y sobre ella se puede establecer la Trigonometría plana y llegar a las mismas fórmulas de la Trigonometría rectilínea euclídea. Volveremos sobre este asunto más adelante.

\* \* \*

Fórmula fundamental de la Trigonometría plana no euclídea.

La fórmula en cuestión es, según el Tratado de Geometría, por los señores Rouché y Comberousse (Sexta edición -1891- tomo II, Nota II, página 586), la siguiente:

$$\frac{T(z)}{\text{tang } \theta} = \frac{T(z_0)}{\text{tang } \theta_0} = \text{constante.} \quad \text{O bien:} \quad T(z) = \frac{\text{tang } \theta}{\text{tang } \Delta} \quad (6)$$

En la cual se ha puesto:  $\text{tang } \Delta = \frac{\text{tang } \theta_0}{T(z_0)}$  (7) La función designada allí por  $T(z)$  no es:

$$\frac{e^z - e^{-z}}{e^z + e^{-z}} \quad \text{como debiera ser, sino} \quad \frac{e^{\frac{z}{k}} - e^{-\frac{z}{k}}}{e^{\frac{z}{k}} + e^{-\frac{z}{k}}} \quad \text{Y debería haber sido representada por} \quad T\left(\frac{z}{k}\right)$$

y no por  $T(z)$ . A primera vista se creería que  $k$  representa la unidad arbitraria de longitud, la cual debería ser una de las magnitudes constantes de la figura, como por ejemplo  $PO$ . Pero no es así; tanto  $z$  como  $k$  figuran por sus valores numéricos referidos a una unidad arbitraria. La cantidad  $k$  es, pues, una constante especial; pero como la fórmula (6) no resulta de la integración de ninguna ecuación diferencial, dicha constante no es, pues, de integración. Además, siendo lineal la relación que liga a  $T(z)$  con  $\text{tang } \theta$  no deberían figurar sino dos constantes, a saber: la constante adicional, que debe ser nula, pues, para  $\theta = 0$   $z = 0$  y  $T(z) = 0$ , y el coeficiente  $\frac{1}{\text{tang } \Delta}$  de  $\text{tang } \theta$ .

La primera y más grave dificultad con que se tropieza al estudiar la Trigonometría de Lobatchewsky es la justificación del misterioso divisor  $k$ . La exposición que se halla en el tratado de Geometría, al cual nos referimos, nada dice a ese respecto. En la citada obra el divisor  $k$  aparece como por encantamiento, sin figurar para nada en la demostración; y, sin embargo de esto, se le confiere la más alta importancia, pues su valor es el *desideratum* de la Geometría euclídeana.

Hay aún otra dificultad, la cual consiste en que la magnitud representada por  $z$  es real y acíclica y, por tanto, inadecuada para actuar como variable independiente en las funciones hiperbólicas que son funciones periódicas de período imaginario. De esto resulta que no es posible, dado el significado de  $z$ , establecer la uniformidad recíproca y perfecta entre  $\text{tang } \theta$  y  $T\left(\frac{z}{k}\right)$  que se requiere para la exactitud de la fórmula (6).

En efecto, a un valor de  $T\left(\frac{z}{k}\right)$  corresponde una infinidad de valores de  $z$  dados por la relación:

$$\frac{z}{k} = \frac{z_1}{k} \pm \pi n i \quad \text{O bien:} \quad z = z_1 \pm \pi k n i \quad \dots \quad n = 1, 2, 3 \dots$$

La infinidad de valores de  $z$  resulta necesariamente de que la ecuación en  $z$  es de grado infinito. En este caso es necesario considerar a  $z$  como variable compleja, y se le podría representar en un plano normal a  $PO$  (Véase la figura 1.<sup>a</sup>), tal como  $y\theta z$ , en donde  $Oz$  debería representar el eje de las magnitudes reales, y  $Oy$  desviado en un cuarto de vuelta y afectado, por tanto, del signo  $i$ , el eje de las magnitudes llamadas imaginarias. Sobre la perpendicular a  $Oz$  levantado por el punto  $m$  tomaríamos, tanto en el sentido positivo como en el negativo, magnitudes iguales a los múltiplos sucesivos de  $\pi k$ ; y uniendo estos puntos con  $P$  tendríamos infinidad de rectas a las cuales corresponderían otros tantos valores de  $\theta$  y, por tanto, también para  $\text{tang } \theta$ , pues entre un punto y el siguiente,  $\theta$  no podría crecer en un semiperíodo  $\pi$ , esto es, en una semivuelta alrededor de  $P$ . Se comprende fácilmente que la ecuación (6) no puede corresponder al caso concreto en cuestión, pues la recta  $Oz$  tiene significado perfectamente definido como recta real, la que jamás se cierra.

La fórmula (6) requiere para  $z$  el significado de círculo máximo de esfera imaginaria en lo que respecta a los valores imaginarios, de manera que  $k$  represente el módulo del radio de dicha esfera. Pero tal interpretación no es posible asignársele a la recta.

En el tratado de Geometría que hemos citado, la fórmula (6) se funda en la uniformidad recíproca entre  $T\left(\frac{z}{k}\right)$  y  $z$  y entre  $z$  y  $\text{tang } \theta$ . El autor de la demostración conviene en hacer caso omiso de las soluciones imaginarias de  $z$  correspondientes a un valor de  $T\left(\frac{z}{k}\right)$  a fin de establecer la uniformidad recíproca entre  $z$  y  $T\left(\frac{z}{k}\right)$ .

Dice así tal Tratado: "... et reciproquement à chaque valeur de  $T(z)$  repondra une position unique de  $m$  ( $Om = z$ ), si l'on convient, comme nous l'avons dit, de ne considérer que la valeur principal des logarithmes". (Página 585).

De la uniformidad recíproca entre  $T(z)$  y  $z$  y entre  $z$  y  $\text{tang } \theta$  se deduce la misma condición entre  $T(z)$  y  $\text{tang } \theta$ .

Para juzgar si los números pueden ser tan complacientes de someterse a lo convenido por el autor de la demostración, se deberán establecer separadamente las dos relaciones, a saber: 1.<sup>a</sup> entre  $T\left(\frac{z}{k}\right)$  y  $z$  y 2.<sup>a</sup> entre  $z$  y  $\text{tang } \theta$ .

Seguiremos literalmente el fondo de la demostración allí consignada y la aplicaremos sucesivamente a cada una de las dos relaciones indicadas.

Si dos cantidades  $u$  y  $v$  son recíprocamente uniformes, ellas deben estar ligadas por una relación de la forma:  $Auv + Bu + Cv + D = 0$ .

Hagamos:  $u = T\left(\frac{z}{k}\right)$  y  $v = z$ . Se tendrá:  $Az T\left(\frac{z}{k}\right) + B T\left(\frac{z}{k}\right) + Cz + D = 0$ .

Como para  $z = 0$ ,  $T\left(\frac{z}{k}\right) = 0$ ; se deberá tener  $D = 0$ . De donde  $Az T\left(\frac{z}{k}\right) + B T\left(\frac{z}{k}\right) + Cz = 0$ .

Y como al cambiar el signo de  $z$  cambia el de  $T\left(\frac{z}{k}\right)$  se tendrá:  $Az T\left(\frac{z}{k}\right) - B T\left(\frac{z}{k}\right) - Cz = 0$ .

De donde  $Az T\left(\frac{z}{k}\right) = 0$  y por tanto,  $A = 0$ . Finalmente  $B T\left(\frac{z}{k}\right) + Cz = 0$ , y, en

consecuencia,  $T\left(\frac{z}{k}\right) = C_1 z$  ( $\alpha$ ). Haciendo  $u = \text{tang } \theta$  y  $v = z$  se hallaría análogamente  $\text{tang } \theta = C_2 z$ . ( $\beta$ ) La eliminación de  $z$  conduciría a la fórmula (6); esto es, a:

$$T\left(\frac{z}{k}\right) = C_3 \text{tang } \theta = \frac{\text{tang } \theta}{\text{tang } \Delta}.$$

La relación ( $\beta$ ) es correcta; pero el absurdo de la ( $\alpha$ ) pone de manifiesto la falsedad de la fórmula (6). La conclusión que se deduce de lo anterior es la de que, aunque el límite de una esfera real o imaginaria es un plano, dicho límite no es alcanzado: esto es, el plano no forma parte del conjunto de esferas reales ni de esferas imaginarias. Más adelante aclararemos esta conclusión.

\* \* \*

8—Antes de continuar la exposición que nos hemos propuesto hacer, resumiremos los argumentos que han sido presentados en favor de la viabilidad de las Geometrías no euclídeas.

El primero y principal argumento es, indudablemente, el haberse podido crear la Trigonometría plana hiperbólica, de lo cual se deduce la posibilidad de realizar una Geometría analítica no euclídea. A este respecto sabemos ya a qué atenernos.

El segundo argumento consiste en que los geómetras no han podido llegar a contradicción alguna en las deducciones de las Geometrías no euclídeas. Este hecho se comprobó primeramente en el plano; pero se creyó que quizá en el espacio de tres dimensiones se llegaría a tal contradicción. Las investigaciones de Sophus Lie desvanecieron esta esperanza.

He aquí la sustancia de aquellas investigaciones. Supongamos primeramente que se trata solamente de la Geometría de dos dimensiones. Sabemos que una figura plana puede moverse sin cambiar de forma en su plano. Supongamos una figura de  $n$  puntos; la posición de todos estos queda definida por los valores de sus  $2n$  coordenadas referentes a un sistema definido en el plano. La forma y el tamaño requieren solamente  $2n - 3$  ecuaciones entre las  $2n$  coordenadas. El movimiento de la figura tiene, pues, tres grados de libertad, o, mejor dicho, queda definido por tres parámetros arbitrarios.

Si pasamos al espacio de tres dimensiones, los espacios de dos dimensiones se definen por una ecuación entre las tres coordenadas de los puntos, esto es, por superficies.

Si se investigan las condiciones que deben cumplir tales espacios, o tales superficies, para que una figura compuesta de  $n$  puntos, situados inicialmente sobre estos espacios de dos dimensiones, pueda mo-

verse sin cambiar de forma ni de tamaño, se halla que dichas superficies deben ser de curvatura constante, a saber: plano, esfera de radio real y esfera de radio imaginario. Espacios de dos dimensiones que corresponden a las Geometrías euclídea, elíptica e hiperbólica.

Un espacio de tres dimensiones puede considerarse como una superficie representada por una ecuación en un espacio de cuatro dimensiones, o por dos ecuaciones en un espacio de cinco dimensiones, etc.... Si se procede análogamente, para que sea posible la libre movilidad de las figuras de tres dimensiones, se llega a la condición de espacios de curvatura constante y de tres dimensiones. Estos espacios son los correspondientes a los indicados atrás, a saber: espacio parabólico, elíptico o hiperbólico. Tales espacios, con excepción del euclídeo o parabólico, no cumplen la condición indicada sino para una región limitada del espacio entero; esto es, se refieren a la Geometría infinitesimal. Tal cosa no importa: podría suponerse aplicable a todo el espacio. ¿Tendríamos por ello derecho a decir que el espacio real puede ser parabólico, elíptico o hiperbólico? ¿Acaso el espacio real es un sistema de ligamentos como el espacio simbólico que traducen las ecuaciones de condición?

Las investigaciones de Sophus Lie respecto de las Geometrías no euclídeas demuestran ciertamente que tales Geometrías están exentas de contradicción; pero ¿qué se deduce de esto? Veamos un ejemplo: Sea  $a > b$  una hipótesis cualquiera;  $b < a$  será la consecuencia. Si tomamos ésta como hipótesis, hallamos  $a > b$ , y no habría contradicción. ¿Esto demostraría que  $a$  es realmente mayor que  $b$ ? Es claro que no.

De las dos Geometrías planas no euclídeas se deduce que la suma de los ángulos de un triángulo depende del tamaño de aquél; o, en otros términos, que dichas Geometrías no permiten la semejanza de las figuras situadas sobre sus planos. Ahora bien: aunque esta consecuencia está en contradicción con nuestras ideas geométricas sobre el plano euclídeo, no se ha visto por eso contradicción, puesto que se acuerdan muy bien con los postulados de Lobatchewsky o de Riemann, según el caso. En efecto, si el plano no es plano sino una superficie esférica y la recta no es recta sino un círculo máximo, la suma de los ángulos del triángulo difiere tanto más de dos rectos cuanto mayor es el área del triángulo.

La consecuencia útil que se deduce de los estudios de Sophus Lie es la de que es posible hacer una Geometría esférica de dos dimensiones, tomando por punto de partida el postulado de Riemann; así como también es posible hacer otra Geometría de dos dimensiones fundada sobre el postulado de Lobatchewsky, en donde el plano ha sido sustituido por una esfera imaginaria y la recta por un círculo máximo de tal esfera. En estas geometrías no se ha hecho más que cometer un error de lenguaje, pues se ha llamado recta a una línea que no es recta y plano a una superficie que no es plana. Los nombres, siendo convencionales los raciocinios, quedan correctos y no es posible hallar contradicción.

Pero si los nombres son convenciones del lenguaje, no sucede lo mismo con las ideas. Las figuras geométricas son imágenes impuestas a nuestro entendimiento independientemente de toda definición particular. Las ideas de línea recta, plano, círculo etc., podríamos decir que son *innatas* al hablar en el lenguaje cartesiano, o *atávicas* si se admite la psicología positivista; pero de ninguna manera se les puede considerar como convenciones.

Lobatchewsky dio el nombre de recta a un lugar geométrico que debía siempre ser cortado por otra línea de la misma especie en una infinidad de puntos imaginarios separados unos de otros por múltiplos de cierto período; pero que no podían tener sino a lo más un solo punto real de intersección. Ahora bien: tal lugar geométrico no puede ser una recta en el lenguaje propio. ¿Cómo se explicarían las soluciones imaginarias?

Una porción de circunferencia de círculo tiende más y más a la línea recta cuando el radio del círculo crece indefinidamente. Esto se expresa al decir que el arco de círculo tiene por límite la recta; pero se debe también añadir que tal límite no es alcanzado, esto es, que la recta no forma parte del conjunto de círculos por grande que sea el radio de éstos.

9—A fin de evitar toda mala inteligencia hacemos notar, una vez por todas, que no pretendemos demostrar el postulado de Euclides, sino solamente establecer las fórmulas de las Trigonometrías plana y esférica sobre los conceptos usuales de línea recta y de plano.

El postulado de Euclides es una propiedad de las líneas rectas situadas en un plano y para demostrarlo sería necesario poder demostrar lo que es la línea recta y lo que es el plano. Ahora bien, recta y plano son condiciones posibles de la extensión; *nociones innatas*, o, mejor dicho, de origen hereditario, las que se han formado, perfeccionado y robustecido por la acción de la naturaleza sobre todos los ascendientes, y las que, por tal motivo, no son susceptibles de demostración lógica.

Lo que es posible hacer con el postulado en referencia es presentarlo en forma diferente, o, mejor dicho, hacerlo depender de las nociones de recta y de plano.

Para que se comprenda bien en qué consiste la imposibilidad de demostrar el postulado de Euclides y el papel que han desempeñado a ese respecto las Geometrías no euclídeas, nos serviremos de una comparación.

En la Geometría analítica plana se representan las líneas rectas por ecuaciones de primer grado con dos variables. (Las dos variables siendo las representaciones de las dos dimensiones de este espacio).

No es el caso de discutir aquí la legitimidad de la representación analítica de las rectas, ni de la representación gráfica de las ecuaciones; pero esto no impide el que podamos servirnos, a título de metáfora, de las ideas referentes a las ecuaciones del Algebra para simbolizar las ideas relativas a las líneas en Geometría.

Si convenimos en asimilar las rectas en un plano a las ecuaciones de primer grado con dos variables, las condiciones de incompatibilidad de dos ecuaciones tendrán por traducción, en el lenguaje geométrico, la condición para que dos rectas, situadas en un mismo plano, no tengan punto común.

La condición de incompatibilidad de dos ecuaciones de primer grado con dos variables en Algebra *diofantina* es la de que la determinante de los coeficientes de las incógnitas sea nula sin que lo sean a la vez las de los numeradores de éstas; y la condición correlativa en Geometría es la del célebre postulado de Euclides.

Ahora bien, si en Algebra suponemos que la condición de incompatibilidad de las dos ecuaciones con dos incógnitas no sea la atrás expresada, se concluirá que las ecuaciones no pueden ser de primer grado.

Igual cosa sucede, punto por punto, en Geometría: pues si se supone que en lugar de una paralela se pueden trazar dos, y que hay una región de incompatibilidad (postulado de Lobatchewsky), se llega a la deducción de que las rectas son círculos máximos de una esfera imaginaria; y si, por el contrario, se supone que no es posible la incompatibilidad (postulado de Riemann), se llega a la deducción de que las rectas

son círculos máximos de esfera real. Por tanto, para poder demostrar el postulado de Euclides sería necesario probar que un plano no es una esfera, y que una recta no es un círculo. Ahora bien, esto no es posible.

Lobatchewsky tuvo la rara habilidad de conservar el nombre de recta a la curva especial y de introducir sigilosamente en las fórmulas de su Trigonometría hiperbólica el módulo del radio de la esfera imaginaria a título de constante desconocida. La suma de los tres ángulos de un triángulo de esta clase es menor que dos rectos, y la diferencia es la relación del área del triángulo al cuadrado del radio de la esfera. Tal diferencia queda desconocida como la constante, pero debe ser tanto mayor cuanto mayor es el triángulo. En la Geometría de Riemann acontece lo mismo, sólo que aquí la suma de los ángulos es mayor que dos rectas.

Algunos geómetras confían en que la determinación de las paralajes estelares arrojará algún día luz sobre la curvatura del espacio, y que sea posible entonces saber si dicha curvatura es positiva o negativa.

Otros no creen posible que las observaciones astronómicas estelares puedan decidir respecto de la viabilidad de las geometrías. "Lo que se llama línea recta en Astronomía —dicen— es sencillamente la trayectoria del rayo luminoso. Si, pues, lo que parece imposible, se llegara a descubrir paralajes negativas (\*) o a demostrar que todas las paralajes son superiores a cierto límite, se podría escoger entre dos conclusiones: podríamos renunciar a la Geometría euclídea o modificar las leyes de la Óptica y admitir que la luz no se propaga rigurosamente en línea recta". Según el parecer de estos geómetras: "El mundo conceptuaría esta última solución como más ventajosa".

Según la opinión de estos últimos matemáticos ninguna de las Geometrías, la euclídea y las no euclídeas, es más verdadera que otra. "Una Geometría no puede ser más verdadera que otra; puede solamente ser más cómoda". ¿Será posible que la determinación de la suma de los tres ángulos de un triángulo rectilíneo esté fuera de toda experiencia? Este concepto es, como se ve, muy confuso.

Hay aún otro parecer respecto a las geometrías, el cual no podemos menos de indicar: es el de aquellos que aconsejan emplear provisionalmente la Geometría euclídea: "la más sencilla, y, por consiguiente, la más cómoda de aprender", mientras sea fácil de aplicar; pero sustituirla lo más pronto posible por alguno de los sistemas no euclídeos para cuando lo exijan los adelantos industriales, a fin de no retardar el progreso por un solo momento!!

\* \* \*

II—Las fórmulas de la Trigonometría esférica son tan verdaderas sobre la esfera como las de la Trigonometría plana sobre el plano, y como las de la Trigonometría hiperbólica sobre la esfera imaginaria. En lo que sigue nos ocuparemos de deducir las tres trigonometrías de la fórmula que liga las funciones recíprocamente uniformes. Ninguna de las geometrías es, pues, más verdadera que otra. La suma de los ángulos de un triángulo esférico es mayor que dos rectos sin que la de los triángulos planos deje por ello de ser igual a dos rectos. No hay, pues, contradicción entre el postulado de Euclides y los de Lobatchewsky y Riemann: bien entendido que esto es cuando se da a los lugares geométricos los nombres usuales. De otro modo la incompatibilidad es palmaria.

Consideremos un círculo y tracémosle una tangente. Imaginemos que dos móviles parten del punto de tangencia y que recorren: el uno, la circunferencia con velocidad tal que dé una vuelta en la unidad de tiempo; el otro, la tangente en determinado sentido, y con velocidad igual a la del primero. El punto que recorre la circunferencia pasará por el punto de tangencia a cada unidad de tiempo, por grande que sea el radio del círculo; mientras que el que recorre la tangente no vuelve nunca. Aunque la circunferencia de círculo y la recta sean líneas de curvatura constante existe entre ellas una diferencia profunda; cuestión de *nonexidad*. Haremos notar el valor de esta diferencia al aplicar correcta y rigurosamente la ecuación que liga dos variables recíprocamente uniformes.

Sistema de coordenadas—Sea (figura 2.<sup>a</sup>) una curva cerrada y  $M$  un punto cualquiera de ésta. Podemos definir la posición de  $M$  sobre la curva mediante la consideración del espacio recorrido por un móvil que describe la curva en el sentido positivo  $ABCD$  o en el negativo  $ADCB$ . El espacio recorrido a partir de una posición inicial  $A$  servirá para definir a  $M$  sobre la curva. No importa, por lo pronto, la definición que se dé a la longitud de arco.

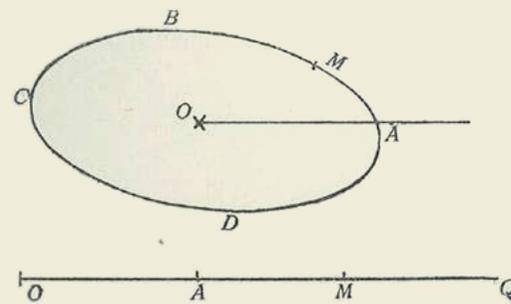


Figura 2a.

Notaremos que a cada vuelta  $C$  sobre la curva, el móvil pasa por el mismo punto  $M$ ; luego a una posición de  $M$  corresponden infinidad de arcos, a saber:

$$S = AM \pm nC$$

en donde  $n$  representa un número entero y  $C$  una vuelta completa. Diremos entonces que la posición de  $M$  es función periódica de la variable  $S$ . Al contrario, la variable  $S$  es función cíclica de la posición  $M$ , pues a cada punto  $M$  corresponden infinidad de valores de  $S$ .

Si, pues, la curva cerrada pudiera prestarse a una interpretación analítica, la relación que ligaría la posición de  $M$  con el arco  $S$  sería de grado infinito, esto es, no podría ser simplemente un polinomio algebraico sino una serie. Tal es el carácter de las relaciones que ligan las funciones periódicas con las variables cíclicas.

Sea, al contrario,  $OAQ$  una recta. Representemos por  $S$  el espacio  $AM$ . La posición de  $M$  sobre la recta quedaría definida únicamente por el valor  $S = AM$ , pues un móvil que recorra la recta no pasará sino una sola vez por  $M$ . Toda función uniforme de la posición  $M$ , cualquiera que sea el sistema elegido, será función uniforme de  $S$ .

Los arcos descritos por un punto sobre curvas cerradas son variables cíclicas y pueden tomarse como variables independientes en las funciones que dependen de la posición de un punto sobre la curva; pero sería imposible, en la mayoría de los casos, hallar las funciones periódicas que puedan representarlas.

Un rasgo trazado a mano sobre un papel es, o puede considerarse, como una curva; pero esta curva sería imposible de representar analíticamente, pues está compuesta de trechos curvos de curvaturas distintas,

(\*) Las paralajes negativas indicarían simplemente que la estrella cuya paralaje se busca está más lejos que las estrellas de comparación.

empalmados aproximadamente unos con otros. No podemos atribuir propiedades analíticas a rasgos trazados caprichosamente:

Las figuras geométricas que se imponen a nuestro entendimiento son los rasgos más sencillos de que podemos disponer y solamente de ellos nos podemos servir para formar sistemas de referencia, a fin de representar numéricamente los puntos del espacio.

La recta y el plano son los elementos geométricos más sencillos de que disponemos. Definirlos sería admitir que existiesen otros elementos más simples.

Los segmentos de recta (distancias) son comparables entre sí, esto es, son susceptibles de medida, al elegir uno particular como unidad. Los ángulos formados por dos rectas que se cortan pueden, igualmente, representarse por números. Estos dos elementos numéricos: distancias y ángulos, podemos utilizarlos para expresar numéricamente y, por tanto, analíticamente, la posición de los puntos de un plano con relación a una recta dada y un punto situado sobre ésta.

Tracemos (figura 3.<sup>a</sup>) la recta  $x'Ox$  en un plano. Sea  $M$  un punto del plano. Por dos puntos no pasa sino una recta; tracemos, pues, la recta  $OMu$ ; pero consideremos únicamente la semirrecta  $Ou$ . Dicha semirrecta forma con  $Ox$  el ángulo  $xOM$ . Podemos hacer girar la semirrecta alrededor de  $O$  en un número cualquiera de vueltas, y el ángulo que define la posición de ésta tendrá evidentemente infinidad de valores. Llamemos  $\theta_0$  el más pequeño,  $C$  la vuelta entera, y  $n$  un número entero: dichos ángulos serán:

$$\theta = \theta_0 \pm nC.$$

El punto  $M$  podemos representarlo sobre la recta  $OMu$  la cual ha sido definida por la variable cíclica  $\theta = \theta_0 \pm nC$ . Para representar a  $M$  nos basta medir o expresar numéricamente su distancia  $OM = r$ . Esta distancia no tiene sino un valor, como lo hemos indicado atrás.

La posición, pues, del punto  $M$  sobre el plano quedará definida por dos valores

$$r = OM \quad \text{y} \quad \theta = \theta_0 \pm nC$$

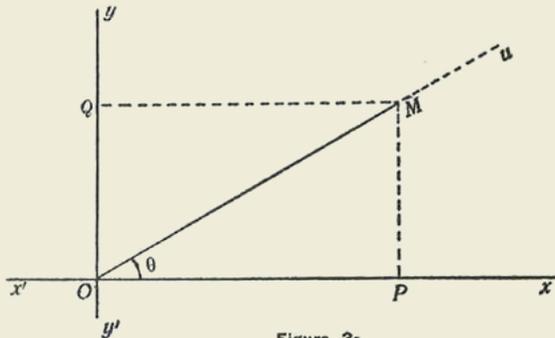


Figura 3a.

Estas coordenadas tienen un carácter diferente, no solo en su naturaleza sino en su modo de definir el punto; pues la  $r$  no tiene sino un valor, mientras  $\theta$  tiene infinidad de valores.

Si hacemos  $r = a =$  constante, tendremos infinidad de puntos en el plano cuyas coordenadas satisfacen a esa condición. Estos puntos se hallan colocados en la circunferencia de un círculo cuyo centro es  $O$ .

Podemos idear otros medios de representar un punto sobre un plano con el auxilio de variables no cíclicas. Por el punto  $O$  levantemos una perpendicular  $y'Oy$  a  $x'Ox$  y por el punto  $M$  bajemos dos perpendiculares  $MP$  sobre  $Ox$  y  $MQ$  sobre  $Oy$ . No nos detendremos en la definición de perpendicular; nos basta saber que por un punto de un plano no se puede trazar sino una sola perpendicular sin que por ello entre en juego el postulado euclídeo.

El punto  $M$  quedará determinado por los segmentos rectilíneos  $OP = x_1$   $OQ = y_1$  Ó también por las distancias  $MQ = x$  y  $MP = y$ ; sin que podamos decir nada respecto de las igualdades:  $x = x_1$  é  $y = y_1$  pues tales igualdades implicarían la aceptación del postulado en referencia.

Tendremos, pues, dos sistemas de valores para definir la posición  $M$  en el plano, a saber:  $x_1$  é  $y_1$ ,  $x$  é  $y$ . Estas coordenadas serán funciones de  $r$  y  $\theta$ . Y las relaciones:  $\frac{x_1}{r}$ ,  $\frac{y_1}{r}$ ,  $\frac{x}{r}$ ,  $\frac{y}{r}$ , serán solamente funciones de  $\theta$ .

Estas relaciones no tienen para cada punto sino un solo valor cada una de ellas, mientras que  $\theta$  tiene infinidad de valores: así resultará que dichas relaciones tendrán que ser funciones periódicas de  $\theta$ .

Vamos a demostrar que  $\frac{x_1}{r}$  y  $\frac{x}{r}$  son funciones de la forma  $\zeta(\theta)$  y que  $\frac{y_1}{r}$  é  $\frac{y}{r}$  son de la forma  $\eta(\theta)$  en donde  $\zeta(\theta)$  y  $\eta(\theta)$  son las series estudiadas en los párrafos 4.º y 5.º, en las que la variable  $x$  ha sido reemplazada por  $\theta$ .

Hagamos, para facilitar la expresión,  $r =$  constante, y tracemos un círculo con centro en  $O$  y que tenga  $OM$  por radio.

La unidad de ángulo es arbitraria: elegiremos esta unidad de manera que la vuelta completa valga  $\omega$ , período de las funciones  $\zeta$  y  $\eta$ , así, como también, de las relaciones:  $\frac{x_1}{r}$ ,  $\frac{x}{r}$ ,  $\frac{y_1}{r}$ ,  $\frac{y}{r}$ .

No nos detendremos en las propiedades geométricas de la circunferencia con relación a sus diámetros, ni en las demostraciones de superposición de figuras, porque tales cuestiones no implican el postulado de Euclides.

El ángulo recto valdrá  $\frac{\omega}{2}$  la vuelta completa  $2\omega$  y la semivuelta  $\omega$ .

Sabemos por las propiedades de  $\zeta(\theta)$  que es periódica y de período  $2\omega$ . Y, además, tenemos que

$$\zeta(\theta) = \zeta(-\theta) \quad \zeta(\theta) = -\zeta(\theta + \omega) \quad \zeta(0) = 1 \quad \zeta(\omega) = -1 \quad \zeta\left[\frac{\omega}{2}\right] = 0 \quad \zeta\left[\frac{3\omega}{2}\right] = 0.$$

Fácilmente se comprueba sobre la figura que se trace, que las relaciones  $\frac{x_1}{r}$  y  $\frac{x}{r}$  satisfacen idénticamente las mismas condiciones.

Cuando dos variables  $p$  y  $q$ , funciones de una tercera variable, se manejan de manera que a cada valor particular, real o imaginario, de una de ellas, no corresponda sino un valor real o imaginario de la otra y, recíprocamente, estas dos cantidades están ligadas por una ecuación de la forma:

$$Apq + Bp + Cq + D = 0 \tag{a}$$

son círculos máximos de esfera real. Por tanto, para poder demostrar el postulado de Euclides sería necesario probar que un plano no es una esfera, y que una recta no es un círculo. Ahora bien, esto no es posible.

Lobattchewsky tuvo la rara habilidad de conservar el nombre de recta a la curva especial y de introducir sigilosamente en las fórmulas de su Trigonometría hiperbólica el módulo del radio de la esfera imaginaria a título de constante desconocida. La suma de los tres ángulos de un triángulo de esta clase es menor que dos rectos, y la diferencia es la relación del área del triángulo al cuadrado del radio de la esfera. Tal diferencia queda desconocida como la constante, pero debe ser tanto mayor cuanto mayor es el triángulo. En la Geometría de Riemann acontece lo mismo, sólo que aquí la suma de los ángulos es mayor que dos rectas.

Algunos geómetras confían en que la determinación de las paralajes estelares arrojará algún día luz sobre la curvatura del espacio, y que sea posible entonces saber si dicha curvatura es positiva o negativa.

Otros no creen posible que las observaciones astronómicas estelares puedan decidir respecto de la viabilidad de las geometrías. "Lo que se llama línea recta en Astronomía —dicen— es sencillamente la trayectoria del rayo luminoso. Si, pues, lo que parece imposible, se llegara a descubrir paralajes negativas (\*) o a demostrar que todas las paralajes son superiores a cierto límite, se podría escoger entre dos conclusiones: podríamos renunciar a la Geometría euclídea o modificar las leyes de la Óptica y admitir que la luz no se propaga rigurosamente en línea recta". Según el parecer de estos geómetras: "El mundo conceptuaría esta última solución como más ventajosa".

Según la opinión de estos últimos matemáticos ninguna de las Geometrías, la euclídea y las no euclídeas, es más verdadera que otra. "Una Geometría no puede ser más verdadera que otra; puede solamente ser más cómoda". ¿Será posible que la determinación de la suma de los tres ángulos de un triángulo rectilíneo esté fuera de toda experiencia? Este concepto es, como se ve, muy confuso.

Hay aún otro parecer respecto a las geometrías, el cual no podemos menos de indicar: es el de aquellos que aconsejan emplear provisionalmente la Geometría euclídea: "la más sencilla, y, por consiguiente, la más cómoda de aprender"; mientras sea fácil de aplicar; pero sustituirla lo más pronto posible por alguno de los sistemas no euclídeos para cuando lo exijan los adelantos industriales, a fin de no retardar el progreso por un solo momento!!

\* \* \*

11—Las fórmulas de la Trigonometría esférica son tan verdaderas sobre la esfera como las de la Trigonometría plana sobre el plano, y como las de la Trigonometría hiperbólica sobre la esfera imaginaria. En lo que sigue nos ocuparemos de deducir las tres trigonometrías de la fórmula que liga las funciones recíprocamente uniformes. Ninguna de las geometrías es, pues, más verdadera que otra. La suma de los ángulos de un triángulo esférico es mayor que dos rectos sin que la de los triángulos planos deje por ello de ser igual a dos rectos. No hay, pues, contradicción entre el postulado de Euclides y los de Lobattchewsky y Riemann: bien entendido que esto es cuando se da a los lugares geométricos los nombres usuales. De otro modo la incompatibilidad es palmaria.

Consideremos un círculo y tracémosle una tangente. Imaginemos que dos móviles parten del punto de tangencia y que recorren: el uno, la circunferencia con velocidad tal que dé una vuelta en la unidad de tiempo; el otro, la tangente en determinado sentido, y con velocidad igual a la del primero. El punto que recorre la circunferencia pasará por el punto de tangencia a cada unidad de tiempo, por grande que sea el radio del círculo; mientras que el que recorre la tangente no vuelve nunca. Aunque la circunferencia de círculo y la recta sean líneas de curvatura constante existe entre ellas una diferencia profunda; cuestión de *nonexidad*. Haremos notar el valor de esta diferencia al aplicar correcta y rigurosamente la ecuación que liga dos variables recíprocamente uniformes.

*Sistema de coordenadas*—Sea (figura 2.) una curva cerrada y  $M$  un punto cualquiera de ésta. Podemos definir la posición de  $M$  sobre la curva mediante la consideración del espacio recorrido por un móvil que describe la curva en el sentido positivo  $ABCD$  o en el negativo  $ADCB$ . El espacio recorrido a partir de una posición inicial  $A$  servirá para definir a  $M$  sobre la curva. No importa, por lo pronto, la definición que se dé a la longitud de arco.

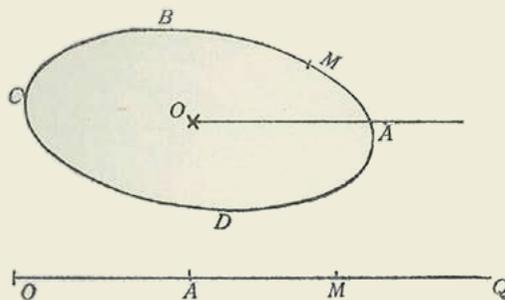


Figura 2a.

Notaremos que a cada vuelta  $C$  sobre la curva, el móvil pasa por el mismo punto  $M$ ; luego a una posición de  $M$  corresponden infinidad de arcos, a saber:

$$S = AM \pm nC$$

en donde  $n$  representa un número entero y  $C$  una vuelta completa. Diremos entonces que la posición de  $M$  es función periódica de la variable  $S$ . Al contrario, la variable  $S$  es función cíclica de la posición  $M$ , pues a cada punto  $M$  corresponden infinidad de valores de  $S$ .

Si, pues, la curva cerrada pudiera prestarse a una interpretación analítica, la relación que ligaría la posición de  $M$  con el arco  $S$  sería de grado infinito, esto es, no podría ser simplemente un polinomio algebraico sino una serie. Tal es el carácter de las relaciones que ligan las funciones periódicas con las variables cíclicas.

Sea, al contrario,  $OAQ$  una recta. Representemos por  $S$  el espacio  $AM$ . La posición de  $M$  sobre la recta quedaría definida únicamente por el valor  $S = AM$ , pues un móvil que recorra la recta no pasará sino una sola vez por  $M$ . Toda función uniforme de la posición  $M$ , cualquiera que sea el sistema elegido, será función uniforme de  $S$ .

Los arcos descritos por un punto sobre curvas cerradas son variables cíclicas y pueden tomarse como variables independientes en las funciones que dependen de la posición de un punto sobre la curva; pero sería imposible, en la mayoría de los casos, hallar las funciones periódicas que puedan representarlas.

Un rasgo trazado a mano sobre un papel es, o puede considerarse, como una curva; pero esta curva sería imposible de representar analíticamente, pues está compuesta de trechos curvos de curvaturas distintas,

(\*) Las paralajes negativas indicarían simplemente que la estrella cuya paralaje se busca está más lejos que las estrellas de comparación.

empalmados aproximadamente unos con otros. No podemos atribuir propiedades analíticas a rasgos trazados caprichosamente:

Las figuras geométricas que se imponen a nuestro entendimiento son los rasgos más sencillos de que podemos disponer y solamente de ellos nos podemos servir para formar sistemas de referencia, a fin de representar numéricamente los puntos del espacio.

La recta y el plano son los elementos geométricos más sencillos de que disponemos. Definirlos sería admitir que existiesen otros elementos más simples.

Los segmentos de recta (distancias) son comparables entre sí, esto es, son susceptibles de medida, al elegir uno particular como unidad. Los ángulos formados por dos rectas que se cortan pueden, igualmente, representarse por números. Estos dos elementos numéricos: distancias y ángulos, podemos utilizarlos para expresar numéricamente y, por tanto, analíticamente, la posición de los puntos de un plano con relación a una recta dada y un punto situado sobre ésta.

Tracemos (figura 3.<sup>a</sup>) la recta  $x'Ox$  en un plano. Sea  $M$  un punto del plano. Por dos puntos no pasa sino una recta; tracemos, pues, la recta  $OMu$ ; pero consideremos únicamente la semirrecta  $Ou$ . Dicha semirrecta forma con  $Ox$  el ángulo  $xOM$ . Podemos hacer girar la semirrecta alrededor de  $O$  en un número cualquiera de vueltas, y el ángulo que define la posición de ésta tendrá evidentemente infinidad de valores. Llamemos  $\theta_0$  el más pequeño,  $C$  la vuelta entera, y  $n$  un número entero; dichos ángulos serán:

$$\theta = \theta_0 \pm nC.$$

El punto  $M$  podemos representarlo sobre la recta  $OMu$  la cual ha sido definida por la variable cíclica  $\theta = \theta_0 \pm nC$ . Para representar a  $M$  nos basta medir o expresar numéricamente su distancia  $OM = r$ . Esta distancia no tiene sino un valor, como lo hemos indicado atrás.

La posición, pues, del punto  $M$  sobre el plano quedará definida por dos valores

$$r = OM \quad \text{y} \quad \theta = \theta_0 \pm nC$$

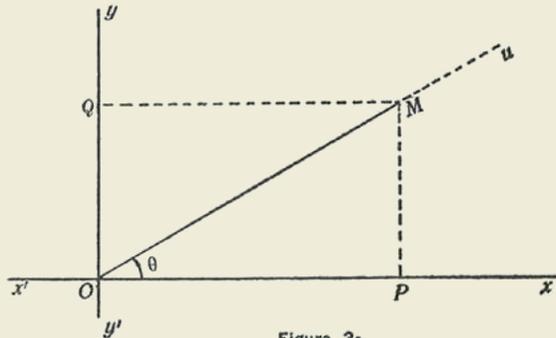


Figura 3a.

Estas coordenadas tienen un carácter diferente, no solo en su naturaleza sino en su modo de definir el punto; pues la  $r$  no tiene sino un valor, mientras  $\theta$  tiene infinidad de valores.

Si hacemos  $r = a =$  constante, tendremos infinidad de puntos en el plano cuyas coordenadas satisfacen a esa condición. Estos puntos se hallan colocados en la circunferencia de un círculo cuyo centro es  $O$ .

Podemos idear otros medios de representar un punto sobre un plano con el auxilio de variables no cíclicas. Por el punto  $O$  levantemos una perpendicular  $y'Oy$  a  $x'Ox$  y por el punto  $M$  bajemos dos perpendiculares  $MP$  sobre  $Ox$  y  $MQ$  sobre  $Oy$ . No nos detendremos en la definición de perpendicular; nos basta saber que por un punto de un plano no se puede trazar sino una sola perpendicular sin que por ello entre en juego el postulado euclídeo.

El punto  $M$  quedará determinado por los segmentos rectilíneos  $OP = x_1$   $OQ = y_1$  Ó también por las distancias  $MQ = x$  y  $MP = y$ ; sin que podamos decir nada respecto de las igualdades:  $x = x_1$  é  $y = y_1$  pues tales igualdades implicarían la aceptación del postulado en referencia.

Tendremos, pues, dos sistemas de valores para definir la posición  $M$  en el plano, a saber:  $x_1$  é  $y_1$ ,  $x$  é  $y$ . Estas coordenadas serán funciones de  $r$  y  $\theta$ . Y las relaciones:  $\frac{x_1}{r}$ ,  $\frac{y_1}{r}$ ,  $\frac{x}{r}$ ,  $\frac{y}{r}$ , serán solamente funciones de  $\theta$ .

Estas relaciones no tienen para cada punto sino un solo valor cada una de ellas, mientras que  $\theta$  tiene infinidad de valores: así resultará que dichas relaciones tendrán que ser funciones periódicas de  $\theta$ .

Vamos a demostrar que  $\frac{x_1}{r}$  y  $\frac{x}{r}$  son funciones de la forma  $\zeta(\theta)$  y que  $\frac{y_1}{r}$  é  $\frac{y}{r}$  son de la forma  $\eta(\theta)$  en donde  $\zeta(\theta)$  y  $\eta(\theta)$  son las series estudiadas en los párrafos 4.º y 5.º, en las que la variable  $x$  ha sido reemplazada por  $\theta$ .

Hagamos, para facilitar la expresión,  $r =$  constante, y tracemos un círculo con centro en  $O$  y que tenga  $OM$  por radio.

La unidad de ángulo es arbitraria: elegiremos esta unidad de manera que la vuelta completa valga  $\omega$ , período de las funciones  $\zeta$  y  $\eta$ , así, como también, de las relaciones:  $\frac{x_1}{r}$ ,  $\frac{x}{r}$ ,  $\frac{y_1}{r}$ ,  $\frac{y}{r}$ .

No nos detendremos en las propiedades geométricas de la circunferencia con relación a sus diámetros, ni en las demostraciones de superposición de figuras, porque tales cuestiones no implican el postulado de Euclides.

El ángulo recto valdrá  $\frac{\omega}{2}$  la vuelta completa  $2\omega$  y la semivuelta  $\omega$ .

Sabemos por las propiedades de  $\zeta(\theta)$  que es periódica y de período  $2\omega$ . Y, además, tenemos que

$$\zeta(\theta) = \zeta(-\theta) \quad \zeta(\theta) = -\zeta(\theta + \omega) \quad \zeta(0) = 1 \quad \zeta(\omega) = -1 \quad \zeta\left[\frac{\omega}{2}\right] = 0 \quad \zeta\left[\frac{3\omega}{2}\right] = 0.$$

Fácilmente se comprueba sobre la figura que se trace, que las relaciones  $\frac{x_1}{r}$  y  $\frac{x}{r}$  satisfacen idénticamente las mismas condiciones.

Cuando dos variables  $p$  y  $q$ , funciones de una tercera variable, se manejan de manera que a cada valor particular, real o imaginario, de una de ellas, no corresponda sino un valor real o imaginario de la otra y, recíprocamente, estas dos cantidades están ligadas por una ecuación de la forma:

$$Apq + Bp + Cq + D = 0 \tag{a}$$

Ahora bien, a cada valor  $\frac{x_1}{r}$  no corresponde sino un valor de  $x_1$  y, por tanto, un punto  $P$  sobre  $Ox$  y dos puntos sobre la circunferencia, esto es, dos series de ángulos  $MOx = \alpha$ , y el simétrico  $-\alpha$ , a las cuales no corresponde sino un solo valor de  $\zeta(\theta)$ , a saber:  $\zeta(\alpha) = \zeta(-\alpha)$ .

Recíprocamente a un valor de  $\zeta$  corresponden dos series de ángulos iguales y de signos contrarios, y, por tanto, dos puntos simétricos respecto del diámetro  $Ox$ , y, por tanto, un punto  $P$  sobre dicho eje, o bien, un solo valor de  $x_1$  y, por tanto, una sola relación  $\frac{x_1}{r}$ .

En consecuencia, la ecuación (a) será aplicable a las variables  $\zeta$  y  $\frac{x_1}{r}$ . Pongamos  $p = \frac{x_1}{r}$  y  $q = \zeta(\theta)$ . Tendremos sucesivamente: Para  $\theta = 0$ :  $p = 1$   $q = 1$ . Y por tanto:  $A + B + C + D = 0$ .

Para  $\theta = \frac{\omega}{2}$ :  $p = 0$   $q = 0$ . De donde  $D = 0$ . Para  $\theta = \omega$ :  $p = -1$   $q = -1$ . De donde  $A - B - C + D = 0$ . En consecuencia  $2A = -2D = 0$   $B = -C$ . Y, por tanto, la ecuación (a) se hará:

$$Bp - Cq = \theta. \text{ O bien } \frac{x_1}{r} = \zeta(\theta) \text{ Del mismo modo hallaríamos: } \frac{y_1}{r} = \zeta(\theta) \text{ y además: } \eta(\theta) = \frac{y_1}{r} = \frac{y}{r}.$$

Estas relaciones son ciertas aunque  $r$  no sea constante, y pueden demostrarse sin el auxilio del círculo, por medio de la ecuación (a).

Como  $\overline{\eta(\theta)^2} + \overline{\zeta(\theta)^2} = 1$  tendremos:  $\left[\frac{x_1}{r}\right]^2 + \left[\frac{y_1}{r}\right]^2 = \left[\frac{x}{r}\right]^2 + \left[\frac{y}{r}\right]^2 = 1$ . Cuando sea  $r =$  constante, se tendrá:  $x_1^2 + y_1^2 = \text{constante} = x^2 + y^2$  que es la ecuación de la circunferencia del círculo.

Sobre la circunferencia del círculo se demuestra fácilmente que a ángulos al centro iguales corresponden arcos iguales. Por tanto, si se toma por unidad de arco de círculo aquel que corresponde a la unidad de ángulo, podemos poner  $\frac{S}{\sigma}$  en vez de  $\theta$ , siendo  $\sigma$  la unidad de arco.

$$\text{Tendremos } \frac{y}{r} = \eta(\theta) = \eta\left(\frac{S}{\sigma}\right). \text{ Si desarrollamos a } \eta\left(\frac{S}{\sigma}\right) \text{ tendremos: } \frac{y}{r} = \frac{S}{\sigma} - \frac{1}{3!} \frac{S^3}{\sigma^3} + \frac{1}{5!} \frac{S^5}{\sigma^5} + \dots$$

$$\text{O bien: } \frac{y}{r} = \frac{S}{\alpha} \left[ 1 - \frac{1}{3!} \frac{S^2}{\sigma^2} + \frac{1}{5!} \frac{S^4}{\sigma^4} + \dots \right] \text{ De donde: } \frac{y}{S} = \frac{2y}{2S} = \frac{r}{\sigma} \left[ 1 - \frac{1}{3!} \frac{S^2}{\alpha^2} + \frac{1}{5!} \frac{S^4}{\alpha^4} + \dots \right].$$

Si hacemos tender  $S$  a cero, el arco  $2S$  y la cuerda  $2y$  tenderán a cero, pero su relación tiene un límite, a saber:  $\lim. \frac{y}{S} = \lim. \frac{\text{cuerda}}{\text{arco}} = \frac{r}{\sigma}$ .

Si se admite que el límite de la relación del arco a la cuerda es la unidad, se tendrá que  $\frac{r}{\sigma} = 1$ . O bien que el arco unidad debe ser el radio para que la circunferencia valga  $C = 2\omega r = 2\pi r$ ; pues  $\omega = \pi = 3.14155926\dots$

\* \* \*

12—Consideremos un casquete esférico sobre una esfera de radio  $R$ ; sea  $r$  el radio del círculo que sirve de base al casquete y  $r_1$  el radio del círculo homotético con relación al centro de la esfera del círculo de radio  $r$ , sobre el plano tangente.

Por el polo del casquete y el centro de la esfera tracemos dos planos perpendiculares. Estos planos cortarán al plano tangente y al plano secante según dos rectas perpendiculares entre sí en cada plano, las cuales serán diámetros de círculos de radios  $r_1$  y  $r$ . Tomemos en cada uno de estos planos a dichas perpendiculares por ejes coordenados. Consideremos un punto  $M$  sobre la circunferencia del círculo menor que sirve de base al casquete, y sea  $M_1$  su correspondiente en el plano tangente.

Tracemos por el punto  $M$  y por el centro de la esfera tres planos, a saber: uno por el polo del casquete y los otros dos perpendicularmente a los dos planos octogonales trazados antes. Estos planos cortarán a la esfera según círculos máximos, y a los planos tangente y secante del modo siguiente: el primer plano según los radios  $O_1M_1$  y  $OM$ , respectivamente, de los círculos de radios  $r_1$  y  $r$ ; los otros dos según  $MP$ ,  $M_1P_1$ ,  $MQ$ ,  $M_1Q_1$ .

Para facilitar las exposiciones designaremos los puntos situados sobre el círculo tangente de radio  $r_1$  con el índice sub-uno, así como las coordenadas  $x_1$   $y_1$ ; sin índice alguno sobre el plano secante del círculo que sirve de base al casquete, y que tiene por radio  $r$ ; finalmente, con un acento los puntos y las cantidades referentes a la superficie esférica del casquete. Así el punto  $O'$  polo del casquete, será el mismo punto  $O_1$  centro del círculo tangente, y el punto  $M'$  del casquete en su base será el mismo punto  $M$ . Del mismo modo los puntos  $A'B'C'D'$  del círculo  $r$  serán los puntos  $A_1B_1C_1D_1$  del casquete.

Después de lo expuesto en el párrafo anterior es inútil que continuemos designando por  $\zeta(\theta)$  y  $\eta(\theta)$  las funciones estudiadas en los párrafos 4.º y 5.º, pues ya está cumplido el objeto de esta notación. Seguiremos de aquí en adelante, designándolas por *coseno* y *seno*, respectivamente.

Pondremos (figura 4.ª: figuras a, b y c): (Véase la figura en la página siguiente).

$$\text{(Figura a)} \quad OM = r \quad OP = x = MQ \quad OQ = y = MP.$$

$$\text{(Figura b)} \quad OM' = r_1 \quad OP' = x' = M'Q' \quad O'Q' = y' = M'P'.$$

$$\text{(Figura c)} \quad OM_1 = r_1 \quad O_1P_1 = x_1 = M_1Q_1 \quad O_1Q_1 = y_1 = M_1P_1.$$

Llamamos  $\theta$  el ángulo  $MOx = M'O'A' = M_1O_1x_1$ .

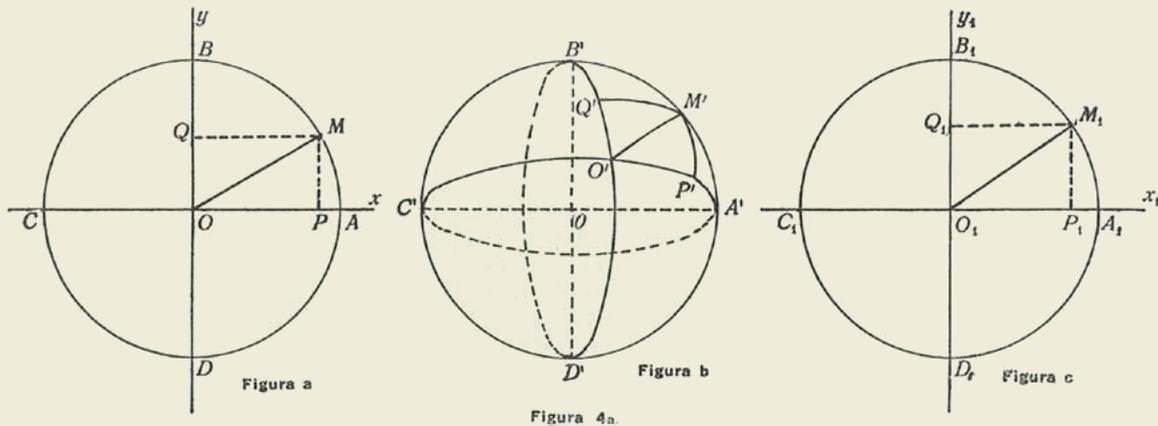
Antes de continuar adelante séanos permitido hacer una observación. Consideremos las relaciones siguientes en el casquete esférico:  $\frac{x'_1}{r'_1}$ ,  $\frac{x_1}{r}$ ,  $\frac{y'_1}{r'_1}$ ,  $\frac{y_1}{r}$  y comparemos dichas relaciones con las funciones  $\cos \theta$  y  $\sin \theta$  por medio de la ecuación  $Apq + Bp + Cq + D = 0$ . (x)

Haciendo paso a paso los razonamientos del párrafo anterior, llamamos como antes:

$$\frac{x'_1}{r'} = \frac{x'}{r} = \cos \theta \qquad \frac{y'_1}{r'} = \frac{y'}{r} = \operatorname{sen} \theta \qquad (m)$$

Ahora bien, estas serían las fórmulas de la Trigonometría plana euclídea aplicadas a los triángulos esféricos.

Preguntaremos: ¿La ecuación (α) se presta a deducir de ella todo lo que se quiera? Si se atiende a la Trigonometría plana hiperbólica establecida por Lobatchewsky y a la *Trigonometría esférica parabólica* (\*) que acabamos de deducir, la respuesta sería afirmativa. Tendrían razón ciertos críticos que han dicho que a las  $x$  se les puede hacer decir todo lo imaginable.



Este cargo hecho al análisis matemático es injusto. La fórmula (α) es correcta, pero ha sido mal aplicada en los dos casos indicados. Hicimos notar el error que se cometió en la fórmula fundamental de la Trigonometría plana hiperbólica. En cuanto a las fórmulas (m) el error consiste en que las variables  $\frac{x'_1}{r'}$ ,  $\frac{x'}{r}$  y  $\cos \theta$  no son recíprocamente uniformes, ni tampoco  $\frac{y'_1}{r'}$ ,  $\frac{y'}{r}$  con  $\operatorname{sen} \theta$ .

En efecto, las magnitudes  $x'_1$   $x'$   $y'_1$   $y'$  tienen para cada punto  $M'$  infinidad de valores, puesto que son arcos de círculo máximo. Así:

$$x'_1 = (x'_1)_0 \pm 2\pi n_1 R \qquad x' = (x')_0 \pm 2\pi n_2 R \qquad y'_1 = (y'_1)_0 \pm 2\pi m_1 R \qquad y' = (y')_0 \pm 2\pi m_2 R$$

Y, finalmente,  $r' = (r')_0 \pm 2\pi NR$ .

En lo que respecta a  $\operatorname{sen} \theta$  y  $\cos \theta$  estas magnitudes no admiten sino un solo valor para un punto  $M'$  del círculo del casquete; en consecuencia, no hay la uniformidad recíproca que se quiere para la aplicación de la fórmula (α), como no la había entre  $\operatorname{tang} \theta$  y  $T\left(\frac{x}{k}\right)$  en el problema de Lobatchewsky.

\* \* \*

13—Consideremos el triángulo esférico  $O'P'M'$  (figura b-de la 4.<sup>a</sup>) y pongamos:

$$\frac{O'M'}{R} = \frac{r'}{R} = a \qquad \frac{M'P'}{R} = \frac{y'}{R} = b \qquad \frac{O'P'}{R} = \frac{x'}{R} = c$$

Llamemos, además,  $B = M'O'P'$  al ángulo que habíamos designado por  $\theta$ . Tendremos, evidentemente:

$$\frac{r'_1}{R} = \frac{O_1M_1}{R} = \operatorname{tang} a; \qquad \frac{O_1P_1}{R} = \operatorname{tang} c = \frac{x_1}{R}; \qquad M_1O_1P_1 = B;$$

$$\frac{r}{R} = \frac{OM}{R} = \operatorname{sen} a; \qquad \frac{MP}{R} = \operatorname{sen} b = \frac{y}{R}; \qquad MOP = B.$$

En el círculo  $ABCD$  se tiene, según lo visto en el párrafo 10:  $\frac{y}{r} = \frac{MP}{OM} = \frac{\operatorname{sen} b}{\operatorname{sen} a} = \operatorname{sen} B$ .

En el círculo  $A_1B_1C_1D_1$  se tiene:  $\frac{x_1}{r_1} = \frac{O_1P_1}{O_1M_1} = \frac{\operatorname{tang} c}{\operatorname{tang} a} = \cos B$ . Se hallan, pues, las fórmulas:

$$\operatorname{sen} b = \operatorname{sen} a \cdot \operatorname{sen} B \qquad \therefore \qquad \operatorname{tang} c = \cos B \cdot \operatorname{tang} a \qquad (n)$$

referentes al triángulo esférico rectángulo  $O'P'M'$ . Estas ecuaciones son suficientes para establecer todas las fórmulas referentes a los triángulos esféricos rectángulos y, por tanto, a todos los triángulos esféricos, pues un triángulo esférico cualquiera puede descomponerse en dos triángulos rectángulos.

\* \* \*

(\*) Nos permitimos dar este nombre a las relaciones establecidas sobre los arcos de círculo máximo por analogía con las Geometrías denominadas elíptica, parabólica e hiperbólica.

14.—Si suponemos imaginario el radio de la esfera: esto es, si hacemos  $R = ik$  obtendremos, poniendo  $O M' = a = r'$ ;  $M' P' = b = y$ ;  $O' P' = c = x'$  :  $\alpha = \frac{a}{k i}$   $\beta = \frac{b}{k i}$   $\gamma = \frac{c}{k i}$ .

Se hallará, pues:

$$\begin{aligned} \operatorname{sen} \alpha &= \operatorname{sen} \frac{a}{k i} = \frac{e^{\frac{a}{k}} - e^{-\frac{a}{k}}}{2i} = i^{-1} S\left(\frac{a}{k}\right) & \operatorname{sen} \beta &= \operatorname{sen} \frac{b}{k i} = \frac{e^{\frac{b}{k}} - e^{-\frac{b}{k}}}{2i} = i^{-1} S\left(\frac{b}{k}\right) \\ \operatorname{sen} \gamma &= \operatorname{sen} \frac{c}{k i} = \frac{e^{\frac{c}{k}} - e^{-\frac{c}{k}}}{2i} = i^{-1} S\left(\frac{c}{k}\right). \end{aligned}$$

De igual modo

$$\begin{aligned} \cos \alpha &= C\left(\frac{a}{k}\right) & \cos \beta &= C\left(\frac{b}{k}\right) & \cos \gamma &= C\left(\frac{c}{k}\right). \\ \operatorname{tang} \alpha &= i^{-1} T\left(\frac{a}{k}\right) & \operatorname{tang} \beta &= i^{-1} T\left(\frac{b}{k}\right) & \operatorname{tang} \gamma &= i^{-1} T\left(\frac{c}{k}\right). \end{aligned}$$

Las fórmulas (n) se harán:  $S\left(\frac{b}{k}\right) = S\left(\frac{a}{k}\right) \operatorname{sen} B$ .  $T\left(\frac{c}{k}\right) = T\left(\frac{a}{k}\right) \cos B$ . (p).

De estas fórmulas se deducen las de la Trigonometría hiperbólica de Lobatchewsky.

\* \* \*

Creemos haber dicho lo suficiente para los lectores que poseen criterio propio, a quienes está dedicado este trabajo. Pero haremos, no obstante, algunas reflexiones finales.

Las figuras geométricas se imponen irresistiblemente a los cerebros sanos. La recta infinita no es hipótesis convencional, sino la idea misma de recta; lo propio sucede con el plano. Llamar recta al círculo y plano a la esfera no sería otra cosa que cambiar los nombres de las cosas.

La psicología experimental explica la formación atávica de las ideas geométricas y su completa perfección. Vivimos sobre una esfera y, sin embargo, tenemos la idea perfecta del plano.

El cerebro se transforma sucesivamente al través del tiempo. ¿De qué manera y en qué sentido habrá venido transformando las ideas la práctica de la instrucción artificial?

Las geometrías no euclídeas y la Cinemática de Einstein son datos de altísimo interés a ese respecto. Quizá también se llegue a encontrar la causa por la cual las civilizaciones caducan.

De todos modos, somos deudores a Lobatchewsky de algo de grandísima importancia desde el punto de vista psicológico.

*NOTA DE LA DIRECCION.—Con este estudio damos ahora por terminada la labor de Garavito en el campo, más filosófico que matemático, de las especulaciones geométricas encaminadas a desorientar la intuición que tenemos del espacio euclídeo, aunque entendemos que del sabio Profesor quedan aún algunos papeles dispersos en que se ocupó también del mismo asunto, desde diferentes puntos de vista. Tal vez en alguna época posterior podamos volver sobre tópicos tan interesantes y que no han perdido en forma alguna su oportunidad. Mas antes de hacerlo procuraremos exponer brevemente la historia de las geometrías no euclídeas, extendiéndonos, sobre todo, respecto del alcance que la Ciencia moderna les ha dado, por cuanto juzgamos como un deber nuestro y de esta Academia Colombiana de Ciencias, el no dejar sin comentario ninguno de los trabajos de Garavito, encaminados, como todo lo suyo, a poner orden en el conjunto, un tanto caótico, de la especulación contemporánea. Cuando llegue esta ocasión habremos de prepararnos mediante el estudio de que seamos capaces y con ayuda de la Academia, cuya finalidad de crítica depuradora hemos expuesto en las notas editoriales del presente número, para hacerlo posible en orden a desarrollar estas ideas de Garavito de modo absoluto.*



TRABAJOS ACADEMICOS

# EL CLIMA DE BOGOTÁ

JULIO GARAVITO A.

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919

## GENERALIDADES

La ciudad de Bogotá se halla situada en una altiplanicie de la rama oriental de la Cordillera de los Andes, a 2.640 metros sobre el nivel del mar, a  $4^{\circ}35'55''.2$  de latitud N. y a  $4^{\text{h}}5^{\text{m}}37^{\text{s}}.5$  de longitud O., respecto de París (1). La cordillera, en el punto en donde se halla Bogotá, tiene la dirección sudoeste-noroeste y va desviándose al este a medida que avanza hacia el territorio de Venezuela. La región que se halla al lado oriental de los Andes es una inmensa llanura que se extiende hasta las costas del Brasil, del Uruguay y de La Plata.

Hacemos esta breve indicación porque para llegar al conocimiento de las causas que fijan el clima de un lugar, es necesario conocer no solamente los principios generales de la Meteorología, sino también las condiciones especiales en que aquél se halla, tanto geográficas como corográficas, las que influyen directamente en su climatología.

Hallar el clima de una región es llegar, por medio de observaciones meteorológicas, a un conocimiento más o menos perfecto de lo que hay de periódico en su temperatura, presión, humedad y dirección de los vientos y cantidad de lluvia. Encontrar la explicación de esos períodos hallando las causas particulares que los determinan, es el objeto de ese estudio.

La determinación de los períodos de los elementos climatéricos es tanto más aproximada cuanto mayor sea el número de observaciones comparables de que se han deducido, pues como las causas anormales que alteran la regularidad o periodicidad de los fenómenos meteorológicos no obran siempre en el mismo sentido, sus efectos, en los valores medios de las cantidades meteorológicas, tienden a compensarse y aminorarse cada vez más.

El sol es la única causa conocida de los fenómenos meteorológicos. La cantidad de calor que arroja sobre cada centímetro cuadrado de superficie terrestre colocada normalmente a los rayos solares, es de tres pequeñas calorías por minuto; por tanto, la energía que anualmente comunica el sol a la tierra es próximamente de  $854 \times 10^{21}$  kilográmetros (2), de la cual pierde ella una porción bastante considerable por radiación al espacio, y el resto lo aprovecha en la evaporación permanente del agua que riega los continentes y mantiene los ríos, en sostener la superfi-

cie de la tierra a una temperatura muy superior a la del espacio que la rodea y, en fin, en el desarrollo de la vida en sus diferentes manifestaciones. Se comprenderá, por tanto, cuál será la influencia de la acción solar sobre los movimientos atmosféricos.

La temperatura de un lugar en un instante dado depende de la distancia zenital del sol; es decir, de su ángulo horario y de su declinación. El ángulo horario tiene por período el día, y la declinación el año; la temperatura, por consiguiente, deberá tener esos mismos períodos, el diurno y el anual; y como todas las cantidades meteorológicas dependen de la temperatura, ellas quedarán también sometidas a dichos períodos.

En la zona intertropical la oblicuidad de los rayos solares, a una misma hora del día, varía muy poco con la declinación del sol; de ahí que la variación anual de la temperatura sea casi insensible en esa región, y ésta es la causa de que en ella no haya propiamente estaciones.

Es evidente que si la cantidad de calor solar recibida por la tierra durante un intervalo de tiempo determinado fuera constante, los períodos meteorológicos diurno y anual no tendrían porqué sufrir alteraciones; así, pues, los fenómenos perturbadores o anormales deben provenir de que el sol no arroja siempre la misma cantidad de calor. Desde hace algún tiempo se ha encontrado un período de once años y medio en la cantidad de manchas solares, cuya influencia en la temperatura media de los lugares de la tierra se ha hecho perceptible. Además, no todos los puntos de la superficie solar deben emitir la misma cantidad de calor, y es claro, como lo han hecho notar Zanger y Honoré, que la rotación solar debe ocasionar un nuevo período meteorológico. La Actinometría está llamada a dilucidar este asunto importantísimo para la Meteorología.

\* \* \*

## OBSERVACIONES METEOROLOGICAS

Los datos que para el estudio del clima de Bogotá hemos podido recoger de Caldas, de Boussingault, del Coronel D. Joaquín Acosta, del Sr. D. Indalecio Liévano y del Sr. D. José María González Benito, se refieren por lo general a cortas series separadas por largos intervalos de tiempo. La diversidad de los instrumentos empleados en esas diferentes épocas, la variedad en la manera como fueron instalados y la diferencia en las horas de observación, hacen casi imposible la comparación de estas series entre sí; razón por la cual nos serviremos úni-

(1) Las coordenadas actuales de la pilastra del antejo de pasos meridianos del Observatorio Astronómico Nacional de Bogotá, son:

$$\varphi = 4^{\circ}35'56''57 \quad \cdot \cdot \quad l = 4^{\text{h}}56^{\text{m}}19^{\text{s}}42$$

al oeste de Greenwich.—N. de la D.

(2) Las más modernas determinaciones de la constante solar dan para este valor 1.94 pequeñas calorías, por centímetro cuadrado y por minuto de exposición.—N. de la D.

camente de las observaciones de 1893 a 1897, que hemos practicado personalmente.

La instalación de los instrumentos meteorológicos ha sido, para esta serie, la siguiente:

1º El psicrómetro, compuesto de dos termómetros, seco y húmedo, con un error índice de 0°3, y los termómetros de máxima (Negretti) y de mínima, se hallan instalados en una casilla de doble persiana colocada en la ventana norte del salón principal. La comunicación con el salón se halla siempre cerrada, excepto en los instantes en que se consultan los termómetros. El aire circula fácilmente en la casilla. Esta instalación ha sido la única aceptable, dadas las condiciones del edificio y del jardín anexo.

2º El barómetro (Fortin), con una escala que permite apreciar cuartos de diezmilímetros, se halla colocado en el salón principal a 4<sup>m</sup>90 de altura sobre el piso del salón bajo.

3º El anemómetro es Robinson. La distancia del centro de los casquetes al eje de rotación es de 0<sup>m</sup>117. Se halla colocado sobre la muralla de la azotea. En el cómputo del espacio recorrido por el viento hemos admitido, de acuerdo con la teoría del aparato, que la velocidad de los centros de los casquetes es el tercio de la del aire, lo cual es bastante aproximado.

4º La dirección del viento se observa por la reflexión de la veleta sobre un espejo horizontal en que se halla trazada la rosa de los vientos, espejo que sirve también para observar la dirección de los vientos superiores.

5º El pluviómetro usado es el totalizador de M. Herve Magon.

En los cuadros adjuntos están consignados los promedios mensuales de las observaciones meteorológicas practicadas en los años de 1893 a 1897 inclusive.

La disposición de los cuadros es la siguiente:

La primera columna vertical contiene los meses del año. En las siete siguientes, relativas a los datos del termómetro seco, se encuentran los promedios mensuales de las temperaturas a cada una de las horas indicadas en la parte superior de las columnas; y de la misma manera en las siete columnas referentes al termómetro húmedo. La 16ª columna contiene las indicaciones del termómetro de mínima. En las siete columnas siguientes se hallan los datos de la nebulosidad. En las otras siete, los correspondientes al espacio, en kilómetros, recorrido por el viento en intervalos de dos horas, como se indica en la parte superior del cuadro; excepto en la columna titulada *noche*, en la cual se halla el espacio recorrido por el viento desde las ocho de la noche hasta las ocho de la mañana del día siguiente. En las columnas tituladas *barómetro reducido* están consignados los datos del barómetro corregidos de capilaridad, temperatura y gravedad; y finalmente, en la última columna se halla la cantidad de lluvia en milímetros correspondiente a cada mes (1).

(1) No existe este cuadro entre los papeles que acompañan el trabajo original—N. de la D.

NOTAS—1ª Las temperaturas de los termómetros seco y húmedo, tales como se encuentran consignadas en los cuadros indicados, deberán ser aumentadas en 0°3, que es el error índice de ambos termómetros. En las curvas de temperatura, y en los cómputos de la humedad relativa y de la tensión del vapor acuoso, se ha hecho esta corrección.

2ª Se han omitido las indicaciones del termómetro de máxima (Negretti) por haberse hallado defectuoso dicho instrumento.

3ª Las indicaciones del barómetro no han sido corregidas del error índice, pues la falta de un catetómetro no nos ha permitido determinarlo con exactitud. La falta de esta corrección no afecta en nada la forma de las curvas barométricas, por ser una corrección constante; y este es el motivo de no habernos preocupado de ella.

Tales son los datos de que nos hemos servido para deducir las nociones preliminares concernientes al clima de Bogotá.

Se acostumbra a expresar las cantidades meteorológicas por series armónicas, pero esto debe hacerse cuando se tenga gran número de años por reducir. Con corto número de datos las amplitudes de las desigualdades y sus épocas quedan afectadas por los casos anormales, y esta es la razón de que nos hayamos ahorrado este trabajo y nos circunscribiremos al dibujo aproximado de las curvas meteorológicas. Dichas curvas dan suficiente idea de las condiciones generales del clima y sirven para conducirnos a la explicación de los hechos más importantes que lo caracterizan.

\* \* \*

## RESULTADOS

### *Temperatura — Variación diurna* (Figura 1ª)

Las indicaciones del termómetro seco corregido de 0°30, y las del termómetro de mínima, nos dan, como promedio de los cinco años, 1893-1897, los siguientes resultados:

HORAS	TEMPERATURA
5 <sup>h</sup> 45 <sup>m</sup> a. m.	9°39
8 <sup>h</sup> a. m.	11°78
10 <sup>h</sup> a. m.	14°32
12 <sup>h</sup> m.	16°07
2 <sup>h</sup> p. m.	16°47
4 <sup>h</sup> p. m.	15°91
6 <sup>h</sup> p. m.	14°45
8 <sup>h</sup> p. m.	13°41
10 <sup>h</sup> p. m.	12°24
12 <sup>h</sup> m. i.	11°51
2 <sup>h</sup> a. m.	10°56
4 <sup>h</sup> a. m.	9°53

(interpoladas)

Las medias horarias que figuran en el cuadro anterior están corregidas del error índice de los termómetros. Las temperaturas durante la noche no han sido observadas directamente; pero notando la semejanza de la curva en el intervalo comprendido desde la mínima hasta las 8<sup>h</sup> p. m., con las curvas completas de otros lugares pertenecientes a la zona

tórrida, hemos hecho las interpolaciones correspondientes para hallar las temperaturas a las 10 p. m., 12 m. i., 2 a. m. y 4 a. m. En la plancha sólo figura con rasgo lleno lo que corresponde a la observación directa, y puntuado lo que se ha obtenido por comparación. La temperatura media que resulta de todos estos datos es:  $t^m = 12^{\circ}97$ .

Si tomamos solamente los datos observados y llamamos  $a, b, c, d, f, g$  y  $h$  las temperaturas observadas a las 8 a. m., 10 a. m., 12 m., 2 p. m., 4 p. m. y 8 p. m., respectivamente, y  $m$  la mínima, obtendremos evidentemente un valor aproximado por la fórmula

$$(a) \quad t'_m = \frac{a + b + c + d + f + g + 3(h + m)}{12}$$

y hallamos para la temperatura media  $13^{\circ}11$ , es decir, un valor mayor en  $0^{\circ}14$  a la obtenida con los datos anteriores. Ahora: es claro que debe ser mayor el resultado de (a) que la temperatura media, por razón de que dicha fórmula viene del área de una línea poligonal inscrita a la curva, y en consecuencia, en lo que corresponde a la parte convexa de la curva, el área de ésta debe ser mayor que la de la poligonal, y en lo que corresponde a la parte cóncava debe ser menor, pero el error en esta última debe ser superior a la de la primera, por razón a que las cuerdas en la parte convexa son muy cortas, mientras que en la cóncava es una muy larga. Veamos en efecto, lo que sucede en la temperatura de Río de Janeiro, para poner un ejemplo palpable. Para esta ciudad tenemos:

$$\begin{aligned} a &= 21^{\circ}91 \\ b &= 23^{\circ}14 & h &= 22^{\circ}45 \\ c &= 23^{\circ}65 & m &= 20^{\circ}64 \\ d &= 23^{\circ}54 & h + m &= 43^{\circ}09 \\ f &= 23^{\circ}30 \\ g &= 23^{\circ}16 \\ 3(h + m) &= 129^{\circ}27 \\ \hline &267^{\circ}97 & t'_m &= \frac{267^{\circ}97}{12} = 22^{\circ}33 \\ \text{Media efectiva: } & t_m &= &= 22^{\circ}26 \\ \text{Diferencia: } & t'_m - t_m &= &= 0^{\circ}07 \end{aligned}$$

La diferencia correspondiente a Bogotá es:  $0^{\circ}14$ , precisamente el doble de aquélla, y, por otra parte, la oscilación de la temperatura es también cerca del doble: por tanto, la temperatura media de Bogotá en los cinco años, 1893-1897, es:  $12^{\circ}97$ .

La temperatura diurna, como se ve por la curva, tiene su máximo pocos minutos antes de las dos de la tarde y su mínimo a las cinco y cuarenta y cinco minutos de la mañana. Los rasgos principales de esta curva se explican fácilmente con el auxilio de las leyes físicas de la radiación del calor.

Variación anual de la temperatura  
(Figura 5ª)

Reduciendo las temperaturas medias mensuales por la fórmula (a) y corrigiéndolas de  $0^{\circ}14$ , halla-

mos para dichas temperaturas los valores siguientes:

Enero .....	12°93
Febrero .....	13°02
Marzo .....	13°41
Abril .....	13°37
Mayo .....	13°40
Junio .....	12°92
Julio .....	12°50
Agosto .....	12°64
Septiembre .....	12°86
Octubre .....	12°93
Noviembre .....	12°97
Diciembre .....	12°83
Media .....	12°98

Para computar las anteriores medias mensuales correspondientes a los cinco años, 1893-1897, hemos procedido del modo siguiente:

1º En los meses de Abril, Mayo, Junio, Julio, Agosto, Septiembre, Octubre, Noviembre y Diciembre que figuran en todos los cinco años, se ha tomado el promedio de las temperaturas a las 8 a. m. etc., sin más correcciones que las del error índice de los termómetros, y la de  $0^{\circ}14$  correspondiente al error de la fórmula (a).

2º Para hallar la temperatura media mensual de Enero, de la cual falta el dato correspondiente a 1893, y las de Febrero y Mayo que faltan en 1895, hemos hecho la interpolación siguiente:

Llamemos  $m'_1, m''_1, m'''_1, \dots, m^{XI}_1$  las medias mensuales correspondientes a 1893;  $m'_2, m''_2, \dots, m^{XII}_2$  las correspondientes a 1894, &;  $M'_1, M''_1, M'''_1, \dots, M^{XII}_1$  las medias completas mensuales correspondientes a los cinco años;  $\mu'_1, \mu''_1, \dots, \mu^{XII}_1$  las correspondientes a los cuatro años 1894, 95, 96 y 97, y  $\mu'_2, \mu''_2, \mu'''_2, \dots, \mu^{XII}_2$  las correspondientes a los cuatro años 1893, 94, 96 y 97. Esto supuesto, lo que tratamos de hallar son las cantidades  $M'_1, M''_1, M'''_1$ , correspondientes a Enero, Febrero y Marzo, que nos son desconocidas.

Llamemos de una manera general  $m$  una media mensual cualquiera de uno de los años 1893 ó 1895, correspondiente a uno de los meses en que faltaron datos;  $M$  la media correspondiente a los cinco años completos, y  $\mu$  la correspondiente a los cuatro años que quedan al excluir de los cinco aquel a que pertenece la media mensual  $m$ . La media  $m$  tendrá uno de los índices 1 ó 3.

Tendremos, suponiendo que  $m$  sea correspondiente a 1893:

$$\begin{aligned} 5M &= m_1 + m_2 + m_3 + m_4 + m_5 \\ \text{y} \quad 4\mu &= m_2 + m_3 + m_4 + m_5 \\ \text{De donde:} \quad 5M &= m_1 + 4\mu \\ \text{O} \quad M &= \mu + \frac{m_1 - \mu}{5} \quad (1) \\ \text{Y} \quad \mu &= M + \frac{M - m_1}{4} \end{aligned}$$

$$\text{Por tanto: } m_1 - \mu = m_1 - M + \frac{m_1 - M}{4} \quad (2)$$

La fórmula (1) nos daría a  $M$  si conociéramos a  $m_1$ ; pero esta media mensual es precisamente la que nos falta, y para suplirla calculamos por (2) todos los valores correspondientes a  $m_1 - \mu$  en los meses en que no faltaron datos, y el promedio de dichos valores es el que hemos sustituido en la fórmula (1) para hallar a  $M'_1$ ,  $M''_1$  y  $M'''$  así:

$$M'_1 = \mu'_1 + \frac{\sum_{i=XII} m^i_1 - \mu^i_1}{5 \times 9}$$

Por otra parte, las diferencias entre la  $M$  y las  $\mu$  han sido tan pequeñas, que hemos prescindido de tal interpolación en lo que concierne a los otros datos meteorológicos.

La temperatura media diurna que nos resulta en esta interpolación es de 12°98, que sólo difiere en 0°01 de la que habíamos hallado.

*Variación anual de la oscilación diurna de la temperatura*  
(Figura 6ª)

De los datos resulta lo siguiente:

Enero .....	8°22
Febrero .....	8°69
Marzo .....	7°38
Abril .....	6°40
Mayo .....	6°53
Junio .....	6°28
Julio .....	6°34
Agosto .....	6°29
Septiembre .....	7°52
Octubre .....	6°63
Noviembre .....	7°78
Diciembre .....	8°28
Media .....	7°11

La oscilación de 7°11 es bastante fuerte; sin embargo, ella debe ser aún mayor fuera de la población, por cuanto en las ciudades la aglomeración de gente eleva la temperatura y trata de hacerla constante. Asimismo, la temperatura media de 12°97 está influenciada por la población, influencia que puede alcanzar hasta 1°.

*Psicrómetro — Variación diurna*  
(Figura 2ª)

Las medias bihorarias del termómetro seco y las del húmedo, prescindiendo de la interpolación indicada atrás, dan los siguientes resultados:

HORAS	t	t'	f'	0.4424(t-t')	f	H
8 a. m.	11°81	10°37	9 <sup>mm</sup> 37	0.64	8.73	— 84.7
10 a. m.	14°33	11°51	10 <sup>mm</sup> 10	1.25	8.85	— 72.9
12 m.	16°04	12°24	10 <sup>mm</sup> 60	1.68	8.92	— 65.8
2 p. m.	16°41	12°59	10 <sup>mm</sup> 84	1.69	9.15	— 66.0
4 p. m.	15°88	15°50	10 <sup>mm</sup> 78	1.50	9.28	— 69.3
6 p. m.	14°45	12°09	10 <sup>mm</sup> 49	1.04	9.45	— 77.3
8 p. m.	13°40	11°54	10 <sup>mm</sup> 12	0.82	9.30	— 81.4

La fórmula por medio de la cual hemos calculado la tensión del vapor acuoso es:

$$f = f' - 0.00079h (t - t')$$

(A. Angot, Instructions Météorologiques, 1891, página 50), en la cual  $f$  representa la tensión del vapor acuoso en la atmósfera,  $f'$  la tensión máxima a la temperatura  $t'$  del termómetro húmedo,  $h$  la presión barométrica en milímetros, y  $t - t'$  la diferencia entre las indicaciones del termómetro seco y del húmedo. La humedad relativa  $H$  se calcula por la fórmula ordinaria. La humedad a las 5<sup>h</sup>3/4 a. m., hora de la mínima temperatura, alcanza a 91.2. Calculando la humedad relativa media por la fórmula (a) se tiene, con alguna aproximación:  $H_m = 79.5$ .

Las horas de la máxima y mínima humedad corresponden muy sensiblemente a las horas de la mínima y máxima temperatura.

*Variación anual*  
(Figura 8ª)

Con el fin de hallar la variación anual de la humedad relativa, hemos tomado la media diurna mensual, computando solamente los datos de las 8 a. m., 10 a. m., 12 m., 2 p. m., 4 p. m., 6 p. m. y 8 p. m., que han sido los de observación regular, sin contar con el valor de la humedad máxima, que se verifica a la hora de la mínima temperatura, próximamente. La media así obtenida resulta ser 77.7, es decir, 1.8 inferior a la media verdadera. Los valores así hallados han sido todos aumentados de este error. Así, pues, tenemos:

MESES	HUMEDAD RELATIVA
Enero .....	79.6
Febrero .....	77.5
Marzo .....	76.3
Abril .....	84.5
Mayo .....	81.4
Junio .....	78.5
Julio .....	77.3
Agosto .....	76.8
Septiembre .....	74.9
Octubre .....	83.3
Noviembre .....	83.8
Diciembre .....	80.2

*Presión atmosférica — Variación diurna*  
(Figura 4ª)

Los datos de que nos hemos servido se refieren a los años 1894, 95 y 97. He aquí las medias horarias:

HORAS	ALTURA BAROMETRICA
8 <sup>h</sup> a. m.	0 <sup>m</sup> 5610
Máxima = 9 a. m.	0 <sup>m</sup> 5612
10 a. m.	0 <sup>m</sup> 5610
12 m.	0 <sup>m</sup> 5602
2 p. m.	0 <sup>m</sup> 5593
Mínima = 4 p. m.	0 <sup>m</sup> 5588
6 p. m.	0 <sup>m</sup> 5593
8 p. m.	0 <sup>m</sup> 5602
Máxima nocturna = 10 p. m.	0 <sup>m</sup> 5608
Mínima nocturna = 3½ a. m.	0 <sup>m</sup> 5594

La presión media es 0<sup>m</sup> 5601, pero este valor está afectado, como se ha dicho, del error índice del barómetro.

*Variación anual* (Figura 9<sup>a</sup>)

La presión media es próximamente igual al promedio entre la máxima y la mínima; sin embargo, es cerca de un décimo de diez-milímetro mayor que dicho promedio. Esto no tiene nada de raro y tiene explicación, aunque es algo compleja.

La presión media mensual la hemos calculado tomando el promedio entre la máxima, y la mínima agregándole un décimo de milímetro. Así obtenemos los siguientes valores como resultado de las observaciones:

MESES	PRESION MEDIA
Enero .....	0 <sup>m</sup> 55995
Febrero .....	0 <sup>m</sup> 56020
Marzo .....	0 <sup>m</sup> 55980
Abril .....	0 <sup>m</sup> 55995
Mayo .....	0 <sup>m</sup> 56010
Junio .....	0 <sup>m</sup> 56035
Julio .....	0 <sup>m</sup> 56040
Agosto .....	0 <sup>m</sup> 56025
Septiembre .....	0 <sup>m</sup> 56020
Octubre .....	0 <sup>m</sup> 55980
Noviembre .....	0 <sup>m</sup> 55945
Diciembre .....	0 <sup>m</sup> 55950

*Variación anual de la oscilación diurna del barómetro* (Figura 10<sup>a</sup>)

El barómetro tiene dos oscilaciones: la una diurna, que se podría llamar la oscilación dinámica; y la otra nocturna, que es la elástica. La oscilación diurna es mayor que la nocturna, y es a ésta a la que nos referimos. Tenemos:

MESES	OSCILACION
Enero .....	2.5
Febrero .....	2.2
Marzo .....	2.3
Abril .....	2.6
Mayo .....	2.5
Junio .....	2.1
Julio .....	1.9
Agosto .....	2.5
Septiembre .....	2.7
Octubre .....	2.7
Noviembre .....	2.6
Diciembre .....	2.5

*Velocidad del viento — Variación diurna* (Figura 1<sup>a</sup>)

HORAS	VELOCIDAD POR SEGUNDO
9 <sup>h</sup> a. m. ....	0 <sup>m</sup> 98
11 <sup>h</sup> a. m. ....	2 <sup>m</sup> 20
1 <sup>h</sup> p. m. ....	2 <sup>m</sup> 58
3 <sup>h</sup> p. m. ....	2 <sup>m</sup> 53
5 <sup>h</sup> p. m. ....	2 <sup>m</sup> 07
7 <sup>h</sup> p. m. ....	1 <sup>m</sup> 06
2 <sup>h</sup> a. m. ....	0 <sup>m</sup> 34

*Variación anual de la velocidad media diurna del viento* (Figura 9<sup>a</sup>)

MESES	VELOCIDAD MEDIA
Enero .....	0 <sup>m</sup> 78
Febrero .....	0 <sup>m</sup> 72
Marzo .....	0 <sup>m</sup> 83
Abril .....	0 <sup>m</sup> 82
Mayo .....	0 <sup>m</sup> 98
Junio .....	1 <sup>m</sup> 42
Julio .....	1 <sup>m</sup> 82
Agosto .....	1 <sup>m</sup> 55
Septiembre .....	1 <sup>m</sup> 52
Octubre .....	1 <sup>m</sup> 06
Noviembre .....	1 <sup>m</sup> 08
Diciembre .....	0 <sup>m</sup> 78

*Nebulosidad — Variación diurna* (Figura 3<sup>a</sup>)

HORAS	NEBULOSIDAD
8 a. m. ....	6.39
10 a. m. ....	7.00
12 m. ....	7.81
2 p. m. ....	7.63
4 p. m. ....	7.40
6 p. m. ....	7.45
8 p. m. ....	6.00

*Variación anual* (Figura 6<sup>a</sup>)

Para juzgar de los meses en que el cielo está más o menos cubierto, hemos tomado el promedio de los datos de las 8 a. m., 10 a. m., 12 m., 2 p. m. y 4, 6 y 8 p. m., correspondientes a cada uno de los meses del año. Cada valor en sí no representa la media diurna sino simplemente una cantidad que le es proporcional. Así obtenemos:

MESES	NEBULOSIDAD
Enero .....	5.91
Febrero .....	5.97
Marzo .....	7.05
Abril .....	7.77
Mayo .....	7.66
Junio .....	7.48
Julio .....	7.30
Agosto .....	7.15
Septiembre .....	6.68
Octubre .....	7.65
Noviembre .....	7.48
Diciembre .....	5.86

Pluviómetro (Figura 5ª)	
Enero .....	100 mm 2
Febrero .....	45 mm 8
Marzo .....	76 mm 8
Abril .....	184 mm 8
Mayo .....	125 mm 5
Junio .....	32 mm 6
Julio .....	53 mm 3
Agosto .....	55 mm 0
Septiembre .....	44 mm 5
Octubre .....	159 mm 0
Noviembre .....	147 mm 8
Diciembre .....	97 mm 4

\* \* \*

### EXPLICACION DE LAS FIGURAS

Figura 1ª—En esta figura están comparadas las curvas de la temperatura y velocidad del viento a las diferentes horas del día. En la primera columna vertical marcada *T* están colocados los grados de temperatura, y la línea que penetra en esa columna se refiere a la temperatura; en la última columna marcada *V* están indicadas las velocidades del viento en metros por segundo, y la curva que penetra en esa columna es la del viento.

En la línea inferior están marcadas las diferentes horas del día, desde las 12 de la noche hasta las 12 de la noche del día siguiente.

En general, la curva o línea que penetra en la primera o última columna es la que se refiere a la letra inicial de la columna.

*Ejemplo*—La temperatura diurna a las 10 a. m. es de 14°3, y la velocidad media del viento a esa misma hora es 1m60.

Figura 2ª—En esta figura están representadas para su comparación la curva de temperatura diurna *T* y la de la humedad relativa *H*.

*Ejemplo*—La temperatura a las 10 a. m. es 14°3, y la humedad es 72,9.

Figura 3ª—En esta figura están comparadas la curva de temperatura diurna *T* y la de nebulosidad *N*.

*Ejemplo*—A las 10 a. m. la temperatura es de 14°3, y la nebulosidad de 7.

Figura 4ª—Esta figura representa solamente las presiones barométricas a las diferentes horas del día.

*Ejemplo*—La presión a las 8 a. m. es 0m5610, y a las 4 p. m. es 0m5588.

Figura 5ª—Se comparan en esta figura las temperaturas medias mensuales *T<sub>m</sub>*, y la cantidad media mensual de lluvias, *Ll*. Las iniciales de los nombres de los meses están colocadas en la línea inferior.

*Ejemplo*—La temperatura media en el mes de Mayo es de 13°40, y la lluvia media es de 125 milímetros.

Figura 6ª—En esta figura están colocadas las curvas de las medias mensuales de oscilación diurna de temperatura 6°7, y la del grado de nebulosidad *N*.

*Ejemplo*—En el mes de Mayo la oscilación media de temperatura en el día es de 6°53, y la nebulosidad 7.66.

Figura 7ª—Se comparan en esta figura las curvas de las medias mensuales de temperatura mínima *TM* y de nebulosidad *N*.

*Ejemplo*—En el mes de Mayo la media mensual de la temperatura es de 12°98, y la nebulosidad 7.42.

Figura 8ª—Están colocadas en esta figura las medias mensuales de la humedad relativa *H* y de las lluvias *Ll*.

Figura 9ª—En esta figura están comparadas las curvas referentes a las medias mensuales de la presión barométrica *B* y la velocidad del viento.

Figura 10.—Están comparadas las medias mensuales de la oscilación barométrica diurna *OB* en milímetros, y las lluvias mensuales.

\* \* \*

### CONCLUSIONES—PARTE ELEMENTAL

#### I—Temperatura

1ª—*Variación diurna*.—La curva de la temperatura (Figura 1ª) presenta una máxima y una mínima. La máxima (16°50) se verifica a las dos de la tarde, próximamente, y la mínima (9°39) pocos minutos antes de la salida del sol. Esto está de acuerdo con las leyes físicas de la radiación del calor.

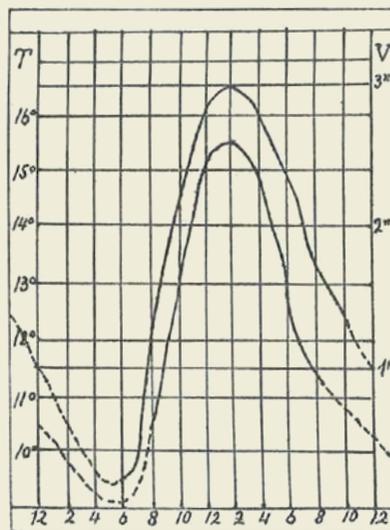


FIGURA 1.ª

Comparada esta curva con la de velocidad diurna del viento en la misma figura, se ve que la hora de máxima velocidad corresponde a la de máxima temperatura, y que, por consiguiente, los vientos ordinarios de nuestra región tienen por causa el exceso de temperatura que toma el aire en contacto con la cordillera respecto de la de la capa atmosférica del mismo nivel que se extiende a los lados de aquella.

Este movimiento de renovación del aire es, por otra parte, la causa de que el mayor grado de nebulosidad corresponde también a dicha hora próximamente, como puede verse en la figura 3ª

Si se compara con la curva de la humedad relativa del aire (Figura 2ª), se notará que la hora de la mínima humedad coincide con la de máxima temperatura, lo que es explicable fácilmente.

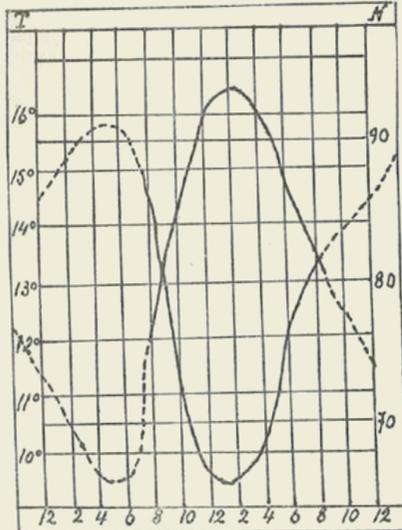


FIGURA 2.ª

2ª—Variación anual.—En la figura 5ª están representadas las temperaturas medias correspondientes a los diferentes meses del año. Esta curva presenta una mínima notable en el mes de Julio (12°5); hecho que parece paradójico por ser Bogotá un lugar del hemisferio boreal. Sin embargo, hemos encontrado una explicación satisfactoria de este fenómeno, que daremos al tratar de la velocidad anual del viento.

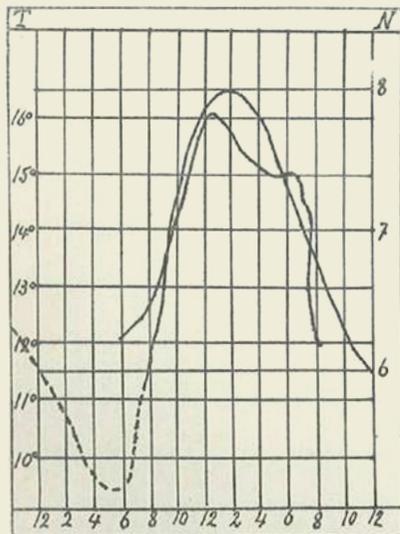


FIGURA 3.ª

Al comparar esta curva con la de lluvias (Figura 5ª), se percibe que los meses más lluviosos son también los más calurosos, hecho que contribuye a comprobar la teoría de nuestros períodos de lluvia, y que expondremos en otro lugar.

3ª—Variación anual.—Oscilación de la temperatura.—La figura 6ª representa las medias mensua-

les de la variación diurna de la temperatura, siendo de notarse en ella la máxima de Febrero (8°69). La analogía inversa de esta curva con la nebulosidad como se ve en la misma figura, es bien marcada: las máximas de la una corresponden a las mínimas de la otra, y recíprocamente. Esto se explica fácilmente por las leyes de la radiación del calor.

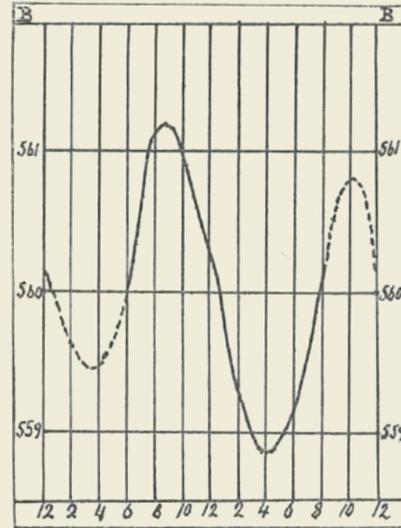


FIGURA 4.ª

4ª—Temperatura mínima.—En la figura 7ª están representadas las medias mensuales de las temperaturas mínimas diurnas. Su semejanza con la curva de nebulosidad es directa; es decir, cuanto más despejado está el cielo, tanto menor es la temperatura mínima. Así, los meses de Enero, Febrero, Septiembre y Diciembre, que son los más despejados del año, son también aquellos en que es más baja la temperatura mínima diurna.

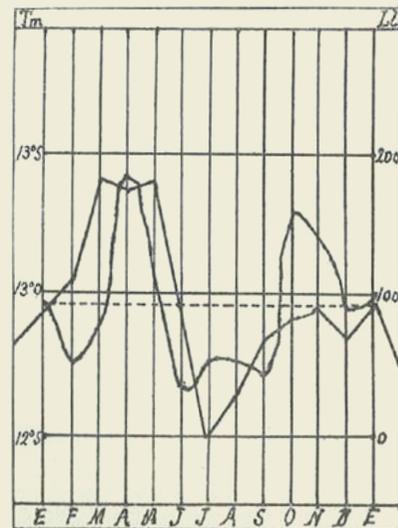


FIGURA 5.ª

En esos meses es muy peligrosa la helada de las plantaciones, por lo cual los agricultores de la Sabana deberán tener mayor cuidado en ello. La combustión de hogueras, encendidas desde las dos o tres

de la madrugada en las noches bien despejadas de aquellos meses, protegerá los plantíos. Como en el mes de Julio la temperatura media es bastante baja, deberá tenerse igual precaución en él.

### II—Humedad relativa

1.—*Variación diurna.*—La curva de la humedad relativa diurna, que representa la figura 2ª, tiene una forma inversa a la de temperatura diurna, como lo hemos hecho notar.

2.—*Variación anual.*—La humedad relativa media en los diferentes meses del año (Figura 8ª), tienen dos máximas que se corresponden con las de la curva de lluvias, y dos mínimas en los meses de Marzo y Septiembre. Son de observarse los fuertes cambios de humedad en los transcurso de Marzo a Abril y de Septiembre a Octubre.

### III—Presión

1.—*Variación diurna.*—(Figura 4ª).—La causa de la doble oscilación barométrica es perfectamente conocida; Koemz fue el primero que dio la explicación de ella, y hoy puede decirse que es un simple problema de Mecánica racional determinar la forma de la curva diurna del barómetro, conociendo la de temperatura. No hay por qué confundir esta oscilación con la de las mareas, cuya influencia en la presión atmosférica es insignificante, según lo ha demostrado Laplace.

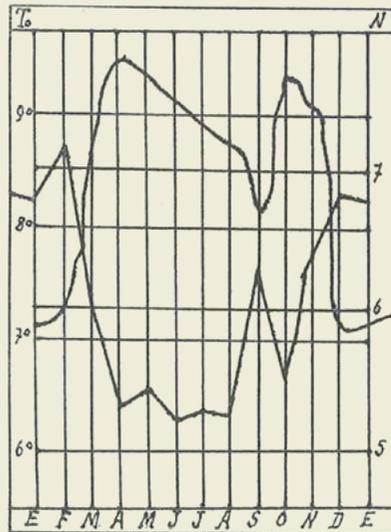


FIGURA 6.ª

Es notable en Bogotá la regularidad del barómetro; la mayor separación entre la presión barométrica en un instante dado, y la que le correspondería por la curva, apenas alcanza a dos milímetros. Así, pues, el barómetro, que en las zonas templadas es un precioso indicador de los cambios del tiempo, pues sus alteraciones alcanzan a cuarenta milímetros, aquí, por el contrario, no puede servir para tal objeto, a causa de su poquísimas alterabilidad.

2.—*Variación anual.*—La presión media (Figura 9ª) presenta dos máximas en el año (Febrero y Julio) y dos mínimas (Marzo y Noviembre). Entre

la mayor presión, en Julio (0<sup>m</sup>56040) y la menor, en Noviembre (0<sup>m</sup>55945), hay apenas una diferencia de noventa y cinco cienmilímetros (0.0095).

3.—*Oscilación barométrica.*—(Figura 10).—La curva anual de la oscilación diurna de la presión ofrece también dos máximas (Abril y Septiembre) y dos mínimas (Febrero y Julio). La oscilación en Septiembre llega a veinte y siete diez-milímetros, mientras que en Julio sólo alcanza a diez y nueve.

### IV—Lluvias

*Variación anual.*—(Figuras 5ª y 8ª).—La curva que representa las lluvias mensuales es, como debe ser, muy semejante a la de la humedad relativa. (Figura 8ª).

En ellas se ve que hay dos épocas lluviosas en el año; la primera en Abril y Mayo, y la segunda en Octubre y Noviembre. Estas dos épocas, como lo hicimos notar atrás, corresponden a máximas en la curva de temperatura media (Figura 5ª), fenómeno aparentemente contradictorio, pero que en realidad confirma la teoría de estos dos períodos de lluvia, cuya explicación es como sigue:

En la zona tórrida el paralelo que recibe normalmente los rayos solares a medio día y que oscila con la declinación del sol entre 23º27' de latitud norte y 23º27' de latitud sur, debe ser el de mayor temperatura. Asimismo en la zona intertropical el aire más caldeado por el sol se halla en continuo ascenso y es reemplazado por el más frío que afluye de los hemisferios laterales, formando una faja que podría llamarse chimenea del globo—movible con el paralelo de mayor temperatura—al cual deberá acompañar incesantemente en su oscilación anual. Esta faja es también de lluvia permanente, porque el vapor de agua que contiene el aire se condensa hasta la saturación al ascender a las regiones elevadas de

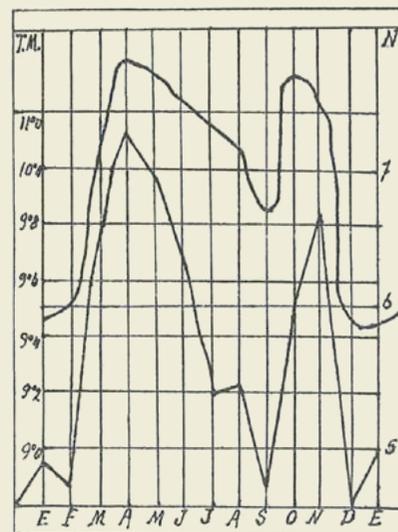


FIGURA 7.ª

la atmósfera por el enfriamiento que allí sufre (Report of the Chief Signal Officer, 1885, tomo II, página 226 y siguientes).

Ahora bien: como el sol pasa por el zenit de Bogotá dos veces en el año, una el 1º de Abril y otra el 11 de Septiembre, la zona de lluvia pasará también dos veces, y es la razón de nuestros dos períodos de lluvias: Abril, Mayo y Octubre y Noviembre.

Cabe observar:

1º Que si bien la primera época lluviosa coincide con el paso del sol por el zenit el 1º de Abril, no sucede lo propio en la segunda (Octubre y Noviembre), la cual se retarda cerca de un mes, respecto del paso del sol el 11 de Septiembre;

2º Que la primera estación es más corta que la segunda, la que se extiende en ocasiones hasta mediados de Diciembre; y

3º Que la segunda época presenta ordinariamente un intervalo seco de pocos días hacia la mitad de la estación, conocido vulgarmente con el nombre de "verano de San Martín", lo cual no acontece en la primera.

La siguiente explicación de estos hechos tiene su apoyo en la que daremos de los vientos al tratar de ellos.

La zona de lluvia, que es el condensador de la humedad de los vientos que afluyen de ambos hemisferios, cuando avanza hacia el norte está empujada por el alisio austral, que es el de mayor fuerza, por lo cual las dos corrientes ascendentes se estrechan y no presentan discontinuidad: así, esta zona será menos ancha en este paso que en el segundo, tendrá menos duración la estación lluviosa y no dará lugar a intervalo seco. Esto es lo que sucede en las lluvias de Abril y Mayo.

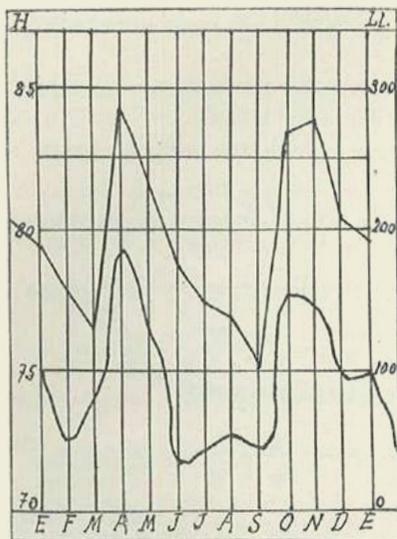


FIGURA 8.ª

Lo contrario acontece en la segunda oscilación de la zona, es decir, cuando se mueve de norte a sur, porque en tal caso se halla detenida por el alisio austral, que, como hemos dicho, es el de mayor velocidad. Este viento pasará del paralelo de mayor calificación, y no principiará su ascenso sino después de haber avanzado hacia el norte, no presentándole obstáculo el alisio boreal, el cual se mueve

con menor rapidez que la zona. De ahí que ésta se retarde en su marcha, se bifurque, se ensanche y consiguientemente dure más tiempo su paso y presente una época seca en su intermedio. Tal es lo que sucede en las lluvias de Octubre y Noviembre. A esto se añade el retardo que debe experimentar en calentarse la región a donde avanza el paralelo en la segunda oscilación a consecuencia del enfriamiento que ha sufrido bajo la influencia del alisio sur.

La anchura de la zona, la velocidad con que se transporta, y, en consecuencia, la mayor o menor duración de las épocas de lluvia, no puede ser rigurosamente la misma en sus diferentes pasos sobre esta región. Una alteración en la velocidad de los vientos, ocasionada por cualquier circunstancia anormal, puede producir modificaciones.

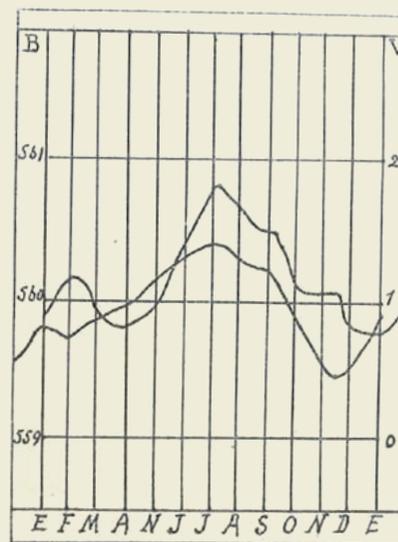


FIGURA 9.ª

V—Vientos

1.—Variación diurna.—(Figura 1ª).—Respecto de la variación diurna del viento hemos dicho, al tratar de la temperatura, que la hora de su velocidad máxima corresponde a la de máxima temperatura, y hemos dado allí la explicación de este hecho.

2.—Variación anual.—La figura 9ª representa la velocidad media diurna, por segundo, en cada uno de los meses del año. En ella se observa que en los meses de Junio, Julio, Agosto y Septiembre sopla un viento más fuerte que en los demás, siendo su máxima en Julio.

Los golpes del viento en dichos meses no son, en nuestro concepto, sino el alisio austral. Las razones que tenemos para juzgarlo así son las siguientes:

1ª—La dirección predominante del viento en esos meses es la sur;

2ª—El viento tiene más fuerza en la región austral que en la boreal, pues la extensión marítima es mayor en el hemisferio sur que en el norte, y, por consiguiente, encuentra menor resistencia en aquella que en ésta;

3ª—Bogotá está al sur de la zona de lluvia en aquellos meses, como se deduce de lo dicho al tratar

de las lluvias, y, por tanto, debe estar recibiendo el alisio austral;

4ª—El viento alisio austral no encuentra resistencia en la llanura del Brasil y puede llegar a nuestra Cordillera Oriental con velocidad suficientemente grande para distinguirlo de los vientos locales;

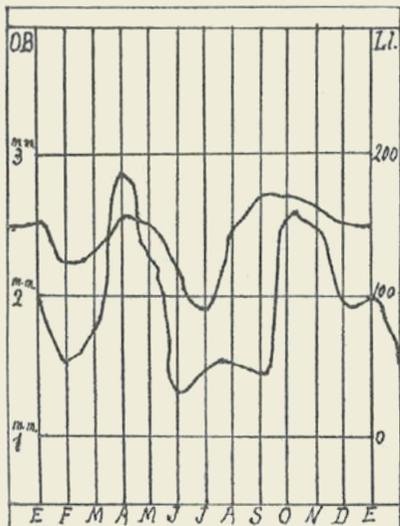


FIGURA 10.<sup>a</sup>

5ª—El mes de máxima velocidad es el de Julio, en cuya época debe hallarse la zona a la mayor distancia norte de Bogotá, por lo cual recibirá el viento sur en la plenitud de su movimiento;

6ª—En el mes de Julio se experimenta una máxima en la presión media diurna que debe depender de la disminución de la velocidad del viento ocasionada por la resistencia que le opone nuestra cordillera;

7ª El mes de Julio corresponde a una mínima en la curva de temperatura, debiendo ser un mes caluroso. Esto se explica por el enfriamiento producido por el alisio sur procedente de la región que se halla en invierno en ese mes; y

8ª—El alisio boreal no puede producir los mismos efectos en esta región por hallarse retenido en la Cordillera de Venezuela.

En resumen, la dirección, la velocidad, la época en que sopla y los efectos que produce el viento en la presión y en la temperatura, concurren a comprobar nuestro aserto.

Para concluir con esta parte elemental destinada al público, diremos que la exposición que hemos hecho referente al clima de Bogotá, está fundada no sólo en los movimientos generales de la atmósfera, sino también en las circunstancias particulares del lugar, como es la posición geográfica y corográfica de la región en donde se halla; de consiguiente, ella es aplicable de un modo general a los demás puntos de la Cordillera Oriental que queden en situación análoga a la de Bogotá; pero en lo que se refiere a la Cordillera Central y la Occidental, puede haber diferencias notables que requieran, para su aplicación, la observación directa.

\* \* \*

*ESTUDIO DE LAS CAUSAS QUE DETERMINAN EN BOGOTA EL DESCENSO DE TEMPERATURA, EL AUMENTO DE PRESION Y LAS LLOVIZNAS EN LOS MESES DE JUNIO, JULIO Y AGOSTO*

Es un hecho que está fuera de duda, que los vientos que nos llegan a Bogotá en Junio, Julio y Agosto no son otra cosa que el alisio sur, el cual se mueve en las grandes llanuras que se extienden al este y al sur de la rama oriental de nuestra cordillera.

Sea (Figura 11) *MM'* la llanura y *M'N* la falda de nuestra cordillera. Tracemos el plano horizontal *QN* y el vertical *QM*, normal este último a la dirección del viento; es evidente que una masa de aire atraviesa la sección *QM*, puesto que el viento alisio se percibe en la llanura; ahora bien: a la masa de aire que penetra en la sección *QM* deberá corresponder otra masa igual que debe salir por la sección *QN*; pues si bien es cierto que una parte puede salir por *RR'* faldeando horizontalmente la cordillera, otra parte deberá penetrar por el plano *PP'*.

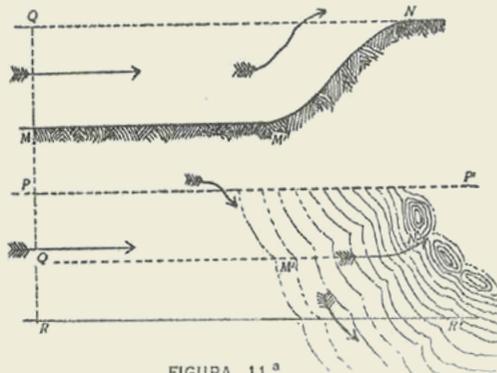


FIGURA 11.<sup>a</sup>

Es claro, pues, que el aire que llega a la cúspide de la cordillera viene de una capa de nivel inferior *SS'* (Figura 12), la cual se encuentra guiada por la cordillera y está obligada a ascender.

La ecuación de la Hidrodinámica es:

$$(1) \quad \frac{1}{\rho} \partial p = \partial U - \left[ (F + S'') \cos(ds, \partial s) + \frac{S'^2}{r} \cos(r, \partial s) \right] \partial S.$$

Apliquemos esta ecuación al movimiento de una masa de aire  $A$ , en el viento alisio de que tratamos, masa que llega a Bogotá después de algún tiempo, siguiendo la trayectoria  $SAS'S''B$ . Sea  $H$  la diferencia de nivel entre esa capa en la posición  $A$  antes de principiar el ascenso, y Bogotá en  $B$ . Sean  $\theta_0$ ,  $P_0$  y  $v_0$  la temperatura absoluta, la presión y la velocidad de la masa  $A$  y en  $p$  y  $v$  las mismas cantidades referentes a la misma masa cuando llega a  $B$ .

Tendremos  $\cos(ds, \partial s) = 1$  y  $\cos(r, \partial s) = 0$ . Por otra parte, como las variaciones diurnas del barómetro son muy pequeñas, podemos considerar a  $P$  independiente del tiempo y reemplazar la diferencial  $\partial$  relativa a la posición, por la  $d$  referente al movimiento; tendremos, pues:

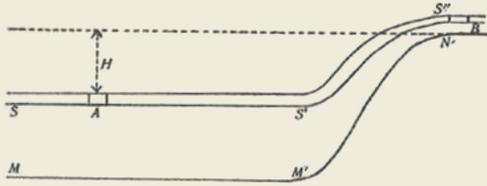


FIGURA 12.<sup>a</sup>

$$\frac{1}{\rho} dp = -\frac{d^2s}{dt^2} dS + Xdx + Ydy + Zdz - FdS$$

Y llamando  $v$  la velocidad, tendremos:

$$\frac{d^2s}{dt^2} dS = \frac{ds}{dt} d\frac{ds}{dt} = vdv = d\frac{v^2}{2}$$

Y además  $Xdx + Ydy + Zdz = -gdz$

Por tanto  $\frac{1}{\rho} dp = -gdz - d\frac{v^2}{2} - FdS$  O aun  $\frac{1}{g\rho} dp = -dz - d\frac{v^2}{2g} - \frac{F}{g} dS$ .

Notando que  $\rho g$  es el peso específico y por consiguiente  $\frac{1}{\rho g} = V =$  volumen específico, tendremos:  $Vdp = -dz - d\frac{v^2}{2g} - \frac{F}{g} dS$ . (a)

Si consideramos el movimiento de  $A$  á  $B$  suponiendo que se gaste un día entero, podremos suponer con todo rigor que la masa de aire describe una *adiabática*, pues el calor que absorbe durante las primeras horas del día y el que irradia en el resto son iguales y, además, muy pequeños. Tendremos pues: (2)  $pV^{\frac{c_1}{c}} = K$ . Siendo  $c_1$  el calor específico a presión constante y  $c$  a volumen constante y  $K$  una constante llamada *entropía*.

Diferenciando la ecuación (2) tendremos:

$$\frac{c_1}{c} pV^{\frac{c_1}{c}-1} dV + V^{\frac{c_1}{c}} dp = 0 \quad \text{O bien} \quad \frac{c_1}{c} p dV + V dp = 0$$

Sustituyendo en (a) el valor de  $Vdp$ , tendremos, después de multiplicar ambos miembros por  $(-1)$

$$\frac{c_1}{c} p dV = dz + d\frac{v^2}{2g} + \frac{F}{g} ds \quad (b)$$

Y por tanto, como por otra parte la ecuación (2) se puede escribir así:

$$pV^{\frac{c_1-c}{c}} = K \quad \text{o bien} \quad R\theta \cdot V^{\frac{c_1-c}{c}} = K \quad (c)$$

(en la cual  $R =$  constante y  $\theta =$  temperatura absoluta), tendremos diferenciando a (c):

$$RV^{\frac{c_1-c}{c}} d\theta + \frac{c_1-c}{c} R\theta V^{\frac{c_1-c}{c}-1} dV = 0 \quad \text{O poniendo} \quad R\theta = PV$$

$$RV^{\frac{c_1-c}{c}} d\theta + \frac{c_1-c}{c} PV^{\frac{c_1-c}{c}} dV = 0 \quad \text{Y por tanto} \quad PdV = -\frac{Rc}{c_1-c} d\theta \quad (d)$$

Sustituyendo este valor de  $PdV$  en (b), tendremos:

$$-\frac{Rc_1}{c_1-c} d\theta = dz + d\frac{v^2}{2g} + \frac{F}{g} ds \quad \text{La cual integrada da:} \quad \frac{Rc_1}{c_1-c} (\theta_0 - \theta) = H + \frac{v^2}{2g} - \frac{v_0^2}{2g} + \int \frac{F}{g} ds \quad (4)$$

Por otra parte  $\frac{v^2}{2g} > \frac{v_0^2}{2g}$ . En efecto, sea  $m$  la masa de aire que en la unidad de tiempo atraviesa una sección  $S_0$  en  $A$ . Tendremos  $m = \rho_0 S_0 v_0$ . Sea  $S$  la sección en  $B$  a través de la cual pasa en la unidad de tiempo la misma masa  $m$ . Se tendrá:  $m = \rho sv$  Y, por consiguiente  $\rho_0 S_0 v_0 = \rho sv$  Y suponiendo, lo que es perfectamente correcto, que la expansión se verifique en todos sentidos de idéntica manera, en atención a que el aire es un cuerpo isótropo, tendremos:

$$S_0 = mv_0^2 \quad \text{y} \quad S = nv^2 \quad \text{De donde} \quad \rho_0 v_0^3 = \rho v^3 \quad \text{O aun} \quad \frac{v_0^3}{V_0} = \frac{v^3}{V}$$

$$\text{O bien} \quad \frac{V}{V_0} = \frac{v^3}{v_0^3} = \left(\frac{P_0}{P}\right)^{\frac{c}{c_1}} \quad \text{Y en consecuencia} \quad \frac{v^2}{2g} = \left(\frac{P_0}{P}\right)^{\frac{2c}{3c_1}} \cdot \frac{v_0^2}{2g} \quad (5)$$

Y como  $P_o > P$  se tendrá forzosamente:  $\frac{v^2}{2g} > \frac{v_o^2}{2g}$ .

Es claro que la resistencia en el movimiento debe hacer disminuir a  $v$  un poco respecto del valor que tomaría esa cantidad si no hubiera tal resistencia, de donde resulta para  $P$  un valor algo mayor que el que corresponde al ascenso efectuado. Esto explica el aumento de presión en esos meses.

Esto supuesto, pongamos:  $\frac{v^2}{2g} - \frac{v_o^2}{2g} = \alpha$  y  $\beta = \int \frac{F}{g} ds$  Por tanto

$\frac{Rc_1}{c_1 - c} (\theta_o - \theta) = H + \alpha + \beta$  siendo  $\alpha$  y  $\beta$  cantidades positivas. Por otra parte se tiene:

$$\begin{array}{ll} R = 29.27 \dots\dots & \log R = 1.46642 \\ c_1 = 0.2375 \dots & \log c_1 = \bar{1}.37566 \\ c = 0.1684 & \bar{0}.84208 \\ c_1 - c = 0.0691 \dots & \log(c_1 - c) = \bar{2}.83948 \\ & \log \frac{Rc_1}{c_1 - c} = 2.00260 \end{array}$$

Por tanto:  $\frac{Rc_1}{c_1 - c} = 100.6$  Así, pues  $106.6(\theta_o - \theta) = H + \alpha + \beta$ .

La cantidad de  $\theta_o - \theta$  es el descenso de temperatura del aire desde un momento dado hasta la misma hora de su llegada a Bogotá.

Tendremos, pues:  $\theta_o - \theta = \frac{H + \alpha + \beta}{100.6}$ . (5) Por otra parte, en el estado estático, llamando

$\theta'_o$  la temperatura en  $A$  y  $\theta'$  en  $B$ , a la misma hora del día, tenemos  $\theta'_o - \theta' = \frac{H}{180}$  (a)

puesto que la temperatura decrece a razón de 180 metros por grado. Restando de (5) la ecuación

(a) tendremos:  $\theta - \theta' = \frac{H}{228} + \frac{\alpha + \beta}{100.6} + \theta'_o - \theta_o$ . (b)

En esta fórmula  $\theta'_o > \theta_o$  puesto que el viento alisio viene de la región de invierno y debe tener menor temperatura. Por tanto,  $\theta < \theta'$  lo que prueba que la temperatura de Bogotá debe disminuir a consecuencia del viento que le afluye. Por otra parte, en Termodinámica se demuestra que el vapor de agua que describe una *adiabática*, se condensa al dilatarse. De ahí que el vapor de agua que nos trae el viento alisio se sobresature y produzca las lloviznas de aquellos meses.

\* \* \*

**Nota de la Dirección**—Publicamos en este número de la Revista el presente trabajo de Garavito sobre Meteorología, rompiendo con ello la unidad de exposición que nos habíamos propuesto para llegar ordenadamente a los escritos del sabio Profesor que se refieren a Mecánica celeste y que verán la luz en números posteriores, porque queremos que este trabajo aparezca simultáneamente con nuestro estudio: "Elementos de Meteorología tropical", que se fundamenta en las enseñanzas del maestro, quien supo aunar las cualidades eminentes de un insigne analítico con la habilidad requerida por la minuciosa y cuidada observación.

Tal habilidad aparece evidente en este escrito: "El clima de Bogotá", por cuanto la deficiencia de aparatos apropiados se compensa en él con la interpretación correcta de los valores observados para lograr las medias de las cantidades meteorológicas con una precisión que observaciones posteriores no han hecho sino confirmar.

Llamamos la atención a la parte de este escrito, que estaba inédita y que se refiere al estudio de las causas que determinan en Bogotá el descenso de temperatura, el aumento de presión y las lloviznas características de los meses de Julio y Agosto, porque es ella una feliz aplicación de las ecuaciones fundamentales de Hidrodinámica desarrolladas por Garavito, tal como aparecen en nuestro trabajo: "Elementos de Meteorología tropical".

En alguna parte de la memoria inserta en un número anterior con el título: "La radiación solar en la Sabana de Bogotá" se expone la crítica que hacemos a la teoría de Garavito referente a los vientos alisios del sur, en lo que respecta a los datos del anemómetro, por creer que tales vientos tienen un carácter local y que las conclusiones por él anotadas sólo tienen aplicación a las corrientes aéreas superiores.

Creemos que con trabajos posteriores del Observatorio de Bogotá se llegue a resultados efectivos que comprueben nuestros puntos de vista o saquen airosa, en su totalidad, la tesis de Garavito.



# TABLAS DE LA LUNA

**JULIO GARAVITO A.**

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919

NOTACIONES DE DELAUNAY.

$a$  = semieje de la órbita de la  $\odot$   $\therefore l = v - \tilde{\omega}$   $\therefore n$  = movimiento medio de la  $\odot = \left(\frac{dv}{dt}\right)$   
 $e$  = excentricidad de la órbita de la  $\odot$   $\therefore l' = v' - \tilde{\omega}'$   $\therefore n'$  = movimiento medio del  $\circ = \left(\frac{dv'}{dt}\right)$   
 $r = \text{sen } \frac{1}{2} i$   $\therefore i$  = inclinación de la órbita de la  $\odot$   $\therefore D$  = distancia media de la  $\odot$  al  $\circ$   $\therefore (v - v')$   
 $a'$   $e'$  = mismos valores en la órbita del  $\circ$   $\therefore \Omega$  = longitud media del nodo de la  $\odot$   
 $v$  = longitud media de la  $\odot$   $\therefore F = v - \Omega$   
 $\tilde{\omega}$  = longitud media del perigeo de la  $\odot$   $\therefore m = \frac{n}{n'}$   
 $v'$  = longitud media del  $\circ$   
 $\tilde{\omega}'$  = longitud media del perigeo del  $\circ$   $\therefore \gamma$  = longitud verdadera de la  $\odot$ .

Cantidades de primer orden:  $e$   $r$   $e'$  y  $m$ .

Cantidades de segundo orden:  $\frac{a}{a'}$  y productos y cuadrados de los de primero, etc. excepto  $e^{13}$   $e^{14}$   $e^{15}$  que se consideran como cantidades de cuarto, de quinto, etc., de orden  $n$ .

Se tiene: 
$$V = nt + a + \left(2e - \frac{1}{4}e^3 + \frac{5}{90}e^5\right) \text{sen } l \dots \dots \dots \text{E. c.}$$

$$+ \left(\frac{15}{4}em + n\right) \text{sen } (2D - l) \dots \dots \dots \text{Evección}$$

$$+ \left[\left(-\frac{4}{3}r^3 + \frac{15}{16}e^2 + \frac{11}{8}m + n\right)m + n\right] \text{sen } 2D \dots \dots \dots \text{Variación}$$

$$+ \dots \dots \dots$$

Sean:  $L$  = longitud verdadera de la  $\odot$   
 $\pi$  = paralaje horizontal ecuatorial de la  $\odot$   
 $\lambda$  = latitud verdadera de la  $\odot$   
 $u$  = longitud media de la  $\odot$   $\therefore u'$  = longitud media del  $\circ$   
 $g = x = u - \tilde{\omega}$  = anomalía media de la  $\odot$   
 $D = r$  = longitud media de la  $\odot$  - longitud media del  $\circ = u - z'$   
 $g' = z' =$  anomalía media del  $\circ$   
 $y$  = longitud media de la  $\odot$  - longitud media del nodo =  $u - \Omega$   
 $r = u - u'$   $\therefore z' = u' - \tilde{\omega}$   
 $\tilde{\omega}$  = longitud media del perigeo  
 $x'$   $y'$   $r'$  = las cantidades  $x$   $y$   $r$  aumentadas de las ecuaciones de longitudes; es decir, los valores verdaderos de esas cantidades, en lugar de los valores medios.

$$L = u + 6^{\circ}17'19''7 \text{sen } x + 12^{\circ}48'8 \text{sen } 2x + \dots + 1^{\circ}16'28''2 \text{sen } (2r - x) + 31''0 \text{sen } 2(2r - x) + \dots$$

$$- 2^{\circ}2'1 \text{sen } r + \dots + 39^{\circ}29''7 \text{sen } 2r + \dots - 11^{\circ}13'0 \text{sen } z' + \dots - 6^{\circ}51'8 \text{sen } 2y + \dots + 17''5 \text{sen } (x - r)$$

$$- 3^{\circ}31'9 \text{sen } 2(x - r) + \dots + 3^{\circ}12'2 \text{sen } (2r + x) + \dots + 3^{\circ}26''7 \text{sen } (2r - x - z') + \dots$$

$$+ \dots - 1''1 \text{sen } (\varphi - \delta) + \dots + 0''7 \text{sen } (\delta - 2\lambda).$$


---


$$\pi = 57^{\circ}2''7 + 3^{\circ}6'5 \text{cos } x + 10''2 \text{cos } 2x + 0''6 \text{cos } 3x + \dots + 34''4 \text{cos } (2r - x) - 1''0 \text{cos } r + 28''5 \text{cos } 2r + \dots$$

$$- 0''3 \text{cos } z + 3''1 \text{cos } (2r - x) + 1''4 \text{cos } (2r - z - x) + \dots$$


---


$$\lambda = 5^{\circ}8'59''8 \text{sen } y' + 12''6 \text{sen } 2y' + 8^{\circ}47''8 \text{sen } (2r' - y') + \dots + 14''4 \text{sen } (y' - x') + \dots + 25''8 \text{sen } (2x' - y')$$

$$\dots + 15''6 \text{sen } (x' + y' - 2r') + \dots + 1''0 \text{sen } (2r' + y') + 0''8 \text{sen } (3y' - 2r') + \dots - 0''7 \text{sen } (y' - r')$$

### TABLA I

LONGITUD MEDIA DE LA LUNA =  $u$

$T_0 = 1900$  Enero 0... Tiempo medio de Greenwich.  
 $T_0 = 1900$  Enero 0...  $u_0 = 270^\circ 26' 42'' .00$  T. m. de G.  
 $T_0 = 1901$  Enero 0.. "  $39^\circ 49' 47'' .25$  " "  $u = nt + u_0$   
 $T_0 = 1902$  Enero 0.. "  $169^\circ 12' 52'' .50$  " "  $n = 1336^\circ. 307^\circ 53' 20'' .58$  (por 100 años julianos).  
 $T_0 = 1903$  Enero 0.. "  $298^\circ 35' 57'' .75$  " "  $n = 13^\circ. 132^\circ 40' 44'' .01$  (por año juliano).  
 $T_0 = 1904$  Enero 0.. "  $167^\circ 59' 3'' .00$  " "  $n = 13^\circ. 129^\circ 23' 5'' .25$  (por año de 365 días).  
 $T_0 = 1905$  Enero 0.. "  $310^\circ 32' 43'' .28$  " "  $n = 13^\circ 10' 35'' .02808$  (por día).

MESES (AÑO COMUN)	DÍAS	HORAS	MINUTOS	SEGUNDOS
Enero 0.. $0^\circ 0' 0'' .00$	0 <sup>d</sup> ..... $0^\circ 0' 0'' .00$	0 <sup>h</sup> ..... $0^\circ 0' 0'' .00$	0 <sup>m</sup> ..... $0' 0'' .00$	0 <sup>s</sup> ..... $0'' .000$
Feb. 0.. $48^\circ 28' 5'' .87$	1 ..... $13^\circ 10' 35'' .03$	1 ..... $0^\circ 32' 56'' .46$	1 ..... $0' 32'' .94$	1 ..... $0'' .549$
Marzo 0.. $57^\circ 24' 26'' .66$	2 ..... $26^\circ 21' 10'' .06$	2 ..... $1^\circ 5' 52'' .92$	2 ..... $1' 5'' .88$	2 ..... $1'' .098$
Abril 0.. $105^\circ 52' 32'' .53$	3 ..... $39^\circ 31' 45'' .08$	3 ..... $1^\circ 38' 49'' .38$	3 ..... $1' 38'' .82$	3 ..... $1'' .647$
Mayo 0.. $141^\circ 10' 3'' .37$	4 ..... $52^\circ 42' 20'' .11$	4 ..... $2^\circ 11' 45'' .84$	4 ..... $2' 11'' .76$	4 ..... $2'' .196$
Junio 0.. $189^\circ 38' 9'' .24$	5 ..... $65^\circ 52' 55'' .14$	5 ..... $2^\circ 44' 42'' .30$	5 ..... $2' 44'' .70$	5 ..... $2'' .745$
Julio 0.. $224^\circ 55' 40'' .08$	6 ..... $79^\circ 3' 30'' .17$	6 ..... $3^\circ 17' 38'' .76$	6 ..... $3' 17'' .72$	6 ..... $3'' .294$
Agosto 0.. $273^\circ 23' 45'' .95$	7 ..... $92^\circ 14' 5'' .20$	7 ..... $3^\circ 50' 35'' .22$	7 ..... $3' 50'' .66$	7 ..... $3'' .843$
Sept. 0.. $321^\circ 51' 51'' .82$	8 ..... $105^\circ 24' 40'' .22$	8 ..... $4^\circ 23' 31'' .68$	8 ..... $4' 23'' .52$	8 ..... $4'' .392$
Oct. 0.. $357^\circ 9' 22'' .66$	9 ..... $118^\circ 35' 15'' .25$	9 ..... $4^\circ 56' 28'' .14$	9 ..... $4' 56'' .46$	9 ..... $4'' .941$
Nobre. 0.. $45^\circ 37' 28'' .54$	10 ..... $131^\circ 45' 50'' .28$	10 ..... $5^\circ 29' 24'' .60$	10 ..... $5' 29'' .40$	10 ..... $5'' .490$
Dbre. 0.. $80^\circ 54' 59'' .38$	20 ..... $263^\circ 31' 40'' .56$	20 ..... $10^\circ 58' 49'' .20$	20 ..... $10' 58'' .80$	20 ..... $10'' .980$
	30 ..... $35^\circ 17' 30'' .84$		30 ..... $16' 28'' .20$	30 ..... $16'' .470$
			40 ..... $21' 57'' .60$	40 ..... $21'' .960$
			50 ..... $27' 27'' .00$	50 ..... $27'' .450$
			60 ..... $32' 56'' .40$	60 ..... $32'' .940$

### TABLA II

ANOMALIA MEDIA DE LA LUNA =  $x$

$$x = L - \tilde{\omega} = x_0 + x' t$$

1900. Enero 0  $x_0 = 296^\circ 7' 5'' .00$  T. m. Greenwich,  $x' = 1325^\circ. 198^\circ 49' 50'' .64$  (por 100 años julianos).  
 1901. Enero 0  $x_0 = 24^\circ 50' 24'' .69$  " "  $x' = 1325^\circ. 185^\circ 45' 56'' .67$  (por 100 años julianos —1 día).  
 1902. Enero 0  $x_0 = 113^\circ 33' 44'' .38$  " "  $x' = 13^\circ. 88^\circ 43' 19'' .69$  (por año de 365 días).  
 $x' = 13^\circ 3' 53'' .972$  (por día).

MESES (AÑO COMUN)	DÍAS	HORAS	MINUTOS	SEGUNDOS
Enero 0.. $0^\circ 0' 0'' .000$	1 <sup>d</sup> ..... $13^\circ 3' 53'' .972$	0 <sup>h</sup> ..... $0^\circ 0' 0'' .00$	1 <sup>m</sup> ..... $0' 32'' .663$	1 <sup>s</sup> ..... $0'' .544$
Feb. 0.. $45^\circ 0' 53'' .132$	2 ..... $26^\circ 7' 47'' .944$	1 ..... $0^\circ 32' 39'' .75$	2 ..... $1' 5'' .325$	2 ..... $1'' .089$
Marzo 0.. $50^\circ 50' 4'' .348$	3 ..... $39^\circ 11' 41'' .916$	2 ..... $1^\circ 5' 19'' .50$	3 ..... $1' 37'' .987$	3 ..... $1'' .633$
Abril 0.. $95^\circ 50' 57'' .480$	4 ..... $52^\circ 15' 35'' .888$	3 ..... $1^\circ 37' 59'' .25$	4 ..... $2' 10'' .650$	4 ..... $2'' .178$
Mayo 0.. $127^\circ 47' 56'' .640$	5 ..... $65^\circ 19' 29'' .800$	4 ..... $2^\circ 10' 38'' .99$	5 ..... $2' 43'' .312$	5 ..... $2'' .722$
Junio 0.. $172^\circ 48' 49'' .772$	6 ..... $78^\circ 23' 23'' .832$	5 ..... $2^\circ 43' 18'' .74$	6 ..... $3' 15'' .975$	6 ..... $3'' .266$
Julio 0.. $204^\circ 45' 48'' .932$	7 ..... $91^\circ 27' 17'' .804$	6 ..... $3^\circ 15' 58'' .49$	7 ..... $3' 48'' .637$	7 ..... $3'' .811$
Agos. 0.. $249^\circ 46' 42'' .064$	8 ..... $104^\circ 31' 11'' .776$	7 ..... $3^\circ 48' 38'' .24$	8 ..... $4' 21'' .300$	8 ..... $4'' .355$
Sept. 0.. $294^\circ 47' 35'' .196$	9 ..... $117^\circ 35' 5'' .748$	8 ..... $4^\circ 21' 17'' .99$	9 ..... $4' 53'' .962$	9 ..... $4'' .900$
Oct. 0.. $326^\circ 44' 34'' .356$	10 ..... $130^\circ 38' 59'' .720$	9 ..... $4^\circ 53' 57'' .74$	10 ..... $5' 26'' .625$	10 ..... $5'' .444$
Nov. 0.. $11^\circ 45' 27'' .488$	20 ..... $261^\circ 17' 59'' .440$	10 ..... $5^\circ 26' 37'' .49$	20 ..... $10' 53'' .250$	20 ..... $10'' .888$
Díc. 0.. $43^\circ 42' 26'' .648$	30 ..... $31^\circ 56' 59'' .160$	20 ..... $10^\circ 53' 14'' .98$	30 ..... $16' 19'' .874$	30 ..... $16'' .332$
			40 ..... $21' 46'' .499$	40 ..... $21'' .776$
			50 ..... $27' 13'' .124$	50 ..... $27'' .220$

TABLA III

LONGITUD MEDIA DEL SOL =  $u'$

Enero 0 de 1900 = 279°31'27".97 T. m. de Greenwich.  $u' = 100^{\circ} 0'46'7''.84$  (por 100 años julianos).  
 Enero 0 de 1901 = 279°27' 8".57 " "  $u' = 99^{\circ} 359'46'59''.51$  (por 100 años julianos — 1 día).  
 " " " "  $u' = 359'45'40''.5958$  (por año de 365 días).  
 " " " "  $u' = 0'59' 8''.3344$  (por día).

MESES (AÑO COMUN)	DIAS	HORAS	MINUTOS	SEGUNDOS
Enero 0... 0° 0' 0".00	1 <sup>d</sup> ..... 0°59' 8".33	1 <sup>h</sup> ..... 2'27".85	1 <sup>m</sup> ..... 0' 2".46	1 <sup>s</sup> ..... 0".04
Febr. 0... 30°33'18".24	2 ..... 1°58'16".66	2 ..... 4'55".69	2 ..... 4".93	2 ..... 0".08
Marzo 0... 58° 9'11".49	3 ..... 2°57'24".99	3 ..... 7'23".54	3 ..... 7".39	3 ..... 0".12
Abril 0... 88°42'20".74	4 ..... 3°56'33".32	4 ..... 9'51".39	4 ..... 9".86	4 ..... 0".16
Mayo 0...118°16'39".65	5 ..... 4°55'41".65	5 .....12'19".24	5 .....12".32	5 ..... 0".21
Junio 0...148°49'57".89	6 ..... 5°54'49".98	6 .....14'47".08	6 .....14".78	6 ..... 0".25
Julio 0...178°24' 7".80	7 ..... 6°53'58".31	7 .....17'14".93	7 .....17".25	7 ..... 0".29
Agos. 0...208°57'26".05	8 ..... 7°53' 6".64	8 .....19'42".78	8 .....19".71	8 ..... 0".33
Sept. 0...239°30'44".29	9 ..... 8°52'14".97	9 .....22'10".62	9 .....22".18	9 ..... 0".37
Oct. 0...269° 4'54".20	10 ..... 9°51'23".30	10 .....24'38".47	10 .....24".64	10 ..... 0".41
Nov. 0...299°38'12".44	20 .....19°42'46".61	20 .....49'16".94	20 .....0'49".28	20 ..... 0".82
Dic. 0...329°12'22".35	30 .....29°34' 9".91	30 .....50 .....2' 3".21	30 .....1'13".92	30 ..... 1".23
			40 .....1'38".56	40 ..... 1".64
			50 .....2' 3".21	50 ..... 2".05

Para formar a  $r$  basta formar a  $u$  y a  $z$ :  $r = u - z$ .  
**Movimiento en días, horas, minutos y segundos**

TABLA IV

LONGITUD MEDIA DE LA LUNA - LONGITUD MEDIA DEL NODO =  $y$

Enero 0 de 1900  $y_0 = 11^{\circ}15'51''.60$  T. m. de Greenwich.  
 Enero 0 de 1901  $y_0 = 159^{\circ}58'38''.35$  " "  $y' = 13^{\circ} 148'42'46''.750$  (por 365 días).  
 Enero 0 de 1902  $y_0 = 308^{\circ}41'25''.10$  " "  $y' = 13^{\circ}13'45''.658$  (por día).

MESES (AÑO COMUN)	DIAS	HORAS	MINUTOS	SEGUNDOS
Enero 0... 0° 0' 0".00	1 <sup>d</sup> ..... 13°13'45".65	1 <sup>h</sup> ..... 0°33' 4".40	1 <sup>m</sup> ..... 33".07	1 <sup>s</sup> ..... 0".551
Febr. 0... 50° 6'35".40	2 ..... 26°27'31".32	2 ..... 1° 6' 8".80	2 ..... 1' 6".15	2 ..... 1".102
Marzo 0... 60°31'53".82	3 ..... 39°41'16".97	3 ..... 1°39'13".21	3 ..... 1'39".22	3 ..... 1".653
Abril 0...110°38'29".22	4 ..... 52°55' 2".63	4 ..... 2°12'17".61	4 ..... 2'12".29	4 ..... 2".205
Mayo 0...269°23'37".12	5 ..... 66° 8'48".29	5 ..... 2°45'22".01	5 ..... 2'45".36	5 ..... 2".756
Junio 0... 97°37'53".36	6 ..... 79°22'33".95	6 ..... 3°18'26".41	6 ..... 3'18".44	6 ..... 3".307
Julio 0...234°30'44".10	7 ..... 92°36'19".61	7 ..... 3°51'30".81	7 ..... 3'51".51	7 ..... 3".858
Agos. 0...284°37'19".50	8 .....105°50' 5".26	8 ..... 4°24'35".22	8 ..... 4'24".59	8 ..... 4".409
Sept. 0...334°43'54".89	9 .....119° 3'50".92	9 ..... 4°57'39".62	9 ..... 4'57".66	9 ..... 4".960
Oct. 0...371°36'44".63	10 .....132°17'36".58	10 ..... 5°30'44".02	10 ..... 5'30".73	10 ..... 5".512
Nov. 0... 61°43'20".03	20 .....264°35'13".16	20 .....11° 1'28".04	20 .....11' 1".47	20 .....11".023
Dbre. 0... 98°36' 9".77	30 ..... 36°52'49".74	30 .....11° 1'28".04	30 .....16'32".20	30 .....16".535
			40 .....22' 2".93	40 .....22".047
			50 .....27'33".67	50 .....27".558
			60 .....33' 4".40	60 .....33".070

**Movimiento en días, horas, minutos y segundos**

### TABLA V

$r = \text{LONGITUD MEDIA DE LA LUNA} - \text{LONGITUD MEDIA DEL SOL} = u - z'$

Enero 0 de 1900  $r_0 = 350^{\circ}55'14''.03$  T. m. de Greenwich.  $r' = 12^{\circ} 129^{\circ}37'24''.65$  (por año de 365 días).  
 Enero 0 de 1901  $r_0 = 120^{\circ}22'38''.68$  " "  $r' = 12^{\circ}11'26''.69768$  (por día).

MESES (AÑO COMUN)	DIAS	HORAS	MINUTOS	SEGUNDOS
Enero 0... 0° 0' 0".00	1 <sup>d</sup> ..... 12°11'26".70	0 <sup>h</sup> ..... 0° 0' 0".00	1 <sup>m</sup> ..... 0'30".477	1 <sup>s</sup> ..... 0".508
Febr. 0... 17°54'47".63	2 ..... 24°22'53".40	1 ..... 0°30'28".61	2 ..... 1' 0".954	2 ..... 1".016
Marzo 0... 359°15'15".17	3 ..... 36°34'20".09	2 ..... 1° 0'57".22	3 ..... 1'31".431	3 ..... 1".524
Abril 0... 17°10' 2".79	4 ..... 48°45'46".79	3 ..... 1°31'25".84	4 ..... 2' 1".907	4 ..... 2".032
Mayo 0... 22°53'23".72	5 ..... 60°57'13".49	4 ..... 2° 1'54".45	5 ..... 2'32".384	5 ..... 2".540
Junio 0... 40°48'11".35	6 ..... 73° 8'40".19	5 ..... 2°32'23".06	6 ..... 3' 2".861	6 ..... 3".048
Julio 0... 46°31'32".28	7 ..... 85°20' 6".88	6 ..... 3° 2'51".67	7 ..... 3'33".338	7 ..... 3".556
Agos. 0... 64°26'19".90	8 ..... 97°31'33".58	7 ..... 3°33'20".29	8 ..... 4' 3".815	8 ..... 4".064
Sept. 0... 82°21' 7".53	9 ..... 109°43' 0".28	8 ..... 4° 3'48".90	9 ..... 4'34".292	9 ..... 4".572
Oct. 0... 88° 4'28".46	10 ..... 121°54'26".98	9 ..... 4°34'17".51	10 ..... 5' 4".769	10 ..... 5".079
Nov. 0... 105°59'16".10	20 ..... 243°48'53".95	10 ..... 5° 4'46".12	20 ..... 10' 9".537	20 ..... 10".159
Dbre. 0... 111°42'37".03	30 ..... 5°43'20".93	20 ..... 10° 9'32".25	30 ..... 15'14".306	30 ..... 15".238
			40 ..... 20'19".075	40 ..... 20".318
			50 ..... 25'23".844	50 ..... 25".397
			60 ..... 30'28".612	60 ..... 30".477

### TABLA VI

$\tilde{\omega} = \text{LONGITUD DEL PERIGEO DEL SOL}$

Enero 0 de 1900 a medio día medio de Greenwich  $\pi = 281^{\circ}12'46''.2$ .  
 Enero 0 de 1901 a medio día medio de Greenwich  $\pi = 181^{\circ}13'47''.9$ .  
 1899 — Enero 1<sup>o</sup> a 0 horas de París =  $281^{\circ}11'44''.7$ .

MESES	DIAS	HORAS
$C=B.$	$\pi$	$d$
Enero 1 = 1	0".0	1 = 0".169
Febr. 1 = 1	5".2	2 = 0".338
Marzo 1 = 0	10".0	3 = 0".507
Abril 1 = 0	15".2	4 = 0".676
Mayo 1 = 0	20".3	5 = 0".845
Junio 1 = 0	25".5	6 = 1".014
Julio 1 = 0	30".6	7 = 1".183
Agosto 1 = 0	35".8	8 = 1".352
Sept. 1 = 0	41".1	9 = 1".521
Octubre 1 = 0	46".1	10 = 1".690
Nov. 1 = 0	51".4	20 = 3".380
Debre. 1 = 0	56".4	30 = 5".070

Año de 365 d. = 61".7

$$z' = \gamma' = u' - \tilde{\omega}$$

VALORES DE BOURKARDT

Evección =  $2r - x - (10^{\circ}29'28''.88)$   
 $(2r - x)' = 5^{\circ}. 20^{\circ}31'29''.61$  (por 365 días).  
 $(2r - x)'' = 6^{\circ}. 1^{\circ}50'29''.03$  (por 366 días (para año bisiesto).)

Anomalia =  $x - (11^{\circ}5' 6''.84)$   
 $x' = 2^{\circ}. 28^{\circ}43'19''.690$  (por 365 días).  
 $x'' = 3^{\circ}. 11^{\circ}47'13''.622$  (por 366 días (para año bisiesto).)

Variación =  $r - 13^{\circ}2'22''.67$   
 $r' = 4^{\circ}. 9^{\circ}37'24''.65$  (por 365 días).  
 $r'' = 4^{\circ}. 21^{\circ}48'51''.25$  (por 366 días (para año bisiesto).)

Longitud =  $u + 0^{\circ}. 13^{\circ}26'18''.56$   
 $u' = 4^{\circ}. 9^{\circ}23' 5''.25$  (por 365 días).  
 $u'' = 4^{\circ}. 22^{\circ}33'40''.28$  (por 366 días (para año bisiesto).)

Suplemento del nodo =  $180^{\circ} - \Omega$   
 $-\Omega' = 19^{\circ}19'41''.50$  (por 365 días).  
 $-\Omega'' = 19^{\circ}22'52''.13$  (por 366 días (para año bisiesto).)

$(II)' = 11^{\circ}. 3^{\circ}. 20^{\circ}32'0''$  (por 365 días).  
 $(II)'' = 11^{\circ}. 4^{\circ}. 1^{\circ}31'8''$  (por 366 días (para año bisiesto).)

VALORES DE BOURKARDT (PROLONGACION)

AÑOS	EVECCION	ANOMALIA	VARIACION
1890	4 <sup>s</sup> 8° 19' 57".00	3 <sup>s</sup> 23° 51' 7".00	3 <sup>s</sup> 23° 20' 32".00
1891	9 28 51 26 61	6 22 34 26 69	8 2 57 56 65
B. 1892	4 0 41 55 64	10 4 21 40 35	0 24 46 47 90
1893	9 21 13 25 25	1 3 5 5 04	5 4 24 12 55
1894	3 11 44 54 86	4 1 48 19 73	0 14 1 42 20
1895	9 2 16 24 47	7 0 31 39 42	2 3 39 6 85
B. 1896	3 4 6 53 50	10 12 18 53 08	6 25 27 58 10
1897	8 24 38 23 11	1 11 2 12 77	11 5 5 22 75
1898	2 15 9 52 72	3 39 45 32 46	3 14 42 47 40
1899	8 5 41 22 33	7 8 28 52 15	7 24 20 12 05
1900	1 26 12 51 94	10 7 12 11 84	0 3 57 36 70
1901	8 16 44 21 55	1 5 55 31 53	4 13 35 1 35
1902	2 7 15 51 16	4 4 38 51 22	8 23 12 46 00
1903	7 27 47 20 77	7 3 22 10 91	1 2 50 10 65
B. 1904	1 29 37 49 80	10 15 9 24 57	5 24 39 1 90
1905	7 20 9 19 41	1 13 52 44 26	10 4 16 26 55
1906	1 10 40 48 44	4 12 36 3 95	2 13 53 51 20
1907	7 1 12 18 05	7 11 19 23 64	6 23 31 15 85
B. 1908	1 3 2 47 08	10 23 6 37 30	11 15 10 7 10
1909	6 23 34 16 69	1 21 49 56 99	3 24 47 31 75
1910	0 14 5 46 30	4 20 33 16 68	8 4 24 56 35

AÑOS	LONGITUD	SUPLEMENTO DEL NODO										V	VI	VII	VIII	IX	X	
		9°14' 6".00																
1890	1° 3' 40" 58".00	8° 27' 37" 4".00	837	837	789	790	753	506										
1891	5 13 4 3 25	9 10 56 45 50	250	249	096	097	832	443										
B. 1892	10 5 37 43 53	10 6 19 37 63	698	700	432	436	948	391										
1893	2 15 0 48 78	10 25 39 19 13	113	113	741	743	107	330										
1894	7 4 23 54 03	11 14 59 0 63	526	526	048	049	028	270										
1895	11 13 46 59 28	0 4 18 42 13	939	938	356	356	187	209										
B. 1896	4 6 20 30 56	0 23 41 34 26	387	389	691	697	303	154										
1897	8 15 43 44 81	1 13 1 15 76	801	802	002	002	383	093										
1898	0 25 6 50 06	2 2 20 57 26	215	215	307	308	463	033										
1899	5 4 29 55 31	2 21 40 38 76	628	627	923	921	542	972										
1900	9 13 53 0 56	3 11 0 20 26	042	039	923	921	622	912										
1901	1 23 15 5 81	4 0 20 1 76	456	452	231	227	702	851										
1902	6 2 39 11 06	4 19 39 43 26	870	865	588	583	782	791										
1903	10 12 2 16 31	5 8 59 24 76	284	277	846	840	861	230										
B. 1904	3 4 35 50 59	5 28 22 10 89	732	728	182	180	977	675										
1905	7 13 59 1 84	6 17 41 58 39	145	141	491	486	090	614										
1906	11 23 22 7 09	7 7 1 39 89	558	554	798	792	137	554										
1907	4 2 45 12 34	7 26 21 21 39	972	966	105	099	216	493										
B. 1908	8 25 18 52 62	8 15 44 13 52	420	416	441	439	332	438										
1909	1 4 41 57 87	9 5 3 55 02	834	830	750	745	412	377										
1910	5 14 5 3 12	9 24 23 36 52	249	243	057	051	492	317										

AÑOS	LONGITUD	SUPLEMENTO DEL NODO										V	VI	VII	VIII	IX	X	
		9°14' 6".00																
1890	1° 3' 40" 58".00	8° 27' 37" 4".00	837	837	789	790	753	506										
1891	5 13 4 3 25	9 10 56 45 50	250	249	096	097	832	443										
B. 1892	10 5 37 43 53	10 6 19 37 63	698	700	432	436	948	391										
1893	2 15 0 48 78	10 25 39 19 13	113	113	741	743	107	330										
1894	7 4 23 54 03	11 14 59 0 63	526	526	048	049	028	270										
1895	11 13 46 59 28	0 4 18 42 13	939	938	356	356	187	209										
B. 1896	4 6 20 30 56	0 23 41 34 26	387	389	691	697	303	154										
1897	8 15 43 44 81	1 13 1 15 76	801	802	002	002	383	093										
1898	0 25 6 50 06	2 2 20 57 26	215	215	307	308	463	033										
1899	5 4 29 55 31	2 21 40 38 76	628	627	923	921	542	972										
1900	9 13 53 0 56	3 11 0 20 26	042	039	923	921	622	912										
1901	1 23 15 5 81	4 0 20 1 76	456	452	231	227	702	851										
1902	6 2 39 11 06	4 19 39 43 26	870	865	588	583	782	791										
1903	10 12 2 16 31	5 8 59 24 76	284	277	846	840	861	230										
B. 1904	3 4 35 50 59	5 28 22 10 89	732	728	182	180	977	675										
1905	7 13 59 1 84	6 17 41 58 39	145	141	491	486	090	614										
1906	11 23 22 7 09	7 7 1 39 89	558	554	798	792	137	554										
1907	4 2 45 12 34	7 26 21 21 39	972	966	105	099	216	493										
B. 1908	8 25 18 52 62	8 15 44 13 52	420	416	441	439	332	438										
1909	1 4 41 57 87	9 5 3 55 02	834	830	750	745	412	377										
1910	5 14 5 3 12	9 24 23 36 52	249	243	057	051	492	317										

# NUEVOS CONCEPTOS ECONOMICOS

JULIO GARAVITO ARMERO

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919

## CAUSA PRINCIPAL DE LA GUERRA DE 1914

El eminente sabio y filósofo francés H. Poincaré se maravillaba de la existencia de las leyes naturales: para un espíritu tan escéptico como el de aquel ilustre profesor, todo, pues, debería ser obra del acaso. Se veía sin embargo, obligado a admitir la realidad de tales leyes; de ahí que escribiese en cierta ocasión: *creerlo todo es simplismo y negarlo todo también lo es.*

Los fenómenos del orden físico, o, por mejor decir, los del orden inorgánico, obedecen a leyes bien definidas: su codificación cuantitativa constituye la ciencia adquirida.

La teoría determinista, en la cual se funda la aplicación de las matemáticas a los fenómenos del orden físico supone que el estado actual de un conjunto aislado depende del estado inmediatamente anterior.

Si se observan tres posiciones de un cometa, será posible calcular su órbita y la ley de su movimiento; se podrá así prever las posiciones aparentes que ha de ocupar sucesivamente entre las estrellas para seguirlo después hasta donde el poder de la visión óptica lo permite.

Dadas la forma y dimensiones de un cuerpo pasado, se podrá calcular la duración de su oscilación alrededor de determinado eje. La experiencia verifica la exactitud de tales previsiones.

Pero basta de ejemplos: la ciencia adquirida sirve de verificación al determinismo, al menos en lo que respecta al orden inorgánico. La teoría determinista, generalizada más allá de tal orden, constituye la hipótesis sobre la cual se funda la posibilidad de las ciencias biológicas. Pero en este caso, la dependencia del estado actual, respecto del estado anterior, no puede ser simple; no es lineal, como diríamos, hablando metafóricamente en lenguaje matemático. Esta dependencia, es, al contrario, muy compleja, lo cual da lugar a multitud de soluciones igualmente posibles, referentes a determinado estado inicial, y de las cuales el estado siguiente sería una de ellas. Las soluciones uniformes se refieren a los fenómenos puramente físicos, en los que el determinismo se confunde con el fatalismo; mientras en lo que respecta al orden biológico, el determinismo no excluye la libertad de elección entre las varias soluciones posibles. Las dificultades suscitadas contra las ciencias biológicas quedan así desvanecidas.

Existen, por otra parte, influencias generales a las cuales está sometida toda la materia: un albañil que pierde el equilibrio sobre un andamio, descaeciendo al suelo como si fuese un cuerpo inerte.

Quienes niegan la posibilidad de una ciencia sociológica fundándose en que no se han enunciado hasta hoy las leyes a las cuales obedecen los acontecimientos sociales, confunden la ignorancia en que está aún la humanidad respecto de tales fenómenos, con la existencia misma de ellos.

Si admitiésemos que los hechos sociales son obra del acaso, nos veríamos al fin en presencia de la ley de los grandes números, y ésta, al menos, sería una ley.

Pero hay más: la sociedad humana no puede escapar a las influencias materiales de que hemos hablado, las cuales por su ordenada orientación tienden a efectuar el desarrollo natural y sano de ese vasto pero incipiente organismo. La influencia del hombre sobre el porvenir de la sociedad humana se pone de manifiesto más por los errores cometidos que por los aciertos: estos últimos ayudan a la tendencia natural y se confunden con las influencias exteriores; mientras que los errores producen perturbaciones profundas, cuyos efectos se asemejan a las enfermedades en los organismos vivos.

En la producción de un hecho cualquiera concurren multitud de antecedentes, los cuales podrían considerarse como causas; pero todos no tienen igual importancia. Entre ellos hay uno que puede ser considerado como el principio productor del efecto, esto es, la energía potencial, cuya transformación en actual produce el fenómeno y determina su intensidad: es a ese antecedente al que llamamos causa principal.

Las causas de las guerras deberían hallarse consignadas en la historia. Desgraciadamente los historiadores no las han podido descubrir y en su lugar han consignado como hechos históricos sus caprichosas opiniones, los pareceres de otros historiadores o los pretextos alegados por los pueblos para lanzarse a la guerra.

La guerra de Troya fue causada, según Homero, por una intriga de amor: el rapto de Helena. Gran número de historiadores han visto la misma causa en todas las guerras. La conquista de España por los moros, según se nos enseña, tuvo por causa los amores del rey Rodrigo con la bella Florinda, hija del Conde don Julián. Otros cronistas atribuyen las guerras a las ambiciones de los monarcas o a odios personales entre los soberanos; otros, en fin, a circunstancias étnicas, políticas y religiosas.

Tales opiniones no resisten la crítica, pues las causas supuestas subsisten de una manera conti-

nua, mientras las guerras no acaecen sino de vez en cuando.

La creencia errónea de que los pueblos están siempre dispuestos a la guerra ha sido la causa del fracaso de gran número de conspiraciones.

Las grandes leyes sociológicas no se pueden desenredar del enorme cúmulo de circunstancias de detalle que se presentan al historiador y al hombre de estado. Al seguir con el microscopio paso a paso, todos los detalles de la superficie de una pintura, analizando cuidadosamente las sustancias colorantes, contando el número de hilos del lienzo por milímetro cuadrado, midiendo con el micrómetro el espesor de colorido, etc., no se sabrá cuál es la imagen que representa el cuadro. Cuanto más minucioso sea el estudio de los detalles, menor será la probabilidad para juzgar acertadamente del conjunto. Para apreciar la pintura es necesario arrojar a un lado el microscopio y colocarse a distancia conveniente, en plena luz.

Solamente considerando los acontecimientos históricos desde un punto de vista general, es cómo se pueden descubrir las causas de mayor influencia en el desarrollo de los pueblos.

El descubrimiento de la manera como se reproducen las plantas y la consecuenal aplicación al cultivo de las tierras, hizo de tribus nómades pueblos fijos o naciones. El descubrimiento del fuego transformó el régimen alimenticio del hombre, lo cual influyó en sus condiciones fisiológicas. Además acarrió el descubrimiento del hierro y de los otros metales y facilitó la utilización de éstos en la fabricación de herramientas y de armas.

¿Habría una causa que explique las guerras? Esta pregunta podrá parecer muy extraña, pues se asemeja a esta otra: ¿todas las enfermedades del cuerpo humano provendrán de una sola causa?

En un organismo tan complejo como el cuerpo humano, el número de influencias desequilibrantes es el conjunto de todas las circunstancias capaces de lesionar todos y cada uno de los órganos; pero en un organismo rudimentario el número de causas nocivas se reduce proporcionalmente a la sencillez de su estructura.

Se cree que la guerra fue el estado natural de la especie humana en la época salvaje. Las tribus nómades vivían del botín; sus correrías se trocaban en excursiones cuando hallaban regiones cultivadas. La guerra ofensiva era útil para aquellas tribus que ignoraban la agricultura. A su vez, la guerra defensiva era indispensable a los pueblos agrícolas, obligados como estaban a defender los cultivos contra la voracidad de las tribus errantes.

Hoy todos los pueblos trabajan y cambian sus productos entre sí; el estado natural y sano de la sociedad moderna debe, pues, corresponder a la paz; salvo el caso de circunstancias que alteren el intercambio de productos o la distribución y consumo de éstos.

El atavismo secular explicaría la tendencia bélica; pero el estallido de la guerra no se puede

concebir sino por motivos al menos igualmente poderosos a los que impulsaban a las tribus salvajes: de otro modo tendríamos que admitir que el hombre moderno había degenerado.

Varias civilizaciones han caducado sucesivamente, como si fuese ley natural aquella que se ha impuesto a la sociedad de no poder avanzar siempre. La desmoralización no es causa sino efecto; como la putrefacción no es la causa de la muerte sino el signo de la desorganización.

El hombre en estado salvaje es más o menos individualista. Una larga serie de circunstancias, que sería imposible expresar sucintamente, ha venido estrechando los vínculos sociales de una manera lenta pero segura. Todos los trastornos que ha sufrido la marcha natural de la sociedad provienen, en síntesis, de lucha entre el egoísmo individualista, resabio atávico del salvaje, y la imperiosa necesidad de la asociación a la cual deben hoy su progreso los seres humanos.

Esta lucha incesante entre el egoísmo y el bien general es la causa de un mal que subsiste desde los más remotos tiempos; pero, que jamás había tenido los caracteres asfixiantes que ha presentado en estos dos últimos siglos a la par del enorme desarrollo industrial y manufacturero.

Ante el amenazante espectro de la miseria la mayoría de las gentes, especialmente en las ciudades más populosas, no tienen, no pueden tener otra mira que la de ganar dinero. Todo lo que no tienda exclusivamente a ese solo y único objeto es pérdida de tiempo. Tal afán no es manifestación de avaricia sino de miedo: es el pánico de la miseria reagrado por la dificultad de escapar de sus tremendas garras. No se estudia por saber, no se viaja por conocer, no se manifiesta amor por cariño, sino por negocio: la vida no tiene otro objeto que el de ganar dinero. El hombre se ha encerrado en un círculo vicioso demasiado estrecho: gana dinero para vivir, pero vive sólo para ganar dinero!

El individuo humano, noble por naturaleza, se hace cada día más egoísta por miedo a la miseria. Toda acción generosa se conceptúa como una temeridad, como un atentado contra la propia conservación, y hoy lo es en realidad. El *Hada Merlinga* sólo existe en los cuentos fantásticos, y al contrario, la hipocresía, la mentira, la astucia y la avaricia se vuelven poco a poco virtudes: al menos, son prácticamente premiadas por el éxito.

Los vínculos de familia se debilitan más y más por el interés; pues se desea la muerte de los parientes ricos. En una palabra, el mundo moderno inspira asco y desprecio.

¿Qué causa ha ocasionado tan lamentable estado?

Desde que se instituyó el libre uso de las máquinas, corolario forzoso de la libertad de industria, ciertos espíritus videntes previeron el perjuicio que sufriría la gran mayoría de la gente por causa del trastorno profundo que se introducía en el ré-

gimen económico-social con semejante permiso. La nebulosidad de las ideas de las gentes respecto de la riqueza y de la moneda y, por tanto, de la causa de la miseria; la infantil creencia de que la sola escasez de productos es la que puede originar el hambre y la desnudez, como si no se necesitase de moneda para comprar la mercadería: todo eso, hacía imposible comprender que la máquina siendo como es un poderoso auxiliar de la producción, agravase la miseria en vez de aliviarla. El vulgo no podía comprender cómo al facilitarse la producción por un lado, se estancaba la circulación de la moneda por otro.

¿Fueron temores infundados los de aquellos seres bondadosos que temieron por la suerte de la gran familia humana? No tal: séanos permitido consignar aquí algunos conceptos que hemos expresado en otros escritos.

La distribución de ocupaciones es hoy muy diferente de lo que era antes de la invención de la máquina de vapor. El obrero a domicilio ha desaparecido completamente en los países industriales, y en su lugar existe el operario de fábrica. Esta transformación radical se verificó en Inglaterra en los años de 1782 a 1788, y en Europa entera, después de la gran revolución francesa y durante las guerras de Napoleón.

Según Beauregard, la clase obrera de Inglaterra experimentó al principio crueles padecimientos que duraron poco, porque después sobrevino una bonanza económica. El representante de la escuela económica ortodoxa (individualista) Leroy Beau- lieu, ha designado esa época de crisis en Inglaterra con el nombre de *estado caótico*.

La corta duración de la crisis en Inglaterra—el gran argumento en favor de la escuela ortodoxa—se explica fácilmente, así como la bonanza económica que le dio fin. La manufactura inglesa, con el auxilio de las máquinas de vapor y de operadores perfeccionados, mejoró de calidad, aumentó en cantidad y disminuyó en precio, haciéndose vencedora en todos los mercados libres sobre la manufactura de los otros países industriales del Continente europeo. El triunfo industrial de Inglaterra fue tan completo que pudieron establecerse nuevas fábricas, las que dieron cabida a muchos trabajadores, y aun el salario aumentó de precio. Inglaterra era la poseedora de la máquina y era, por tanto, la que usufructuaba el beneficio.

¿Pero qué aconteció en Francia, competidora industrial de Inglaterra? ¿Aquella bonanza no refluiría en otras regiones?

He aquí los hechos: “Watt en asocio de Boulton creó en 1774 los talleres de Soho, de donde salieron las poderosas máquinas llamadas de *Cornailles*, de que se proveyó la industria del Reino Unido”. “En 1782, Watt había perfeccionado su máquina y tomaba patente por la invención de la *expansión*” (*Historia de las Matemáticas*, por M. Mary).

La industria inglesa, auxiliada con la máquina de vapor, podía luchar con ventaja en los mercados libres. Inglaterra levantó la bandera del libre cambio y logró hacerla triunfar en el mundo, con lo cual venció completamente a su rival en industria, esto es, a Francia.

La industria francesa debía sufrir una primera derrota en el extranjero, después de 1774, y en efecto: “el déficit que era pequeño en 1776, cuando Turgot era Ministro, se elevó considerablemente en tiempos de Necker y Calonne” (Cantú, *Historia Universal*).

El malestar económico se agravaba más y más: la entrada libre de la manufactura inglesa en el territorio francés debía producir y produjo en realidad, la bancarrota completa de la industria francesa. El tratado Pitt-Necker, que permitió tal medida, se firmó en 1736. “En Lyon, en 1787, treinta mil obreros esperan su subsistencia de la caridad pública” (H. Taine, *Orígenes de la Francia contemporánea*). Lyon era una de las ciudades más manufactureras de Francia.

Después de esa fecha principiaron los motines en todas las ciudades industriales.

En el año de 1788, en marzo o abril, dice Taine: “Por la mañana, en el paseo de *Long-champs*, el populacho, reunido en la puerta de la Estrella, ha insultado de la manera más grosera a las personas que pasaban en carruaje, los miserables se subían a los estribos gritando: ¡El año próximo iréis detrás de vuestras carrozas y nosotros adentro!”

En 1789 la Asamblea Nacional rebajó todos los impuestos y suprimió todos los servicios. La corte de Francia desapareció: París vivía del fausto de esa corte y gran número de proveedores, joyeros, sastres, modistas, peluqueros, floristas, etc., quedaron sin trabajo. Tal fue la causa de los motines y de los asesinatos de París en ese año; tal fue la causa de la toma de la Bastilla. “En 1791 el censo de París arrojaba 650.000 habitantes, de los cuales 113.000 eran mendigos” (H. Taine). Marat escribía en marzo de ese año, en *El Amigo del Pueblo*: “Es necesario matar a los obreros o darles de comer” (Paul Janet). Tal fue la causa que originó no sólo la revolución francesa sino también la guerra continental.

Luis XVI y la Reina, los girondinos, los franciscanos y los jacobinos fueron decapitados vanamente: el hambre continuaba haciendo estragos.

Las campañas de Napoleón sí vinieron a resolver la crisis continental; desde esa época se crearon los ejércitos europeos, halló colocación en ellos gran parte de la masa de gente cuyo trabajo se había hecho inútil a causa de la inmensa producción fabril.

Los enormes ejércitos, el lujoso tren oficial, las obras públicas, etc., han sido instituidos por los gobiernos para aminorar en parte el enorme mal causado en la distribución de las ocupaciones por la inconsulta libertad en el uso de las máquinas.

Hay un funesto error, preocupación universal, de que la miseria proviene de escasez en la producción de la riqueza. A cada instante vemos ejemplos de lo contrario: la abundancia de las harinas americanas produjo la crisis de la industria harinera en Austria; la enorme exportación de café brasileño en 1898-1900 acarrió la crisis del café en Colombia, en esa misma época. Los industriales se arruinan por la escasez de ventas y ésta proviene de la enormidad de la competencia.

La inaudita cantidad de avisos de oferta demuestra de manera palmaria que lo que se produce o pudiera producirse es enorme respecto de lo que se consume.

¿Por qué hay necesitados habiendo sobreproducción? Hé ahí una pregunta que pocos se hacen porque todos tienen la creencia de que hay necesitados porque hay falta de productos y todos claman por un aumento de producción, sin echar de ver que aquellos que carecen de dinero no podrán proveerse jamás de nada, por grande que sea la abundancia de todo.

El proletariado proviene de escasez de ocupaciones lucrativas, esto es, de imperfección de la circulación de la moneda y no de imperfección en la producción de la riqueza.

Bajo el régimen económico individualista (libertad de industria) la vida social no es posible sino con la creación de servicios distintos de la producción de riqueza. Si la tercera parte de la población, por ejemplo, posee todas las fuentes de riqueza, y si lo que produce esa parte es más de lo que pudiere consumir toda la humanidad, ¿qué ocupación lucrativa restaría a las otras dos terceras partes?

Ha sido pues necesario crear servicios distintos de aquellos que tienen por objeto la producción de riqueza, para ocupar el sobrante de gente cuya labor productiva sería inútil, por una parte, e imposible económicamente por otra. Las guerras son efecto natural, o consecuencial, de la superabundancia de gentes desocupadas, esto es, de gentes cuya labor no podría ser remunerada económicamente hablando: para evitar la perturbación, o para mantener el orden, se ha creado un nuevo servicio: el ejército.

El paliativo creado por los gobiernos con el abundante tren oficial, las obras públicas, el ejército, la marina de guerra, etc., ha sido insuficiente ante la enormidad de la masa de gente que ha quedado sin trabajo lucrativo, a causa del perfeccionamiento en la industria y por la heterogénea distribución de las fuentes de riqueza, creada por esa misma perturbación. La vida humana en el siglo y medio que ha transcurrido desde que entró en acción la máquina de vapor, ha sido un lento suplicio para la gran mayoría.

Se han cumplido, pues, los fúnebres augurios de aquellos espíritus bondadosos que vieron un espan-

tosos peligro en la distribución del trabajo, cuando se opusieron al libre uso de las máquinas.

Ha pasado más de un siglo bajo el régimen de la libertad de industria, auxiliada por la máquina. El decantado progreso que debía resultar de tal medida está a la vista de todos. Las máquinas han llegado a un alto grado de perfección, pero ya se empieza a sentir el retroceso; lo propio acontece con las manufacturas; las comunicaciones son instantáneas y universales; los trasportes rápidos y cómodos; los edificios son monumentos; los buques ciudades flotantes.... y ¿qué más? Cómo.... ¿Acaso Baco no ha dado al mercantilismo actual el poder de transformarlo todo en oro, como lo concedió al rey Midas? El amor, la amistad, los honores se cotizan como cualquier mercancía. La balanza de la justicia se inclina hacia el peso del oro. Pero hay algo mejor que todo, y ese algo no se consigue sino con dinero: es el dinero mismo. Sólo con oro se pueden hacer buenos negocios, y qué mejor empleo se puede dar al capital que no sea acrecentarlo más y más? Ninguno.

Quien carezca de capital es hombre perdido; para satisfacer sus más urgentes necesidades tiene que fletarse como si fuera una mula de carga, y a esto se agrega que el trabajo es cada día más escaso a causa de la competencia industrial.

Pero ¿qué es la competencia industrial? Sólo Víctor Hugo sabría describirla, puesto que ha descrito al pulpo. Los horrores del infierno del Dante hacen reír a los que han conocido los padecimientos del proletariado en las ciudades populosas. El combate industrial es silencioso; no hay descanso, no hay auxilio posible, no hay esperanza alguna de salvación; es como nadar en el mar, sólo que no se teme a la muerte sino a la bancarrota, a la miseria en medio de la civilización, es decir, a algo mil veces peor que la muerte. Cada correo trae nuevas decepciones, pues la demanda disminuye y mientras los depósitos se llenan de productos, los periódicos se colman vanamente de avisos. No es posible parar las máquinas y suspender la producción, porque eso sería la completa derrota. Hay necesidad de la reserva para pagar las materias primas y los obreros; pero ésta se agota al fin y entonces se apela al crédito para continuar la producción. La demanda sigue disminuyendo, los depósitos están repletos y no hay en caja lo suficiente para pagar los obreros; entretanto los huelguistas inculpan a los empresarios el ser la causa de la precaria situación de los obreros.

Se presenta en ocasiones un pequeño alivio con el cual se puede retardar algún tiempo el desenlace fatal; el Gobierno resuelve aumentar algunas unidades a la marina de guerra. Se ha hallado al fin un cliente a quien vender tales o cuales artículos de los que entran en la armadura, la coraza, la maquinaria, la arboladura, el mobiliario, etc., con

cuyo producto se puede atender momentáneamente a los gastos. Lo cual no impide que tanto los empresarios como los obreros se lamenten de la ponderosa carga de un gobierno que derrocha tanto dinero en la marina. ¿Cuándo acabarán esos despilfarros? Pero el beneficio ocasionado por las compras oficiales se acaba y la situación vuelve a su estado asfixiante, hasta que sobreviene la bancarrota. La fábrica se cierra, se rematan sus edificios y sus máquinas. Los obreros desocupados buscan vanamente ocupación en otras fábricas colmadas de trabajadores. Algunos se despiden de sus padres ancianos para lanzarse al mundo en busca de un pan que su patria les niega; otros se vuelven mendigos o ladrones. Los empresarios, personas acostumbradas a la vida cómoda, se encuentran al fin en la más completa ruina. Son abandonados por sus amigos, y nadie vuelve a recordar esas estrellas apagadas que se hundieron en el seno de la miseria. Pero los huelguistas continúan sosteniendo que los empresarios absorben el trabajo de los obreros. En respuesta los economistas de la escuela clásica niegan que haya problema social, porque si bien es cierto que los obreros están mal, no lo es menos que los empresarios están peor aún, de lo cual deducen que todo marcha admirablemente y que el desarrollo social es perfecto bajo el régimen de la libertad de industria.

Así ha pasado el siglo y medio del tan decantado progreso industrial. No es pues de extrañar que ante el pánico de la miseria todo lo bueno haya caducado y el crimen por interés se generalice de manera alarmante.

Sismondi fue considerado como un utopista pernicioso, enemigo del progreso, envidioso de los ricos, detentador de la sagrada propiedad, etc. Aún resuena la atronadora algarabía de pueriles argumentos en favor de las máquinas, como si éste atacase las máquinas y no el libre uso de ellas. Aún resuena el eco de la estruendosa serie de insultos contra aquellos que manifestaron el temor de una perturbación profunda en el régimen de la distribución del pan cotidiano. Ninguna idea ha sido más acremente combatida. La Inquisición quemaba herejes pero no los insultaba! El régimen moderno ha sacrificado al género humano como holocausto al dios Mamón y ha insultado calumniosamente a los que osaron oponerse a tan cruel sacrificio en aras del falso ídolo.

Pero la máquina de vapor no fue sino un primer paso; sus efectos no han podido destruir el equilibrio de la sociedad moderna, si bien es cierto que la han minado de manera profunda. Hay más, la electricidad ha permitido a la industria utilizar toda la energía hidráulica, la que es completamente gratuita.

La lucha de la manufactura servida por vapor contra la servida por agua no es posible, y nos hallamos hoy ante un cataclismo mucho más intenso que el de hace siglo y cuarto. Inglaterra tenía

que empezar a sufrir lo que en otro tiempo sufrió Francia. La bancarrota de muchas fábricas era inminente; la emigración crecía hasta llegar a seiscientos mil ingleses por año, y a pesar de esto las huelgas tomaban proporciones gigantescas.

Pero no era la industria inglesa la sola que estaba asfixiada; era toda la industria europea inclusive la alemana.

La perspectiva de la guerra social era inminente y en espera de esta catástrofe escribimos en *La Revista Nueva* de 1909:

“La verdadera causa del mal es el atraso de la institución gubernamental. La perturbación producida por la atrofia del poder civil no es un simple trastorno pasajero, sino una dolencia patológica, una verdadera enfermedad social, una obstrucción, un estancamiento, una asfixia que requiere eficaz remedio si se aspira a que el progreso moderno alcance a su completo desarrollo”.

La Economía Política clásica no es todavía una ciencia adquirida, se ha conservado hasta ahora en los primeros términos de esa serie cuya suma representa el haber positivo del ramo, y en todos los ramos de observación los primeros términos han sido siempre negativos.

¿Por qué no ha avanzado la Economía Política? La persistencia de ese *statu quo* depende sin duda, de ciertas masas ocultas de que habla el Profesor Emilio Picard en su opúsculo “La Ciencia moderna y su estado actual”.

Los actuarios tropiezan en sus cálculos con una grave dificultad: es la de aceptar una convención impuesta por los hábitos de una sociedad asfixiada por la carencia de un signo de cambio del cual se pueda disponer fácilmente para el desarrollo de la producción. Los economistas ortodoxos tan hábiles para ofuscar los entendimientos no han podido, sin embargo, hallar ninguna razón justificativa de un abuso debido claramente a la ineficacia del ramo oficial de la hacienda pública.

Las consideraciones anteriores nos han llevado aparentemente muy lejos del tema de que nos hemos querido ocupar. Tratábamos de inquirir la causa principal de la actual guerra europea.

No hay duda de que la Europa periférica preparó y llevó a cabo la actual conflagración contra la Europa central, mediante laboriosas gestiones diplomáticas. No hay tampoco la menor duda de que Alemania y Austria aceptaron de muy buena voluntad el reto sin lo cual no se hubiera podido llevar a cabo la guerra. El rápido avance de Alemania no prueba que dicha nación fuera la provocadora del conflicto sino que estaba preparada para ello y se propuso conseguir que el campo de batalla estuviese fuera de sus fronteras. Sea de ello lo que fuere, no se trata aquí de inculpar a tal o cual nación el haber sido causa del conflicto, sino de consignar los hechos tal y conforme a la verdad. Cuál haya sido la iniciadora del trastorno

no importa al caso, puesto que todos los países beligerantes han entrado a la guerra voluntariamente.

El hecho principal que debemos consignar aquí es el de que los pueblos no tenían conocimiento alguno de la conflagración antes de que estallase. La sola voluntad de un puñado de hombres—los gobernantes de los países beligerantes—decidió la catástrofe.

Si la paz es el bien supremo de los pueblos y la guerra un espantoso desastre ¿cómo ha podido suceder que el capricho de un puñado de hombres haya podido aniquilar el bienestar de centenares de millones?

Los gobiernos no tienen un poder ilimitado; el más insignificante desacierto ante la opinión general, basta para desprestigiarlos. ¿Cómo no vacilaron ante la declaratoria de guerra? ¿Por qué motivo estaban seguros de que los pueblos los secundarían en esa temeraria empresa? ¿Cómo explicar que las gentes se hayan sometido de buen grado a tan funesta medida? ¿Por qué singular capricho cerca de trescientos millones de seres humanos han sacrificado su bienestar, sus negocios, sus esperanzas ante el grito de guerra?

Y los gobernantes, personas sensatas e instruidas ¿cómo no vacilaron ante la perspectiva de una posible derrota en tan peligroso y criminal juego? ¿Será admisible que la morbosa ambición de un príncipe haya sido la causa del cataclismo? Jamás!

Las gentes irreflexivas, acostumbradas a creer en las pueriles explicaciones de los cronistas, atribuirán la guerra a la ambición del Emperador de Alemania, quien se proponía la conquista del globo entero; pero esta explicación ante la enorme cantidad de intereses opuestos vale tanto como la que se ha dado respecto de la conquista de España por los moros.

Alemania es la nación mejor constituida económicamente, pues había logrado restringir la emigración de una manera sorprendente, según lo rezan las más modernas estadísticas, y para conseguirlo atendía eficazmente de manera fastuosa, como a lo Luis XIV, todos los ramos de la administración pública.

La atención que prestaba al ensanche del ejército y la marina obedecía en primer término a la creación de consumidores que diesen vida a la enorme producción industrial, con el pretexto, hoy justificado, de la defensa nacional; pero de seguro nunca con la mira criminal de conquistar al mundo por la fuerza de las armas.

La causa de la guerra no puede hallarse en sutilezas. Ciertamente una explosión la causa una chispa, pero la violencia del efecto estaba latente en el explosivo.

La guerra no hubiera estallado si hubieran sido mejores las condiciones de la gran mayoría de las

gentes. De otro modo tendríamos que confesar que el hombre habría degenerado moral e intelectualmente.

El proletariado forma el 99 por 100 de la población en las llamadas naciones civilizadas. La vida del proletario es la de un condenado: la mula y el ratón están en mejores condiciones. Millones de emigrados salían anualmente de Europa en busca del pan cotidiano que les negaba su tierra natal; sólo así la presión que sufría la clase obrera por la competencia de la máquina no sobrepasaba del límite de la estabilidad social; pero hé aquí que entra en juego la fuerza hidráulica transmitida a distancia y sin pérdida sensible a causa de los transformadores mediante los cuales se pueden emplear los altos voltajes en la línea. ¿Cuál iría a ser la suerte del mundo industrial ante la nueva presión? Los motines de la Francia en los años de 1789 a 1793 no serían sino insignificantes trastornos. La tempestad rugía; el radicalismo en Francia quería como antaño, salvar al capitalismo huyendo al pueblo contra la sotana: nadie hacía caso de ello. En Inglaterra, a la ruina de la fábrica A seguía la de la empresa B y luego la C; la emigración aumentaba de manera alarmante, y a pesar de esto los desocupados se multiplicaban y las huelgas tomaban proporciones gigantescas; hasta las mujeres amenazaban perturbar el orden público. El malestar tomó por fin allí un pretexto — la autonomía de Irlanda — y se preparaban para la guerra civil. Todo auguraba la presencia de una tremenda tempestad social. Felizmente los gobiernos se afanaron por descargar la tormenta en una forma menos funesta.

La tremenda guerra social de la cual saldría o la redención del género humano o la caducidad de la actual civilización ha sido aplazada: la guerra internacional, remedio eficaz contra la revolución social, estalló primero. El espantoso cataclismo que hubiera causado la fiera humana hambrienta y andrajosa, enfurecida por la miseria y la desesperación, se trocó en una guerra de trincheras, organizada militarmente, con soldados bien equipados y provistos de alimento y abrigo.

Europa llama hoy a todos sus hijos esparcidos por el mundo; más aún, recibe contingente humano de Asia, de Africa y de América y hay alimento y vestido para todos, lo que no acontecía en tiempo de paz!

La actividad que antes se consumía en la fabricación de artefactos destinados al regalo del hombre, combatida incesantemente por una competencia asfixiante, ha cambiado de oficio y se ha dedicado a fabricar armas, proyectiles y explosivos; objetos que compran y pagan los gobiernos, con el beneplácito de los pueblos. La bestia humana guiada por sus feroces instintos paga con mucho gusto los enormes impuestos de guerra y no reprocha que se derrochen millares de millones, siempre que sea para sembrar la muerte y la desolación.

Hay una sabia enseñanza después de todo: en Europa entera, pero diremos mejor en Alemania, para evitar contrarreplicas ridículas, por estar bloqueada de una manera completa, los hombres de quince a sesenta años están todos dedicados a la guerra y además gran número de mujeres. La gran producción de la riqueza, que consume hoy toda la Alemania, está en manos de los niños, de los ancianos y de parte de las mujeres; y a nadie falta lo necesario para la vida. Si no hubiera acaecido la guerra, todos los hombres más vigorosos y todas las mujeres estarían, como lo estaban antes, dedicados a incesantes ocupaciones fabriles, y, sin embargo, no habría pan para todos.

Hoy no trabajan sino las máquinas de guerra, pero éstas producen menos daño al hombre. Sin embargo, los insultos contra aquellos espíritus

bondadosos que se opusieron al libre uso de las máquinas, continuarán como antes. Todos seguirán deseando la paz para el desarme de los ejércitos, porque en la paz los ejércitos están de sobra y es necesario ahorrar el salario de los soldados.

Esto sería un grave error, pues la anhelada paz no podría llegar de esa manera, y en su lugar estallaría la temida guerra social; la cual derribaría, es cierto, el altar que el hombre ha elevado al dios dinero; pero la humanidad quedaría sepultada bajo aquellas ruinas.

“Dad y se os dará”. Dad para la paz lo que dais con gusto para la guerra y así, desdeñando las riquezas “hallaréis el reino de Dios y su justicia y todas las cosas se os darán por añadidura”.

Desgraciadamente el reino de Dios no es de este mundo.

Bogotá, julio de 1916.

---

## EVOLUCION DE LA DISTRIBUCION DE LA RIQUEZA

El ramo de las finanzas tiene por objeto establecer los principios que deben servir de guía a la política financiera en la organización de los impuestos y en la recaudación de los fondos destinados al Tesoro público.

El fundamento del impuesto ha seguido una evolución paralela a la del concepto que la humanidad ha tenido respecto del fin u objeto del Estado.

En los tiempos medioevales se consideraba al soberano como el propietario genuino del Estado. El impuesto se pagaba al rey con la misma aquiescencia con que el inquilino paga el arriendo al propietario.

El contrato social de Rouseau y la teoría kantiana del Estado como institución destinada únicamente a la actuación del derecho en la vida social, creó la escuela individualista, en la cual se considera el impuesto como el pago que se hace al Estado en proporción al servicio que esa entidad presta al individuo. Esta teoría que está hoy desprestigiada, domina, no obstante, todavía en la práctica, pues sobre ella se basan los presupuestos de rentas y gastos de casi todos los estados del globo.

La idea orgánica del Estado como fenómeno espontáneo de la vida social perfectible y representada en una colectividad consciente y activa, toma base científica en la Filosofía moderna, y tiende a repercutir en las instituciones y en la vida política de los países. El individuo y el Estado no son ya dos entidades contratantes; el individuo es una célula del organismo social cuya vida y desarrollo depende de la del sér entero.

Este concepto constituye un gran avance en la escuela financística moderna. Sin embargo, el criterio investigativo no avanza y continúa todavía, como antes, constituido por disertaciones *a priori*, fundadas en las ideas prohijadas por la Economía

Política ortodoxa. El estudio de las finanzas no ha utilizado todavía la Estadística.

Todos los ramos de observación han tenido que sufrir una gestación lenta para depurarse de la multitud de conceptos pueriles y consiguientemente erróneos, con que nacen impregnados. Las primeras ideas astronómicas eran completamente erróneas como que eran debidas al juicio espontáneo de las gentes. Por mucho tiempo los viajeros buscaron el borde del mundo. La idea de la redondez de la tierra y su aislamiento en el espacio necesitó una lenta evolución del cerebro humano. A Galileo le argumentaban la imposibilidad del movimiento de la tierra en atención a que después de doce horas todos estarían con la cabeza hacia abajo y se caerían.

La Física perduró miles de años en lo que pudiéramos llamar el período aristotélico, esto es, en el período de las disertaciones *a priori*, fundadas sobre los conceptos espontáneos de las gentes. Es en este período en el que se halla todavía la Ciencia de las finanzas.

No se puede negar que hay en ese ramo análisis muy profundos en los que juega papel importante la ciencia del actuario, como es todo aquello que se refiere al catastro, al avalúo y a las nociones sobre incidencia, repercusión y difusión del impuesto.

El desideratum del ramo de las finanzas estriba en determinar lo que llaman la capacidad contributiva de los individuos y de las empresas como dependiente de su capacidad productiva; y en vez de estudiar lo que enseña la experiencia respecto de las causas que hacen variar esta última capacidad, se entregan los autores a disertaciones interminables sobre si el impuesto debe gravar el producto neto, la renta neta o la libre, y si debe ser proporcional, progresivo o regresivo.

Hay una sabia enseñanza después de todo: en Europa entera, pero diremos mejor en Alemania, para evitar contrarreplicas ridículas, por estar bloqueada de una manera completa, los hombres de quince a sesenta años están todos dedicados a la guerra y además gran número de mujeres. La gran producción de la riqueza, que consume hoy toda la Alemania, está en manos de los niños, de los ancianos y de parte de las mujeres; y a nadie falta lo necesario para la vida. Si no hubiera acaecido la guerra, todos los hombres más vigorosos y todas las mujeres estarían, como lo estaban antes, dedicados a incesantes ocupaciones fabriles, y, sin embargo, no habría pan para todos.

Hoy no trabajan sino las máquinas de guerra, pero éstas producen menos daño al hombre. Sin embargo, los insultos contra aquellos espíritus

bondadosos que se opusieron al libre uso de las máquinas, continuarán como antes. Todos seguirán deseando la paz para el desarme de los ejércitos, porque en la paz los ejércitos están de sobra y es necesario ahorrar el salario de los soldados.

Esto sería un grave error, pues la anhelada paz no podría llegar de esa manera, y en su lugar estaría la temida guerra social; la cual derribaría, es cierto, el altar que el hombre ha elevado al dios dinero; pero la humanidad quedaría sepultada bajo aquellas ruinas.

“Dad y se os dará”. Dad para la paz lo que daís con gusto para la guerra y así, desdeñando las riquezas “hallaréis el reino de Dios y su justicia y todas las cosas se os darán por añadidura”.

Desgraciadamente el reino de Dios no es de este mundo.

Bogotá, julio de 1916.

---

## EVOLUCION DE LA DISTRIBUCION DE LA RIQUEZA

El ramo de las finanzas tiene por objeto establecer los principios que deben servir de guía a la política financiera en la organización de los impuestos y en la recaudación de los fondos destinados al Tesoro público.

El fundamento del impuesto ha seguido una evolución paralela a la del concepto que la humanidad ha tenido respecto del fin u objeto del Estado.

En los tiempos medioevales se consideraba al soberano como el propietario genuino del Estado. El impuesto se pagaba al rey con la misma aquiescencia con que el inquilino paga el arriendo al propietario.

El contrato social de Rouseau y la teoría kantiana del Estado como institución destinada únicamente a la actuación del derecho en la vida social, creó la escuela individualista, en la cual se considera el impuesto como el pago que se hace al Estado en proporción al servicio que esa entidad presta al individuo. Esta teoría que está hoy desprestigiada, domina, no obstante, todavía en la práctica, pues sobre ella se basan los presupuestos de rentas y gastos de casi todos los estados del globo.

La idea orgánica del Estado como fenómeno espontáneo de la vida social perfectible y representada en una colectividad consciente y activa, toma base científica en la Filosofía moderna, y tiende a repercutir en las instituciones y en la vida política de los países. El individuo y el Estado no son ya dos entidades contratantes; el individuo es una célula del organismo social cuya vida y desarrollo depende de la del sér entero.

Este concepto constituye un gran avance en la escuela financística moderna. Sin embargo, el criterio investigativo no avanza y continúa todavía, como antes, constituido por disertaciones *a priori*, fundadas en las ideas prohijadas por la Economía

Política ortodoxa. El estudio de las finanzas no ha utilizado todavía la Estadística.

Todos los ramos de observación han tenido que sufrir una gestación lenta para depurarse de la multitud de conceptos pueriles y consiguientemente erróneos, con que nacieron impregnados. Las primeras ideas astronómicas eran completamente erróneas como que eran debidas al juicio espontáneo de las gentes. Por mucho tiempo los viajeros buscaron el borde del mundo. La idea de la redondez de la tierra y su aislamiento en el espacio necesitó una lenta evolución del cerebro humano. A Galileo le argumentaban la imposibilidad del movimiento de la tierra en atención a que después de doce horas todos estarían con la cabeza hacia abajo y se caerían.

La Física perduró miles de años en lo que pudiéramos llamar el período aristotélico, esto es, en el período de las disertaciones *a priori*, fundadas sobre los conceptos espontáneos de las gentes. Es en este período en el que se halla todavía la Ciencia de las finanzas.

No se puede negar que hay en ese ramo análisis muy profundos en los que juega papel importante la ciencia del actuario, como es todo aquello que se refiere al catastro, al avalúo y a las nociones sobre incidencia, repercusión y difusión del impuesto.

El desideratum del ramo de las finanzas estriba en determinar lo que llaman la capacidad contributiva de los individuos y de las empresas como dependiente de su capacidad productiva; y en vez de estudiar lo que enseña la experiencia respecto de las causas que hacen variar esta última capacidad, se entregan los autores a disertaciones interminables sobre si el impuesto debe gravar el producto neto, la renta neta o la libre, y si debe ser proporcional, progresivo o regresivo.

## FORMULAS DEFINITIVAS PARA EL CALCULO DEL MOVIMIENTO DE LA LUNA POR EL METODO HILL-BROWN, Y CON LA NOTACION USADA POR HENRI POINCARÉ EN EL TOMO III DE SU CURSO DE MECANICA CELESTE

**JULIO GARAVITO ARMERO**

Director del Observatorio Astronómico Nacional, de 1893 a 1919

### 1—ECUACION VECTORIAL

Representemos por  $T$ ,  $L$  y  $S$  respectivamente los vectores:  $\Omega T$ ,  $\Omega L$  y  $\Omega S$  que definen las posiciones absolutas de la tierra, la luna y el sol con relación a un sistema de coordenadas fijo en el espacio:  $\Omega \xi \eta \zeta$  (fig. 1); por  $m_0$ ,  $m_1$  y  $M$  las masas de la tierra, la luna y el sol, y por  $f$  la atracción de la unidad de masa sobre la unidad de distancia.

Las ecuaciones de movimiento de la luna y de la tierra, después de divididas por las respectivas masas son:

$$\frac{d^2L}{dt^2} = \frac{fm_0}{r^3} [T - L] + \frac{fM}{R^3} [S - L] \quad (I)_a$$

$$\frac{d^2T}{dt^2} = \frac{fm_1}{r^3} [L - T] + \frac{fM}{R^3} [S - T] \quad (I)_b$$

Restando la primera ecuación de la segunda, se halla:

$$\frac{d^2(L - T)}{dt^2} = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} [L - T] + \frac{fM}{R^3} [S - L] - \frac{fM}{R^3} [S - T] \quad (I)$$

Tal es la ecuación vectorial que representa el movimiento relativo de la luna con relación a la tierra.

\* \* \*

### 2—ECUACIONES DE MOVIMIENTO DE LA LUNA CON RELACION A EJES GIRATORIOS

Tomemos (fig. 2.) un sistema coordenado con origen en la tierra, por plano  $x$   $T$   $y$  el plano de la eclíptica y por eje  $Tx$  la línea que va de la tierra al sol. Llamemos  $u$ ,  $v$  y  $w$  los versores de los ejes  $Tx$ ,  $Ty$ ,  $Tz$  respectivamente. Si representamos por  $\theta$  la longitud del sol  $\sphericalangle T S$  tenemos:

$$u = e^{\theta i} \quad v = e^{\left(\theta + \frac{\pi}{2}\right) i} \quad w = \text{Const.}$$

Además, representando por  $x$ ,  $y$ ,  $z$  las coordenadas cartesianas de la luna, tendremos:

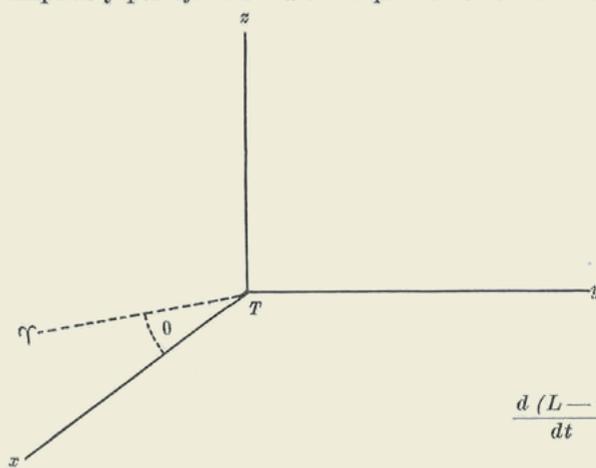
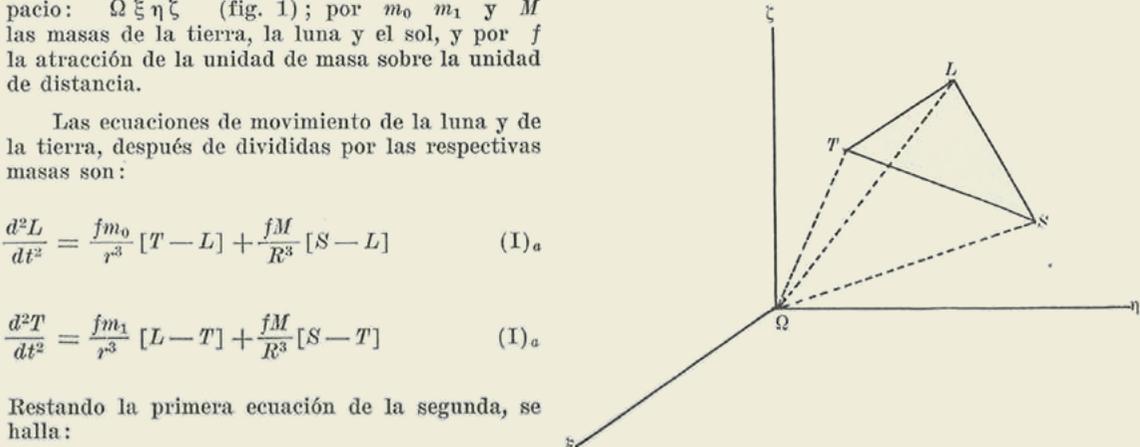
$$L - T = ux + vy + wz. \quad (a)$$

Derivando dos veces sucesivas a  $(L - T)$  con relación a  $t$  tendremos:

$$\frac{d(L - T)}{dt} = u \frac{dx}{dt} + v \frac{dy}{dt} + w \frac{dz}{dt} + x \frac{du}{dt} + y \frac{dv}{dt} \quad (a)^I$$

$$\frac{d^2(L - T)}{dt^2} = u \frac{d^2x}{dt^2} + v \frac{d^2y}{dt^2} + w \frac{d^2z}{dt^2} + 2 \frac{du}{dt} \frac{dx}{dt} + 2 \frac{dv}{dt} \frac{dy}{dt} + x \frac{d^2u}{dt^2} + y \frac{d^2v}{dt^2} \quad (a)^{II}$$

Puesto que  $w = \text{constante}$  y  $\frac{dw}{dt} = 0$   $\frac{d^2w}{dt^2} = 0$ .



Ahora bien, puesto que  $u = e^{\theta i}$  y  $v = e^{(\theta + \frac{\pi}{2})i}$  tendremos:

$$\frac{du}{dt} = i e^{\theta i} \frac{d\theta}{dt} = e^{(\theta + \frac{\pi}{2})i} \frac{d\theta}{dt} = v \frac{d\theta}{dt} \quad \therefore \quad \frac{dv}{dt} = i e^{(\theta + \frac{\pi}{2})i} \frac{d\theta}{dt} = e^{(\theta + \pi)i} \frac{d\theta}{dt} = -e^{\theta i} \frac{d\theta}{dt} = -u \frac{d\theta}{dt}$$

Así:  $\frac{du}{dt} = v \frac{d\theta}{dt} \quad \therefore \quad \frac{dv}{dt} = -u \frac{d\theta}{dt} \quad \therefore \quad \frac{d^2u}{dt^2} = \frac{dv}{dt} \cdot \frac{d\theta}{dt} + v \frac{d^2\theta}{dt^2} = -u \left(\frac{d\theta}{dt}\right)^2 + v \frac{d^2\theta}{dt^2}$

$$\frac{d^2v}{dt^2} = -\frac{du}{dt} \cdot \frac{d\theta}{dt} - u \frac{d^2\theta}{dt^2} = -v \left(\frac{d\theta}{dt}\right)^2 - u \frac{d^2\theta}{dt^2}.$$

Pongamos para simplificar  $n_2 = \frac{d\theta}{dt}$   $n'_2 = \frac{d^2\theta}{dt^2}$ .

Así tendremos:  $\frac{du}{dt} = n_2 v \quad \therefore \quad \frac{dv}{dt} = -n_2 u \quad \therefore \quad \frac{d^2u}{dt^2} = -n_2^2 u + n'_2 v \quad \therefore \quad \frac{d^2v}{dt^2} = -n_2^2 v - n'_2 u.$

Así se tendrá para la ecuación vectorial de la posición de la luna:

$$\frac{d^2(L-T)}{dt^2} = u \frac{d^2x}{dt^2} + v \frac{d^2y}{dt^2} + w \frac{d^2z}{dt^2} + 2v n_2 \frac{dx}{dt} - 2u n_2 \frac{dy}{dt} + x (n'_2 v - n_2^2 u) - y (n_2^2 v + n'_2 u) \quad (a)_{III}$$

O bien:

$$\frac{d^2(L-T)}{dt^2} = u \left[ \frac{d^2x}{dt^2} - 2n_2 \frac{dy}{dt} - n_2^2 x - n'_2 y \right] + v \left[ \frac{d^2y}{dt^2} + 2n_2 \frac{dx}{dt} + n'_2 x - n_2^2 y \right] + w \frac{d^2z}{dt^2} \quad (a)_{IV}$$

Además se tiene para las cantidades que figuran en el 2º miembro de (I):

$$-\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} (ux + vy + wz) + \frac{fM}{R^3} (Ru - vx - wy - w^2) - \frac{fM}{R^3} (Ru) =$$

$$= u \left[ -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} x + fM \left( \frac{R-x}{R^3} - \frac{1}{R^2} \right) \right] + v \left[ -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} y - \frac{fM}{R^3} y \right] + w \left[ -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} z - \frac{fM}{R^3} z \right]$$

Sustituyendo en (I) e igualando los coeficientes de los mismos versores se tendrán las ecuaciones buscadas, así:

$$\begin{cases} \frac{d^2x}{dt^2} - 2n_2 \frac{dy}{dt} - n_2^2 x - n'_2 y = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} x + fM \left[ \frac{R-x}{R^3} - \frac{1}{R^2} \right] \\ \frac{d^2y}{dt^2} + 2n_2 \frac{dx}{dt} - n_2^2 y + n'_2 x = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} y - fM \frac{y}{R^3} \\ \frac{d^2z}{dt^2} = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} z - fM \frac{z}{R^3} \end{cases} \quad (II)$$

\* \* \*

### 3-SIMPLIFICACION DE LAS ECUACIONES (II)

La distancia de la luna a la tierra es cerca de la cuatrocava parte de la distancia de la tierra al sol, y así resulta que  $R-x$  difiere en una cantidad de 2º orden de  $R'$ . El último término del segundo miembro de la primera ecuación se reduce a

$$fM \left( \frac{1}{R^2} - \frac{1}{R'^2} \right) = \frac{fM}{R^2 R'^2} (R^2 - R'^2) = \frac{fM}{R^2 R'^2} [R^2 - (R^2 - 2Rr \cos D + r^2)] = \frac{fM}{R^2 R'^2} (2Rr \cos D - r^2) =$$

$$\frac{fM}{R R'^2} \left[ 2x - r \frac{r}{R} \right]$$

Las ecuaciones (II) se reducen, pues, a las siguientes, sin haber perdido nada de su exactitud:

$$\begin{cases} \frac{d^2x}{dt^2} - 2n_2 \frac{dy}{dt} - n_2^2 x - n'_2 y = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} x + \frac{fM}{R R'^2} \left[ 2x - r \frac{r}{R} \right] \\ \frac{d^2y}{dt^2} + 2n_2 \frac{dx}{dt} - n_2^2 y + n'_2 x = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} y - \frac{fM}{R^3} y \\ \frac{d^2z}{dt^2} = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} z - \frac{fM}{R^3} z. \end{cases} \quad (II)'$$

4 - ECUACIONES DE HILL

Si se desprecian la paralaje solar, la excentricidad de la órbita terrestre y la inclinación de la órbita lunar se hará en (II)'.  
 $R = R'$   $n'_2 = 0$   $n_2 = \text{constante}$ , y, en fin:  $z = z' = z'' = 0$ . Entonces tendremos dos ecuaciones en lugar de tres, a saber:

$$\frac{d^2x}{dt^2} - 2n_2 \frac{dy}{dt} - 3n_2^2 x = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} x \quad \therefore \quad \frac{d^2y}{dt^2} + 2n_2 \frac{dx}{dt} = -\frac{f(m_0 + m_1)}{r^3} y. \tag{III}$$

Puesto que  $\frac{fM}{R^3} = n_2^2$  ya que la órbita terrestre se haría circular.

Tales son las llamadas ecuaciones de Hill.

Llamemos  $r$  y  $\theta$  el radio vector de la luna y su longitud con relación a un equinocio fijo. Llamemos  $n_1$  el valor medio de  $\frac{d\theta}{dt}$  y pongamos para nueva variable  $\tau = (n_1 - n_2)t$ . Si pues, llamamos  $p = f(t)$  a una función de  $t$ , tendremos, derivando con relación a  $\tau$  y llamando  $p'$  y  $p''$  a las derivadas con relación a  $\tau$ :  $p' = \frac{dp}{dt} \cdot \frac{dt}{d\tau} = \frac{1}{n_1 - n_2} \frac{dp}{dt} \therefore p'' = \frac{1}{(n_1 - n_2)^2} \frac{d^2p}{dt^2}$ . Dividiendo, pues, las ecuaciones de Hill por  $(n_1 - n_2)^2$  y representando por  $x'$   $x''$  e  $y'$   $y''$  las derivadas primeras y segundas de las coordenadas con relación a  $\tau$  tendremos:

$$x'' - \frac{2n_2}{n_1 - n_2} y' - \frac{3n_2^2}{(n_1 - n_2)^2} x = -\frac{f(m_0 + m_1)}{(n_1 - n_2)^2} \cdot \frac{x}{r^3} \quad \therefore \quad y'' + \frac{2n_2}{n_1 - n_2} x' = -\frac{f(m_0 + m_1)}{(n_1 - n_2)^2} \cdot \frac{y}{r^3}$$

Pongamos para simplificar:  $m = \frac{n_2}{n_1 - n_2}$   $\mu = \frac{f(m_0 + m_1)}{(n_1 - n_2)^2}$  (A).

Así tendremos:  $x'' - 2my' - 3m^2x + \frac{\mu}{r^3} x = 0$   $y'' + 2mx' + \frac{\mu}{r^3} y = 0$  (III)

Si multiplicamos la primera por  $dx = x'd\tau$  y la segunda por  $dy = y'd\tau$  y las sumamos, se tendrá, después de integrar:  $\frac{1}{2}(x'^2 + y'^2) - \frac{3}{2}m^2x^2 - \frac{\mu}{r} = C$ . Que es la integral de Jacobi.

\* \* \*

5 - ECUACIONES DE POINCARÉ

En lugar de considerar el sistema (III) o (III)' consideremos un sistema más general, de acuerdo con Poincaré, a saber:

$$x'' - 2py' - \frac{3}{2}p^2x - \frac{3}{2}m^2x + \frac{\mu x}{r^3} = 0 \quad y'' + 2px' - \frac{3}{2}p^2y + \frac{3}{2}m^2y + \frac{\mu y}{r^3} = 0 \tag{IV}$$

$$\frac{1}{2}(x'^2 + y'^2) - \frac{3}{4}p^2(x^2 + y^2) - \frac{3}{4}m^2(x^2 - y^2) - \frac{\mu}{r} = C.$$

Estas ecuaciones se reducen a las de Hill cuando se hace  $p = m$ . Siendo la última la que corresponde a la integral de Jacobi.

Multipliquemos primeramente la primera ecuación por  $x$ , la segunda por  $y$  y la tercera por uno y sumémoslas. Luégo multipliquemos la primera por  $y$  la segunda por  $(-x)$  y la tercera por cero y sumémoslas también. Tendremos:

$$xx'' + yy'' + 2p(yx' - xy') + \frac{1}{2}(x'^2 + y'^2) - \frac{3}{4}p^2(x^2 + y^2) - \frac{3}{4}m^2(x^2 - y^2) = C. \tag{IV}$$

$$yx'' - xy'' - 2p(x'x + y'y) - 3m^2xy = 0.$$

Hagamos el siguiente cambio de variables:  $u = x + yi$   $s = x - yi$ . Así tendremos:

$$2x = u + s \quad 2iy = u - s \quad 2x' = u' + s' \quad 2iy' = u' - s' \quad 2x'' = u'' + s'' \quad 2iy'' = u'' - s''.$$

De donde se deduce:

$$4x^2 = u^2 + s^2 + 2us \quad 4xx' = uu' + ss' + us' + su'$$

$$4xx'' = uu'' + ss'' + us'' + su'' \quad 4x'^2 = u'^2 + s'^2 + 2u's' \quad 4y^2 = 2us - u^2 - s^2$$

$$4yy' = us' + su' - uu' - ss' \quad 4yy'' = us'' + su'' - uu'' - ss''.$$

$$4y'^2 = 2u's' - u'^2 - s'^2 \quad 4xy' = i(us' + ss' - uu' - su')$$

$$4xy'' = i(us'' + ss'' - uu'' - su'') \quad 4yx' = i(su' + ss' - uu' - us')$$

$$4yx'' = i(su'' + ss'' - uu'' - us'')$$

Multiplicando las ecuaciones (IV)<sup>I</sup> por 4 se tendrá:

$$4xx'' + 4yy'' + 2p(4yx' - 4xy') + \frac{1}{2}(4x'^2 + 4y'^2) - \frac{9}{4}p^2(4x^2 - 4y^2) - \frac{9}{4}m^2(4x^2 - 4y^2) = C. \quad (IV)^{II}$$

$$4yx'' - 4xy'' - 2p(4x'x'' + 4y'y'') - 3m^2(4xy) = 0.$$

Substituyendo en éstos los valores hallados obtendremos:

$$uu'' + ss'' + us'' + su'' + us'' + su'' - uu'' - ss'' + 2pi(su' + ss' - uu' - us' + uu' + su' - ss' - us') + \frac{1}{2}(u'^2 + s'^2 + 2u's' + 2u's' - u'^2 - s'^2) - \frac{9}{4}p^2(u^2 + s^2 + 2us - u^2 - s^2 + 2us) - \frac{9}{4}m^2(u^2 + s^2 + 2us + u^2 + s^2 - 2us) = 4 C.$$

$$i(su'' + ss'' - uu'' - us'' + uu'' + su'' - ss'' - us'') + 2pi^2(uu' + ss' + us' + su' + us' + su' - uu' - ss') - 3m^2i(us + s^2 - u^2 - su) = 0.$$

Reduciendo se halla:

$$2(us'' + su'') + 2pi[2(su' - us')] + \frac{4u's'}{2} - \frac{9}{4}p^2 \cdot 4us - \frac{9}{4}m^2[2(u^2 + s^2)] = 4 C. \quad (IV)^{III}$$

$$i[2su'' - 2us'' + 2pi(2us' + 2su') - 3m^2(s^2 - u^2)] = 0.$$

O bien:

$$us'' + su'' + 2pi(su' - us') + u's' - \frac{9}{2}p^2us - \frac{9}{4}m^2(u^2 + s^2) = 2 C. \quad (IV)^{IV}$$

$$su'' - us'' + 2pi(us' + su') - \frac{3}{2}m^2(s^2 - u^2) = 0.$$

Restando de la primera la segunda y luego sumándolas, se hallará, después de dividir por 2:

$$us'' - 2pi us' + \frac{u's'}{2} - \frac{9}{4}p^2 us = \frac{m^2}{8}(15u^2 + 3s^2) + C. \quad (V)$$

$$su'' + 2pi su' + \frac{u's'}{2} - \frac{9}{4}p^2 us = \frac{m^2}{8}(15s^2 + 3u^2) + C.$$

\* \* \*

Después de desarrollada la solución de las ecuaciones (V) según las potencias crecientes de  $m^2$  se hará  $p = m$  para que las ecuaciones (V) se hagan idénticas a las de Hill.

Emplearemos la notación de H. Poincaré (Mecanique céleste—Tom. III. Nos. 327. etc.). Las ecuaciones en cuestión admiten una solución periódica, que no es la solución general, pero la que contiene los términos del grado cero, y con ellos la desigualdad conocida desde la Edad Media con el nombre de *Variación*, y la cual nos proponemos desarrollar.

Pongamos:  $\hat{\omega} = \frac{u}{\zeta} = u\zeta^{-1} = u_0 + m^2 u_1 + m^4 u_2 + \dots + m^{2q} u_q + \dots$

$$\sigma = \frac{s}{\zeta^{-1}} = s\zeta = s_0 + m^2 s_1 + m^4 s_2 + \dots + m^{2q} s_q + \dots$$

Tenemos:  $\zeta = e^{i\tau} \quad \zeta' = i e^{i\tau} = i\zeta \quad \zeta'' = -e^{i\tau} = -\zeta \quad \zeta^{-1} = e^{-i\tau}$   
 $(\zeta^{-1})' = -i e^{-i\tau} = -i\zeta^{-1} \quad (\zeta^{-1})'' = -\zeta^{-1}$

Además tenemos:  $u = \zeta \hat{\omega} \quad u' = \zeta \hat{\omega}' + \hat{\omega} \zeta' = \zeta(\hat{\omega}' + i\hat{\omega}) \quad u'' = \zeta(\hat{\omega}'' + i\hat{\omega}') + \zeta'(\hat{\omega}' + i\hat{\omega}) = \zeta[\hat{\omega}'' + i\hat{\omega}' + i(\hat{\omega}' + i\hat{\omega})] = \zeta(\hat{\omega}'' - \hat{\omega} + 2i\hat{\omega}') \quad s = \zeta^{-1}\sigma \quad s' = \zeta^{-1}\sigma' + \sigma(\zeta^{-1})' = \zeta^{-1}(\sigma' - i\sigma) \quad s'' = \zeta^{-1}(\sigma'' - i\sigma') + (\zeta^{-1})'(\sigma' - i\sigma) = \zeta^{-1}[\sigma'' - i\sigma' - i(\sigma' - i\sigma)] = \zeta^{-1}(\sigma'' - \sigma - 2i\sigma')$

También se tiene:  $us = \zeta\hat{\omega} \cdot \zeta^{-1}\sigma = \hat{\omega}\sigma \quad us' = \zeta\hat{\omega} \cdot \zeta^{-1}(\sigma' - i\sigma) = \hat{\omega}(\sigma' - i\sigma)$   
 $us'' = \zeta\hat{\omega} \cdot \zeta^{-1}(\sigma'' - \sigma - 2i\sigma') = \hat{\omega}(\sigma'' - \sigma - 2i\sigma') \quad u^2 = \zeta^2 \hat{\omega}^2 \quad u's' = \zeta(\hat{\omega}' + i\hat{\omega}) \cdot \zeta^{-1}(\sigma' - i\sigma) = (\hat{\omega}' + i\hat{\omega})(\sigma' - i\sigma)$

$$su = \zeta^{-1}\sigma \cdot \zeta\hat{\omega} = \sigma\hat{\omega} \quad su' = \zeta^{-1}\sigma \cdot \zeta(\hat{\omega}' + i\hat{\omega}) = \sigma(\hat{\omega}' + i\hat{\omega}) \quad su'' = \zeta^{-1}\sigma \cdot \zeta(\hat{\omega}'' - \hat{\omega} + 2i\hat{\omega}') = \sigma(\hat{\omega}'' - \hat{\omega} + 2i\hat{\omega}') \quad s^2 = \zeta^{-2}\sigma^2 \quad u's' = \hat{\omega}'\sigma' + \hat{\omega}\sigma + i(\hat{\omega}\sigma' - \sigma\hat{\omega}')$$

Substituyendo en (V) se obtiene:

$$\left\{ \begin{aligned} \hat{\omega}(\sigma'' - \sigma - 2i\sigma') - 2pi\hat{\omega}(\sigma' - i\sigma) + \frac{1}{2}[\hat{\omega}'\sigma' + \hat{\omega}\sigma + i(\hat{\omega}\sigma' - \sigma\hat{\omega}')] - \frac{9}{4}p^2 \hat{\omega}\sigma &= \\ &= C + \frac{m^2}{8}(15\zeta^2 \hat{\omega}^2 + 3\zeta^2 \sigma^2) \\ \sigma(\hat{\omega}'' - \hat{\omega} + 2i\hat{\omega}') + 2pi\sigma(\hat{\omega}' + i\hat{\omega}) + \frac{1}{2}[\hat{\omega}'\sigma' + \hat{\omega}\sigma + i(\hat{\omega}\sigma' - \sigma\hat{\omega}')] - \frac{9}{4}p^2 \hat{\omega}\sigma &= \\ &= C + \frac{m^2}{8}(15\zeta^{-2} \sigma^2 + 3\zeta^{-2} \hat{\omega}^2) \end{aligned} \right. \quad (V)'$$

Sustituyendo los valores de  $\hat{\omega}$   $\hat{\omega}'$   $\hat{\omega}''$   $\sigma$   $\sigma'$   $\sigma''$  y  $C$  en función de  $m$  e igualando en ambos miembros los coeficientes de las mismas potencias de esta cantidad se obtiene sucesivamente:

$$\text{Coeficientes de } m^0 \begin{cases} u_0 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + 1/2 u'_0 (s'_0 - is_0) = C_0. \\ s_0 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + 1/2 s'_0 (u'_0 + iu_0) = C_0. \end{cases}$$

Las cuales se satisfacen para

$$u_0 = 1 \quad s_0 = 1 \quad u'_0 = 0 \quad s'_0 = 0 \quad u''_0 = 0 \quad s''_0 = 0 \quad \text{y} \quad C_0 = -1/2 - 2p - 9/4 p^2.$$

Las ecuaciones que nos dan los coeficientes de  $m^2$  son:

*Coeficientes de  $m^2$*

$$u_1 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + u_0 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + 1/2 \{ u'_0 (s'_1 - is_0) + u'_1 (s'_0 - is_0) \} = C_1 + 1/8 (15 \zeta^2 u_0 + 3 \zeta^2 s_0).$$

$$s_1 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + s_0 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + 1/2 \{ s'_0 (u'_1 + iu_1) + s'_1 (u'_0 + iu_0) \} = C_1 + 1/8 (15 \zeta^2 s_0 + 3 \zeta^2 u_0)$$

Notando que  $u_0 = s_0 = 1$   $u'_0 = s'_0 = u''_0 = s''_0 = 0$  se tendrá:

*Coeficientes de  $m^2$*

$$s''_1 - i (3/2 + 2p) s'_1 - (1/2 + 2p + 9/4 p^2) s_1 - 1/2 iu'_1 - (1/2 + 2p + 9/4 p^2) u_1 = C_1 + 1/8 (15 \zeta^2 + 3 \zeta^2) \\ u''_1 + i (3/2 + 2p) u'_1 - (1/2 + 2p + 9/4 p^2) s_1 + 1/2 is'_1 - (1/2 + 2p + 9/4 p^2) s_1 = C_1 + 1/8 (15 \zeta^2 + 3 \zeta^2).$$

Estas ecuaciones son lineales, de coeficientes constantes y con segundo miembro, y se integran fácilmente como lo veremos más adelante. Por lo pronto formaremos las parejas de ecuaciones correspondientes a los coeficientes de  $m^4$ ,  $m^6$ ,  $m^8$  etc. Pero antes de continuar desarrollaremos los segundos miembros de las ecuaciones (V)' según las diversas potencias de  $m^2$  para lo cual principiaremos por los desarrollos de  $\hat{\omega}^2$  y  $\sigma^2$ . Tendremos:

$$\hat{\omega}^2 = (u_0 + m^2 u_1 + m^4 u_2 + m^6 u_3 + m^8 u_4 + \dots + m^{2q} u_q + \dots) (u_0 + m^2 u_1 + m^4 u_2 + m^6 u_3 + m^8 u_4 + \dots + m^{2q} u_q + \dots).$$

$$\text{Así: } \hat{\omega}^2 = u_0^2 + m^2 (2u_0 u_1) + m^4 (2u_0 u_2 + u_1^2) + m^6 (2u_0 u_3 + 2u_1 u_2) + m^8 (2u_0 u_4 + 2u_1 u_3 + u_2^2) + \\ + m^{10} (2u_0 u_5 + 2u_1 u_4 + 2u_2 u_3) + m^{12} (2u_0 u_6 + 2u_1 u_5 + 2u_2 u_4 + u_3^2) + \dots \\ \sigma^2 = s_0^2 + m^2 (2s_0 s_1) + m^4 (2s_0 s_2 + s_1^2) + m^6 (2s_0 s_3 + 2s_1 s_2) + m^8 (2s_0 s_4 + 2s_1 s_3 + s_2^2) + \\ + m^{10} (2s_0 s_5 + 2s_1 s_4 + 2s_2 s_3) + m^{12} (2s_0 s_6 + 2s_1 s_5 + 2s_2 s_4 + s_3^2) + \dots$$

Los segundos miembros de la ecuación en cuestión serán:

$$C + \frac{m^2}{8} [15 \zeta^2 \hat{\omega}^2 + 3 \zeta^2 \sigma^2] = C_0 + [C_1 + 15/8 \zeta^2 u_0^2 + 3/8 \zeta^2 s_0^2] m^2 + [C_2 + 15/4 \zeta^2 u_0 u_1 + 3/4 \zeta^2 s_0 s_1] m^4 + \\ + [C_3 + 15/8 \zeta^2 (2u_0 u_2 + u_1^2) + 3/8 \zeta^2 (2s_0 s_2 + s_1^2)] m^6 + [C_4 + 15/4 \zeta^2 (u_0 u_3 + u_1 u_2) + 3/4 \zeta^2 (s_0 s_3 + s_1 s_2)] m^8 \\ + [C_5 + 15/8 \zeta^2 (2u_0 u_4 + 2u_1 u_3 + u_2^2) + 3/8 \zeta^2 (2s_0 s_4 + 2s_1 s_3 + s_2^2)] m^{10} + \\ + [C_6 + 15/4 \zeta^2 (u_0 u_5 + u_1 u_4 + u_2 u_3) + 3/4 \zeta^2 (s_0 s_5 + s_1 s_4 + s_2 s_3)] m^{12} + \dots$$

$$C + \frac{m^2}{8} [15 \zeta^2 \sigma^2 + 3 \zeta^2 \hat{\omega}^2] = C_0 + [C_1 + 15/8 \zeta^2 s_0^2 + 3/8 \zeta^2 u_0^2] m^2 + [C_2 + 15/4 \zeta^2 s_0 s_1 + 3/4 \zeta^2 u_0 u_1] m^4 + \\ + [C_3 + 15/8 \zeta^2 (2s_0 s_2 + s_1^2) + 3/8 \zeta^2 (2u_0 u_2 + u_1^2)] m^6 + [C_4 + 15/4 \zeta^2 (s_0 s_3 + s_1 s_2) + 3/4 \zeta^2 (u_0 u_2 + u_1 u_2)] m^8 \\ + [C_5 + 15/8 \zeta^2 (2s_0 s_4 + 2s_1 s_2 + s_2^2) + 3/8 \zeta^2 (2u_0 u_4 + u_1 u_3 + u_2^2)] m^{10} + \\ + [C_6 + 15/4 \zeta^2 (s_0 s_5 + s_1 s_4 + s_2 s_3) + 3/4 \zeta^2 (u_0 u_5 + u_1 u_4 + u_2 u_3)] m^{12} + \dots$$

Sustituyendo los desarrollos en las ecuaciones (V)' e igualando los coeficientes de las mismas potencias de  $m$  se halla:

*Coefficientes m<sup>0</sup>*

$$\begin{cases} u_0 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s'_0 - is_0) = C_0 \\ s_0 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_0 - iu_0) = C_0 \end{cases}$$

*Coefficientes m<sup>2</sup>*

$$\begin{cases} u_1 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_1}{2} (s'_0 - is_0) + u_0 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s'_1 - is_1) = C_1 + 15/8 \zeta^2 u_0^2 + 3/8 \zeta^{-2} s_0^2 \\ s_1 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_1}{2} (u'_0 + iu_0) + s_0 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_1 + iu_1) = C_1 + 15/8 \zeta^{-2} s_0^2 + 3/8 \zeta^2 u_0^2 \end{cases}$$

*Coefficientes de m<sup>4</sup>*

$$\begin{cases} u_2 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_2}{2} (s'_0 - is_0) + u_1 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_1}{2} (s'_1 - is_1) + u_0 [s''_2 - s_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s'_2 - is_2) = C_2 + 15/4 \zeta^2 u_0 u_1 + 3/4 \zeta^{-2} s_0 s_1 \\ s_2 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_2}{2} (u'_0 + iu_0) + s_1 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_1}{2} (u'_1 + iu_1) + s_0 [u''_2 - u_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_2 + iu_2) = C_2 + 15/4 \zeta^{-2} s_0 s_1 + 3/4 \zeta^2 u_0 u_1 \end{cases}$$

*Coefficientes m<sup>6</sup>*

$$\begin{cases} u_3 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_3}{2} (s'_0 - is_0) + u_2 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_2}{2} (s'_1 - is_1) + u_1 [s''_2 - s_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_1}{2} (s'_2 - is_2) + u_0 [s''_3 - s_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s'_3 - is_3) = C_3 + 15/8 \zeta^2 (2u_0 u_2 + u_1^2) + 3/8 \zeta^{-2} (2s_0 s_2 + s_1^2) \\ s_3 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_3}{2} (u'_0 + iu_0) + s_2 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_2}{2} (u'_1 + iu_1) + s_1 [u''_2 - u_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_1}{2} (u'_2 + iu_2) + s_0 [u''_3 - u_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_3 + iu_3) = C_3 + 15/8 \zeta^{-2} (2s_0 s_2 + s_1^2) + 3/8 \zeta^2 (2u_0 u_2 + u_1^2) \end{cases}$$

*Coefficientes de m<sup>8</sup>*

$$\begin{cases} u_4 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_4}{2} (s'_0 - is_0) + u_3 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_3}{2} (s'_1 - is_1) + u_2 [s''_2 - s_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_2}{2} (s'_2 - is_2) + u_1 [s''_3 - s_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_1}{2} (s'_3 - is_3) + u_0 [s''_4 - s_4 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_4 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s'_4 - is_4) = C_4 + 15/4 \zeta^2 (u_0 u_3 + u_1 u_2) + 3/4 \zeta^{-2} (s_0 s_3 + s_1 s_2) \\ s_4 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_4}{2} (u'_0 + iu_0) + s_3 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_3}{2} (u'_1 + iu_1) + s_2 [u''_2 - u_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_2}{2} (u'_2 + iu_2) + s_1 [u''_3 - u_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_1}{2} (u'_3 + iu_3) + s_0 [u''_4 - u_4 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_4 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_4 + iu_4) = C_4 + 15/4 \zeta^{-2} (s_0 s_3 + s_1 s_2) + 3/4 \zeta^2 (u_0 u_3 + u_1 u_2) \end{cases}$$

*Coefficientes de m<sup>10</sup>*

$$\left\{ \begin{aligned} &u_5 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_5}{2} (s'_0 - is_0) + u_4 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - \\ &- is'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_4}{2} (s'_1 - is_1) + u_3 [s''_2 - s_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_3}{2} (s'_2 - is_2) + \\ &+ u_2 [s''_3 - s_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_2}{2} (s'_3 - is_3) + u_1 [s''_4 - s_4 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - \\ &- is'_4 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_1}{2} (s'_4 - is_4) + u_0 [s''_5 - s_5 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_5 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s_5 - is_5) = \\ &= C_5 + 15/8 \zeta^2 (2u_0 u_4 + 2u_1 u_2 + u_2^2) + 3/8 \zeta^{-2} (2s_0 s_4 + 2s_1 s_3 + s_2^2) \\ &s_5 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_5}{2} (u'_0 - iu_0) + s_4 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + \\ &+ iu'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_4}{2} (u'_1 - iu_1) + s_3 [u''_2 - u_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_3}{2} (u'_2 + iu_2) + \\ &+ s_2 [u''_3 - u_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_2}{2} (u'_3 - iu_3) + s_1 [u''_4 - u_4 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + \\ &+ iu'_4 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_1}{2} (u'_4 - iu_4) + s_0 [u''_5 - u_5 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_5 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_5 + iu_5) = \\ &= C_5 + 15/8 \zeta^{-2} (2s_0 s_4 + 2s_1 s_3 + s_2^2) + 3/8 \zeta^2 (2u_0 u_4 + 2u_1 u_3 + u_2^2) \end{aligned} \right.$$

*Coefficientes de m<sup>12</sup>*

$$\left\{ \begin{aligned} &u_6 [s''_0 - s_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_6}{2} (s'_0 - is_0) + u_5 [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - \\ &- is'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_5}{2} (s'_1 - is_1) + u_4 [s''_2 - s_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_4}{2} (s'_2 - is_2) + \\ &+ u_3 [s''_3 - s_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_3}{2} (s'_3 - is_3) + u_2 [s''_4 - s_4 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - \\ &- is'_4 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_2}{2} (s'_4 - is_4) + u_1 [s''_5 - s_5 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_5 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_1}{2} (s'_5 - is_5) + \\ &+ u_0 [s''_6 - s_6 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_6 (3/2 + 2p)] + \frac{u'_0}{2} (s_6 - is_6) = C_6 + 15/4 \zeta^2 (u_0 u_5 + u_1 u_4 + u_2 u_3) + \\ &+ 3/4 \zeta^{-2} (s_0 s_5 + s_1 s_4 + s_2 s_3) \\ &s_6 [u''_0 - u_0 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_0 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_6}{2} (u'_0 + iu_0) + s_5 [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + \\ &+ iu'_1 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_5}{2} (u'_1 + iu_1) + s_4 [u''_2 - u_2 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_2 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_4}{2} (u'_2 + iu_2) + \\ &+ s_3 [u''_3 - u_3 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_3 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_3}{2} (u'_3 + iu_3) + s_2 [u''_4 - u_4 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + \\ &+ iu'_4 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_2}{2} (u'_4 + iu_4) + s_1 [u''_5 - u_5 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_5 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_1}{2} (u'_5 + iu_5) + \\ &+ s_0 [u''_6 - u_6 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_6 (3/2 + 2p)] + \frac{s'_0}{2} (u'_6 + iu_6) = C_6 + 15/4 \zeta^{-2} (s_0 s_5 + s_1 s_4 + s_2 s_3) + \\ &+ 3/4 \zeta^2 (u_0 u_5 + u_1 u_4 + u_2 u_3) \end{aligned} \right.$$

Las ecuaciones correspondientes a los coeficientes de  $m^0$  se satisfacen para los siguientes valores:  
 $u_0 = 1 \quad u'_0 = 0 \quad u''_0 = 0 \quad s_0 = 1 \quad s'_0 = 0 \quad s''_0 = 0 \quad \text{y} \quad C_0 = - (9/4 p^2 + 2p + 1/2)$

Sustituyendo en las ecuaciones correspondientes a los coeficientes de  $m^2$  los valores de índice cero, se halla:

$$u_1 [0 - (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - i x o x (2p + 3/2) + \frac{u'_1}{2} (o - i) + [s''_1 - s_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) - is'_1 (2p + 3/2)] + \frac{o}{2} (s'_1 + is_1) = C_1 + 15/8 \zeta^2 + 3/8 \zeta^{-2}$$

$$s_1 [0 - (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + i. o. (2p + 3/2)] + \frac{s'_1}{2} (o + i) + [u''_1 - u_1 (1/2 + 2p + 9/4 p^2) + iu'_1 (2p + 3/2)] + \frac{o}{2} (u'_1 + iu_1) = C_1 + 3/8 \zeta^2 + 15/8 \zeta^{-2}$$

O también:

$$s''_1 - (2p + 3/2) is'_1 - (9/4 p^2 + 2p + 1/2) s_1 - \frac{i}{2} u'_1 - (9/4 p^2 + 2p + 1/2) u_1 = C_1 + 15/8 \zeta^2 + 3/8 \zeta^{-2}$$

$$u''_1 + (2p + 3/2) iu'_1 - (9/4 p^2 + 2p + 1/2) u_1 + \frac{i}{2} s'_1 - (9/4 p^2 + 2p + 1/2) s_1 = C_1 + 3/8 \zeta^2 + 15/8 \zeta^{-2}$$

Pongamos, para simplificar:  $g = -C_0 = \frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2}$   $h = 2p + \frac{3}{2}$

Así tendremos:  $s''_1 - his'_1 - gs_1 - \frac{i}{2}u'_1 - gu_1 = C_1 + \frac{15}{8}\zeta^2 + \frac{3}{8}\zeta^{-2}$

$$u''_1 + h i u'_1 - gu + \frac{i}{2}s'_1 - gs_1 = C_1 + \frac{3}{8}\zeta^2 + \frac{15}{8}\zeta^{-2}$$

Busquemos los coeficientes de  $\zeta^2$ ,  $\zeta^0$  y  $\zeta^{-2}$  en  $u_1$  y  $s_1$ . Para lo cual pondremos:

$$u_1 = \xi_2 \zeta^2 + \xi_0 \zeta^0 + \xi_{-2} \zeta^{-2} \quad s_1 = \eta_2 \zeta^2 + \eta_0 \zeta^0 + \eta_{-2} \zeta^{-2}$$

Así se tendrá, notando que  $\zeta = e^{i\tau}$   $\zeta^1 = i\zeta$   $\zeta^{-1} = e^{-i\tau}$   $(\zeta^{-1})^1 = -i\zeta^{-1}$

$$u'_1 = 2i\xi_2\zeta^2 - 2i\xi_{-2}\zeta^{-2} = 2i(\xi_2\zeta^2 - \xi_{-2}\zeta^{-2}) \quad \therefore s'_1 = 2i(\eta_2\zeta^2 - \eta_{-2}\zeta^{-2})$$

$$u''_1 = 4i^2(\xi_2\zeta^2 + \xi_{-2}\zeta^{-2}) = -4(\xi_2\zeta^2 + \xi_{-2}\zeta^{-2}) \quad \therefore s''_1 = -4(\eta_2\zeta^2 + \eta_{-2}\zeta^{-2})$$

Hemos impuesto la condición  $u_0 = 1$   $s_0 = 1$ . En general, hemos impuesto la de que los coeficientes de  $\zeta$  en  $u\zeta^{-1}$  y en  $s\zeta$  sean iguales a la unidad y fijando de esta manera el valor de la constante  $C$ . Pero como dicha constante aparece de la integral de Jacobi y depende del valor  $\mu$  y de los valores iniciales de las coordenadas de la luna y de sus velocidades, debemos introducir una constante  $u_0$  como factor de  $C$  con el fin de satisfacer a la condición expresada. Esta corrección la hacemos al final de estos cálculos.

Sustituyendo los valores de  $u_1$   $u'_1$   $u''_1$   $s_1$   $s'_1$  y  $s''_1$  en las ecuaciones anteriores, tendremos:

$$-4(\eta_2\zeta^2 + \eta_{-2}\zeta^{-2}) + 2(2p + \frac{3}{2})(\eta_2\zeta^2 - \eta_{-2}\zeta^{-2}) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})(\eta_0\zeta^2 + \eta_0\zeta^0 + \eta_{-2}\zeta^{-2}) + (\xi_2\zeta^2 - \xi_{-2}\zeta^{-2}) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})(\xi_2\zeta^2 + \xi_0\zeta^0 + \xi_{-2}\zeta^{-2}) = C_1 + \frac{15}{8}\zeta^2 + \frac{3}{8}\zeta^{-2}$$

$$-4(\xi_2\zeta^2 + \xi_{-2}\zeta^{-2}) - 2(2p + \frac{3}{2})(\xi_2\zeta^2 - \xi_{-2}\zeta^{-2}) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})(\xi_2\zeta^2 + \xi_0\zeta^0 + \xi_{-2}\zeta^{-2}) - (\eta_2\zeta^2 - \eta_{-2}\zeta^{-2}) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})(\eta_2\zeta^2 + \eta_0\zeta^0 + \eta_{-2}\zeta^{-2}) = C_1 + \frac{3}{8}\zeta^2 + \frac{15}{8}\zeta^{-2}$$

Igualando en cada ecuación los coeficientes de  $\zeta^2$ ,  $\zeta^0$  y  $\zeta^{-2}$  obtendremos:

$$\eta_2[-4 + (4p + 3) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] + \xi_2[1 - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] = \frac{15}{8}$$

$$-(\xi_0 + \eta_0)(\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2}) = C_1$$

$$\xi_2[-4 - (4p + 3) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] + \eta_2[-1 - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] = \frac{3}{8}$$

$$-(\xi_0 + \eta_0)(\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2}) = C_1$$

$$\eta_{-2}[-4 - (4p + 3) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] + \xi_{-2}[-1 - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] = \frac{3}{8}$$

$$\xi_{-2}[-4 + (4p + 3) - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] + \eta_{-2}[1 - (\frac{9}{4}p^2 + 2p + \frac{1}{2})] = \frac{15}{8}$$

O bien, tendremos:

$$\xi_2(\frac{1}{2} - 2p - \frac{9}{4}p^2) - \eta_2(\frac{3}{2} - 2p + \frac{9}{4}p^2) = \frac{15}{8}$$

$$\xi_2(\frac{15}{2} + 6p + \frac{9}{4}p^2) + \eta_2(\frac{3}{2} + 2p + \frac{9}{4}p^2) = -\frac{3}{8}$$

$$\Delta_1 = (\frac{3}{2} + 2p + \frac{9}{4}p^2)(\frac{1}{2} - 2p - \frac{9}{4}p^2) + (\frac{3}{2} - 2p + \frac{9}{4}p^2)(\frac{15}{2} + 6p + \frac{9}{4}p^2) =$$

$$= \frac{3}{2}(\frac{1}{2} - 2p - \frac{9}{4}p^2 + \frac{15}{2} + 6p + \frac{9}{4}p^2) + 2p(\frac{1}{2} - 2p - \frac{9}{4}p^2 - \frac{15}{2} - 6p - \frac{9}{4}p^2) +$$

$$+ \frac{9}{4}p^2(\frac{1}{2} - 2p - \frac{9}{4}p^2 + \frac{15}{2} + 6p - \frac{9}{4}p^2)$$

O también:

$$\Delta_1 = \frac{3}{2}(8 + 4p) + 2p(-7 - 8p - \frac{9}{2}p^2) + \frac{9}{4}p^2(8 + 4p) = 12 + 6p - 14p - 16p^2 - 9p^3 + 18p^2 - 9p^3 =$$

$$= 12 - 8p + 2p^2 = 2(6 - 4p + p^2) = 2(p^2 - 4p + 6).$$

Llamemos  $N_1$  y  $N'_1$  los coeficientes  $\xi_2$  y  $\eta_2$  respectivamente. Tendremos:

$$N_1 = \frac{15}{8}(\frac{3}{2} + 2p + \frac{9}{4}p^2) - \frac{3}{8}(\frac{3}{2} - 2p + \frac{9}{4}p^2) = \frac{9}{4} + \frac{9}{2}p + \frac{27}{8}p^2$$

$$N_2 = -\frac{3}{8}(\frac{1}{2} - 2p - \frac{9}{4}p^2) - \frac{15}{8}(\frac{15}{2} + 6p + \frac{9}{4}p^2) = -\frac{57}{4} - \frac{21}{2}p - \frac{27}{8}p^2$$

Se tendrá, pues:

$$\xi_2 = \frac{\frac{9}{8} + \frac{9}{4}p + \frac{27}{16}p^2}{p^2 - 4p + 6} \quad \eta_2 = -\frac{\frac{57}{8} + \frac{21}{4}p + \frac{27}{16}p^2}{p^2 - 4p + 6} \quad (A)$$

$$\xi_{-2} = \eta_2 = -\frac{\frac{57}{8} + \frac{21}{4}p + \frac{27}{16}p^2}{p^2 - 4p + 6} \quad \eta_{-2} = \xi_2 = \frac{\frac{9}{8} + \frac{9}{4}p + \frac{27}{16}p^2}{p^2 - 4p + 6}$$

La constante  $C = C_0 + m^2 C_1 + m^4 C_2 + \dots$  siendo una constante arbitraria de integración, podemos considerarla independiente de  $m$ . Es decir:  $C = C_0$  y  $C_1 = C_2 = \dots = 0$ . Se tendrá pues:  
 $\xi_0 = 0$        $\eta_0 = 0$ .      Por tanto:       $u_1 = \xi_2 \zeta^2 + \eta_2 \zeta^{-2}$        $s_1 = \eta_2 \zeta^2 + \xi_2 \zeta^{-2}$       (B)

El factor  $a_0$  proveniente de  $C_0$ , está implícito en  $\xi_2$  y  $\eta_2$ . Además nos falta dar el valor  
 $p = m$ .

NOTA—Debe introducirse un factor constante  $a_0$  en la constante  $C$  pues se ha hecho arbitrariamente  $u_0 = s_0 = 1$ , debiendo estas cantidades tener un valor numérico distinto. Esto se hará más adelante.

(Concluirá).

**NOTA DE LA DIRECCION.**—Por tratarse de un trabajo de Garavito tan importante como éste, conviene acompañarlo con notas explicativas dedicadas a la mayoría de nuestros lectores, quienes, sin ellas, tal vez carecieran de los elementos indispensables para juzgarlo. Estas notas, claro está, no son necesarias para quienes estén familiarizados con los problemas referentes a la Astronomía de posición.

a). Los antiguos se dieron cuenta del movimiento mensual de la luna, según el cual este astro describe un círculo máximo entre las estrellas en un intervalo de  $27^d 7^h 43^m$ . Notaron, además, que el plano de ese círculo no es fijo, pero que conserva, con respecto al descrito por el sol en un año (la eclíptica), una inclinación fija. También vieron que la línea de intersección de los dos planos dichos (línea de los nodos) se desaloja gradualmente con el tiempo de manera de dar la vuelta completa a la eclíptica en 18 años 8 meses, y que la dirección del movimiento de esa línea es de oriente a occidente, contraria a la del desalajamiento de la luna entre las estrellas. Esos astrónomos antiguos sabían que de acuerdo con este movimiento de la línea de los nodos, sucede que al cabo de 223 revoluciones de la luna con relación al sol, éste, la luna y la línea citada, vuelven a ocupar sensiblemente sus posiciones relativas, de donde resulta que los eclipses vuelven a reproducirse de nuevo. Tal es el llamado período de los saros, conocido desde tiempos de los caldeos.

Como ese número de revoluciones lunares no corresponde a un número completo de días la reproducción de los eclipses, tanto de sol como de luna, no se verifica tan sencillamente. Además, y lo habían observado los antiguos, el movimiento de la luna sobre su órbita no es uniforme.

La complejidad de los movimientos lunares fue, pues, objeto de la observación de los astrónomos desde un principio. Así en la época de Galileo, ya casi se conocían la mayor parte de las desigualdades que daban lugar a divergencias notables entre el cálculo y la observación, verificada especialmente en los eclipses totales de sol que permiten gran precisión en la determinación de los instantes de los contactos, aun con instrumentos rudimentarios.

Así, pues, puede decirse que el estudio de la mecánica de la luna, al aparecer Newton, se elevó por sí solo a la categoría de problema fundamental para la comprobación de la ley de la gravitación, lo que ha justificado que muchos matemáticos hayan consagrado especial atención a las causas perturbatrices a que se deben las divergencias anotadas.

b). Para el cálculo de la posición de la luna en un instante dado, se debe tener en cuenta que los valores de los elementos de su movimiento deberán ser deducidos de un gran número de observaciones que se extienden a largos intervalos de tiempo. Entonces es necesario determinar las influencias perturbatrices de los otros planetas además de la influencia solar.

Generalmente, al tratar de calcular la posición de un cuerpo celeste, tales perturbaciones se pueden considerar desde dos puntos de vista distintos. En uno de ellos se parte de una época dada; esto es de la posición del cuerpo en dicha época. Para esa posición se podrán calcular las acciones de los otros planetas y sus efectos se integrarán sucesivamente por el método llamado de cuadraturas mecánicas, o de Encke. Considerando las derivadas de los elementos también se pueden integrar dejando el tiempo indeterminado. Luégo se compararían los resultados de la observación con los del cálculo, partiendo de elementos osculadores aproximados e incrementos de sus errores, y estableciendo un gran número de ecuaciones de condición que se tratarían por el método de los menores cuadrados, a fin de determinar los valores exactos para otra época dada.

c). En Mecánica celeste se estudia la manera de formar los desarrollos de los elementos y de las coordenadas de modo satisfacer a las ecuaciones de movimiento. Estos desarrollos son series cuyo término general es de la forma:

$A \mu^\alpha M \bar{t}^m \cos(vt + h)$ , en los cuales  $A$  y  $h$  son constantes,  $\mu$  un pequeño factor dependiente de la relación de las masas perturbadoras a la masa central, o de cualquiera otro parámetro especial,  $M$  un monomio que contiene potencias enteras de cantidades pequeñas del orden de las excentricidades y de las inclinaciones, y, finalmente  $v$  un número de la forma  $k_1 n_1 + k_2 n_2 + \dots$  en donde  $k_1 k_2$  etc. son números enteros positivos o negativos y  $n_1 n_2$  etc. los movimientos medios de los planetas.

Estos términos contienen cuatro caracteres que sirven para definir su importancia, a saber: 1º El orden, definido por el exponente  $\alpha$  del pequeño factor  $\mu$ ; 2º El grado del monomio  $M$  respecto de las cantidades que figuran en él; 3º La clase que depende de los pequeños divisores en el denominador, debidos a las integraciones sucesivas, y 4º El rango, o sea la diferencia entre el exponente  $\alpha$  y el  $m$  del tiempo ( $\alpha - m$ ). Resulta de esto que cuando ( $\alpha - m$ ) es pequeño para términos de orden elevado, la potencia  $m$  del tiempo es muy grande y el término crece rápidamente con el tiempo, haciendo al fin divergente la serie.

Finalmente, los términos del desarrollo pueden clasificarse en términos periódicos, que son aquellos en donde el exponente  $m$  del tiempo es cero, esto es en donde el tiempo no figura fuera de los signos seno o coseno; términos mixtos en donde el tiempo figura tanto fuera como dentro de las funciones circulares seno o coseno, y los términos seculares, en donde  $v = 0$ , y el tiempo no figura sino en el factor externo.

Los términos de pequeño rango son los que producen desigualdades que van creciendo con el tiempo.

d). Las tablas astronómicas fundadas sobre los elementos osculadores a una fecha dada, y en cuya conformación no se han tenido en cuenta sino los términos hasta de cierto orden, principiaron, al fin de cierto tiempo, a dar divergencias tales que se hace necesario cambiarlas fundándolas sobre elementos osculadores correspondientes a otra fecha posterior.

Poincaré ha demostrado que los desarrollos de las coordenadas y de los elementos pueden, por procedimientos especiales, ser transformados de manera de hacer desaparecer en ellos los términos seculares.

e). En el caso en que se trata del movimiento de la luna con relación a la tierra, esta última hace las veces de astro central, mientras que el sol, de masa enorme, desempeña el simple papel de cuerpo perturbador.

El coeficiente  $\mu$  de la función perturbatriz está constituido por la relación de la masa del sol a la masa del sistema de la tierra y la luna multiplicado por el cubo de la relación de las distancias de la tierra a la luna y al sol.

Este factor tiene un valor muy superior al que corresponde a las perturbaciones planetarias. Si se aplica al movimiento de la luna el método de Lagrange los desarrollos a que se llegaría serían tan poco convergentes que no podrían prestar servicio alguno. Tal es la dificultad que ha presentado desde un principio el movimiento de la luna.

f). Newton explicó varias de las desigualdades del movimiento de la luna tales como la variación, la ecuación anual y el movimiento del nodo, y descubrió por la teoría muchas otras que la observación no había aún puesto de manifiesto; pero no logró explicar satisfactoriamente el movimiento del perigeo ni la evección, por causa de la deficiencia del análisis matemático de su época.

Claireaut y d'Alambert plantearon, muy posteriormente, las ecuaciones de movimiento de los tres cuerpos y aplicaron su método a la luna atraída por la tierra según la ley de Newton y bajo la acción perturbatriz del sol.

Las desigualdades que Newton no había logrado vencer resistieron también tenazmente a los nuevos investigadores, hasta el punto de que Claireaut creyó ver en la imperfección de la ley de Newton la causa de tales dificultades. Sin embargo, los últimos estudios, que culminaron en los trabajos de Hill, Brown y Poincaré, han dado bastante éxito a la investigación en este campo.

g). En el campo gravitatorio el trabajo que habría que desarrollar para vencer la gravitación y llevar el astro considerado hasta el infinito, se llama energía potencial. La suma de la energía cinética y de la potencial es constante en todo el movimiento, según el principio de la conservación de la energía.

Suponiendo trazado por el planeta, según la dirección del movimiento, un segmento de recta de longitud igual al producto de la masa del planeta por la velocidad de que está animado en un instante, producto que se denomina cantidad de movimiento del planeta, resulta que el área del triángulo cuyo vértice es el centro del sol y cuya base es la cantidad de movimiento del planeta es una constante. La ley de Newton, considerando un planeta y el sol conduce, pues, a las leyes de Kepler generalizadas. Estas leyes se verifican muy aproximadamente a causa de que las masas de los planetas son muy pequeñas respecto de la masa solar; pero no son rigurosas.

Para prever con exactitud la posición de un planeta a largo plazo, es necesario estudiar su movimiento no sólo bajo la influencia del sol sino bajo la de otros planetas. La aceleración de que está animado cada planeta es la suma geométrica de las aceleraciones debidas no sólo a la acción solar sino también a las atracciones de los otros planetas. El sol, a su vez, está solicitado por todos los planetas y tendrá a cada instante, una aceleración que es la resultante de todas las aceleraciones debidas a las acciones planetarias.

Para referir los movimientos planetarios a tres planos que pasen por el centro del sol, es necesario aplicar a todos los cuerpos del sistema solar una aceleración igual y opuesta a la del sol. Se debe, pues, agregar a la aceleración resultante de todas las acciones atractivas que actúan sobre cada uno de los planetas, una aceleración ficticia igual y opuesta a la que anima al sol, para definir el movimiento relativo del planeta.

Planteados así el problema, se expresa la aceleración total de cada planeta mediante una suma geométrica de muchos términos, el primero de los cuales se refiere a la acción solar y los otros a las acciones planetarias y a la resultante de las acciones planetarias sobre el sol multiplicada por la relación de la masa del planeta a la del sol, estimada en sentido contrario.

h). Se pueden hacer tantas teorías de la luna fundadas en la ley newtoniana, como sistemas coordenados fijos o móviles se puedan idear; pero no todas conducen a resultados utilizables en el cálculo de las tablas lunares debido a la mayor o menor convergencia que se obtenga con unas o con otras en las aproximaciones sucesivas.

Las primeras tablas que se hicieron de la luna tomaban de la teoría la forma matemática de las desigualdades y de la observación el valor de los coeficientes. La primera teoría completa de los movimientos de la luna, fundada sobre la ley de gravitación, se debió a Demoisseau. Laplace expuso una teoría fundada sobre ecuaciones deducidas de las del movimiento mediante una transformación en la cual el radio vector está reemplazado por el inverso de su proyección sobre la eclíptica y la latitud por su tangente, y en donde la longitud de la luna ha sido tomada como variable independiente y el tiempo como función de esta variable. Estas fórmulas, en las que sólo se tiene en cuenta la acción perturbadora del sol, han servido de base a muchas teorías de la luna en que algunos investigadores han cambiado la variable independiente: longitud, por la anomalía excéntrica.

Las dificultades que ha presentado el problema en lo que respecta a la poca convergencia de las series ha sido el motivo por el cual los más ilustres matemáticos de todas las épocas y países, se han ocupado del movimiento de la luna, más complejo, desde algunos puntos de vista, que los de los planetas, según se ha visto atrás.

i). Cierta caso ideal referente a una solución periódica puede presentar una desigualdad considerable, y, además, aproximarse al caso del movimiento de la luna. Esta desigualdad tendría un coeficiente también muy próximo de la desigualdad correspondiente al movimiento de la luna. Así será fácil pasar del caso ideal al caso real.

Tal fue la manera como Hill llegó a determinar el coeficiente de la variación de la luna. Las ecuaciones de movimiento, así planteadas por Hill, forman un sistema de cuarto orden y admiten una integral que había sido hallada antes por Jacobi.

j). Las ecuaciones de segundo orden del movimiento relativo de la luna, supuesta nula la inclinación de la órbita y considerando los ejes animados de un movimiento de rotación uniforme, fueron transformadas por Hill por medio de dos variables imaginarias conjugadas. Hill desarrolló las nuevas variables, o, mejor dicho, sus relaciones a cierta exponencial, y las integró por desarrollo en serie siguiendo las potencias crecientes de la relación de la velocidad angular media del sol a la velocidad angular media de la luna con relación al sol. Estos desarrollos resultan referentes a la cuarta potencia de la relación indicada, lo cual los hace muy convergentes. Así fue como Hill halló la desigualdad conocida con el nombre de variación.

El movimiento del nodo y del perigeo, la evección, las desigualdades de orden superior y las que provienen de las acciones planetarias se refieren a artificios de cálculo tan complejos que no pueden ser indicados aquí, ni someramente siquiera.

De todos modos se llega en la teoría de la luna a series cuyos términos son de la forma indicada, y cuyos senos y cosenos se refieren a ángulos dependientes de la distancia angular de la luna al sol, de la luna al nodo, de la luna al perigeo, etc., términos que representan las llamadas desigualdades del movimiento.

El coeficiente  $\mu$  de la función perturbatriz está constituido por la relación de la masa del sol a la masa del sistema de la tierra y la luna multiplicado por el cubo de la relación de las distancias de la tierra a la luna y al sol.

Este factor tiene un valor muy superior al que corresponde a las perturbaciones planetarias. Si se aplicara al movimiento de la luna el método de Lagrange los desarrollos a que se llegaría serían tan poco convergentes que no podrían prestar servicio alguno. Tal es la dificultad que ha presentado desde un principio el movimiento de la luna.

f). Newton explicó varias de las desigualdades del movimiento de la luna tales como la variación, la ecuación anual y el movimiento del nodo, y descubrió por la teoría muchas otras que la observación no había aún puesto de manifiesto; pero no logró explicar satisfactoriamente el movimiento del perigeo ni la evección, por causa de la deficiencia del análisis matemático de su época.

Claireaut y d'Alambert plantearon, muy posteriormente, las ecuaciones de movimiento de los tres cuerpos y aplicaron su método a la luna atraída por la tierra según la ley de Newton y bajo la acción perturbatriz del sol.

Las desigualdades que Newton no había logrado vencer resistieron también tenazmente a los nuevos investigadores, hasta el punto de que Claireaut creyó ver en la imperfección de la ley de Newton la causa de tales dificultades. Sin embargo, los últimos estudios, que culminaron en los trabajos de Hill, Brown y Poincaré, han dado bastante éxito a la investigación en este campo.

g). En el campo gravitatorio el trabajo que habría que desarrollar para vencer la gravitación y llevar el astro considerado hasta el infinito, se llama energía potencial. La suma de la energía cinética y de la potencial es constante en todo el movimiento, según el principio de la conservación de la energía.

Suponiendo trazado por el planeta, según la dirección del movimiento, un segmento de recta de longitud igual al producto de la masa del planeta por la velocidad de que está animado en un instante, producto que se denomina cantidad de movimiento del planeta, resulta que el área del triángulo cuyo vértice es el centro del sol y cuya base es la cantidad de movimiento del planeta es una constante. La ley de Newton, considerando un planeta y el sol conduce, pues, a las leyes de Kepler generalizadas. Estas leyes se verifican muy aproximadamente a causa de que las masas de los planetas son muy pequeñas respecto de la masa solar; pero no son rigurosas.

Para prever con exactitud la posición de un planeta a largo plazo, es necesario estudiar su movimiento no sólo bajo la influencia del sol sino bajo la de otros planetas. La aceleración de que está animado cada planeta es la suma geométrica de las aceleraciones debidas no sólo a la acción solar sino también a las atracciones de los otros planetas. El sol, a su vez, está solicitado por todos los planetas y tendrá a cada instante, una aceleración que es la resultante de todas las aceleraciones debidas a las acciones planetarias.

Para referir los movimientos planetarios a tres planos que pasen por el centro del sol, es necesario aplicar a todos los cuerpos del sistema solar una aceleración igual y opuesta a la del sol. Se debe, pues, agregar a la aceleración resultante de todas las acciones atractivas que actúan sobre cada uno de los planetas, una aceleración ficticia igual y opuesta a la que anima al sol, para definir el movimiento relativo del planeta.

Planteado así el problema, se expresa la aceleración total de cada planeta mediante una suma geométrica de muchos términos, el primero de los cuales se refiere a la acción solar y los otros a las acciones planetarias y a la resultante de las acciones planetarias sobre el sol multiplicada por la relación de la masa del planeta a la del sol, estimada en sentido contrario.

h). Se pueden hacer tantas teorías de la luna fundadas en la ley newtoniana, como sistemas coordenados fijos o móviles se puedan idear; pero no todas conducen a resultados utilizables en el cálculo de las tablas lunares debido a la mayor o menor convergencia que se obtenga con unas o con otras en las aproximaciones sucesivas.

Las primeras tablas que se hicieron de la luna tomaban de la teoría la forma matemática de las desigualdades y de la observación el valor de los coeficientes. La primera teoría completa de los movimientos de la luna, fundada sobre la ley de gravitación, se debió a Demoisseau. Laplace expuso una teoría fundada sobre ecuaciones deducidas de las del movimiento mediante una transformación en la cual el radio vector está reemplazado por el inverso de su proyección sobre la eclíptica y la latitud por su tangente, y en donde la longitud de la luna ha sido tomada como variable independiente y el tiempo como función de esta variable. Estas fórmulas, en las que sólo se tiene en cuenta la acción perturbadora del sol, han servido de base a muchas teorías de la luna en que algunos investigadores han cambiado la variable independiente: longitud, por la anomalía excéntrica.

Las dificultades que ha presentado el problema en lo que respecta a la poca convergencia de las series ha sido el motivo por el cual los más ilustres matemáticos de todas las épocas y países, se han ocupado del movimiento de la luna, más complejo, desde algunos puntos de vista, que los de los planetas, según se ha visto atrás.

i). Cierta caso ideal referente a una solución periódica puede presentar una desigualdad considerable, y, además, aproximarse al caso del movimiento de la luna. Esta desigualdad tendría un coeficiente también muy próximo de la desigualdad correspondiente al movimiento de la luna. Así será fácil pasar del caso ideal al caso real.

Tal fue la manera como Hill llegó a determinar el coeficiente de la variación de la luna. Las ecuaciones de movimiento, así planteadas por Hill, forman un sistema de cuarto orden y admiten una integral que había sido hallada antes por Jacobi.

j). Las ecuaciones de segundo orden del movimiento relativo de la luna, supuesta nula la inclinación de la órbita y considerando los ejes animados de un movimiento de rotación uniforme, fueron transformadas por Hill por medio de dos variables imaginarias conjugadas. Hill desarrolló las nuevas variables, o, mejor dicho, sus relaciones a cierta exponencial, y las integró por desarrollo en serie siguiendo las potencias crecientes de la relación de la velocidad angular media del sol a la velocidad angular media de la luna con relación al sol. Estos desarrollos resultan referentes a la cuarta potencia de la relación indicada, lo cual los hace muy convergentes. Así fue como Hill halló la desigualdad conocida con el nombre de variación.

El movimiento del nodo y del perigeo, la evección, las desigualdades de orden superior y las que provienen de las acciones planetarias se refieren a artificios de cálculo tan complejos que no pueden ser indicados aquí, ni someramente siquiera.

De todos modos se llega en la teoría de la luna a series cuyos términos son de la forma indicada, y cuyos senos y cosenos se refieren a ángulos dependientes de la distancia angular de la luna al sol, de la luna al nodo, de la luna al perigeo, etc., términos que representan las llamadas desigualdades del movimiento.

En los eclipses las distancias angulares de la luna al sol y al nodo afectan sensiblemente los mismos valores, y las desigualdades periódicas que dependen de dichos ángulos, tienen iguales valores y se eliminan, no quedando, en cambio, sino las que provienen de otros argumentos. Además, comparando las observaciones de eclipses convenientemente escogidos se pueden eliminar también las que dependen del perigeo, de la anomalía del sol, etc.

Se comprende por esto, sin dificultad, cuán importante es la observación de los eclipses en lo que respecta a la teoría del movimiento de la luna, para determinar uno de los elementos más importante, como es la longitud media, a fin de lograr, tarde o temprano, fijar el límite de precisión en las determinaciones basadas sobre la ley de la gravitación.

k). De todo lo anterior resulta que la teoría de la luna debe exponerse en dos partes; en la primera debe buscarse cuál sería el movimiento de este astro si no existiesen sino el sol, la tierra y la luna reducidos a puntos materiales; en la segunda se investiga cómo este movimiento puede turbarse por la atracción de los planetas y por influencia del aplastamiento terrestre. El estudio de Garavito, a que nos referimos, trata de la primera parte del problema que ha preocupado a los mayores matemáticos. La segunda era objeto de sus meditaciones cuando le sorprendió la muerte.

La primera parte no es sino un caso particular del problema de los tres cuerpos, cuya dificultad no proviene sino de la magnitud relativamente considerable, de las perturbaciones producidas. La relación de la fuerza perturbatriz a la atracción del cuerpo central es del orden de  $\frac{m_1}{m_2} \left(\frac{AC}{BC}\right)^3$  siendo  $m_1$  la masa del cuerpo perturbador  $m_2$  la del cuerpo central y AC y BC las distancias mutuas de los tres cuerpos. Esta relación es producto de dos factores: uno, la relación de las masas, otro, el cubo de la relación de las distancias. En el caso de los planetas el primer factor es muy pequeño y el segundo finito. En el caso de la luna, por el contrario, el primer factor es grande y el segundo es muy pequeño. De esto resulta que el producto de los dos factores es pequeño, sin lo cual el problema no podría resolverse sino por aproximaciones sucesivas, pero mucho menos pequeño que en el caso de los planetas; de suerte que la aproximación es menos lenta. (Poincaré. Mécanique Céleste. Généralités sur la theorie de la lune).

\* \* \*

En las dispersas y confusas notículas anteriores hemos tratado de dar una idea al lector de la importancia del problema a que dedicó Garavito largas vigilias y que ha sido objeto de la preocupación de calculistas de primera fuerza. La sola relación histórica de los trabajos dirigidos a la solución del complejo movimiento de la luna constituye parte interesantísima de la Mecánica Celeste de Tisserand. Su reproducción en estas páginas sería suficiente para demostrar la gran importancia que concedemos a los últimos escritos del sabio matemático colombiano, encaminados a complementar la obra de Hansen, de Delaunay, de Hill, de Brown y de Poincaré.

Antes de ahora no había sino tres métodos para construir tablas de la luna: el de Hansen, el de Delaunay y el de Hill-Brown. El de Hansen es el que ha servido para calcular las tablas usuales de exactitud notable. Según Poincaré, si ellas se apartan de las observaciones, las divergencias anotadas no se deben a un defecto del método sino a la omisión de algún término proveniente de la acción de los planetas, o a alguna otra causa desconocida. El éxito de Hansen se ha debido a que buscó directamente los valores numéricos de los coeficientes sin pasar por una expresión algebraica. Su método tiene más de práctico que de solución matemática.

Delaunay hizo todo lo contrario, según Poincaré; todos sus coeficientes se expresan por series en donde figuran las diferentes constantes del movimiento de la luna y cuyos coeficientes son números racionales determinados exactamente.

Brown adoptó una posición intermedia. Sus coeficientes no son ni puramente numéricos, como los de Hansen, ni puramente analíticos como los de Delaunay. Se presentan bajo la forma de series según las potencias de los diversos elementos, excepto la relación de los movimientos medios.

Los coeficientes de estas series están calculados numéricamente, pero estos coeficientes no son ya números racionales: son funciones de la relación de los movimientos medios, que podrían igualmente desarrollarse en series, pero para los cuales se limita el cálculo a determinar el valor numérico. Como el método de Brown, según Poincaré, es mucho más directo que los otros, con él se ha podido avanzar la aproximación mucho más lejos.

El método de Hill, al cual nos hemos referido en las notas i) y j), en combinación con el método de Brown, dio lugar al llamado método de Hill-Brown, que ha servido a Garavito, como a modo de derrotero, para establecer sus ecuaciones según artificios que le son propios.

Como programa de observación para los observatorios de posición, está aún vigente el que indica la determinación de los contactos, tanto internos como externos, en los eclipses de sol, con el rigor con que lo permiten el moderno instrumental y la conservación del tiempo, que ha llegado a ser casi perfecta por medio de péndulos de extraordinaria precisión y con el concurso de señales horarias por radio.

Uno de los elementos canónicos que ha presentado mayores dificultades en su determinación ha sido la longitud media de la luna. La observación de los eclipses de sol desde la más remota antigüedad ha servido, como dijimos, para definir por la observación ese elemento, considerando que cuanto mayor sea el número de datos más perfecta será su determinación.

Grandes han sido los progresos que se han hecho en la observación de los eclipses de sol, y la teoría del movimiento de la luna se ha perfeccionado cada día más. De modo que para la Ciencia continúa siendo de altísimo interés un programa de estudio que confiere igual importancia a la Mecánica celeste a la que se ha dado a los sistemas y elementos de observación.

De la comparación del valor teórico de la longitud media de la luna con el valor observado de este elemento se podrá deducir, tarde o temprano, si hay o no otra causa, distinta de la ley de la gravitación, que puede influir en los movimientos celestes. Esto hablando en los términos de la Mecánica clásica.

Brevemente hemos tratado de exponer en estas notículas, las razones que tenemos para creer que las ecuaciones finales de Garavito para construir unas nuevas tablas de la luna, tienen una importancia capital, y constituyen su mayor contribución a la Ciencia astronómica.

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)



## EL CRATER GARAVITO

**Por: JORGE ARIAS DE GREIFF**

*Artículo del Boletín de la  
Sociedad Geográfica de Colombia  
Número 102, Volumen XXVII  
1970*



raíz de los primeros intentos de observar el lado oculto, o mejor desconocido de la Luna, intentos que vieron sus primeros frutos en la exitosa misión del Lunik 3, a fines de 1959, apareció la necesidad, o la oportunidad, de establecer una nomenclatura de los detalles sobresalientes de ese lado invisible desde la Tierra.

La Unión Soviética designó desde ese primer momento algunos de estos prominentes detalles con nombres, desde entonces generalmente aceptados, entre los que se destacan el Mare Mosovitae asignado a una única llanura plana y el de Tsiolkovsky a un prominente cráter de oscuro fondo. Algunas otras características bautizadas en esos momentos a la postre resultaron inexistentes.

La figura 1 reproduce una de las primeras fotografías resultantes de la información suministrada por el "Lunik 3". Esta histórica imagen, que en su momento fue una sensación pues en ella se registraron por vez primera detalles sobresalientes nunca conocidos de parte del otro lado de la Luna. Se destacan el Mare Mosovitae y el cráter Tsiolkovsky.

El uso de una veintena de estos nombres asignados con base al histórico reconocimiento del "Lunik 3", la mayoría proveniente de los trabajos soviéticos, y otros originados en las discusiones, fue objeto de recomendación por parte de la Asamblea General de la Unión Astronómica Internacional, en su reunión del año 1961 en Berkeley, California. La figura 2 reproduce el mapa con la nomenclatura que la Comisión 16 de la Unión Astronómica adoptó en 1961 en Berkeley. La lista de nombres allí acordados es la siguiente: Tsu Chung-Chi, Kurchatov, Jules Verne, Mendeleev, Popov, Hertz, Edison, Lobachevsky, Pasteur, Sklodowska-Curie, Tsiolkovsky, Lomonosov, Joliot Curve, Maxwell, Giordano Bruno, Montes Sovietici. Mare Ingenii, Mare Moscoviense. Este mapa fue incorporado a los "Proceedings" de la Asamblea General de Berkeley y de ese volumen se han tomado. Un grupo de trabajo continuó estudiando el tema de la nomenclatura lunar con miras a lograr decisiones de carácter más definitivo, una vez se hubiere logrado reconocimientos más perfectos de esa parte de nuestro satélite natural.

Naturalmente el perfeccionamiento de las técnicas de reconocimiento no se hizo esperar mucho tiempo y hacia el año de 1965 las tareas fotográficas del "Zond 3" y de los cinco satélites de la Luna denominados "Orbiter", habían permitido ya tener una visión muy exacta de la superficie antes desconocida. Mientras la Unión Soviética continuó asignando nombres de notables científicos, de diversas nacionalidades, como lo muestra el mapa del profesor Lipsky, la NASA, en sus

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)

publicaciones, se limitó a numerarios. Por ejemplo, el N°388 del mapa norteamericano correspondía al cráter Chebyshev del mapa soviético.

La figura 3 reproduce la memorable fotografía tomada por el "Zond 3" en la que parte del lado desconocido de la Luna se muestra ya con detalle.

La figura 4 muestra un detalle de una de las publicaciones de la NASA, un mapa basado en las fotografías logradas por el programa "Orbiter".

La situación fue entonces debatida por la Unión Astronómica Internacional durante la reunión en Praga, más exactamente por la Comisión 17 "La Lune", de la XII Asamblea General, y se llegó en un principio a un acuerdo en lo referente al criterio que debía seguirse con respecto a la nomenclatura, el cual debía, en líneas generales, ser el que la tradición y el uso han implantado en el lado visible. En cuanto a la nomenclatura misma, no existiendo aún acuerdo, se designó mediante la Resolución N° 8, un grupo de trabajo que debería presentar una propuesta para su estudio durante la siguiente Asamblea General, en 1970.

El citado grupo de trabajo fue integrado por los Profesores Donald Menzel, Presidente saliente de la Comisión 17, M. Minaert, A. Mikhailov, luego reemplazado por B. Levin, y A. Dollfus, presidente entrante de la Comisión 17.

El grupo, previa solicitud hecha a los diversos países miembros de la Unión Astronómica Internacional de elaborar listas de nombres, entre los cuales hacer la escogencia, dentro de un criterio de importancia de su trabajo científico en el campo de la Astronomía y de su significación para la humanidad aún en otros campos, presentó una lista, limitada a medio millar de nombres, acompañada de un mapa elaborado por la NASA y de las biografías resumidas de los científicos elegidos. Afortunadamente las gestiones del Observatorio Astronómico Nacional y de la Academia Colombiana de Ciencias habían culminado exitosamente en la Asamblea de Praga con la admisión de Colombia entre los países miembros de la Unión Astronómica Internacional lo que abrió del hecho la posibilidad de que nombres colombianos quedaran establecidos permanentemente en la nomenclatura lunar.

De la lista propuesta por Colombia fue escogido el nombre de Julio Garavito Armero, notable Ingeniero, Astrónomo y Matemático, Director del Observatorio desde 1891 hasta su muerte en 1920, cuyas ideas originales en el campo de la Geodesia Astronómica y trabajos en Mecánica Celeste, especialmente en lo referente al estudio del movimiento de la Luna en su órbita, han sido reconocidos internacionalmente. Correcciones a la nomenclatura y ubicación de algunos cráteres del lado visible, cercanos al limbo, y por consiguiente vistos muy oblicuamente desde la Tierra, fueron también propuestas por el grupo de trabajo, ya que las fotografías tomadas por los vehículos espaciales permiten verlos de frente.

Muchos de los nombres previamente propuestos por el Profesor Lipsky fueron conservados, como por ejemplo el citado cráter Chebysev, pero otros fueron cambiados o suprimidos, y en cuanto a los nombres adoptados por la Unión Astronómica en 1961 fue necesario cambiar la ubicación de algunos, eliminando los no existentes y aclarar alguna posible confusión asignado a tres cráteres los nombres de Sklodowska, Curie y Joliot.

La ya mencionada nomenclatura, aprobada por la Comisión 17 durante una de sus reuniones en Brighton, durante la celebración de la XIV Asamblea General de la Unión Astronómica, fue ratificada en la sesión final del 27 de agosto con el voto unánime de las naciones afiliadas, incluido naturalmente el voto colombiano.

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)

El cráter Garavito, cuya ubicación está dada por las coordenadas selenográficas latitud 48 grados al sur y longitud 157 grados al este, se encuentra, por consiguiente, en el hemisferio sur lunar, al sur del "MARE INGENII", no lejos de POINCARE, LAMARCK, VON KARMAN, PAULI, KOCH, y JULES VERNE. Es en sí un amplio cráter de un diámetro de unos ochenta kilómetros, con un cráter de menor tamaño superpuesto sobre su parte norte y algunos otros más pequeños aún superpuestos en el borde oriental.

Es así como la máxima entidad de la astronomía mundial, la Unión Astronómica Internacional, ha dado un merecidísimo reconocimiento al nombre del sabio colombiano Julio Garavito Armero, designado con su nombre, y en forma permanente, uno de los cráteres del lado opuesto de la Luna.

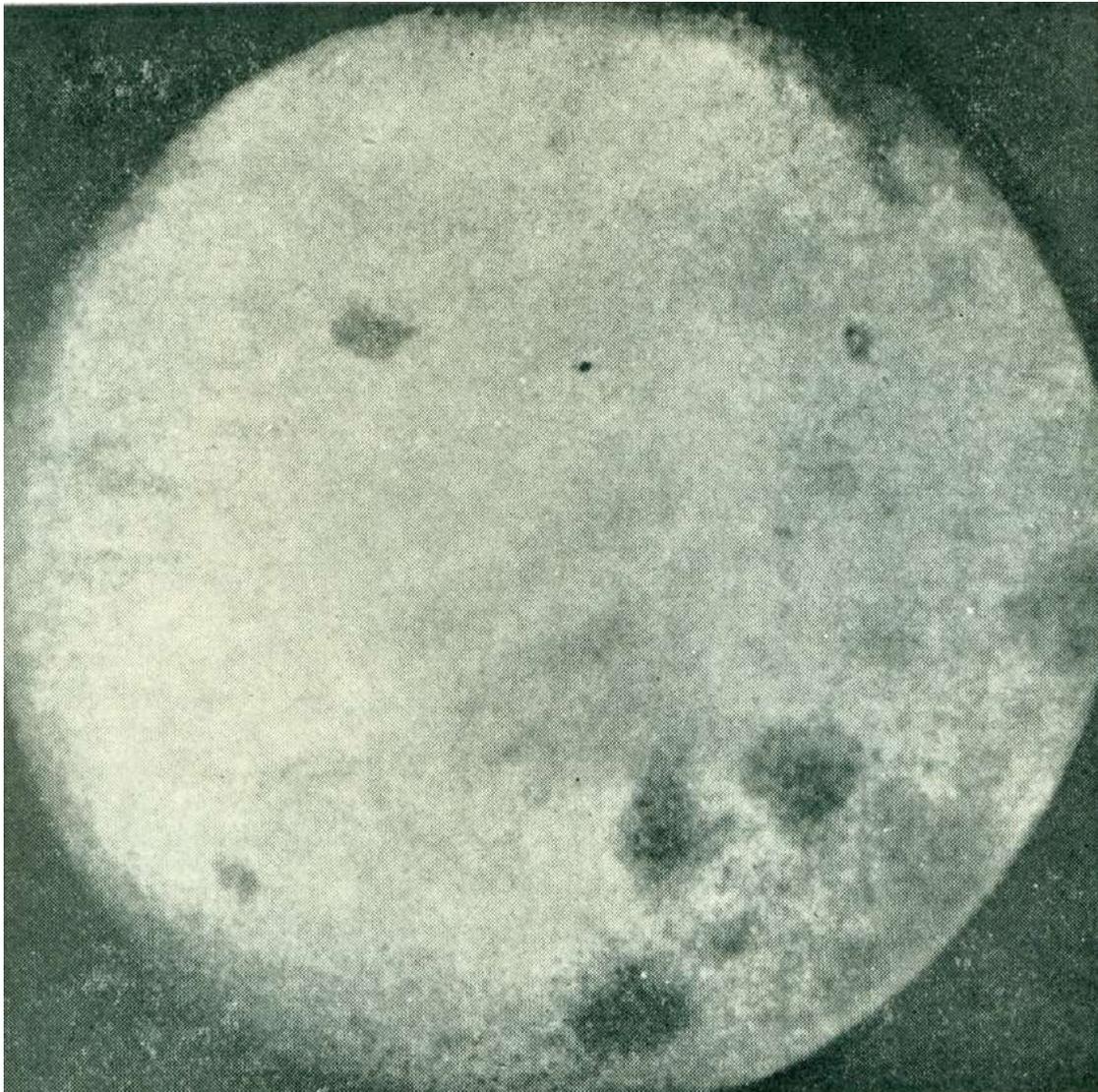


Figura 1

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)

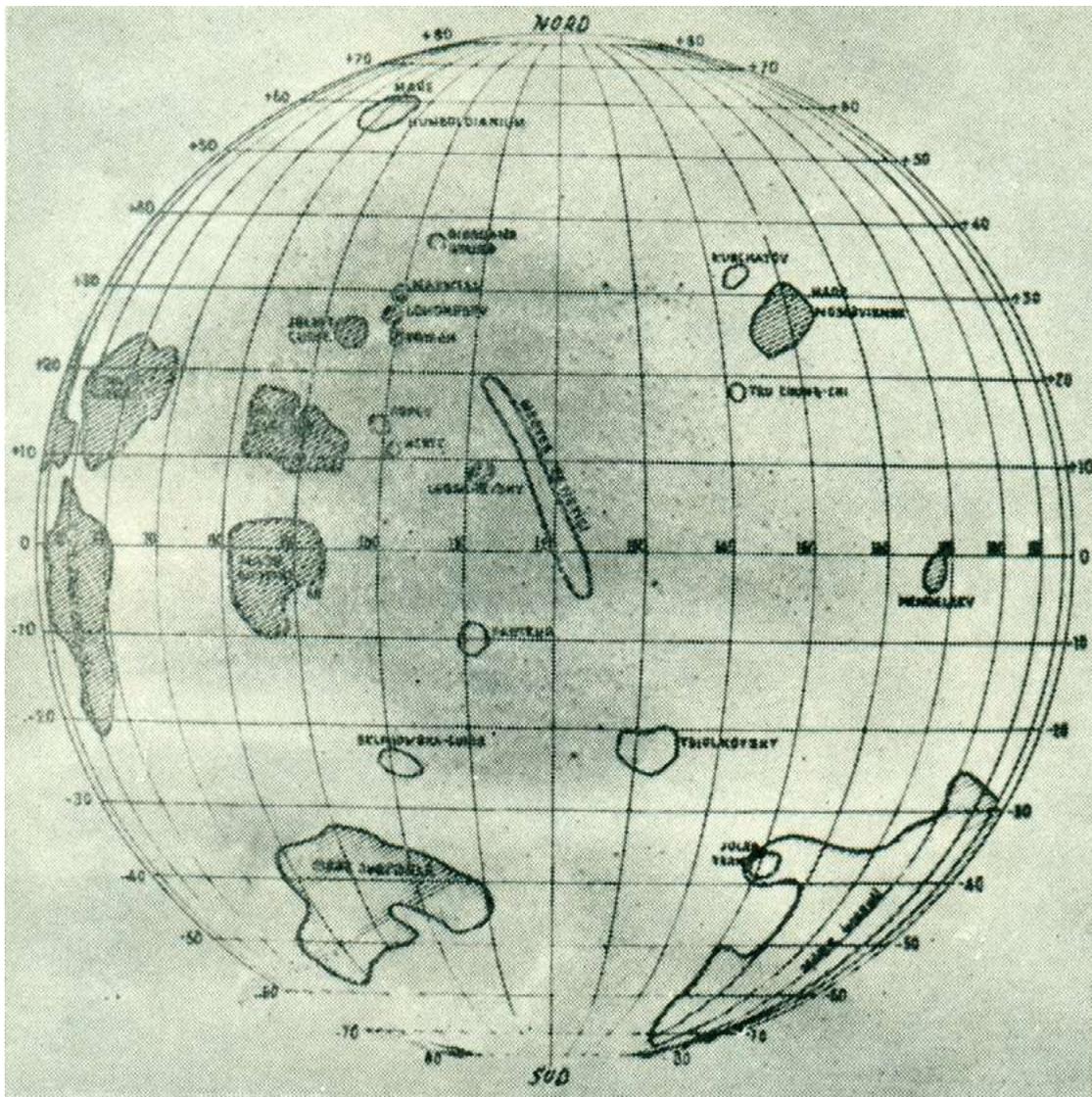


Figura 2

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)

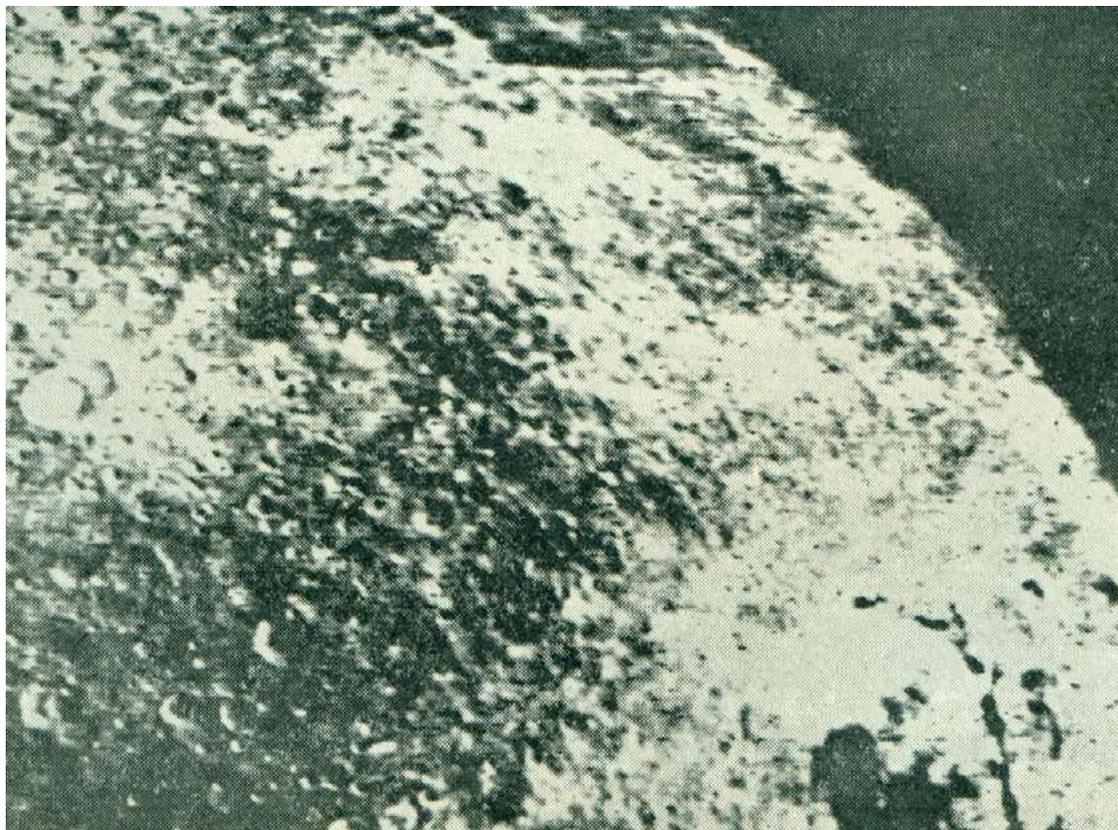
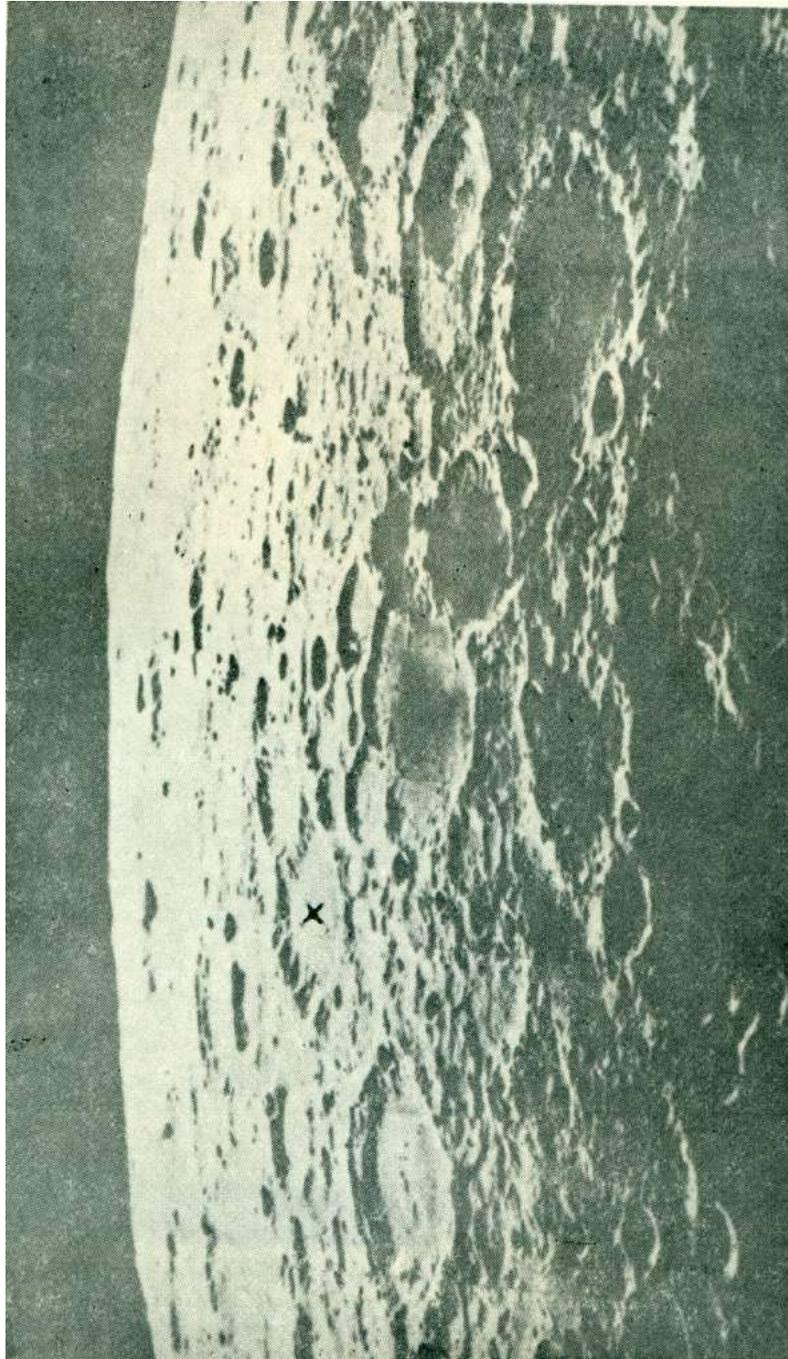


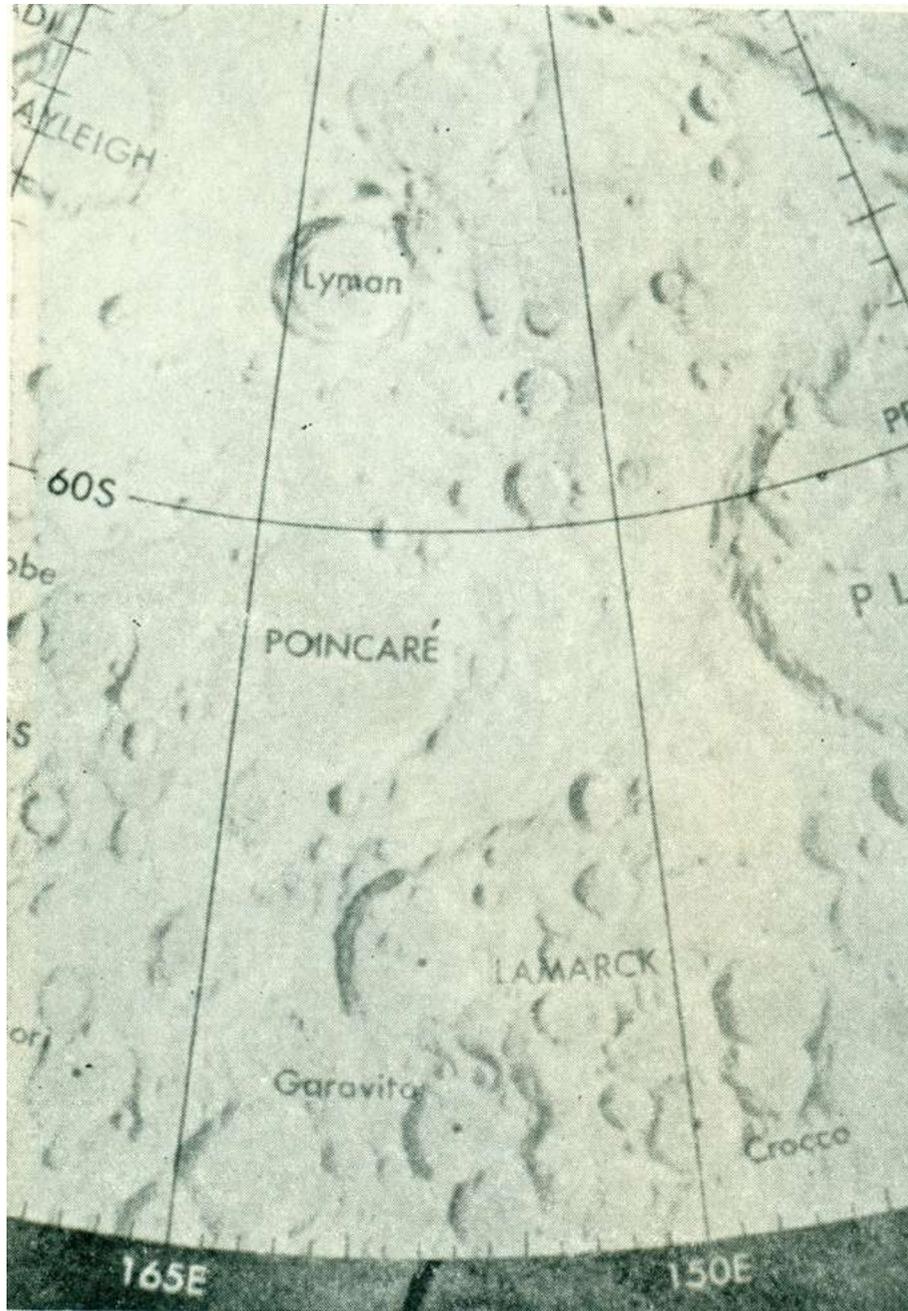
Figura 3

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)



Parte de la fotografía tomada por "Orbiter V" desde una altura de 1.191 kilómetros. Se distinguen en ella, además del cráter GARAVITO los siguientes: Poincare, Abha Hess, Boyle, Lamarck, Cajori, Von Karman, Oresme, Obruchevi, Leibnitz y parte del Mare Ingenii.

**SOCIEDAD GEOGRÁFICA DE COLOMBIA**  
**ACADEMIA DE CIENCIAS GEOGRÁFICAS**  
[www.sogeocol.edu.co](http://www.sogeocol.edu.co)



Parte del mapa de la totalidad de la Luna, elaborado en marzo de este año por ACIC, (Aeronautic Chart And Information Center, de la Fuerza Aérea Estadinense) para la NASA, sobre el cual se imprimieron los nombres propuestos a la consideración de la XIV Asamblea General de la Unión Astronómica Internacional. El mapa fue distribuido durante las sesiones de las Asambleas que se celebró en Brighton, Inglaterra, en el mes de agosto. Los 500 nombres propuestos fueron aceptados por la Asamblea.

El cráter GARAVITO aparece en el mapa de la región centrada en el polo sur de la Luna, entre los meridianos 165 E y 150 E sobre el paralelo 48 S.

Original article

## Innate trypanolytic factors in triatomine hemolymph against *Trypanosoma rangeli* and *T. cruzi*: A comparative study in eight Chagas disease vectors

### Factores tripanolíticos innatos contra *Trypanosoma rangeli* y *T. cruzi* en la hemolinfa de triatominos: un estudio comparativo en ocho especies de vectores de la enfermedad de Chagas

✉ Yazmín Suárez-Quevedo<sup>1</sup>, ✉ Hamilton Julián Barbosa-Vinasco<sup>1</sup>, ✉ Sneider Alexander Gutiérrez-Garnizo<sup>1</sup>, ✉ Jenny Lorena Olaya-Morales<sup>1</sup>, Daniel Zabala-González<sup>1</sup>,  
✉ Julio Cesar Carranza-Martínez<sup>1</sup>, ✉ Felipe Guhl-Nannetti<sup>2</sup>, ✉ Omar Cantillo-Barraza<sup>3</sup>,  
✉ Gustavo Adolfo Vallejo<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Investigaciones en Parasitología Tropical (LIPT), Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical (CIMPAT), Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Tropicales, Dirección de Sanidad Ejército, Ejército Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

## Abstract

There is limited information about the innate immunity of triatomines against *Trypanosoma rangeli*, an infectious, non-pathogenic human parasite, and *T. cruzi*, the causative agent of Chagas' disease. This study aimed at addressing this gap by studying the *in vitro* trypanolytic hemolymph activity from insects not infected by *T. rangeli* or *T. cruzi*. Eight triatomine species were examined including *Rhodnius prolixus*, *R. robustus*, *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *Triatoma dimidiata*, *T. maculata*, and *Panstrongylus geniculatus*. The hemolymph of *R. prolixus* and *R. robustus* laboratory colonies demonstrated strong trypanolytic activity during the first 14 hours of parasite incubation with 81% lysis for the *T. rangeli* C genotype, 90% for the E genotype, 95% for *T. cruzi* discrete taxonomic unit (DTU) TcII, 94% for TcV, 96% for TcVI, 94% for TcBat, and 90% for TcMarinkellei. No lysis activity was detected 14 or 24 hours after parasite incubation with the hemolymph of insects from *R. pictipes*, *R. pallescens*, *P. geniculatus*, and *T. maculata* colonies. Identical results (absence of lysis) were observed using hemolymph from *R. colombiensis* and *T. dimidiata* laboratory colonies and specimens captured in sylvatic environments. The hemolymph lytic activity against recently obtained cultures (95% decrease in live parasite count) and long-term *T. cruzi* TcII ones (96% decrease) was similar. Lytic activity was similar in hemolymph from *R. prolixus* nymphs, males and females and insects fed on chicken or mouse blood. This is the first comparative study of the trypanolytic activity of hemolymph from different triatomine species against *T. rangeli* and *T. cruzi* genotypes. Although the chemical structures of such lysis factors and the mechanisms determining their expression have not been fully determined, their identification furthers our understanding of triatomines' innate immunity and their role in *Trypanosoma* transmission.

**Keywords:** *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma rangeli*; *Rhodnius prolixus*; *Rhodnius robustus*; trypanolytic factors; vectorial ability; insect immunity

## Resumen

Hay poca información sobre la inmunidad innata de los triatominos contra *Trypanosoma rangeli*, un parásito infeccioso para el humano, aunque no patógeno, y *T. cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas. En este trabajo se buscó llenar ese vacío mediante el estudio de la

**Citation:** Suárez-Quevedo Y, Barbosa-Vinasco HJ, Gutiérrez-Garnizo SA, et al. Innate trypanolytic factors in triatomine hemolymph against *Trypanosoma rangeli* and *T. cruzi*: A comparative study in eight Chagas disease vectors. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):88-104, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.1097>

**Editor:** Luis Fernando García

**\*Corresponding autor:**  
Gustavo Adolfo Vallejo;  
gvallejo@ut.edu.co

**Received:** November 22, 2019

**Accepted:** January 20, 2020

**Published:** March 31, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

actividad tripanolítica *in vitro* de la hemolinfa de insectos no infectados con *T. rangeli* o *T. cruzi*. Se examinaron ocho especies de triatomíneos: *Rhodnius prolixus*, *R. robustus*, *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *Triatoma dimidiata*, *T. maculata*, y *Panstrongylus geniculatus*. La hemolinfa de las colonias de laboratorio de *R. prolixus* y *R. robustus* presentó una fuerte actividad tripanolítica durante las primeras 14 horas de incubación con los parásitos, evidenciando 81 y 90 % de lisis para los genotipos C y E de *T. rangeli* y 95 % para la unidad taxonómica discreta (DTU) de TcII, 94 % para TcV, 96% para TcVI, 94 % para Tcbat y 90 % para Tcmarinkellei. No se detectó lisis a las 14 ni a las 24 horas de incubación de los parásitos con las hemolinfas de colonias de laboratorio de *R. pictipes*, *R. pallescens*, *P. geniculatus* y *T. maculata*. Se registraron resultados idénticos (ausencia de lisis) con la hemolinfa de colonias de laboratorio de *R. colombiensis* y *T. dimidiata* y de especímenes capturados en ambientes selváticos. La actividad lítica de la hemolinfa fue similar en cultivos recientes de TcII (95 % de lisis) y en aquellos mantenidos por periodos prolongados (96 % de lisis). La actividad lítica de la hemolinfa de *R. prolixus* fue similar en ninfas, machos y hembras y en insectos alimentados con sangre de gallina o sangre de ratón. Este es el primer estudio comparativo de la actividad tripanolítica en la hemolinfa de diferentes especies de triatomíneos contra genotipos de *T. rangeli* y *T. cruzi*. Aunque la estructura química de los factores líticos, así como los mecanismos que determinan su expresión, aún no se han establecido completamente, su identificación permitirá comprender mejor la inmunidad innata de los triatomíneos y su papel en la transmisión de los tripanosomas.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma rangeli*; *Rhodnius prolixus*; *Rhodnius robustus*; factores tripanolíticos; Capacidad vectorial; Inmunidad en insectos.

## Introduction

*Trypanosoma rangeli*, a non-pathogenic hemoflagellate capable of infecting a variety of mammalian species, including humans, is transmitted via triatomine insects belonging to the genus *Rhodnius* (Hoare, 1972; Guhl & Vallejo, 2003). The interaction between the parasite and *Rhodnius prolixus* begins with the ingestion of blood containing trypomastigotes. Following ingestion, the parasites develop into epimastigotes in the intestine of the vector, where they come into contact with the products of blood digestion and other components of the midgut including the bacterial microbiota, hemolytic factors, lectins, the prophenoloxidase system, antimicrobial peptides, and reactive nitrogen and oxygen species (Vieira, et al., 2015). While these factors can act as biochemical barriers to *T. rangeli* infection, the parasite can still cause immunosuppression in *R. prolixus* by inhibiting processes such as phagocytosis, microaggregation of hemocytes, prophenoloxidase activation, and eicosanoid synthesis (Figueiredo, et al., 2008; García, et al., 2004a, 2004b). Five *T. rangeli* genotypes (A-E) have been identified (Maia da Silva, et al., 2007; Vallejo, et al., 2015); however, we do not know whether all genotypes are capable of crossing the intestinal cell wall in *R. prolixus*, where they multiply in the hemocoel, migrate to the salivary glands, and produce infectious metacyclic trypomastigotes to complete their life cycle.

*Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas disease, is transmitted by more than 140 species of triatomines (Galvao & Justi, 2015). Blood trypomastigotes are ingested by the vector in the intestine and then they progress to the amastigote, epimastigote, and spheromastigote developmental stages before they are finally eliminated in the feces as infectious metacyclic trypomastigotes (Vallejo, et al., 1988). All *T. cruzi* strains, which are classified into six discrete-typing units (DTU) (TcI–TcVI) (Zingales, et al., 2009, 2012), as well as the more recently identified Tcbat (Marcili, et al., 2009) and *T. cruzi marinkellei* strains (Barker, et al., 1978), remain exclusively within the intestine of the insect vector where they interact with the intestinal microbiota and counteract the effects of host defense factors such as defensins (López, et al., 2003; Vieira, et al., 2016), prolixicins (Ursic-Bedoya, et al., 2011), lysozymes (Buarque, et al., 2013; Ursic-Bedoya, et al., 2008), lectins (Pereira, et al., 1981; Mello, et al., 1996), components of the phenoloxidase cascade (Castro, et al., 2012; De Fuentes-Vicente, et al., 2016), and nitric oxide (Whitten, et al., 2007).

In a previous study, **Pulido, *et al.*** identified differential lytic activity against *T. rangeli* strains in hemolymph from *R. prolixus* colonies fed on chicken blood and maintained for 10 years in the laboratory (**Pulido, *et al.*, 2008**). Similarly, **Mello, *et al.*** showed differential trypanolytic activity against different *T. cruzi* strains in hemolymph from a 20-year-old colony of *R. prolixus* fed on citrated rabbit blood (**Mello, *et al.*, 1996**). These results indicate that *R. prolixus* can generate trypanolytic factors in hemolymph without prior exposure to *T. rangeli* or *T. cruzi*, which may have some effect on parasite development. While the factors responsible for this lytic activity have yet to be fully characterized, they are likely to be related to a systemic immune response of the vector to other microorganisms of the intestinal microbiota.

To understand the dynamics of parasite transmission, a tripartite approach focusing on triatomine-trypanosome-microbiome interactions has been proposed, which requires the integration of microbiological, genomic, ecological, bioinformatics, biochemical, and biological techniques to explain these interactions and how they may affect the transmission of trypanosomes (**Salcedo-Porras & Lowenberger, 2019**). To achieve this, it is necessary to use both wild and established triatomine colonies with different microbiota from geographically distinct locations together with *Trypanosoma* strains with different genotypes and DTUs to study innate immunity and links with the biology of trypanosomes that could be exploited to reduce parasite transmission (**Salcedo-Porras & Lowenberger, 2019**).

Our search of current literature revealed little information on the presence of innate trypanolytic factors in the hemolymph of triatomines other than *R. prolixus*. Therefore, we aimed to examine laboratory populations of five *Rhodnius* species, *Triatoma dimidiata*, *T. maculata*, and *Panstrongylus geniculatus*, as well as wild populations of *R. pallidus* and *T. dimidiata*, for the presence of innate trypanolytic factors against a range of *T. rangeli* and *T. cruzi* strains belonging to different genotypes and discrete taxonomic units (DTUs). Additionally, we studied whether the trypanolytic activity was related to the sex and stage of the insect, the time parasites are kept in culture and the time of the colonies in the laboratory. This is the first comparative study on the innate trypanolytic activity of hemolymph among different triatomine species. The results of this study provide a basis for further studies aimed at characterizing the intestinal microbiota of triatomines, which may impact the innate immunity of the vector species, and at identifying the factors responsible for the lytic activity of the hemolymph against *T. rangeli* and *T. cruzi* and their possible role in the transmission of parasites.

## Materials and methods

### *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* strains

*Trypanosoma rangeli* strains belonging to genotypes B, D, and E and *T. cruzi* strains belonging to reference DTUs TcII–TcVI were provided by Dr. Martha G. Teixeira from the Institute of Biomedical Sciences at the University of São Paulo. These strains were removed from liquid nitrogen storage and thawed. Once they arrived at the Tropical Parasitology Research Laboratory (LIPT) at the University of Tolima, they were refrozen in liquid nitrogen. Aliquots were thawed and cultured as needed. The *T. rangeli* genotype A strain (Choachi) was maintained by mouse-culture-*R. prolixus* cyclic passes every 3 months, while the genotype C strain (R. col 0226) was maintained by mouse-culture-*Rhodnius colombiensis* cyclic passes every 3 months (**Vallejo, *et al.*, 1986**). Clones of both domestic and sylvatic TcI, as well as Tcbat and *T. cruzi marinkellei* strains isolated from bats in Colombia and maintained in liquid nitrogen, were also used in this study. Additionally, TcI (MHOM/CO/03/CG) and TcII (Y) strains were maintained in ICR mice. *T. cruzi* DTUs and *T. rangeli* genotypes were confirmed using previously described molecular markers (**Souto & Zingales, 1993; Souto, *et al.*, 1996; Brisse, *et al.*, 2001; Villa, *et al.*, 2013; Vallejo, *et al.*, 2002; Maia da Silva, 2007**). For assays involving *T. cruzi*, we used 36 representative strains belonging to DTUs TcI–TcVI and Tcbat, one domestic *T. cruzi* TcI clone, and

one sylvatic *T. cruzi* TcI clone. For the assays involving *T. rangeli*, we used 23 strains representing genotypes A–E along with one *Trypanosoma leeuwenhoekii* strain (Table 1). *T. cruzi* strains were cultured at 28°C in biphasic Novy-McNeal-Nicolle/liver infusion tryptose medium supplemented with 10% fetal bovine serum while *T. rangeli* strains were cultured in biphasic Bacto™ beef medium supplemented with 10% fetal bovine serum.

**Table 1.** Strains of *T. rangeli* genotypes and *T. cruzi* DTUs used in this study

<i>T. rangeli</i> genotype or <i>T. cruzi</i> DTU	Strain	Host	Geographical origin	Lysis caused by <i>R. prolixus</i> hemolymph
<i>T. rangeli</i> A	Duran	<i>Homo sapiens</i>	Cundinamarca (Colombia)	-
<i>T. rangeli</i> A	Choachi	<i>R. prolixus</i> (domestic)	Cundinamarca (Colombia)	-
<i>T. rangeli</i> A	TrD P19	<i>R. prolixus</i> (domestic)	Norte Santander (Colombia)	-
<i>T. rangeli</i> A	TrP 500	<i>R. prolixus</i> (sylvatic)	Casanare (Colombia)	-
<i>T. rangeli</i> B	Saimiri	<i>Saimiri sciureus</i>	Manaus (Brazil)	-
<i>T. rangeli</i> C*	Ort Q 09-1	<i>Artibeus lituratus</i>	Ortega (Colombia)	+
<i>T. rangeli</i> C	Ort Q 09-2	<i>A. lituratus</i>	Ortega (Colombia)	+
<i>T. rangeli</i> C	R. col 089	<i>R. colombiensis</i>	Coyaima (Colombia)	+
<i>T. rangeli</i> C	R. col 0201	<i>R. colombiensis</i>	Coyaima (Colombia)	+
<i>T. rangeli</i> D	SC-58	<i>Echimys dasythrix</i>	Santa Catarina (Brazil)	-
<i>T. rangeli</i> E	643	<i>Platyrrinus lineatus</i>	Miranda (Brazil)	+
<i>T. leeuwenhoekii</i>	Tas 250	<i>Bradypus variegatus</i>	Pacific Region (Colombia)	+
<i>T. cruzi</i> I **	Ort 1-5	<i>R. colombiensis</i>	Ortega (Colombia)	-
<i>T. cruzi</i> I	Dm28	<i>Didelphis marsupialis</i>	Coyaima (Colombia)	-
<i>T. cruzi</i> I	833	<i>H. sapiens</i>	Pará (Brazil)	-
<i>T. cruzi</i> I	D1	<i>D. marsupialis</i>	Coyaima (Colombia)	-
<i>T. cruzi</i> I domestic clone	MHOM/CO/03/CG	<i>H. sapiens</i>	Caquetá (Colombia)	-
<i>T. cruzi</i> Id sylvatic clone	Rcol/02	<i>R. colombiensis</i>	Coyaima (Colombia)	-
<i>T. cruzi</i> II	Y	<i>H. sapiens</i>	Sao Paulo (Brazil)	+
<i>T. cruzi</i> II	139	<i>D. aurita</i>	Sao Paulo (Brazil)	+
<i>T. cruzi</i> III	MT 3663	<i>P. geniculatus</i>	Amazonas (Brazil)	-
<i>T. cruzi</i> IV	José Julio	<i>H. sapiens</i>	Amazonas (Brazil)	-
<i>T. cruzi</i> V	967	<i>H. sapiens</i>	Bolivia	+
<i>T. cruzi</i> VI	CL Brener	<i>T. infestans</i>	Rio Grande do Sul (Brazil)	+
<i>T. cruzi</i> bat	Ortq07-1	<i>Artibeus lituratus</i>	Ortega (Colombia)	+
<i>T. cruzi</i> bat	Ortq07-2	<i>A. lituratus</i>	Ortega (Colombia)	+
<i>T. cruzi</i> bat	Ortq07-3	<i>A. lituratus</i>	Ortega (Colombia)	+
<i>T. cruzi</i> bat	Ortq08-1	<i>Carollia perspicilata</i>	Ortega (Colombia)	+
<i>T. cruzi</i> bat	Cha Q 11-2	<i>A. lituratus</i>	Chaparral (Colombia)	+
<i>T. cruzi</i> bat	Cha Q 12-1	<i>C. perspicilata</i>	Chaparral (Colombia)	+
<i>T. cruzi marinkellei</i>	Cha Q 08-1	<i>Phyllostomus hastatus</i>	Chaparral (Colombia)	+
<i>T. cruzi marinkellei</i>	Cha Q 08-2	<i>P. hastatus</i>	Chaparral (Colombia)	+

\* In addition to the four strains of *T. rangeli* C described, 13 strains of the same genotype that presented lysis caused by the hemolymph of *R. prolixus* were also tested.

\*\* In addition to the six strains of *T. cruzi* I described in the table, 14 strains of this DTU that also presented resistance to lysis caused by the hemolymph of *R. prolixus* were tested.

+: Presence of lysis

### ***Triatomines***

In this study, we used fifth-instar nymphs and adults belonging to Colombian triatomine species *R. colombiensis*, *R. pallezensis*, *R. pictipes*, *R. prolixus* (domestic), *R. prolixus* (sylvatic), *R. robustus*, *T. dimidiata*, *T. maculata*, and *P. geniculatus*, which were maintained in an insectary. The insects were fed weekly on chickens and housed in incubators with a 12-h light/12-h dark photoperiod at 28°C and 80% relative humidity. Fifth-instar nymphs and adults belonging to the species *R. colombiensis* and *T. dimidiata* were also collected from sylvatic environments and used to obtain hemolymph for the analysis of their trypanolytic activity.

### ***Detection of trypanolytic activity against T. rangeli and T. cruzi in the hemolymph of triatomines***

Insects were fed on chickens 8 days before the assays. Hemolymph was collected by making a cut in the femur of the third hind leg and applying very slight abdominal pressure. Hemolymph samples from 20 individuals of each species were pooled and then centrifuged at  $14,000 \times g$  for 5 min. The resulting cell-free supernatant was used in trypanolytic activity assays performed as described previously by Pulido, *et al.* (2008). Briefly, to prevent melanization, 2  $\mu$ l of 50 mM of phenylthiourea were added to each 100- $\mu$ l volume of hemolymph. Cultures of *T. cruzi* or *T. rangeli* were washed three times with 0.9% (w/v) saline solution, centrifuged at  $7000 \times g$  for 5 min, and then resuspended in 10% (v/v) liver infusion tryptose medium. Ten microliters of hemolymph were then added to 10- $\mu$ l aliquots of parasite suspension at a final concentration of  $2.5 \times 10^7$  parasites/ml. To assess the lytic activity, live parasites were counted in a Neubauer chamber after 0 and 14 h of incubation. A negative control consisting of hemolymph inactivated with 10  $\mu$ l of pepsin solution (15 mg/ml in 1M HCl) per 100  $\mu$ l of hemolymph and incubated at 37°C for 4 h was included in all experiments. *T. rangeli* genotype C (Rcol 0226) and *T. cruzi* TcII (Y) strains were used as positive controls with both strains always lysed when incubated with hemolymph from *R. prolixus*. *T. rangeli* genotype A (Choachi) and *T. cruzi* TcI (Dm28) strains were used as negative control strains, which were not lysed when incubated with hemolymph from *R. prolixus*. For both the negative and positive controls, the parasites were resuspended at a final concentration of  $2.5 \times 10^7$  parasites/ml. All assays were carried out in triplicate.

An underlying question of this study was whether keeping the triatomine colonies in the laboratory could affect the innate lytic factors, whereby lytic activity could be lost after several generations. To address this question, we collected *R. colombiensis* and *T. dimidiata* specimens from the field and used pooled hemolymph from each species in trypanolytic activity assays with the *T. cruzi* TcII (Y) strain. All controls described above were included in these assays. The results were compared with those obtained using colonies of the same species that had been maintained in the laboratory for 5 and 20 years.

We also investigated whether the long-term maintenance of cultured epimastigotes could affect their resistance to lysis. In these assays, *R. prolixus* hemolymph was incubated with *T. cruzi* TcII strain Y obtained from recent hemoculture of mouse blood or with *T. cruzi* TcII strain Y that had been kept in culture with weekly subcultures for 4 years. We also compared the lytic activity of hemolymph from vectors fed with chicken blood or mouse blood, and from *R. prolixus* nymphs, males, and females.

### ***Ethical aspects***

The project was approved by the Central Research and Scientific Development Committee at the University of Tolima after verifying that the proposed protocols were in accordance with the ethical standards laid down in Resolution 8430 of 1993 by the Colombian Ministry of Health for the handling of laboratory animals. The technicians in care of the animals at the LIPT observed all aspects related to their maintenance following strict regulations for ensuring the animals' consistent care and handling.

### Statistical analysis

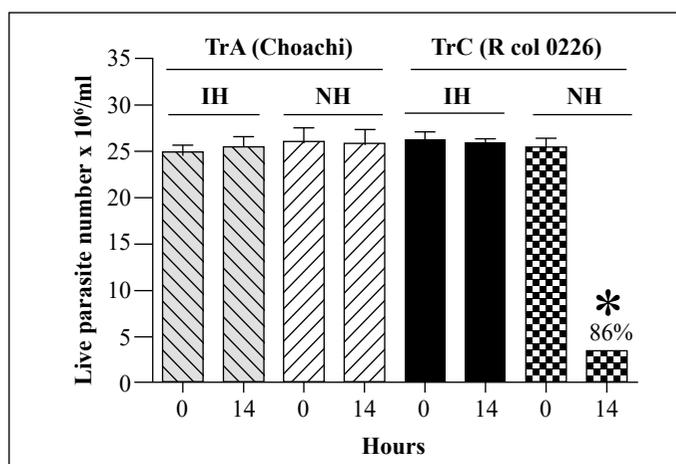
Parasite counts at 0 and 14 h of incubation are presented as means  $\pm$  standard deviation. For strains showing lysis at 14 h, the percentage of lysed cells was calculated by comparing with the number of parasites at 0 h. *T. rangeli* and *T. cruzi* strains that were not lysed at 14 h were observed for 10 h more (24 h of incubation). We conducted a one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc analysis to identify significant differences among the strains. The differences between the treatments and the controls were considered statistically significant at  $p < 0.05$ . Graphs were generated using the GraphPad Prism 5.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

## Results

### Effects of *R. prolixus* hemolymph on *T. rangeli* strains belonging to different genotypes

The effects of *R. prolixus* hemolymph on the survival of *T. rangeli* genotype A (Choachi) and genotype C (Rcol0226) strains are shown in **figure 1**. The *T. rangeli* genotype C strain showed an 86% decrease in live parasite numbers at the 14-h time point compared to those at time point 0 in the presence of native hemolymph but was not affected by incubation with the inactivated hemolymph. Instead, no changes in the live parasite counts of the *T. rangeli* genotype A strain were observed following incubation with either the inactivated or native hemolymph suggesting that it was not susceptible to the lytic effects of the hemolymph. Therefore, these two strains were used as the positive (presence of lysis) and negative (absence of lysis) controls, respectively, for all subsequent analyses of genotype B, D, and E *T. rangeli* strains.

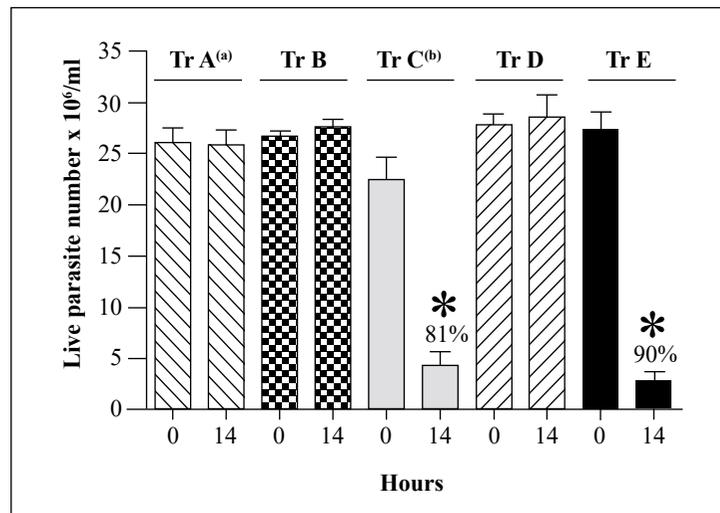
Representative strains belonging to each of the remaining *T. rangeli* genotypes (B, D, and E) were then assessed for their susceptibility to the lytic activity of the *R. prolixus* hemolymph (**Figure 2**). No significant changes in the live parasite counts of genotype A, B, and D strains were observed after 14 h of incubation with either the inactivated or native hemolymph while 81% and 90% decreases in live parasite counts were observed for genotype C and E strains, respectively, following incubation with native hemolymph. The genotype A, B, and D strains remained resistant to lysis after 24 h of incubation (**Table 2**).



**Figure 1.** *In vitro* survival of *T. rangeli* genotype A (Choachi) and C (Rcol0226) strains following incubation with hemolymph from *R. prolixus*

Each bar represents the mean  $\pm$  SD of live parasite counts from three independent assays after 0 and 14 h of incubation. Each *T. rangeli* strain was incubated with inactivated hemolymph (IH) or native hemolymph (NH).

\*:  $p < 0.05$  compared with the live parasite counts of genotypes A and C strains incubated with NH at the same time point.



**Figure 2.** Summary of *in vitro* survival of genotypes A–E of *T. rangeli* strains following incubation with native hemolymph from *R. prolixus*

Each bar represents the mean  $\pm$  SD of live parasite counts from three independent assays after 0 and 14 h of incubation with native hemolymph. *T. rangeli* genotypes A (Choachí), B (Saimiri), C (Rcol0226), D (SC58), and E (643) strains were examined.

<sup>a</sup>: Lysis resistance was observed in four genotype A *T. rangeli* strains.

<sup>b</sup>: Lysis susceptibility was observed in 17 genotype C *T. rangeli* strains. Only one strain was tested for each of B, D, and E genotypes (Table 1). The Rcol0226 and Choachí strains were used as the positive (presence of lysis) and negative (absence of lysis) controls, respectively, for analyses of genotypes B, D, and E strains.

\*:  $p < 0.05$  compared with the live parasite counts of the negative control with the native hemolymph NH at the same time point.

### Effects of *R. prolixus* hemolymph on *T. cruzi* strains belonging to different DTUs

The effects of *R. prolixus* hemolymph on the survival of *T. cruzi* TcI (Dm28) and TcII (Y) strains were then examined (**Figure 3**). No significant changes in the live parasite counts of the *T. cruzi* TcI strain were observed following incubation with either the inactivated or native hemolymph. In contrast, there was a 95% decrease in live parasite numbers of the *T. cruzi* TcII strain (Y) after 14 h of incubation with the native hemolymph compared with the counts at time point 0. As a result, *T. cruzi* TcI strain Dm28 and TcII strain Y were used as negative and positive controls, respectively, for all further assays.

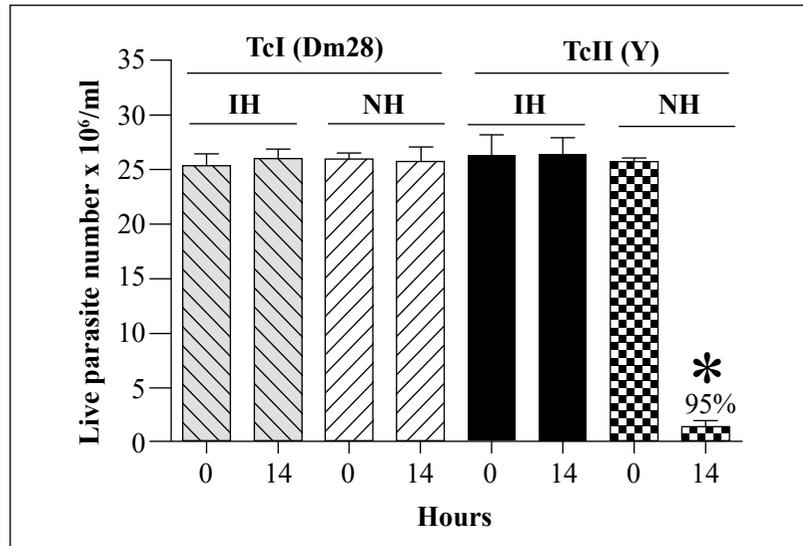
We examined then the susceptibility of the remaining *T. cruzi* strains (TcIII, TcV, TcVI, Tcbat, and Tcmarinkellei) to lysis by the hemolymph (**Figure 4**). Analysis of 20 TcI strains showed complete resistance to lysis in all cases. The TcIII strain showed only partial susceptibility to lysis with a 13% decrease in live parasite counts observed after 14 h of incubation with the native hemolymph compared with parasite counts at time point 0. In contrast, decreases in live parasite counts of 95%, 94%, 96%, 94%, and 90% were observed for the TcII, TcV, TcVI, Tcbat, and *T. cruzi marinkellei* strains, respectively, after 14 h of incubation with the native hemolymph. Interestingly, analysis of a TcIV strain (Jose Julio) revealed a high degree of agglutination but no evidence of lysis after 24 h of incubation with the native hemolymph (**Table 2**).

**Table 2** summarises the results of the hemolymph lytic activity in eight triatomine species after 24 hours of incubation with representative strains from five *T. rangeli* genotypes, seven *T. cruzi* DTUs, and a *T. cruzi* subspecies. The *T. rangeli* C and E genotype strains and the DTU TcII, TcIII, TcV, TcVI, Tcbat, and the Tcmarinkellei strains were lysed by *R. prolixus* and *R. robustus* hemolymphs. *T. rangeli* genotype A and B strains and TcI strain were not lysed. The TcIV strain became agglutinated but not lysed. It is

**Table 2.** Trypanolytic activity of hemolymph of eight triatomine species on epimastigotes of *T. rangeli* genotypes and *T. cruzi* DTUs at 24 hours of incubation

Vector species	<i>T. rangeli</i> A (Choachí)	<i>T. rangeli</i> B (Saimiri)	<i>T. rangeli</i> C Rcol0226	<i>T. rangeli</i> D SC58	<i>T. rangeli</i> E (643)	<i>T. cruzi</i> I (Dm28)	<i>T. cruzi</i> II (Y)	<i>T. cruzi</i> III (MT3663)	<i>T. cruzi</i> IV José Julio	<i>T. cruzi</i> V (967)	<i>T. cruzi</i> VI (CL Brener)	<i>T. cruzi</i> bat Ort07-1	<i>T. cruzi</i> marinkellei ChaQ 08-1
<i>Rhodnius prolixus</i> domestic-Boyacá	-	-	LYSIS	-	LYSIS	-	LYSIS	LYSIS	AGGL	LYSIS	LYSIS	LYSIS	LYSIS
<i>Rhodnius prolixus</i> Sylvatic-Casanare	-	-	LYSIS	-	LYSIS	-	LYSIS	LYSIS	AGGL	LYSIS	LYSIS	LYSIS	LYSIS
<i>Rhodnius robustus</i>	-	-	LYSIS	-	LYSIS	-	LYSIS	LYSIS	AGGL	LYSIS	LYSIS	LYSIS	LYSIS
<i>Rhodnius colombiensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodnius pallescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodnius pictipes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triatoma dimidiata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triatoma maculata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

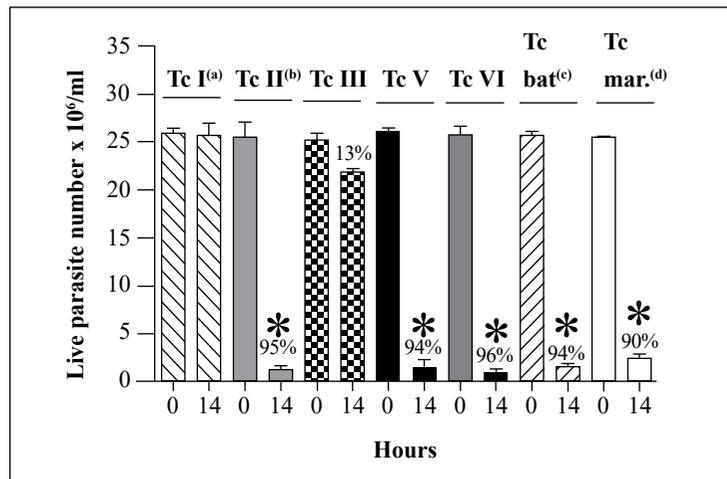
AGGL = Strong agglutination; (-) = No lysis was observed



**Figure 3.** *In vitro* survival of *T. cruzi* TcI (Dm28) and TcII (Y) strains following incubation with hemolymph from *R. prolixus*

Each bar represents the mean ± SD of live parasite counts from three independent assays after 0 and 14 h of incubation with hemolymph. Each *T. cruzi* strain was incubated with inactivated hemolymph (IH) or native hemolymph (NH).

\*: p<0.05 compared with the live parasite counts of the *T. cruzi* TcI and the TcII strains incubated with NH at the same time point



**Figure 4.** Summary of *in vitro* survival of *T. cruzi* strains belonging to six different DTUs, as well as one *T. cruzi* subspecies (*T. cruzi marinkellei*), following incubation with native hemolymph from *R. prolixus*.

Each *T. cruzi marinkellei* bar represents the mean  $\pm$  SD of live parasites counts from three independent assays after 0 and 14 h of incubation with hemolymph. TcI (Dm28), TcII (Y), TcIII (MT3663), TcV (967), TcVI (CL Brener), Tcbat (Ort07-1), and *T. cruzi marinkellei* (ChaQ 08-1) strains were examined in this assay. <sup>a</sup>, Lysis resistance was observed in 20 TcI strains. <sup>b</sup>, Lysis susceptibility was observed in two TcII strains. <sup>c</sup>, Lysis susceptibility was observed in six Tcbat strains. <sup>d</sup>, Lysis susceptibility was observed in two *T. cruzi marinkellei* strains. Only one strain was examined for each of the TcIII, TcV, and TcVI DTUs (Table 1). *T. cruzi* TcI strain Dm28 and TcII strain Y were used as negative (absence of lysis) and positive (presence of lysis) controls, respectively, for assays with TcIII, TcV, TcVI, Tcbat, and *T. cruzi marinkellei* strains. \*,  $p < 0.05$  compared with the live parasite counts of the negative controls with the native hemolymph (NH) at the same time point.

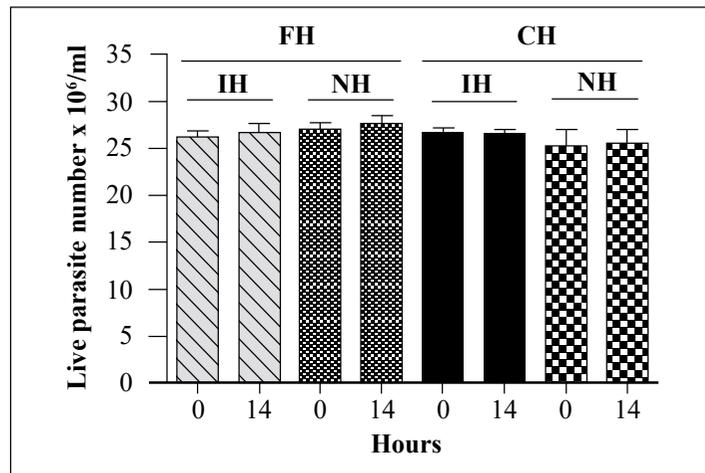
worth noting that none of the *R. colombiensis*, *R. pallescens*, *R. pictipes*, *T. dimidiata*, *T. maculate*, and *P. geniculatus* hemolymphs had lytic activity against *T. rangeli* and *T. cruzi* strains incubated in the same experimental conditions used here indicating the absence of trypanolytic activity in their hemolymphs during the first 24 hours of incubation.

#### **Comparison of hemolymph from triatomines from wild and laboratory colonies**

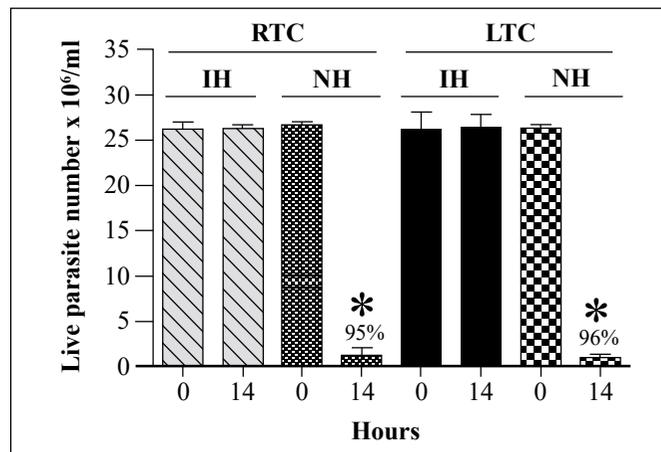
Next, we examined whether the maintenance of insects in laboratory colonies had any effect on the lytic activity of hemolymph. Hemolymph was obtained from 37 *R. colombiensis* specimens captured from palm trees in Coyaima, Colombia, in September 2018. Hemolymph was also extracted from *R. colombiensis* individuals from a colony that has been maintained in the laboratory for 5 years. Assays were conducted using *T. cruzi* TcII strain Y, which is susceptible to lysis. No significant differences in live parasite counts were observed for any of the treatments (Figure 5). Identical results (absence of lysis) were observed when the assay was repeated using hemolymph from a laboratory colony of *T. dimidiata* and specimens captured in sylvatic environments in Boyacá, Colombia, in May 2019 (data not shown).

#### **Effects of parasite culture time on susceptibility to the lytic activity of native hemolymph from *R. prolixus***

We then compared the susceptibility of recently obtained and long-term cultures of *T. cruzi* TcII strain Y to lysis by *R. prolixus* hemolymph. The first TcII strain Y isolate was obtained from recent hemoculture of mouse blood while the second isolate had been maintained in a 4-year culture with weekly subcultures. As shown in Figure 6, the lytic activity of the hemolymph against the two cultures was similar with 95% and 96% decreases in *T. cruzi* live parasite counts following incubation of native hemolymph with



**Figure 5.** *In vitro* survival of a *T. cruzi* TcII strain following incubation with hemolymph from laboratory and field-collected *R. colombiensis* insects and comparison of the number of live *T. cruzi* TcII (Y) epimastigotes following incubation with the hemolymph from *R. colombiensis* specimens captured in the field (FH) and hemolymph from *R. colombiensis* individuals from a colony maintained in the laboratory for 5 years (CH). Each bar represents the mean  $\pm$  SD of live parasite counts from two independent assays after 0 and 14 h of incubation with hemolymph. The *T. cruzi* parasites were incubated with inactivated hemolymph (IH) or native hemolymph (NH) from both populations.



**Figure 6.** *In vitro* survival of *T. cruzi* TcII epimastigotes from recent or long-term cultures following incubation with native hemolymph from *R. prolixus*. *T. cruzi* TcII strain Y isolates recently cultured (recent-term cultivation, RTC) from trypomastigotes from mouse blood or cultured for 4 years (long-term cultivation, LTC) were incubated with native hemolymph from *R. prolixus*. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of live parasite counts from three independent assays after 0 and 14 h of incubation with hemolymph. The same number of *T. cruzi* epimastigotes from the RTC and LTC cultures were incubated with inactivated hemolymph (IH) and native hemolymph (NH).  
 \*:  $p < 0.05$  compared with live parasite counts of IH and NH cultures at the same time point

recently obtained and long-term cultures, respectively. Besides, no lysis of *T. rangeli* A strain Choachí maintained either via a cyclic culture-*R. prolixus*-mouse-culture method, which allowed us to obtain recent cultures of the parasite, or by weekly subculture for 3 years, was observed following incubation with native hemolymph from *R. prolixus* (data not shown). On the other hand, lysis of *T. rangeli* C strain Rcol0226 maintained via a cyclic culture-*R. colombiensis*-mouse-culture method or by weekly subculture for 3 years was observed following incubation with *R. prolixus* native hemolymph (data not shown).

In addition to the results presented here, we also determined that the lytic activity was similar in hemolymph from vectors fed on chicken or mouse blood and in hemolymph from *R. prolixus* nymphs, males, and females.

## Discussion

The results of the study support previous reports on the existence of a rapid innate response to various *T. rangeli* genotypes and *T. cruzi* DTUs in the hemolymph of *R. prolixus*. **Sánchez, *et al.*** (2005) and **Pulido, *et al.*** (2008) showed that the epimastigotes of *T. rangeli* genotype C strains isolated from *R. colombiensis*, *R. ecuadoriensis*, and *R. pallescens* were lysed when incubated *in vitro* for 10 h with hemolymph from *R. prolixus*. In contrast, the epimastigotes of a *T. rangeli* genotype A strain were completely resistant to lysis under the same conditions. In the present work, *T. rangeli* genotype A, B, and D strains were resistant to lysis during incubation with hemolymph from *R. prolixus* for 24 h while 81% and 90% decreases in live parasite counts were observed for genotype C and E strains after 14 h of incubation with the hemolymph (**Figure 2, Table 2**).

*In vivo* assays where the hemocoel of *R. prolixus* was inoculated with *T. rangeli* genotype C strains showed the rapid disappearance of the flagellated parasite from the hemolymph of the vector (data not shown). This is consistent with the results of **Sánchez, *et al.*** (2005) regarding the complete clearance of *T. rangeli* genotype C cells from the hemolymph at 2 h post-inoculation. In contrast, inoculated *T. rangeli* genotype A cells were observed in the hemolymph of *T. rangeli* for several months with the production of infective metacyclic trypomastigotes (**Vallejo, *et al.***, 1986). As a result, this inoculation method is commonly used to obtain infective trypomastigotes of *T. rangeli* genotype A strains. Similar findings had already been reported by **Mello, *et al.*** (1995), who inoculated *T. rangeli* strain San Agustín (genotype A from Colombia) into the hemocoel of *R. prolixus*. The researchers observed the multiplication of the parasite in the hemolymph for several days with elevated levels of lysozyme activity in the hemolymph but no trypanolytic or antimicrobial peptide activity.

Under experimental conditions, *T. rangeli* genotype A strains are not lysed following inoculation into the *R. prolixus* hemocoel while genotype C strains are lysed. This innate lytic response would explain why after characterizing more than 100 *T. rangeli* strains isolated from the salivary glands of *R. prolixus* from Colombia, Honduras, and Venezuela (**Salazar-Anton, *et al.***, 2009), wild *Rhodnius neglectus* from the Federal District of Brazil (**Gurguel-Goncalves, *et al.***, 2004; **Urrea, *et al.***, 2005), wild *R. prolixus* from Casanare, Colombia (**Urrea, *et al.***, 2011), and *R. robustus* from Venezuela and Brazil were found to be genotype A (**Maia da Silva, *et al.***, 2007; **Vallejo, *et al.***, 2015). In these studies, none of the *R. prolixus*, *R. robustus* or *R. neglectus* vectors were infected with genotype C or E strains, which are susceptible to hemolymph lysis.

*Trypanosoma rangeli* genotype C strains have been isolated from wild *R. pallescens* colonies from Panamá and Colombia, from wild *R. colombiensis* colonies from central Colombia, and from domesticated *R. ecuadoriensis* in the northern region of Perú (**Urrea, *et al.***, 2005; **Vallejo, *et al.***, 2015). No trypanolytic activity was detected in the hemolymph of these vectors and no lysis was observed following experimental inoculation of a *T. rangeli* genotype A strain into the hemocoel of *R. colombiensis* and *R. pallescens*, although the parasites did not invade the salivary glands (data not shown).

The absence of lytic activity in the hemolymph of *Triatoma* and *Panstrongylus* species (*T. dimidata*, *T. maculata*, and *P. geniculatus*) in the current study (**Table 2**) coincides with the observations of **De Stefani-Marques, *et al.*** (2006), who orally infected *P. megistus*, *T. infestans*, *T. sordida*, *T. braziliensis*, and *T. vitticeps* individuals with a strain of *T. rangeli* isolated in Uberaba-Minas Gerais, Brazil, where genotype A predominates. The authors observed the parasites in the hemolymph for 10–30 days following infection without invasion of salivary glands, thus confirming the absence of lytic factors with immediate activity in these vectors.

The inability of *T. cruzi* to develop in the hemolymph of triatomine vectors was observed in *in vivo* experiments performed by **Alvarenga & Bronfen** (1982), who inoculated *T. cruzi* strains Y and CL into the hemocoel of *T. infestans* and *Dipetalogaster maxima*. They observed that the parasites could not persist in the hemolymph for more than 40 days. In comparison, **Mello, et al.** (1995) inoculated *T. cruzi* clone Dm28 into the hemocoel of *R. prolixus* and found that the parasites were completely cleared by day 5 post-inoculation suggesting that the humoral response in hemolymph from *R. prolixus* against *T. cruzi* is faster than that in hemolymph from *T. infestans* and *D. maxima*. Early and strong lytic activity was previously observed by **Mello, et al.** (1996) in *in vitro* experiments with various *T. cruzi* strains. The authors observed trypanolytic activity in the hemolymph of *R. prolixus* against *T. cruzi* strain Y but not against strains Dm28c or CL after 3 h of incubation. Thus, *T. cruzi* clearance depends on both the parasite strain and the vector species. However, the exact mechanism that causes *T. cruzi* to die in the hemocoel but thrive in the gastrointestinal tract remains unknown (**Salcedo-Porras & Lowenberger**, 2019).

Although under natural conditions *T. cruzi* does not enter the hemolymph of the vectors, we decided to use epimastigotes of *T. cruzi* belonging to various DTUs to detect the presence of trypanolytic factors related to an innate immune response in the vectors. Differences in susceptibility to lysis were observed amongst the *T. cruzi* strains belonging to different DTUs, with a TcIII strain showing a 13% decrease in live parasite numbers after 14 h of incubation, while a TcI strain remained unaffected after 24 h of incubation. We observed strong *in vitro* lytic activity during incubation of *T. cruzi* with hemolymph from *R. prolixus*, with 90%–96% decreases in live parasite counts recorded in the first 14 h of incubation (**Figure 4**). We could not determine the cause of this variability; however, susceptibility or resistance to lysis of *T. cruzi* strains belonging to different DTUs and *T. rangeli* strains belonging to different genotypes may be related to the ability of the different strains to survive the oxidative stress of the hemolymph. It is likely that the parasites that showed resistance to lysis maintain a repertoire of genes involved in oxidative stress tolerance, which would aid in survival under environmental stress conditions. The variability of the antioxidant defenses of the various *T. cruzi* and *T. rangeli* strains may reflect specific adaptations to the vector species (**Stoco, et al.**, 2014; **Beltrame-Botelho, et al.**, 2016). However, the most intriguing result of the present study was that none of the other vector species, including *R. pallescens*, *R. colombiensis*, *R. pictipes*, *T. dimidiata*, *T. maculata*, and *P. geniculatus*, showed hemolymph lytic activity against any of the *T. cruzi* or *T. rangeli* strains after 24 h of incubation (**Table 2**).

The lytic activity of hemolymph from field-collected insects and laboratory colonies of *R. colombiensis* (**Figure 5**) and of *T. dimidiata* against TcII was not observed in any of the hemolymph samples indicating that the absence of lytic activity is independent of the maintenance of colonies in the laboratory. Similarly, lytic activity tests against TcII using *R. prolixus* colonies from six different departments in Colombia (Boyacá, Casanare, Cundinamarca, Magdalena, Santander, and Tolima) showed equivalent levels of lytic activity in hemolymph from all colonies.

We also found that there was no difference in the lytic susceptibility of *T. cruzi* TcII epimastigotes recently obtained by blood culture and those maintained in culture for 4 years with weekly subcultures (**Figure 6**), which indicates that the maintenance time of epimastigotes in culture does not affect their susceptibility to lysis caused by the native hemolymph from *R. prolixus*. There were no differences either in the trypanolytic activity of hemolymph from *R. prolixus* adults (males and females) and fifth-instar nymphs or in hemolymph from insects fed on chicken or mouse blood.

A question that is yet to be resolved is whether these innate trypanolytic factors detected in the hemolymph could also be activated in the intestine to modulate the transmission of intestinal *T. cruzi* parasites. More studies are needed to address this hypothesis, identify innate trypanolytic factors, locate production sites, and determine circulation dynamics and their effector activities in different vector organs and tissues.

Regarding the possible mechanisms related to hemolymph lytic activity, it is known that prophenoloxidase system (PPO) activation leads to melanin synthesis by indolquinone polymerization. Both melanin and the intermediary products formed during its synthesis help kill bacteria, viruses, and parasites (Walters & Ratcliffe, 1983; Söderhäll & Cerenius, 1998; Cerenius, *et al.*, 2008, Azambuja, *et al.*, 2017). PPO availability in the hemolymph of the insects is derived from hemocyte lysis (Kanost and Gorman, 2008). Hemocyte lysis mainly occurs after exposure to microorganisms (Brehélin, *et al.*, 1989), but may also occur spontaneously to maintain basal prophenoloxidase (PPO) levels in hemolymph (Kanost & Gorman, 2008). Hemolymphs from the eight triatomine species were used in all the parasite incubation experiments in our study; they were hemocyte-free and treated with phenylthiourea, which would have prevented basal PPO levels activation. In principle, the lytic activity observed in *R. prolixus* and *R. robustus* hemolymph should not have been attributed to PPO activation but related to factors other than the PPO cascade.

In a previous study, it was found that *R. prolixus* hemolymph lytic factors or their precursors were proteins (Pulido, *et al.*, 2008); here, we confirmed this finding because hemolymph lytic activity disappeared completely after pepsin incubation. It can be predicted, then, that potential lytic factors or their precursors are proteins and could be antimicrobial peptides (AMP), precursors of reactive nitrogen species (NOS) or reactive oxygen species (ROS) or nitrophorins that are NOS transporters or proteins not yet identified. Proteomic and transcriptomic studies comparing vector species having or lacking lytic activity should be carried out to identify possible candidates and subsequent tests performed to confirm their role in hemolymph lytic activity.

The strategies used by *T. rangeli* and *T. cruzi* to achieve successful vector infection depend on a tripartite interaction among the parasite, the insect's immune system, and the intestinal microbiota. Experimental infection studies using different bacterial species have shown species-specific differences in the intestinal immune response of the vectors (Vieira, *et al.*, 2014). These interactions constitute an important field of research that will open new perspectives on our understanding of parasite-vector relationships. As part of this tripartite interaction, it will be very important to characterize the microbiomes of insect populations that have a very strong innate humoral response, such as that detected in *R. prolixus* and *R. robustus*. Investigations of this tripartite interaction could lead to the identification of intestinal microbial species that naturally induce an immune response in the intestine or hemolymph of the vector to avoid parasite infection. Further research is needed to identify the components of the strong differential immune response between insects having and lacking lytic activity to verify whether such factors could be involved in *T. rangeli* genotypes and *T. cruzi* DTUs' predominance in Colombia and some Latin American regions.

## Conclusions

Using *in vitro* incubations of *T. rangeli* and *T. cruzi* epimastigotes from different genotypes and DTUs with the hemolymph of eight species of triatomines, we detected strong trypanolytic activity in the hemolymph from *R. prolixus* and *R. robustus*, which was absent in that from *R. colombiensis*, *R. pallezensis*, *R. pictipes*, *T. dimidiata*, *T. maculata*, and *P. geniculatus*. The trypanolytic activity was independent of the sex and stage of the insect, the time the epimastigotes were maintenance in culture, and the type of food on which the vectors were fed (chicken or mouse blood). The absence of trypanolytic activity was observed in both laboratory colonies and field-captured insects of the species *R. colombiensis* and *T. dimidiata*. There are still gaps in our understanding of the innate immune responses of different triatomine species against the same strains of *T. cruzi* and *T. rangeli* or the same triatomine species against geographically-separated isolates of *T. cruzi* and *T. rangeli*. Interactions between triatomines and trypanosomes involve complex ecological, biochemical, and coevolutionary relationships that are just beginning to be

investigated. Understanding the factors that determine how a vector is infected and how the parasite is transmitted is key to the success of control programs targeting Chagas disease vectors; unfortunately, most of these factors are unknown. Therefore, it is vital to investigate the ecological, physiological, and immunological factors that determine how and why the vectors transmit some genotypes of the parasite and others do not.

## Acknowledgments

This work was funded by the Colombian Science, Technology and Innovation Department (*Colciencias*) (grant number 110551929038) and the University of Tolima Research Fund (grant numbers 410010, 430111, and 750213). The authors would like to thank Dr. Marta M. G. Teixeira from the *Universidade de São Paulo*, Brazil, for kindly providing various *T. cruzi* DTU and *T. rangeli* genotype reference strains. We are grateful to Dr. Victor Manuel Angulo Silva from the *Universidad Industrial de Santander*, Colombia, for providing *P. geniculatus* to establish a colony in the LIPT and to Dr. Jairo Alfonso Clavijo from the Mathematics and Statistics Department, *Universidad del Tolima*, for helping with the statistical analysis. We thank Tamsin Sheen, PhD, from the Edanz Group ([www.edanzediting.com/ac](http://www.edanzediting.com/ac)) and Jason Garry for editing a draft of this manuscript.

## Author Contributions

Conceptualization: YSQ, JCCM, FGN, GAV. Data curation and Formal analysis: YSQ, HJBV, SAGG, JLOM, DZG, JCCM, GAV. Funding acquisition: YSQ, JCCM, GAV. Investigation: YSQ, HJBV, SAGG, JLOM, DZG, FGN, OCB, JCCM, GAV. Methodology: YSQ, GAV. Project administration: JCCM, GAV. Technical and biological resources: YSQ, FGN, OCB, JCCM, GAV. Supervision: JCCM, GAV. Writing—original draft: YSQ, GAV. Writing—review&editing: YSQ, HJBV, SAGG, JLOM, DZG, FGN, OCB, JCCM, GAV.

## Conflicts of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest related to the contents of this article.

## References

- Alvarenga, N.J. & Bronfen, E. (1982). Incapacity of the evolution of *Trypanosoma cruzi* in the mesocele of triatomids. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **77**(4): 431-6. Portuguese.
- Azambuja, P., García, E.S., Waniek, P.J., Vieira, C.S., Figueiredo, M.B., Gonzalez, M.S., Mello, C.B., Castro, D.P., Ratcliffe, N.A. (2017). *Rhodnius prolixus*: From physiology by Wigglesworth to recent studies of immune system modulation by *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *J Insect Physiol*. **97**: 45-65. Doi: 10.1016/j.jinsphys.2016.11.006
- Baker, J.R., Miles, M.A., Godfrey, D.G., Barrett, T.V. (1978). Biochemical characterization of some species of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) from bats (Microchiroptera). *Am J Trop Med Hyg*. **27**(3): 483-91.
- Beltrame-Botelho, I.T., Talavera-López, C., Andersson, B., Grisard, E.C., Stoco, P.H. (2016). A Comparative In Silico Study of the Antioxidant Defense Gene Repertoire of Distinct Lifestyle Trypanosomatid Species. *Evol Bioinform Online*. **12**: 263-275.
- Brehélin, M., Drift, L., Baud, L., Boemare, N. (1989). Insect haemolymph: Cooperation between humoral and cellular factors in *Locusta migratoria*. *Insect Biochem*. **19**: 301-309.
- Brisse, S., Verhoef, J., Tibayrenc, M. (2001). Characterisation of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further support the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. *Int J Parasitol*. **31** (11): 1218-26. Doi: 10.1016/S0020-7519(01)00238-7
- Buarque, D.S., Braz, G.R., Martins, R.M., Tanaka-Azevedo, A.M., Gomes, C.M., Oliveira, F.A., Schenkman, S., Tanaka, A.S. (2013). Differential expression profiles in the midgut of *Triatoma infestans* infected with *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl. Trop. Dis*. **5**: e61203.
- Castro, D.P., Moraes, C.S., Gonzalez, M.S., Ratcliffe, N.A., Azambuja, P., Garcia, E.S. (2012). *Trypanosoma cruzi* immune response modulation decreases microbiota in *Rhodnius prolixus* gut and is crucial for parasite survival and development. *PLoS One*. **7**: e36591.

- Cerenius, L., Lee, B.L., Söderhäll, K. (2008). The proPO-system: Pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends Immunol.* **29**: 263-271. Doi: 10.1016/j.it.2008.02.009.
- De Fuentes-Vicente, J.A., Cabrera-Bravo, M., Enríquez-Vara, J.N., Bucio-Torres, M.I., Gutiérrez-Cabrera, A.E., Vidal-López, D.G., Martínez-Ibarra, J.A., Salazar-Schettino, P.M., Córdoba-Aguilar, A. (2016). Relationships between altitude, triatomine (*Triatoma dimidiata*) immune response and virulence of *Trypanosoma cruzi*, the causal agent of Chagas' disease. *Med. Vet. Entomol.* **31**: 63-71.
- De Stefani-Márquez, M.D., Rodrigues-Ottaiano, C., Mônica Oliveira, R., Pedrosa, A.L., Cabrine-Santos, M., Lages-Silva, E., Ramírez, L.E. (2006). Susceptibility of different triatomine species to *Trypanosoma rangeli* experimental infection. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **6** (1): 50-56.
- Figueiredo, M.B., Genta, F.A., Garcia, E.S., Azambuja, P. (2008). Lipid mediators and vector infection: *Trypanosoma rangeli* inhibits *Rhodnius prolixus* hemocyte phagocytosis by modulation of phospholipase A2 and PAF-acetylhydrolase activities. *J Insect Physiol.* **54**: 1528-37.
- Galvão, C. & Justi, S.A. (2015). An overview on the ecology of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Trop.* **151**: 116-25. Doi: 10.1016/j.actatropica.2015.06.006.
- García, E.S., Machado, E.M., Azambuja, P. (2004a). Inhibition of hemocyte microaggregation reactions in *Rhodnius prolixus* larvae orally infected with *Trypanosoma rangeli*. *Exp Parasitol.* **107**: 31-8.
- García, E.S., Machado, E.M., Azambuja, P. (2004b). Effects of eicosanoid biosynthesis inhibitors on the prophenoloxidase-activating system and microaggregation reactions in the hemolymph of *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma rangeli*. *J Insect Physiol.* **50**: 157-65.
- Guhl, F. & Vallejo, G.A. (2003). *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920: An updated review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **98**(4): 435-42.
- Gurgel-Gonçalves, R., Ramalho, E.D., Duarte, M.A., Palma, A.R., Abad-Franch, F., Carranza, J.C., Cuba-Cuba, C.A. (2004). Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* **46** (6):323-30.
- Hoare, C.A. (1972). The trypanosomes of mammals: A zoological monograph. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 749 p.p.
- Kanost, M.R., Gorman, M.J. (2008). Phenoloxidases in insect immunity. In: Beckage, N. (Ed.), *Insect Immunology*. Academic Press/Elsevier, San Diego, p. 69-96.
- López, L., Morales, G., Ursic, R., Wolff, M., Lowenberger, C. (2003). Isolation and characterization of a novel insect defensin from *Rhodnius prolixus*: A vector of Chagas disease. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **33**: 349-447.
- Maia Da Silva, F., Junqueira, A.C., Campaner, M., Rodrigues, A.C., Crisante, G., Ramírez, L.E., Caballero, Z.C., Monteiro, F.A., Coura, J.R., Añez, N., Teixeira, M.M. (2007). Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors. *Mol Ecol.* **16** (16): 3361-73.
- Marcili, A., Lima, L., Cavazzana, M., Junqueira, A.C., Veludo, H.H., Maia Da Silva, F., Campaner, M., Paiva, F., Nunes, V.L., Teixeira, M.M. (2009). A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology.* **136** (6): 641-55.
- Mello, C.B., García, E.S., Ratcliffe, N.A., Azambuja, P. (1995). *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*: Interplay with hemolymph components of *Rhodnius prolixus*. *J Invertebr Pathol.* **65** (3): 261-8.
- Mello, C.B., Azambuja, P., Garcia, E.S., Ratcliffe, N.A. (1996). Differential *in vitro* and *in vivo* behavior of three strains of *Trypanosoma cruzi* in the gut and hemolymph of *Rhodnius prolixus*. *Exp. Parasitol.* **82**: 112-121.
- Pereira ME, Andrade AF, Ribeiro JM. (1981). Lectins of distinct specificity in *Rhodnius prolixus* interact selectively with *Trypanosoma cruzi*. *Science.* **211**: 597-600.
- Pulido, X.C., Pérez, G., Vallejo, G.A. (2008). Preliminary characterization of a *Rhodnius prolixus* hemolymph trypanolytic protein, this being a determinant of *Trypanosoma rangeli* KP1(+) and KP1(-) subpopulations' vectorial ability. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* **103** (2): 172-179.
- Salazar-Antón, F., Urrea, D.A., Guhl, F., Arévalo, C., Azofeifa G., Urbina A., Blandón-Naranjo, M. Sousa, O.E., Zeledón, R., Vallejo, G.A. (2009). *Trypanosoma rangeli* genotypes association with *Rhodnius prolixus* and *R. pallescens* allopatric distribution in Central America. *Infection, Genetics and Evolution.* **9**: 1306-1310.

- Salcedo-Porras, N. & Lowenberger, C.** (2019). The innate immune system of kissing bugs, vectors of chagas disease. *Dev Comp Immunol.* **98**: 119-128. Doi: 10.1016/j.dci.2019.04.007.
- Sánchez, I.P., Pulido, X.C., Carranza, J.C., Triana, O., Vallejo, G.A.** (2005). Inmunidad Natural de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) frente a la infección con *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* KP1(-) aislados de *Rhodnius pallescens*, *R. colombiense* y *R. ecuadoriense*. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas.* **17**: 108-118.
- Söderhäll, K. & Cerenius, L.** (1998). Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Curr Opin. Immunol.* **10**: 23-28
- Souto, R.P. & Zingales, B.** (1993). Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence. *Mol Biochem Parasitol.* **62** (1): 45-52. Doi: /10.1016/0166-6851(93)90176-X
- Souto, R.P., Fernandes, O., Macedo, A.M., Campbell, D.A., Zingales, B.** (1996). DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol.* **83** (2): 141-52. Doi: 10.1016/S0166-6851(96) 02755-7
- Stoco, P.H., Wagner, G., Talavera-Lopez, C., Gerber, A., Zaha, A., Thompson, C.E., Bartholomeu, D.C., Lückemeyer, D.D., Bahia, D., Loreto, E., Prestes, E.B., Lima, F.M., Rodrigues-Luiz, G., Vallejo, G.A., Filho, J.F., Schenkman, S., Monteiro, K.M., Tyler, K.M., Almeida, L.G., Ortiz, M.F., Chiurillo, M.A., Moraes, M.H., Cunha Ode. L., Mendonça-Neto, R., Silva, R., Teixeira, S.M., Murta, S.M., Sincero, T.C., Mendes, T.A., Urmenyi, T.P., Silva, V.G., Da Rocha, W.D., Andersson, B., Romanha, A.J., Steindel, M., Vasconcelos, A.T., Grisard, E.C.** (2014). Genome of the Avirulent Human-Infective Trypanosome-*Trypanosoma rangeli*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **8** (9): e3176. Doi: 10.1371/journal.pntd.0003176
- Urrea, D.A., Carranza, J.C., Cuba-Cuba, C.A., Gurgel-Gonçalves, R., Guhl, F., Schofield, C.J., Triana O., Vallejo, G.A.** (2005). Molecular characterisation of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriense* in Perú, *R. colombiense* in Colombia and *R. pallescens* in Panamá supports a co-evolutionary association between parasites and vectors. *Infection, Genetics and Evolution.* **5** (2): 123-129.
- Urrea, D.A., Herrera, C.P., Falla, A., Carranza, J.C., Cuba-Cuba, C., Triana-Chávez, O., Grisard, E.C., Guhl, F., Vallejo, G.A.** (2011). Sequence analysis of the spliced-leader intergenic region (SL-IR) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriense*, *R. colombiense*, *R. pallescens* and *R. prolixus* suggests a degree of co-evolution between parasites and vectors. *Acta Tropica.* **120**: 59-66.
- Ursic-Bedoya, R.J., Nazzari, H., Cooper, D., Triana, O., Wolff, M., Lowenberger, C.** (2008). Identification and characterization of two novel lysozymes from *Rhodnius prolixus*, a vector of Chagas disease. *J. Insect. Physiol.* **54**: 593-603.
- Ursic-Bedoya, R., Buchhop, J., Joy, J.B., Durvasula, R., Lowenberger, C.** (2011). Prolixicin: A novel antimicrobial peptide isolated from *Rhodnius prolixus* with differential activity against bacteria and *Trypanosoma cruzi*. *Insect. Mol. Biol.* **20**: 775-786.
- Vallejo, G. A., Marinkelle, C. J., Guhl, F., de Sánchez, N.** (1986). Mantenimiento en el laboratorio de *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. *Revista de biología tropical.* **34** (1): 75-81.
- Vallejo, G.A., Marinkelle, C.J., Guhl, F., de Sánchez, N.** (1988). Behavior of the infection and morphologic differentiation of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the intestine of the vector *Rhodnius prolixus*. *Rev Bras Biol.* **48** (3): 577-87. Spanish.
- Vallejo, G.A., Guhl, F., Carranza, J.C., Lozano, L.E., Sánchez, J.L., Jaramillo, J.C., Gualtero, D., Castañeda, N., Silva, J.C., Steindel, M.** 2002. kDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. *Acta Trop.* **81** (1): 77-82.
- Vallejo, G.A., Suárez, Y., Olaya, J.L., Gutiérrez, S.A., Carranza, J.C.** (2015). *Trypanosoma rangeli*: un protozoo infectivo y no patógeno para el humano que contribuye al entendimiento de la transmisión vectorial and la infección por *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Chagas' disease. *Rev. Acad. Col. Cienc. Exac. Fis. Nat.* **39** (150): 111-122.
- Vieira, C.S., Waniek, P.J., Mattos, D.P., Castro, D.P., Mello, C.B., Ratcliffe, N.A., García, E.S., Azambuja, P.** (2014). Humoral responses in *Rhodnius prolixus*: Bacterial feeding induces differential patterns of antibacterial activity and enhances mRNA levels of antimicrobial peptides in the midgut. *Parasit Vectors.* **7**: 232. Doi: 10.1186/1756-3305-7-232
- Vieira, C.S., Mattos, D.P., Waniek, P.J., Santangelo, J.M., Figueiredo, M.B., Gumiel, M., da Mota, F.F., Castro, D.P., Garcia, E.S., Azambuja, P.** (2015). *Rhodnius prolixus* interaction with *Trypanosoma rangeli*: Modulation of the immune system and microbiota population. *Parasit Vectors.* **8**: 135. Doi: 10.1186/s13071-015-0736-2

- Vieira, C.S., Waniek, P.J., Castro, D.P., Mattos, D.P., Moreira, O.C., Azambuja, P.** (2016). Impact of *Trypanosoma cruzi* on antimicrobial peptide gene expression and activity in the fat body and midgut of *Rhodnius prolixus*. *Parasit.Vectors.* **9**: 119. Doi: 10.1186/s13071-016-1398-4
- Villa, L.M., Guhl, F., Zabala, D., Ramírez, J.D., Urrea, D.A., Hernández, D.C., Cucunubá, Z., Montilla, M., Carranza, J.C., Rueda, K., Trujillo, J.E., Vallejo, G.A.** (2013). The identification of two *Trypanosoma cruzi* I genotypes from domestic and sylvatic transmission cycles in Colombia based on a single polymerase chain reaction amplification of the spliced-leader intergenic region. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **108** (7): 932-5. Doi: 10.1590/0074-0276130201
- Walters, J. & Ratcliffe, N.A.** (1983). Studies on the *in vivo* cellular reactions of insects: Fate of pathogenic and non-pathogenic bacteria in *Galleria mellonellanodules*. *J Insect Physio.* **29**: 417-424. Doi: 10.1016/0022-1910(83)90069-0
- Whitten, M., Sun, F., Tew, I., Schaub, G., Soukou, C., Nappi, A., Ratcliffe, N.** (2007). Differential modulation of *Rhodnius prolixus* nitric oxide activities following challenge with *Trypanosoma rangeli*, *Trypanosoma cruzi* and bacterial cell wall components. *Insect Biochem. Molec. Biol.* **37**: 440-452.
- Zingales, B., Andrade, S.G., Briones, M.R., Campbell, D.A., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A.M., Machado, C.R., Miles, M.A., Romanha, A.J., Sturm, N.R., Tibayrenc, M., Schijman, A.G.** (2009). Second Satellite Meeting. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: Second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **104** (7): 1051-4.
- Zingales, B., Miles, M.A., Campbell, D.A., Tibayrenc, M., Macedo, A.M., Teixeira, M.M., Schijman, A.G., Llewellyn, M.S., Lages-Silva, E., Machado, C.R., Andrade, S.G., Sturm, N.R.** (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol.* **12** (2): 240-53. Doi: 10.1016/j.meegid.2011.12.009

Review article

## The effect of aminoglycosides on horizontal gene transfer in *Klebsiella pneumoniae*

### El efecto de los aminoglucósidos sobre la transferencia horizontal de genes en *Klebsiella pneumoniae*

✉ Iván Camilo Acosta<sup>1,2</sup>, ✉ Leonardo Posada<sup>1</sup>, ✉ Mónica Gabriela Huertas<sup>1,3</sup>,  
✉ María Mercedes Zambrano<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Corporación Corpogen, Bogotá D.C., Colombia

<sup>2</sup> Centro Nacional de Biotecnología, Madrid, España

<sup>3</sup> Universidad El Bosque, Bogotá D.C., Colombia

María Mercedes Zambrano, Inaugural article for admission as a corresponding member to the Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

#### Abstract

Antibiotic-resistant bacteria represent a global risk to public health. Horizontal gene transfer, a common mechanism for genetic exchange in bacteria, plays an essential role in the acquisition of resistance genes. In this work, we evaluated the effect of sub-lethal concentrations of antibiotics on plasmid transfer by conjugation and transformation in the opportunistic pathogen *Klebsiella pneumoniae*. Despite not being naturally competent, this bacterium could acquire extracellular DNA from various plasmids at a very low frequency, which increased upon incubating cells with the aminoglycoside antibiotics amikacin and gentamicin. Transfer by conjugation analyzed using a clinical isolate carrying plasmid pNDM-1 also increased in the presence of sub-lethal concentrations of antibiotics. An RNAseq analysis showed differential expression of several genes when cells were incubated in the presence of sub-lethal concentrations of amikacin suggesting metabolic and regulatory changes, as well as alteration of cell envelope components that could affect the uptake of foreign DNA. These results suggest that sub-lethal concentrations of some aminoglycosides, in particular amikacin, can promote the transfer of resistance-bearing genetic elements in *K. pneumoniae*, which is relevant for understanding the spread of resistance determinants in this human pathogen.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*; Horizontal gene transfer; Antibiotic resistance, aminoglycosides.

#### Resumen

Las bacterias resistentes a antibióticos representan un riesgo global para la salud pública. La transferencia horizontal de genes, que permite el intercambio de material genético en bacterias, tiene un papel importante en la adquisición de genes de resistencia. En este trabajo se evaluó el efecto de concentraciones subletales de antibióticos en la transferencia de plásmidos por conjugación y transformación en el patógeno oportunista *Klebsiella pneumoniae*. Aunque esta bacteria no es naturalmente competente, mostró capacidad para adquirir ADN extracelular de diversos plásmidos con muy baja frecuencia, la cual aumentó al incubar células con los antibióticos aminoglucósidos amikacina y gentamicina. La transferencia por conjugación, que se hizo con un aislamiento clínico portador del plásmido pNDM-1, también aumentó en presencia de concentraciones subletales de antibióticos. Un análisis de RNA-Seq evidenció la expresión diferencial de varios genes al incubar células en presencia de concentraciones subletales de amikacina, lo que indica cambios metabólicos, regulatorios y a nivel de componentes de la envoltura celular. Estos resultados revelan que la incubación en concentraciones subletales de algunos aminoglucósidos, en particular la amikacina, pueden alterar las propiedades celulares y promover la transferencia de elementos genéticos portadores de resistencias en *K. pneumoniae*, lo cual tiene relevancia para entender la diseminación de genes de resistencia en este patógeno humano.

**Palabras clave:** *Klebsiella pneumoniae*; Transferencia horizontal de genes; Resistencia a antibióticos, aminoglucósidos.

**Citation:** Acosta IC, Posada L, Huertas MG, Zambrano MM. The effect of aminoglycosides on horizontal gene transfer in *Klebsiella pneumoniae*. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):105-120, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.985>

**Editor:** Elizabeth Castañeda

**\*Corresponding autor:**  
María Mercedes Zambrano;  
[mzambrano@corpogen.org](mailto:mzambrano@corpogen.org)

**Received:** September 11, 2019

**Accepted:** February 10, 2020

**Published:** March 31, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

## Introduction

Antibiotics have undoubtedly improved health and life expectancy and have revolutionized modern medicine. These medications allow the control of previously untreatable bacterial infections and have increased the therapeutic success of high-risk medical interventions such as surgeries and chemotherapies. Despite their great success, we are currently facing a crisis due to the emergence of antibiotic-resistant microorganisms that represent a risk to global human health and, thus, require immediate measures to prevent therapeutic failure and ensure a continuous and effective treatment of bacterial infections.

The worldwide menace posed by resistant pathogens has led to the definition of strategies for the comprehensive management of antibiotic resistance (**World Health Organization-WHO**, 2016). One of the priorities is centered on the control of healthcare-associated infections, particularly when multidrug-resistant (MDR) microorganisms are involved (**Ventola**, 2015). Some of the pathogens that are critical in hospitals include methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus* species resistant to vancomycin, and Enterobacteria such as *Klebsiella pneumoniae* (Kpn), *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter*. Besides limiting therapeutic options, antimicrobial resistance also represents an economic burden to health systems in general as it increases the costs associated with treatment both at the global and local scales (**Barrero**, 2014; **Cosgrove**, 2006; **Ortiz-Mayorga**, 2019). In Colombia, the prevalence and dissemination of antimicrobial resistance in hospitals has also led to proposals aimed at controlling resistant pathogens using strategies that include early detection, surveillance, and the prudent use of antibiotics (**Leal**, 2016; **Ministerio de Salud**, 2018; **Rada**, 2019).

Although we know today that antibiotic resistance is inevitable (**Ventola**, 2015), certain conditions can accelerate the selection of resistant microbes. The excessive and inappropriate use of antimicrobials for human health, agriculture, and industry (**Carlet**, 2012) has increased the amount of these drugs in the environment where they can impose selective pressure on bacteria as they adapt to survive, generating conditions for the selection of resistance. The combination of resistance and virulence factors, cell determinants that allow a microbe to cause disease, can be particularly lethal, especially when dealing with MDR bacteria (**Rodríguez-Rojas**, 2013). Besides the inadequate use of antimicrobials, today we face a scarcity of promising new drugs and lead compounds in the development pipeline (**Pendleton**, 2013). The high costs of discovery, coupled with the low economic returns and strict regulatory requirements, have reduced interest in the development of novel antimicrobial compounds (**Ventola**, 2015).

Microorganisms and their antibiotic resistance genes (ARG) are ubiquitous and diverse (**Allen**, 2010). Many studies on ARGs present in natural environments have been done using metagenomics in which analysis of genes and genomes replaces the culturing of microorganisms. This approximation can provide information on both the taxonomic profiles and the metabolic repertoire of the microbial communities studied. Based on these analyses, we know that ARGs are present in intact and relatively pristine ecosystems such as the ancestral permafrost (**D'Costa**, 2011), Alaskan soils and cave communities (**Allen**, 2009; **Bhullar**, 2012), as well as in the human microbiome and in more heavily contaminated sites such as lakes, rivers, and wastewater treatment plants (**Marti**, 2014; **Posada-Perlaza**, 2019; **Rizzo**, 2013).

Antimicrobial resistance is gained either by mutations or by the acquisition of genes via horizontal gene transfer (HGT). Microorganisms have the genomic plasticity and capacity to access genetic material from other microbes and share genes, such as ARGs (**Gaze**, 2013). The transfer of genetic information among bacteria is facilitated by mobile genetic elements like plasmids, transposons, and bacteriophages. In fact, the spread of plasmids bearing ARGs has been known to occur in hospital settings for many years (**Landecker**, 2016). More recently, resistance has spread and affected the treatment of hospital-acquired infections, such as the Kpn carbapenemase (KPC) in the United States (**Venkatachalam**, 2012) and the New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1 (NDM-1). These genes confer resistance

to  $\beta$ -lactam antibiotics and in the majority of cases have been identified in mobile genetic elements that also carry resistance to other antibiotics, such as aminoglycosides and fluoroquinolones (Pendleton, *et al.*, 2013). Recent studies in Colombia have identified an increase in the distribution and dissemination of  $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria (Rada, *et al.*, 2019), the isolation of Kpn strains harboring the KPC carbapenemase (Hawser, 2009; Jones, 2013; Rojas, 2013), and the high risk associated with carbapenem-resistant strains (Cienfuegos-Gallet, 2019). The spread of resistance associated with transposons in enterobacteria (Cuzon, 2013) and the outbreaks of Kpn strains carrying conjugative plasmids with NDM-1 that can be easily transferred between bacteria have also been reported (Escobar-Pérez, 2013).

The Gram-negative bacterium Kpn can be found in the environment as well as in healthy individuals but is nonetheless an important cause of community and hospital-acquired infections. This microorganism is part of the ESKAPE group of pathogens, which includes *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa*, and *Enterobacter* spp., known for their ability to escape the effects of commonly used antibiotics (Pendleton, *et al.*, 2013). It is estimated that Kpn is the cause of a significant amount of hospital-acquired infections in the Western world that can result in hepatic abscesses, septicemia, and respiratory and urinary infections, among others (Shon, 2013). This opportunistic pathogen affects mainly adults, neonates, and immunocompromised patients. However, the emergence of the hypervirulent hvKP strain, capable of infecting healthy individuals and readily acquiring and spreading resistance, has highlighted the risk posed by this pathogen (Lee, 2017). In Colombia, Kpn is one of the microorganisms most frequently isolated from hospitalized adults in intensive care units, as well as in pediatric and neonatal units, with reported increases in the resistance to antibiotics such as carbapenems (Leal, 2016). It was also the most isolated pathogen in healthcare-associated infections between 2012 and 2016 (Instituto Nacional de Salud, 2016).

The global threat posed by antibiotic resistance requires a greater understanding of the conditions that can promote the spread of its determinants via HGT. Recent studies have shown that antibiotics at low concentrations can promote resistance and, in some cases, foster HGT, particularly by conjugation. Concentrations below the minimal inhibitory concentration (MIC) of disinfection agents, such as triclosan, chlorhexidine, chlorine, and hydrogen peroxide, have been shown to affect plasmid conjugation (Jutkina, 2018; Zhang, 2017). Sub-MIC or sub-lethal antibiotic concentrations of  $\beta$ -lactams and tetracycline were shown to increase the transfer of resistance in *S. aureus* (Barr, 1986). More recently, sub-lethal concentrations of the antibiotics cefotaxime, ciprofloxacin, and ampicillin were reported to increase the transfer of plasmids bearing resistance genes in *Escherichia coli* (Liu, 2019). Several antibiotics tested at sub-MIC concentrations also induced plasmid conjugation using diverse bacteria as donors and *E. coli* as the recipient (Jutkina, 2018; Jutkina, 2016). These studies indicate that sub-lethal concentrations of antimicrobials can increase the conjugation transfer frequency of plasmids bearing resistant genes. Here we study the impact of antimicrobials on HGT using the opportunistic pathogen Kpn as a model to address the hypothesis that exposure to sub-lethal antibiotic concentrations can affect both conjugation and transformation. Diverse types of antibiotics were therefore evaluated for their capacity to affect the acquisition of resistance in bacteria by the transfer of plasmids and by uptake of extracellular DNA, respectively. The results indicate that sub-lethal concentrations of some aminoglycoside antibiotics can increase HGT in this opportunistic pathogen.

## Methods

### *Bacterial strains, plasmids, and growth conditions*

Bacteria and plasmids used are listed in **table 1**. All strains were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  in Luria Bertani (LB, oxoid) broth supplemented with 20% glycerol. When necessary, antibiotics (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) were added: Ampicillin (Amp,  $200\mu\text{g ml}^{-1}$ ),

**Table 1.** Bacterial strains and plasmids

Strains and plasmids	Main features	Reference
<b>Strains</b>		
Kpn CH404	LM21 SHV-1: <i>aadA7-gfpmut3</i> ; <i>Spc</i> <sup>R</sup>	(Balestrino, <i>et al.</i> , 2008)
Kpn 16Kp1	Clinical isolate with <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub> encoding plasmid	(Escobar-Pérez, <i>et al.</i> , 2013)
Kpn ATCC700603	Conjugation control	(Rasheed, <i>et al.</i> , 2000)
<i>E. coli</i> J53	<i>Az</i> <sup>r</sup> ( <i>F</i> <sup>+</sup> <i>met pro</i> )	(Jacoby, <i>et al.</i> , 1996)
<b>Plasmids</b>		
pUC19	ORI pMB1 derivative; <i>Amp</i> <sup>R</sup>	(Yanisch-Perron, <i>et al.</i> , 1985)
pBAD18- <i>yfiN</i>	ORI pMB1; <i>Cam</i> <sup>R</sup>	(Huertas, <i>et al.</i> , 2014)
pMP2444	ORI pBBR1; <i>egfp</i> under control of the <i>tac</i> promoter; <i>Gen</i> <sup>R</sup>	(Bloemberg, <i>et al.</i> , 2000)
pNDM-1	WT plasmid, 177Kb, IncA/C ORI; ( <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub> and <i>bla</i> <sub>CARB-2</sub> ); Resistant to $\beta$ -lactams, aminoglycosides, sulphonamides, macrolides, lincosamide, streptogramin B, <i>Cam</i>	(Escobar Pérez, <i>et al.</i> , 2013)

imipenem (Imp, 2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), spectinomycin (Spc, 50  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), gentamicin (Gen, 20  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), and chloramphenicol (Cam, 20  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ). Sub-lethal concentrations used were: Amp (2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), Amk (0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), Gen (0.20  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), Kan (0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), Spc (0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), ciprofloxacin (Cip, 0.05  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), Imp (0.25  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), and trimethoprim-sulfamethoxazole (TS, 0.004/0,076  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ). Their growth was monitored by measuring optical density at 595 nm ( $\text{OD}_{595}$ ) and colony-forming units (CFU) were determined by the microdilution technique (Pfeltz 2001). Unless stipulated, strains were grown at 37° C, 180 rpm, in LB or cation-adjusted Mueller-Hinton (MH, Oxoid) broth. Modified LB (7.5 g yeast extract, 15 g tryptone, and 7.5g NaCl in 1 liter dH<sub>2</sub>O) was used for transformation assays and transformants were selected on LB supplemented with 5% agar and 200  $\mu\text{g ml}^{-1}$  Amp (Zhang, 2012).

#### **Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC)**

The MIC was determined using 96 well plates (Corning Costar 3595), as reported (Andrews, 2002). Briefly, bacterial cultures grown overnight (o/n) for 16 h were diluted 1/30 and grown for 50 min (37° C at 180 rpm). This culture was then diluted 1/100 in fresh medium to obtain a concentration of approximately 10<sup>6</sup> CFU/ml; 75  $\mu\text{l}$  of each inoculum were used for assays in the 96 well plates containing 75  $\mu\text{l}$  of varying antibiotic concentrations in cation-adjusted MH broth. The ranges and concentrations of antibiotics were established following previously defined criteria (Clinical & Laboratory Standards Institute - CLSI, 2015). Plates were incubated at 37° C for 16 h without agitation; all assays were done in duplicate. The MIC was defined as the lowest antibiotic concentration at which bacterial growth was inhibited.

#### **Transformation on agar**

For natural transformation assays, we followed the previously used protocol (Zhang, *et al.*, 2012) with some modifications. All experiments were done at 30° C; 200  $\mu\text{l}$  of an o/n culture of Kpn CH404 (sensitive to Amp) were inoculated into 20 ml modified LB keeping the medium to flask volume ratio of 1/5 for aeration, and static incubation was carried out for 24 h; 500  $\mu\text{l}$  were centrifuged, 450  $\mu\text{l}$  of the supernatant were removed, and 50 ng of plasmid DNA (Table 1) were added to the cell suspension. This mix was spread immediately onto LB agar with Amp (200  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ). When using the antibiotics Cam and Gen, the mix was spread for 3 h on LB before selection with the antibiotic. The frequency of transformation was calculated by dividing the number of transformants by the total number of viable cells determined using the microdilution method (Pfeltz, 2001). To

analyze the effect of antibiotics on exogenous DNA uptake, Kpn CH404 was grown in the presence of sub-lethal concentrations of the antibiotics Amk, Amp, Imp, Gen, Kan, Spc, Cip, and TS for 6 h at 37° C before precipitating cells by centrifugation and mixing with the DNA.

### **Conjugation assays**

Bacterial conjugation was done on MH agar as reported previously (Suescún, 2006). The cultures of donor and recipient cells were grown o/n and adjusted to an OD<sub>595</sub> of 0.8 and 180 µl and 20 µl of the recipient and donor strains, respectively, were mixed in a 0.2 ml tube; 40 µl of this mix were placed on solid MH with no antibiotic, incubated for 4 h at 37° C, after which cells were recovered and resuspended in 200 µl MH. Serial dilutions were done to determine CFUs using the microdilution technique and plating on solid MH supplemented with sodium azide (150 µg ml<sup>-1</sup>) and the appropriate antibiotic for selection. *E. coli* J53 transconjugants were confirmed by purifying the plasmid and by antibiotic resistance profiles. When using *E. coli* J53 as the donor, Kpn CH404 transconjugants were identified based on morphological characteristics by plating on eosin methylene blue (EMB) agar supplemented with Amp (200 µg ml<sup>-1</sup>) and Spc (50 µg ml<sup>-1</sup>) (Holt-Harris, 1916). The antibiotic susceptibility of the recipient and the donor strains were always evaluated to avoid the appearance of false positive colonies. The conjugation frequency was calculated by dividing the total number of transconjugants by the total number of donors. All assays were done in triplicate.

Conjugation in biofilms was done by co-incubating donor and recipient cells to form mixed biofilms on lid pegs of a Calgary device (Thermo Scientific Nunc 445497) (Harrison, 2010). Briefly, o/n cultures were adjusted to 0.5 of the MacFarland standard, then mixed at a 1/10 ratio (donor/ recipient), and 1.5 µl were used to inoculate wells of a Calgary device containing 150 µl MH broth alone or with sub-lethal concentrations of the antibiotics Amp, Amk, Cip, Imp, and TS. After 24 h of incubation at 37° C, the biofilms formed on the lids were washed three times by submerging the pegs in sterile PBS and biofilm cells were removed by a combination of sonication (50Hz) for 3 minutes and vortex for 10 minutes. The resulting suspensions were diluted and plated on selective medium to determine CFUs.

### **Biofilm quantification**

After removing planktonic cells, biofilms formed on lid pegs were washed with PBS, dried at room temperature for 40 minutes, and stained using 0.1% crystal violet (CV) for 20 minutes. Excess stain was removed with distilled water, 250 µl of 10% SDS were added per well and absorbance was measured at 595 nm. All assays were done in triplicate.

### **Molecular methods**

The acquisition of the pUC19 plasmid by Kpn CH404 was confirmed by PCR amplification of the multiple cloning site of approximately 123 bp using universal M13 primers. Plasmid DNA was obtained using the QIAprep Spin miniprep kit (QIAGEN). Plasmids from clinical isolates were obtained following reported methods (Kado, 1981). Restriction enzyme digestion was carried out using *Xba*I and the products were analyzed by electrophoresis on 1% agarose gels. Chromosomal DNA was obtained using the kit DNA 2000 (Corpogen).

### **RNA seq and data analysis**

An o/n Kpn CH404 was diluted 1/100 in duplicate into 6 ml MH medium with no antibiotic (control) or supplemented with 0.5 µg ml<sup>-1</sup> Amk. After 6 h of growth, cultures were centrifuged at 4°C for 10 minutes at 3500 rpm and cells were resuspended in 1 ml TRIzol™ (Invitrogen™) pre-heated at 65°C. Samples were centrifuged for two minutes at 4°C at 13,000 rpm and the supernatant was mixed by inversion with 1 ml 100% ethanol. The total RNA was recovered using the Direct-zol (Zymo research) kit following the manufacturer's specifications. Only RNA with a RIN >8 was used for sequencing at Macrogen (Soul, Korea) in an illumina Hi-seq 2000 with 100 nucleotide paired-end reads. Quality control

was done with FastQC (v.0.11.2) (<http://www.bioinformatics.bbsrc.ac.uk/projects/fastqc/>), Illumina adapters were trimmed (Trimmomatic, v.0.36) (Bolger, 2014) and rRNA was removed using SortmeRNA (v.2.1) (Kopylova, 2012) and the Silva 16S, 23S and 5S rRNA gene databases (<https://www.arb-silva.de>) (Pruesse, 2007). The data were analyzed using Rockhopper (McClure, 2013), which calculates differences in expression by determining a p-value (Anders, 2010) and then calculating q values according to the Benjamini–Hochberg correction (Benjamini, 1995) with a false discovery rate (FDR) <1%. This analysis was done on the PATRIC platform ([www.patricbrc.org](http://www.patricbrc.org)) using as reference the *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286 genome. Genes with significant differences were considered to be those with a log<sub>2</sub> fold-change in expression >2 and a q value <0.001.

### Statistical analyses

All experiments were done in triplicate (except for MIC determinations) and the mean ± standard deviation (SD) is shown; a *t-Student* test for independent samples was used to compare the effect of treatments on HGT. The non-parametric Mann Whitney test was used for non-normal data; significant differences were expressed as p < 0.05. The statistical analyses were done using the software IBM-SPSS version 22.

## Results and discussion

### *Kpn can take up exogenous DNA*

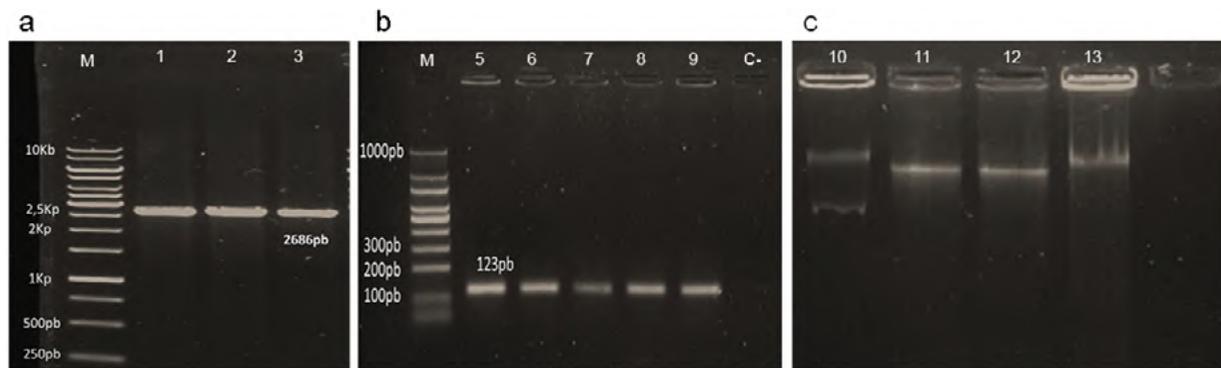
*Kpn* has genes that are orthologous to those present in naturally-competent bacteria, such as *H. influenzae* (Blokesh, 2016; Palchevskiy, 2006), yet it is not capable of naturally taking up genetic material from its surroundings. A recent study reported that *E. coli*, which is phylogenetically close to *Kpn* and is likewise not considered to be naturally competent, was capable of taking up exogenous DNA under certain laboratory conditions (Zhang, *et al.*, 2012). Therefore, we used this system of transformation on agar to evaluate the capacity of *Kpn* to acquire exogenous DNA. The laboratory strain *Kpn* CH404, which is sensitive to Amp, was mixed with the pUC19 plasmid as a source of free DNA and plated on solid medium with antibiotic. As shown in **table 2**, transformants were obtained, although the frequency was low (approximately 10<sup>-10</sup>) in comparison to what has been reported previously for *E. coli* (approximately 10<sup>-7</sup>) (Zhang, 2012). The transformation efficiency of 10<sup>4</sup> / μg DNA was also low compared to competent cells prepared in the laboratory to optimize this process (about 10<sup>6</sup> – 10<sup>8</sup> transformants/ug of plasmid DNA). To verify the transformation results, plasmid DNA was isolated from Amp<sup>R</sup> transformed cells and analyzed by restriction enzyme digestion, which revealed a pattern identical to the original pUC19 plasmid (**Figure 1**). The presence of the plasmid was also verified by amplification of the multiple cloning site in pUC19 using M13 universal primers. No transformants were obtained when the mix (cells + DNA) was treated with DNase I before plating on selective medium nor when the mix was plated on medium containing DNase I, indicating that intact exogenous DNA was required. These results showed that under certain conditions, *Kpn* is capable of acquiring exogenous DNA.

To determine if this transformation was limited to this one plasmid, we also evaluated plasmids pBAD18-*yjfN* and pMP2444, that differ in size, origin of replication and the resistance markers Cam and Gen, respectively. In this case, cells were plated on medium lacking antibiotic before using selective medium since these antibiotics inhibit protein synthesis, which has been reported to be required for transport and uptake of exogenous DNA (Sun, 2006). Again, *Kpn* cells were capable of acquiring both plasmids, although the frequencies were very low (**Table 2**). We then evaluated if *Kpn* might take up DNA liberated from lysed cells, which could more closely resemble conditions encountered by this microorganism. When cells bearing pUC19 plasmid were lysed by boiling (95°C for 10 minutes), transformants were obtained at a similar frequency as when using purified plasmid (**Table 2**). In contrast to these transformation assays on agar, no DNA uptake was observed using other non-conjugative plasmids, pKOBEG199, pMP2444, and pBAD-18, and assays previously reported to result in direct transfer via cell contact (Maeda, 2006)

**Table 2.** Natural transformation in *K. pneumoniae* (Kpn)

Condition (incubation time)	Plasmid	Size (Kb)	Resistance	Origin of replication	Transformation frequency
Control (24h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(4.7 \pm 0.4) \times 10^{-10}$
Control (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(1.3 \pm 0.2) \times 10^{-8}$
Control (6h)	pBAD18-yfiN	5.8	Cam	pBR322	$(4.7 \pm 0.5) \times 10^{-10}$
Control (6h)	pMP2444	5.6	Gen	pBBR1MCS-5	$(2.9 \pm 0.2) \times 10^{-10}$
Free DNA (lysed, 6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(8.3 \pm 1.3) \times 10^{-8}$
<i>Sub-lethal Antibiotics</i>					
*Amk (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(1.2 \pm 0.9) \times 10^{-7}$
*Gen (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(2.2 \pm 0.5) \times 10^{-7}$
*Kan (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(3.9 \pm 0.3) \times 10^{-7}$
Spc (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(3.3 \pm 0.6) \times 10^{-8}$
Amp (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	0
Cip (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(2.0 \pm 0.8) \times 10^{-8}$
Imp (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	0
TS (6h)	pUC19	2.7	Amp	pBR322	$(1.7 \pm 1.0) \times 10^{-10}$

Kpn CH404 cells were grown in modified LB for 24 h or 6 h with or without sub-lethal concentrations of antibiotics: amikacin (Amk) 0.5 µg ml<sup>-1</sup>; gentamicin (Gen) 0.20 µg ml<sup>-1</sup>; kanamycin (Kan) 0.5 µg ml<sup>-1</sup>; spectinomycin (Spc) 0.5 µg ml<sup>-1</sup>; ampicillin (Amp) 2 µg ml<sup>-1</sup>; ciprofloxacin (Cip) 0.05 µg ml<sup>-1</sup>; imipenem (Imp) 0.25 µg ml<sup>-1</sup>; trimethoprim-sulfamethoxazole (TS) 0.004/0.076 µg ml<sup>-1</sup>. Transformed cells were confirmed by evaluating antibiotic-resistant profiles, isolation of plasmids, and analysis of electrophoretic mobility on agarose gels and, in some cases, by performing PCR amplification of plasmid sequences. The frequency of transformation was obtained by dividing the number of transformants by the total number of viable cells. The results represent the mean of three biological replicates; asterisks indicate treatments with significant differences vs the untreated control. \* p<0.05



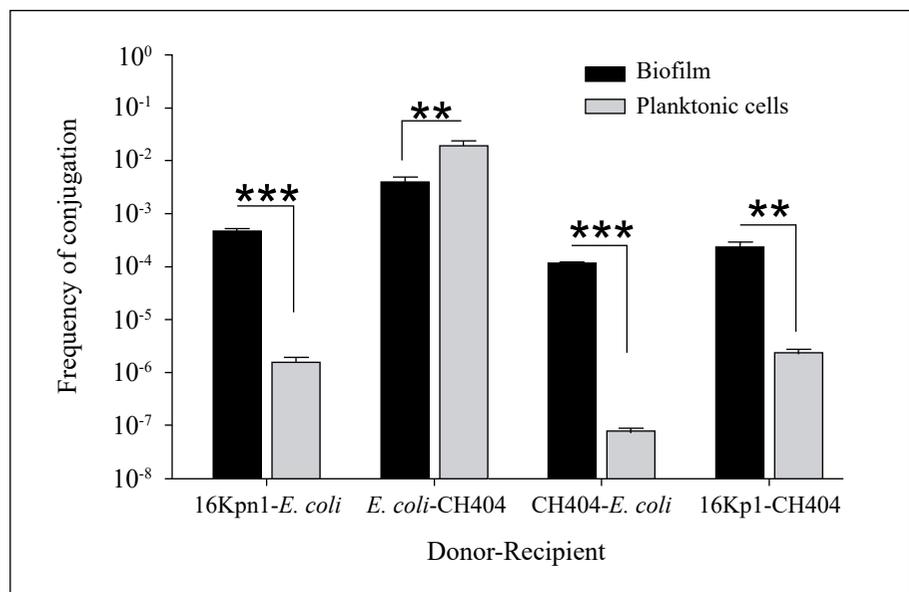
**Figure 1.** Confirmation of plasmid transfer. Transformation was confirmed by (a) XbaI digestion of plasmid pUC19 (lane 1) and plasmids obtained from transformed cells (lanes 2 and 3), and (b) PCR amplification of the multiple cloning site in pUC19 using universal M13 primers from the plasmid control (lane 5) and transformants (lanes 6-9); C-: negative control. Conjugation was confirmed by (c) pNDM-1 plasmid DNA extraction from Kpn donor strain 16Kp1 (lane 10) and from transconjugants (lanes 11-13). M: DNA Molecular weight markers

(Table 2). The use of PCR-amplified linear DNA also failed to give rise to transformed cells, even though in this case recovery of cells bearing the Amp<sup>R</sup> resistant marker would also have required homologous recombination. The data presented indicate that Kpn can, under very defined laboratory conditions and at very low frequencies, take up exogenous plasmid DNA as has been previously reported for *E. coli* (Sun, et al., 2006). This uptake may be mediated by competence gene homologs which could allow Kpn cells to acquire novel genes and/or utilize DNA as a source of energy as previously suggested (Blokesch, 2016; Finkel, 2001).

### Conjugation increases in biofilms

Given the importance of ARG transfer by conjugation, we next evaluated conjugation using the clinical isolate 16Kpn1 that carries the transferable plasmid pNDM-1. This plasmid contains the *bla*<sub>NDM-1</sub> gene that codes for a globally disseminated carbapenemase that confers resistance to carbapenems (Kumarasamy, 2010). Strain 16Kpn1 was isolated from a blood infection at a hospital in Bogotá, Colombia, during the first report of a *bla*<sub>NDM-1</sub> outbreak in the country in 2011 (Escobar-Pérez, 2013). Using conjugation on agar (Suescún, et al., 2006), plasmid pNDM-1 was transferred from 16Kpn1 (pNDM-1) to the recipient strain *E. coli* J53 (Azi<sup>R</sup>) with a conjugation efficiency of approximately 10<sup>-4</sup> (Figure 2). The *E. coli* transconjugants acquired the resistances present on plasmid pNDM-1 (Amk, Gen, Amp, and Imp) (Escobar-Pérez, et al., 2013) and plasmid preparations indicated the transfer of only one of the two plasmids present in the donor strain (Figure 1). Experiments produced the same results when repeated multiple times. Control reactions lacking donor strains did not give rise to resistant colonies indicating that the observed results were due to transfer of the pNDM-1 by the donor 16Kpn1 and not to contamination. This plasmid was also transferred to strain Kpn CH404 and from this donor strain (Kpn CH404 pNDM-1, Amp<sup>R</sup>) to *E. coli*. Finally, the *E. coli* transconjugant bearing the plasmid (J53 pNDM-1) was also capable of transferring the plasmid to strain Kpn CH404 (sensitive to Amp) indicating that the plasmid has the capacity to be transferred from other bacteria besides Kpn. These results showed that pNDM-1 carrying multiple resistance markers can be transferred via conjugation between Kpn and *E. coli* and is, therefore, an excellent model for evaluating the effect of antibiotics on conjugation.

Conjugation was next analyzed in biofilms, multicellular structures and ubiquitous forms of bacterial growth in which high rates of plasmid transfer have been observed (Mielich-Süss, 2015). Both the donor and the recipient strains grown separately formed biofilms on the Calgary device, although *E. coli* J53 formed less biofilm (OD 0.07± 0.02) than Kpn 16Kpn1 (OD 0.51 ±0.06). Co-cultures with both strains resulted in biofilms with



**Figure 2.** Frequency of conjugation by pNDM-1. Conjugations with different donor-receptor combinations of Kpn (16Kpn1 and CH404) and *E. coli* (*E. coli* J53) were done for 4 h using planktonic cells or biofilms. The frequency of conjugation was determined by dividing the number of transconjugants by the total number of receptors. The values shown are the mean ± SD of three independent experiments; asterisks indicate treatments with significant differences vs. the untreated control (\*\*p<0.05 and \*\*\* p<0.001).

an intermediate phenotype ( $OD\ 0.24 \pm 0.04$ ). Kpn was capable of donating and receiving plasmid pNDM-1 by conjugation in these biofilms with a frequency often greater than in planktonic cells, as shown before (Hoffman, 2005) (Figure 2).

### ***Some antibiotics increase HGT***

To analyze the effect of antibiotics on gene transfer, we used five antibiotics with different modes of action: Amp and Imp target the bacterial cell wall, Amk inhibits protein synthesis, Cip inhibits the synthesis of DNA, and TS inhibits folic acid metabolism. The concentrations at which these antibiotics inhibit growth (MICs) were first determined (Table 3) and cell growth was verified to be unaffected in the presence of three different sub-lethal (sub-MIC) antibiotic concentrations tested. Concentrations below the MIC that gave consistent results and did alter growth were selected for assays. The effect of sub-lethal concentrations of antibiotics on plasmid acquisition by transformation indicated that only the aminoglycoside Amk added 30 minutes before the assay significantly increased the frequency of transformation compared with the control without antibiotic (Table 2). Additional aminoglycosides were therefore tested (Gen, Kan), as well as Spc, which is closely related. Of these treatments only Gen significantly induced transformation compared with the control, whereas Kan and Spc resulted in only a slight increase in uptake of exogenous DNA (Table 2). Together, these results suggest that sub-lethal concentrations of some aminoglycosides can induce uptake of extracellular DNA by Kpn. The fact that only some of the aminoglycosides affected transformation despite having the same mode of action could be due to differences in molecular structure that in turn elicit dissimilar cellular responses and result in diverse responses to the stress imposed by the presence of the antibiotic (Dalhoff, 2018). These changes can, for example, affect the expression or polarity of cell determinants involved in the capacity to interact with the environment or in the acquisition of exogenous DNA.

We next evaluated the effect of antibiotics on conjugation using biofilms formed on a Calgary device (see Methods). To measure the effect on conjugation, 16Kpn1 and *E. coli* J53 cells were grown in the presence of sub-lethal antibiotic concentrations for 24 h to form mixed biofilms. The antibiotic concentrations used did not affect the growth of either the donor or recipient (not shown). Biofilm formation increased almost five times when cells were grown in the presence of Amk ( $1.32 \pm 0.27$ ) and more than two times with Imp ( $0.81 \pm 0.20$ ) compared with the control with no antibiotics ( $0.28 \pm 0.05$ ) (Figure 3a). In the majority of cases, the biofilm was similar for the receptor and donor strains with a notable increase in the amount of adhered donor cells compared with recipient cells in the presence of Amk (black bars, Figure 3b). These results demonstrated that incubation in sub-lethal concentrations of some antibiotics induced biofilm formation in Kpn as has been shown previously for other microbes (Hoffman, *et al.*, 2005). We then determined the number of transconjugants obtained (*E. coli* recipient of the pNDM-1 plasmid) for each treatment by recovering biofilms and determining CFUs on MH agar medium supplemented with sodium azide and Amp. The frequency of conjugation increased in all treatments but Amk

**Table 3.** Minimum inhibitory concentrations

Antibiotic	Kpn 16Kp1	Kpn CH404	<i>E. coli</i> J53
Amp	>400	6.25	12.5
Amk	32	2	8
Cip	0.016	0.0625	0.003
Imp	32	0.8	0.2
TS	1/19	0.025/0.48	0.013/24

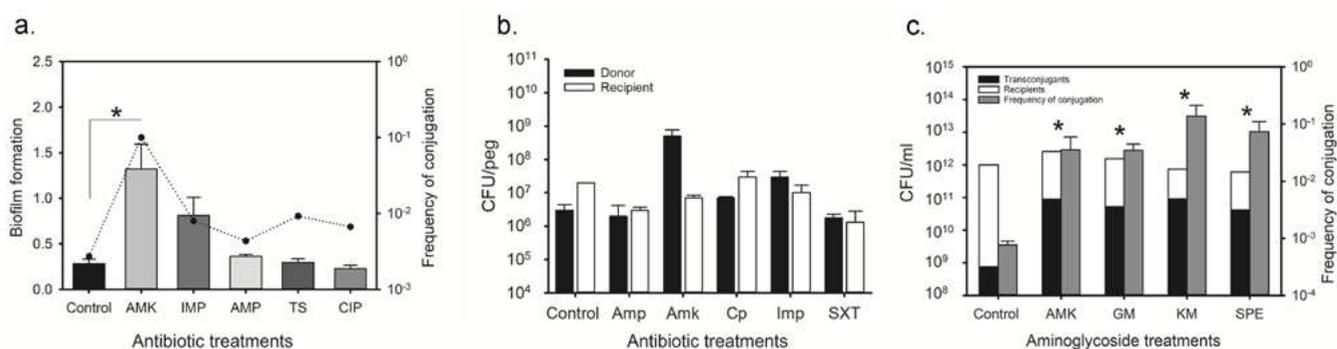
Data correspond to the lowest concentration ( $\mu\text{g/ml}$ ) in which growth was inhibited. Both Kpn C0H404 and *E. coli* J53 strains represent MICs of control plasmid-free strains.

Amp: Ampicillin; Amk: Amikacin; Cip: Ciprofloxacin; Imp: Imipenem; TS: Trimethoprim-sulfamethoxazole

was the only one that showed a significant difference with respect to the control and to the other antibiotics used (**Figure 3a**). It was interesting to observe that although incubation with Imp increased biofilm formation, there was no significant increase in conjugation, suggesting that forming a more robust biofilm is not necessarily correlated with an increase in DNA transfer via conjugation. This result also indicates that an increased donor:recipient ratio as observed mainly for Amk and Imp (**Figure 3b**), was not the sole factor affecting conjugation frequency (**Figure 3a**). It is possible that despite having more cell density and proximity, cells in biofilms do not necessarily have the conditions adequate for expressing the determinants required for efficient conjugation.

These observations were verified by carrying out conjugation on solid media (**Figure 3c**). In this case, media were supplemented with aminoglycoside antibiotics at sub-lethal concentrations and the donor-recipient mixes were incubated for the same amount of time utilized for biofilm assays on Calgary devices (24 h). Once again, incubation with Amk increased the number of transconjugants approximately ten times. The frequency of conjugation also increased when other aminoglycoside antibiotics were used, with Kan being the one that increased the most ( $1.4 \times 10^{-1}$ ) compared with the control ( $7.7 \times 10^{-4}$ ) (**Figure 3c**). Cell growth was not affected by these sub-lethal antibiotic concentrations (not shown). Together, these results suggest that some aminoglycosides can increase the transfer of the pNDM-1 plasmid by conjugation, which is the principal mode of transfer for antibiotic resistance markers in Kpn (**Skippington, 2011**).

We conducted RNA seq assays to understand the possible mechanism involved in the observed HGT increase caused by sub-lethal concentrations of Amk. Total RNA was isolated from duplicate cultures of controls free of antibiotics and cultures incubated in sub-lethal Amk concentrations ( $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) for 6 hours. The differential expression analysis carried out using the program Rockhopper (**McClure, et al., 2013**) on the PATRIC platform identified 367 differentially expressed genes (DEGs) with a significant  $\log_2$  fold-change (FC)  $\geq 2$  and a q value  $< 0.001$ . Of these genes only one, the KPHS\_40620, which codes for an aldehyde dehydrogenase, was overexpressed under the control condition ( $\log_2\text{FC} = 5.4$ ). The remaining genes (366) had more expression under incubation with Amk (**Supplementary table 1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/985/2689>). The majority of the DEGs correspond to functions involved in cellular metabolism (115), followed by transport (65) and regulation (54) (**Table 4**). Several genes (23) were identified as surface components or proteins involved in secretion. Among the highest DEGs involved



**Figure 3.** Factors affecting conjugation of the pNDM-1 plasmid. **(a)** Mixed biofilms of donor (16Kpn1) and recipient (*E. coli* J53) cells formed on lid pegs of a Calgary device in the presence of sub-lethal concentrations of: Amk  $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; Amp  $2 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; Imp  $0.25 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; TS  $0.004/0.076 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; Cip  $0.05 \mu\text{g ml}^{-1}$ . The bars show biofilm quantification by CV staining and the dotted line indicates the frequency of conjugation for each treatment (number of transconjugants/total number of receptor cells). **(b)** Quantification of donor (black bars) and recipient (white bars) cells adhered to lid pegs of a Calgary device. **(c)** Conjugation on agar in the presence of sub-lethal concentrations of aminoglycosides: Amk  $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; Gen  $0.20 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; Kan  $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ ; Spc  $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ . The total number of transconjugants is shown (black bars) per recipient cells (white bars) after 24 h of conjugation (Y-axis, left). Gray bars indicate frequency of conjugation (Y-axis, right). The data represent the mean of three replicas; asterisks indicate treatments with significant differences by CV staining and frequency of conjugation compared to the control (\* $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Summary of differentially expressed genes

Function	Number	Percentage (%)
Hypothetical/Unknown	86	23
Metabolism	115	31
Transport	65	18
Regulation	54	15
Surface/Secreted	23	6
Recombination/Repair	8	2
Mobile elements	4	1
Toxin/Antitoxin	3	1
Stress	2	1
Others	7	2
Total	367	

in cell metabolism were KPHS\_40620 ( $\log_2FC = 5.43$ ) and KPHS\_41710 ( $\log_2FC = 5.25$ ), an aldehyde dehydrogenase and a decarboxylase induced in the control and with Amk, respectively (Supplementary table 1, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/985/2689>). The large number of overexpressed genes under Amk incubation that code for cell surface components and proteins involved in transport suggests an effect on cell components involved in sensing or interacting with the environment and/or exchange across the cell membrane. Some of these genes were KPHS\_29860 (Type 6 secretion), KPHS\_21110 and KPHS\_32910 (ABC transporters), *rbsB*, and *oppA*, both of which code for surface proteins that have been implicated in conjugation in *E. coli* (Zhang, *et al.*, 2012). Among the genes identified, KPHS\_49140 and KPHS\_49350 code for proteins involved in DNA uptake via the type 4 pilus (PilQ) and competence (YhgH), respectively (Blokesch, 2016; Palchevskiy, *et al.*, 2006). We also observed the expression of genes involved in functions that affect cell viability and survival, like KPHS\_44010 (secreted protein, sensitivity to copper) and KPHS\_03620 (PGA synthesis, biofilms). These results are consistent with previous reports describing changes in the outer membrane of Gram-negative bacteria when they interact with aminoglycosides such as Amk (Dalhoff, 2018). It is believed that these antibiotics alter and permeabilize the bacterial membrane and affect cell viability through electrostatic interactions. In this particular case, the changes at the membrane level could increase the capacity to acquire exogenous DNA. Finally, the induction of various genes involved in regulation indicates that the interaction with Amk also triggers complex signaling cascades within the cell and the regulation of diverse gene products. Some of the regulators that were abundantly expressed included KPHS\_29970 (sugar metabolism), KPHS\_5285 (YidZ, LysR family), KPHS\_50100 (response to metals, NikR) and KPHS\_21540 (MarR family involved in resistance) (Supplementary table 1, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/985/2689>). However, no induction was seen of capsule genes or of the RpoS sigma factor gene, contrary to previous studies (Baharoglu, 2013; Lin, 2005). This transcriptional regulator has been implicated in competence in *E. coli* (Zhang, *et al.*, 2012). The observed differences could be due to variations in experimental procedures such as culture incubation conditions, antibiotic concentrations, and exposure time. Finally, it is worth noting that many of the identified genes correspond to hypothetical proteins or proteins of unknown function, which can be expected as the function of a great number of genes identified in sequenced bacterial genomes has not been established.

The exposure of cells to sub-lethal antibiotics has been reported previously to alter gene expression in diverse microorganisms (Andersson, 2014). Consistent with our results, a recent report indicated that sub-lethal concentrations of carbapenems also

affected the expression of genes involved in metabolism, signal transduction, and cell wall processes in Kpn grown as biofilms (Van Laar, 2015). Protein synthesis inhibitors at sub-lethal doses have been shown to result in varied transcription profiles, depending on the antibiotic tested (Lin, *et al.*, 2005). In our case, sub-lethal amikacin (Amk) resulted mostly in the induction of genes. These genes correspond to diverse functions and are not necessarily in operons or known regulons suggesting that the effect is not just due to the inactivation of regulators of gene expression. The high number of DEGs identified as being involved in cell envelope and extracellular functions, as well as genes involved in recombination and repair, correlate with previous studies on genes expressed due to sub-lethal antibiotic concentrations (Shun-Mei, 2018; Van Laar, *et al.*, 2015) and suggests that some of these might be good candidates for additional analysis. RNA seq has the advantage of providing a transcriptional profile that does not rely on previous sequence information, yet the complexity of the analyses and the large number of genes involved in any given cellular response also limit the interpretations. Thus, understanding the precise role of the genes identified and their probable involvement in HGT requires further experimental validation.

Our study showed that exposure to sub-lethal antibiotic concentrations affects HGT by transformation and conjugation of mobile genetic elements, some of which can carry multiple resistance genes. Thus far, very little is known regarding signals like temperature, oxygen, nutrients, pH, and osmolarity capable of inducing conjugation (Frost, 2010), especially in clinical isolates. Here, sub-lethal aminoglycoside concentrations could enhance HGT, apparently by inducing cellular changes involved in shaping the cell envelope, metabolism, interaction with the environment, and regulation. Although additional work on particular gene products would be required to confirm these observations, the identification of factors that affect HGT in bacteria such as Kpn provides critical information regarding the effect of sub-lethal antibiotics concentrations on gene transfer that may affect the spread of resistance in hospital settings.

## Conclusions

Sub-lethal concentrations of antibiotics present in diverse environments can favor the appearance of resistance to these drugs and the spread of ARGs by HGT (Andersson, *et al.*, 2014). This study indicates that some aminoglycosides, in particular Amk, can affect transformation and conjugation in the opportunistic pathogen Kpn, a significant cause of hospital-acquired infections. RNA seq assays suggest that sub-lethal concentrations of Amk alter gene expression and components of the cell envelope, processes that could modify the cell's capacity to acquire genetic material via HGT. Additional confirmatory experiments would be required to fully understand the molecular mechanisms involved and the extent of the effect of these antibiotics on HGT. Understanding the conditions that influence the acquisition and spread of mobile genetic elements and resistance to antibiotics can raise awareness regarding the potential effects of antibiotics on the spread and persistence of resistance determinants and bacterial pathogens such as Kpn that pose a risk to human health.

## Supplementary Information

**Table 1.** Differentially expressed Kpn genes under incubation with sub-lethal concentrations of amikacin. See the table 1 in Supplementary table 1, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/985/2689>

## Acknowledgments

We thank Javier Escobar at *Universidad El Bosque* for providing Kpn clinical strains, and Dr. George Jacoby at the Lahey Clinic, Burlington, United States for kindly supplying strain *E. coli* J53. This work was funded by Colciencias (Project No. 657054531675).

## Authors' contribution

IVA performed most of the experimental work, analyzed the data and drafted the document; LP performed the RNA-seq assays; MGH helped in biofilm and antimicrobial resistance analyses; MMZ coordinated the work, helped in writing the document and analysis of data. All authors read and approved the final document.

## Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

## References

- Allen, H. K., Donato, J., Wang, H. H., Cloud-Hansen, K. A., Davies, J., Handelsman, J. (2010). Call of the wild: Antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat Rev Microbiol.* **8** (4): 251-259.
- Allen, H. K., Moe, L. A., Rodbumrer, J., Gaarder, A., Handelsman, J. (2009). Functional metagenomics reveals diverse  $\beta$ -lactamases in a remote Alaskan soil. *ISME J.* **3** (2): 243-251.
- Anders, S. & Huber, W. (2010). Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol.* **11** (10): R106.
- Andersson, D. I. & Hughes, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nat Rev Microbiol.* **12** (7): 465-478.
- Andrews, J. M. (2002). Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* **49** (6): 1049-1049.
- Baharoglu, Z., Krin, E., Mazel, D. (2013). RpoS Plays a Central Role in the SOS Induction by Sub-Lethal Aminoglycoside Concentrations in *Vibrio cholerae*. *PLoS Genet.* **9** (4): e1003421.
- Balestrino, D., Ghigo, J.-M., Charbonnel, N., Haagensen, J. A. J., Forestier, C. (2008). The characterization of functions involved in the establishment and maturation of *Klebsiella pneumoniae in vitro* biofilm reveals dual roles for surface exopolysaccharides. *Environ Microbiol.* **10** (3): 685-701.
- Barr, V., Barr, K., Millar, M. R., Lacey, R. W. (1986).  $\beta$ -Lactam antibiotics increase the frequency of plasmid transfer in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* **17** (4): 409-413.
- Barrero, L. I., Castillo, J. S., Leal, A. L., Sánchez, R., Cortés, J. A., Álvarez, C. A., González, A. L. (2014). Impacto económico de la resistencia a meticilina en pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en hospitales de Bogotá. *Biomédica.* **34** (3): 345-353.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J R Stat Soc Ser B.* **57**: 289-300.
- Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E. D., Johnston, M. D., ... Wright, G. D. (2012). Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome. *PLoS One.* **7** (4): e34953.
- Bloemberg, G. V., Wijffes, A. H., Lamers, G. E., Stuurman, N., Lugtenberg, B. J. (2000). Simultaneous imaging of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 populations expressing three different autofluorescent proteins in the rhizosphere: New perspectives for studying microbial communities. *Mol Plant Microbe Interact.* **13** (11): 1170-1176.
- Blokesch, M. (2016). Natural competence for transformation. *Curr Biol.* **26** (21): R1126-R1130.
- Bolger, A. M., Lohse, M., Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* **30** (15): 2114-2120.
- Carlet, J., Jarlier, V., Harbarth, S., Voss, A., Goossens, H., Pittet, D., Participants of the 3rd World Healthcare-Associated Infections Forum. (2012). Ready for a world without antibiotics? The Pensières Antibiotic Resistance Call to Action. *Antimicrob Resist Infect Control.* **1** (1): 11.
- Cienfuegos-Gallet, A. V., Ocampo-de Los Ríos, A. M., Sierra-Viana, P., Ramírez-Brinez, F., Restrepo-Castro, C., Roncancio-Villamil, G., ... Jiménez, J. N. (2019). Risk factors and survival of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a KPC endemic setting: a case-control and cohort study. *BMC Infect Dis.* **19** (1): 830.
- Clinical & Laboratory Standards Institute - CLSI. (2015). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 25th informational supplement. In P. A. Wayne (Ed.), CLSI document M100-S25.
- Cosgrove, S. E. (2006). The Relationship between Antimicrobial Resistance and Patient Outcomes: Mortality, Length of Hospital Stay, and Health Care Costs. *Clin Infect Di.* **42** (Supplement\_2): S82-S89.

- Cuzon, G., Naas, T., Correa, A., Quinn, J. P., Villegas, M.-V., Nordmann, P.** (2013). Dissemination of the KPC-2 carbapenemase in non-*Klebsiella pneumoniae* enterobacterial isolates from Colombia. *Int J Antimicrob Agents*. **42** (1): 59-62.
- D'Costa, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W. L., Schwarz, C., ... Wright, G. D.** (2011). Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. **477** (7365): 457-461.
- Dalhoff, A. A.** (2018). Membrane Interactions of Antibacterial Agents. *Trends Clin Microbiol*. **1** (1): 04-48.
- Escobar-Pérez, J. A., Olarte-Escobar, N. M., Castro-Cardozo, B., Valderrama-Márquez, I. A., Garzón-Aguilar, M. I., Martínez-de la Barrera, L., ... Vanegas-Gómez, N.** (2013). Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. **57** (4): 1957-1960.
- Finkel, S. E. & Kolter, R.** (2001). DNA as a nutrient: Novel role for bacterial competence gene homologs. *J Bacteriol*. **183** (21): 6288-6293.
- Frost, L. S. & Koraimann, G.** (2010). Regulation of bacterial conjugation: Balancing opportunity with adversity. *Future Microbiol*. **5** (7): 1057-1071.
- Gaze, W. H., Krone, S. M., Larsson, D. G. J., Li, X.-Z., Robinson, J. A., Simonet, P., Zhu, Y.-G.** (2013). Influence of Humans on Evolution and Mobilization of Environmental Antibiotic Resistome. *Emerg Infect Dis*. **19** (7): e120871.
- Harrison, J. J., Stremick, C. a, Turner, R. J., Allan, N. D., Olson, M. E., Ceri, H.** (2010). Microtiter susceptibility testing of microbes growing on peg lids: A miniaturized biofilm model for high-throughput screening. *Nat Protoc*. **5** (7): 1236-1254.
- Hawser, S. P., Bouchillon, S. K., Hoban, D. J., Hackel, M., Johnson, J. L., Badal, R. E.** (2009). *Klebsiella pneumoniae* isolates possessing KPC  $\beta$ -lactamase in Israel, Puerto Rico, Colombia and Greece. *Int J Antimicrob Agents*. **34** (4): 384-385.
- Hoffman, L. R., D'Argenio, D. A., MacCoss, M. J., Zhang, Z., Jones, R. A., Miller, S. I.** (2005). Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature*. **436** (7054): 1171-1175.
- Holt-Harris, J. E. & Teague, O.** (1916). A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. *J Infect Dis*. **18** (6): 596-600.
- Huertas, M. G., Zárate, L., Acosta, I. C., Posada, L., Cruz, D. P., Lozano, M., Zambrano, M. M.** (2014). *Klebsiella pneumoniae* *yfiRNB* operon affects biofilm formation, polysaccharide production and drug susceptibility. *Microbiology*. **160**: 2595-2606.
- Instituto Nacional de Salud (INS).** Resultados del Programa de Vigilancia por Laboratorio de Resistencia antimicrobiana en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) 2016. Accessed on Nov, 2019. <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Vigilancia%20por%20Laboratorio%20Resistencia%20Antimicrobiana%20y%20Whonet%20IAAS%202016.pdf>
- Jacoby, G. A. & Han, P.** (1996). Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*. **34** (4): 908-911.
- Jones, R. N., Guzmán-Blanco, M., Gales, A. C., Gallegos, B., Castro, A. L. L., Martino, M. D. V., ... Castanheira, M.** (2013). Susceptibility rates in Latin American nations: Report from a regional resistance surveillance program (2011). *Brazilian J Infect Dis*. **17** (6): 672-681.
- Jutkina, J., Marathe, N. P., Flach, C.-F., Larsson, D. G. J.** (2018). Antibiotics and common antibacterial biocides stimulate horizontal transfer of resistance at low concentrations. *Sci Total Environ*. **616-617**: 172-178.
- Jutkina, J., Rutgersson, C., Flach, C.-F., Joakim-Larsson, D. G.** (2016). An assay for determining minimal concentrations of antibiotics that drive horizontal transfer of resistance. *Sci Total Environ*. **548-549**: 131-138.
- Kado, C. I. & Liu, S. T.** (1981). Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J Bacteriol*. **145** (3): 1365-1373.
- Kopylova, E., Noé, L., Touzet, H.** (2012). SortMeRNA: Fast and accurate filtering of ribosomal RNAs in metatranscriptomic data. *Bioinformatics*. **28** (24): 3211-3217.
- Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R., ... Woodford, N.** (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: A molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. **10** (9): 597-602.
- Landecker, H.** (2016). Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body Soc*. **22** (4): 19-52.
- Leal, A.L.** (2016). Boletín GREBO, Número 9, Bogotá, 2016, ISSN 2027- 0860. Bogotá.

- Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, K. S., Jeon, J. H., Kim, Y. B., Cha, C.-J., ... Lee, S. H. (2017). Antimicrobial Resistance of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Hypervirulence-Associated Determinants, and Resistance Mechanisms. *Front Cell Infect Microbiol.* **7**: 483.
- Lin, J. T., Connelly, M. B., Amolo, C., Otani, S., Yaver, D. S. (2005). Global transcriptional response of *Bacillus subtilis* to treatment with subinhibitory concentrations of antibiotics that inhibit protein synthesis. *Antimicrob Agents Chemother.* **49** (5): 1915-1926.
- Liu, G., Bogaj, K., Bortolaia, V., Olsen, J. E., Thomsen, L. E. (2019). Antibiotic-Induced, Increased Conjugative Transfer Is Common to Diverse Naturally Occurring ESBL Plasmids in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* **10**: 2119.
- Maeda, S., Ito, M., Ando, T., Ishimoto, Y., Fujisawa, Y., Takahashi, H., ... Kato, S. (2006). Horizontal transfer of nonconjugative plasmids in a colony biofilm of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett.* **255** (1): 115-120.
- Marti, E., Variatza, E., Balcazar, J. L. (2014). The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. *Trends Microbiol.* **22** (1): 36-41.
- McClure, R., Balasubramanian, D., Sun, Y., Bobrovskyy, M., Sumby, P., Genco, C. A., ... Tjaden, B. (2013). Computational analysis of bacterial RNA-Seq data. *Nucleic Acids Res.* **41** (14): e140-e140.
- Mielich-Süss, B. & Lopez, D. (2015). Molecular mechanisms involved in *Bacillus subtilis* biofilm formation. *Environ Microbiol.* **17** (3): 555-565.
- Ministerio de Salud. (2018). Plan nacional de respuesta a la resistencia a los antimicrobianos. Plan estratégico. Bogotá.
- Ortiz-Mayorga, J. L., Pineda-Rodríguez, I. G., Dennis, R. J., Porras, A. (2019). Costos atribuidos a las infecciones asociadas con la atención en salud en un hospital de Colombia, 2011-2015. *Biomédica.* **39** (1): 102-112.
- Palchevskiy, V. & Finkel, S. E. (2006). *Escherichia coli* competence gene homologs are essential for competitive fitness and the use of DNA as a nutrient. *J Bacteriol.* **188** (11): 3902-3910.
- Pendleton, J. N., Gorman, S. P., Gilmore, B. F. (2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **11** (3): 297-308.
- Pfultz, R. F., Schmidt, J. L., Wilkinson, B. J. (2001). A microdilution plating method for population analysis of antibiotic-resistant staphylococci. *Microb Drug Resist.* **7** (3): 289-295.
- Posada-Perlaza, C. E., Ramírez-Rojas, A., Porras, P., Adu-Oppong, B., Botero-Coy, A.-M., Hernández, F., ... Zambrano, M. M. (2019). Bogotá River anthropogenic contamination alters microbial communities and promotes spread of antibiotic resistance genes. *Sci Rep.* **9** (1): 11764.
- Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B. M., Ludwig, W., Peplies, J., Glockner, F. O. (2007). SILVA: A comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Res.* **35** (21): 7188-7196.
- Rada, A. M., Hernández-Gómez, C., Restrepo, E., Villegas, M. V. (2019). Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomédica.* **39**: 199-220.
- Rasheed, J. K., Anderson, G. J., Yigit, H., Queenan, A. M., Domenech-Sánchez, A., Swenson, J. M., ... Tenover, F. C. (2000). Characterization of the Extended-Spectrum beta -Lactamase Reference Strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), Which Produces the Novel Enzyme SHV-18. *Antimicrob Agents Chemother.* **44** (9): 2382-2388.
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C., ... Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Sci Total Environ.* **447**: 345-360.
- Rodríguez-Rojas, A., Rodríguez-Beltrán, J., Couce, A., Blázquez, J. (2013). Antibiotics and antibiotic resistance: A bitter fight against evolution. *Int J Med Microbiol.* **303** (6-7): 293-297.
- Rojas, L. J., Mojica, M. F., Blanco, V. M., Correa, A., Montealegre, M. C., De La Cadena, E., ... Villegas, M. V. (2013). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* coharboring KPC and VIM carbapenemases in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**: 1101-1102.
- Shon, A. S., Bajwa, R. P. S., Russo, T. A. (2013). Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Virulence.* **4** (2): 107-118.
- Shun-Mei, E., Zeng, J.-M., Yuan, H., Lu, Y., Cai, R.-X., Chen, C. (2018). Sub-inhibitory concentrations of fluoroquinolones increase conjugation frequency. *Microb Pathog.* **114**: 57-62.
- Skippington, E. & Ragan, M. A. (2011). Lateral genetic transfer and the construction of genetic exchange communities. *FEMS Microbiol Rev.* **35** (5): 707-735.

- Suescún, A. V., Cubillos, J. R., Zambrano, M. M.** (2006). Genes involucrados en la biogénesis de fimbrias afectan la formación de biopelículas por parte de *Klebsiella pneumoniae*. *Biomédica*. **26**: 528-537.
- Sun, D., Zhang, Y., Mei, Y., Jiang, H., Xie, Z., Liu, H., ... Shen, P.** (2006). *Escherichia coli* is naturally transformable in a novel transformation system. *FEMS Microbiol Lett.* **265** (2): 249-255.
- Van Laar, T. A., Chen, T., You, T., Leung, K. P.** (2015). Sublethal Concentrations of Carbapenems Alter Cell Morphology and Genomic Expression of *Klebsiella pneumoniae* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* **59** (3): 1707-1717.
- Venkatachalam, I., Teo, J., Balm, M. N. D., Fisher, D. A., Jureen, R., Lin, R. T. P.** (2012). *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing enterobacteria in hospital, Singapore. *Emerg Infect Dis.* **18** (8): 1381-1383.
- Ventola, C. L.** (2015). The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *P T.* **40** (4): 277-283.
- World Health Organization, WHO.** (2016). WHO | Global action plan on AMR. Accessed on: July 2019. Retrieved from: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/en/>
- Yanisch-Perron, C., Vieira, J., Messing, J.** (1985). Improved M13 phage cloning vectors and host strains: Nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene.* **33** (1): 103-119.
- Zhang, Y., Shi, C., Yu, J., Ren, J., Sun, D.** (2012). RpoS regulates a novel type of plasmid DNA transfer in *Escherichia coli*. *PLoS One.* **7** (3): e33514.

Artículo original

## Galileones vectoriales con simetría SU(2) como los generadores de los períodos de inflación primordial y expansión acelerada tardía

### Vector galileons with an SU(2) symmetry as the generators of the primordial inflation and late accelerated expansion periods

● Carlos A. Bautista<sup>1,\*</sup>, ● Andrés A. Navarro<sup>2</sup>, ● Yeinzon Rodríguez<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Ciudad Universitaria, Bucaramanga, Colombia.

<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Santo Tomás, Bucaramanga, Colombia.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Antonio Nariño, Bogotá D.C., Colombia.

#### Resumen

En este trabajo se demuestra que la generalización de la acción de Proca podría dar cuenta de los períodos conocidos de expansión acelerada del universo. Los campos vectoriales asociados a esta acción, denominados Galileones vectoriales, con simetría SU(2) y en disposición de tríada cósmica, permiten caracterizar un universo isótropo y homogéneo, satisfaciendo a su vez una condición necesaria para la ausencia de la inestabilidad de Ostrogradski. Por otra parte, la mencionada generalización posibilita la definición de dos fluidos artificiales: el fluido de Yang-Mills el cual corresponde a un término cinético con densidad de energía positiva, y el fluido de los Galileones vectoriales con densidad de energía negativa, ofreciendo un nuevo escenario para la descripción de la expansión acelerada del universo. En este trabajo se estudian las consecuencias cosmológicas de una de las piezas de la acción generalizada de Proca construida a partir del tensor  $S_{\mu\nu}^\alpha$ , la cual es la versión simétrica del tensor de esfuerzos del campo de gauge  $F_{\mu\nu}^\alpha$ . La inflación primordial se identifica con un par de puntos de silla del sistema dinámico obtenido para el modelo; lastimosamente la duración de este período es altamente sensible a las condiciones iniciales. Por otra parte, la era de expansión acelerada tardía se podría reproducir de manera satisfactoria gracias a un interesante comportamiento de autoajuste fino de las variables del sistema dinámico.

**Palabras clave:** Inflación; Energía Oscura; Galileones Vectoriales.

#### Abstract

We show in this work that the generalization of the Proca action could give account of the known periods of accelerated expansion of the universe. The vector fields associated with this action, called vector Galileons, with a SU(2) symmetry and in a cosmic triad configuration, allow us to characterize an isotropic and homogeneous universe, satisfying in turn a necessary condition for the absence of the Ostrogradski instability. On the other hand, the aforementioned generalization allows us to define two artificial fluids: the Yang-Mills fluid which corresponds to a kinetic term with positive energy density, and the vector Galileon fluid with negative energy density, offering a new scenario for the description of the accelerated expansion of the universe. In this work we study the cosmological consequences of one of the pieces of the generalized Proca action built from the  $S_{\mu\nu}^\alpha$  tensor, which is the symmetric version of the gauge field strength tensor  $F_{\mu\nu}^\alpha$ . The primordial inflation is identified with a couple of saddle points of the obtained dynamical system for this model; unfortunately the length of this period is highly sensitive to the initial conditions. On the other hand, the late accelerated expansion epoch could be successfully reproduced thanks to an interesting self-fine-tuning mechanism of the dynamical system variables.

**Keywords:** Inflation; Dark Energy; Vector Galileons.

**Citación:** Bautista CA, Navarro AA, Rodríguez Y. Galileones vectoriales con simetría SU(2) como los generadores de los períodos de inflación primordial y expansión acelerada tardía. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):121-132, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.1040>

**Editor:** Gabriel Téllez Acosta

**\*Correspondencia:**

Carlos A. Bautista;  
[carlos.bautista@correo.uis.edu.co](mailto:carlos.bautista@correo.uis.edu.co)

**Recibido:** 21 de octubre de 2019

**Aceptado:** 3 de noviembre de 2019

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

## Introducción

Los períodos inflacionarios representan eventos notables en la historia del universo por lo que merecen un estudio de su comportamiento a partir de los diferentes modelos cosmológicos disponibles. Esto incluye estudiar la generalización a la acción de Proca. Tal generalización requiere garantizar la ausencia de inestabilidades que impliquen un modelo no realista. Una de las inestabilidades más importantes a evitar es la inestabilidad de Ostrogradski (**Ostrogradsky**, 1850), la cual implica que el sistema no posee un estado base permitiendo así que la energía tienda a  $-\infty$ , lo cual es físicamente imposible (**Woodard**, 2007, 2015). Una condición necesaria mas no suficiente para que este tipo de patologías no se presente en la teoría es asegurar que las ecuaciones de campo no posean derivadas de tercer o mayor orden (**Woodard**, 2007, 2015); es aquí en donde los campos denominados Galileones juegan un papel importante, pues toda acción compuesta por Galileones generalizados conlleva a ecuaciones de campo de hasta segundo orden (**Nicolis, et al.**, 2009; **Deffayet, et al.**, 2011).

La acción de Proca por sí sola define un período del universo dominado por energía tipo radiación (**Quigg**, 2013); pero cuando se adiciona el término basado en los Galileones vectoriales no Abelianos,  $\mathcal{L}_4^1 \supset S_{\mu\nu}$  (**Allys, et al.**, 2016b; **Rodríguez & Navarro**, 2018), la dinámica del sistema es tal que se pueden definir dos fluidos artificiales de tipo radiación. Por una parte está el fluido de Yang-Mills, el cual es un fluido con densidad de energía y presión positiva que, por sí solo, representaría un universo dominado por la radiación (**Quigg**, 2013; **Aitchison & Hey**, 2012). Por otra parte está el denominado fluido de los Galileones vectoriales el cual posee tanto presión como densidad de energía negativa, siendo su ecuación de estado  $\omega_{Gal} \simeq 1/3$ . La separación del Lagrangiano de materia en dos términos asociados a dos fluidos diferentes no es más que un artificio matemático para observar la contribución de cada término en el modelo. Así, se puede observar que, gracias a un comportamiento de auto-ajuste fino, las densidades de energía de Yang-Mills y del Galileón vectorial prácticamente se cancelan dando lugar a un parámetro de estado efectivo  $\omega_{total} \simeq -1$  (**Rodríguez & Navarro**, 2018).

Una vez obtenido el sistema dinámico autónomo a partir de las ecuaciones de campo, se puede realizar un análisis numérico del comportamiento de las variables adimensionales que allí se definen. Al observar la evolución en el tiempo del sistema dinámico, se aprecia un mecanismo de auto-ajuste fino asociado al módulo del campo " $\psi$ " y a su primera derivada temporal " $\dot{\psi}$ "; este fenómeno actúa como un atractor que, sin importar las condiciones iniciales, conduce a una ecuación de estado de la forma  $P = -\rho$ . Por otra parte, el análisis de los puntos críticos arroja resultados muy interesantes ya que dos de los ocho puntos de equilibrio, los cuales son puntos tipo silla, logran reproducir un período inflacionario primordial lo suficientemente largo para resolver los problemas clásicos de la cosmología estándar, dando lugar posteriormente a un período dominado por la radiación; sin embargo, un cambio en las condiciones iniciales reduciría notablemente la duración del período inflacionario, lo que hace que el modelo pierda efectividad al momento de caracterizar la expansión acelerada primordial.

## Teoría de Proca con simetría SU(2) global

La ecuación de Proca representa las ecuaciones de Maxwell del electromagnetismo con un fotón masivo:

$$\mathcal{L}_P = -\frac{1}{4}F_{\mu\nu}F^{\mu\nu} + \frac{1}{2}M^2 A_\mu A^\mu, \quad (1)$$

siendo  $F_{\mu\nu} \equiv \partial_\mu A_\nu - \partial_\nu A_\mu$ , con  $A_\mu$  siendo el campo vectorial masivo y  $M$  siendo su respectiva masa (**Quigg**, 2013). Para incorporar la simetría SU(2) local a la teoría es necesario añadir los índices de grupo, los cuales se representan con letras latinas, para diferenciarlos de los índices espaciotemporales (índices griegos). En este caso (**Quigg**, 2013), el Lagrangiano de Proca se representaría de la forma

$$\mathcal{L}_P^{SU(2)} = -\frac{1}{4}F_{\mu\nu}^a F_a^{\mu\nu} + \frac{1}{2}M^2 A_\mu^a A_a^\mu, \quad (2)$$

en donde el tensor  $F_{\mu\nu}^a$  se conoce como el tensor de esfuerzos del campo de gauge, y se define como

$$F_{\mu\nu}^a = \partial_\mu A_\nu^a - \partial_\nu A_\mu^a + g\epsilon^a_{bc}A_\mu^b A_\nu^c \quad (3)$$

Cuando se omite la simetría de gauge no abeliana en la teoría (pero preservando la simetría global), la definición del tensor de esfuerzos es equivalente a la definición (3) sin el último término, el cual es asociado a la simetría SU(2) local, en donde  $g$  es la constante de acoplamiento del grupo y  $\epsilon^a_{bc}$  es el pseudo tensor de Levi-Civita que corresponde a las constantes de estructura del grupo, las cuales se definen de la siguiente manera:

$$[T_a, T_b] = i\epsilon^c_{ab}T_c, \quad (4)$$

siendo  $T_i$  los generadores de la transformación. Para comprender la simetría de gauge es conveniente conocer lo que significa SU(N). Las siglas SU provienen de “special unitary group”, lo que implica que los generadores de la transformación se representan mediante matrices unitarias, es decir, cumplen la relación  $T^\dagger T = \mathbb{I}$ , con determinante igual a +1. El número ( $N$ ) da información de la dimensión del grupo,  $D = N^2 - 1$ , en este caso con  $N = 2$ , el grupo posee tres dimensiones (Rodríguez, 2015). Un aspecto a resaltar es que el grupo de simetrías SU(2) es isomorfo al grupo SO(3) “grupo de rotaciones en tres dimensiones” (Ryder, 1996), lo cual quiere decir que ambos grupos poseen la misma estructura y por consiguiente exigir simetría SU(2) implica exigir simetría ante rotaciones espaciales en tres dimensiones. Lo anterior resulta de gran utilidad ya que se quiere modelar un universo a gran escala isótropo y homogéneo.

### Término S y la tríada cósmica

El término S es un Lagrangiano compuesto por la versión simétrica del tensor de esfuerzos  $F_{\mu\nu}^a$ , que surge a partir del análisis de los Galileones vectoriales (Allys, et al., 2016a, 2016b; Beltrán Jiménez & Heisenberg, 2016), y que se emplea para la generalización de la teoría de Proca. Esto se llevó a cabo tomando como base los trabajos realizados por Horndeski en los años 70 (Horndeski, 1974, 1976). La separación de las ecuaciones entre los términos S y aquellos definidos exclusivamente a partir de  $F_{\mu\nu}$  permite estudiar las implicaciones físicas de cada uno de estos términos por separado. Ya que el tensor de esfuerzos y su dual de Hodge han sido bien estudiados, se vio conveniente estudiar los Lagrangianos construidos a partir del tensor S. El Lagrangiano a estudiar es entonces de la forma  $\mathcal{L}_4 \equiv (\alpha\mathcal{L}_4^1 + \kappa\mathcal{L}_4^2 + \lambda\mathcal{L}_4^3)/M_p^2$ , en donde  $\alpha, \kappa, \lambda$ , son constantes de acoplamiento,  $M_p$  es la masa reducida de Planck y

$$\begin{aligned} \mathcal{L}_4^1 \equiv & \frac{1}{4} (A_\gamma^b A_b^\gamma) [S_\mu^{\mu a} S_{\nu a}^\nu - S_\nu^{\mu a} S_{\mu a}^\nu + A_\eta^a A_\eta^a R] \\ & + \frac{1}{2} (A_{\gamma a} A_b^\gamma) [S_\mu^{\mu a} S_\nu^{\nu b} - S_\nu^{\mu a} S_\mu^{\nu b} + A_\eta^a A_\eta^b R] \end{aligned} \quad (5)$$

es el término clave de la acción total con la cual se pretende modelar los períodos inflacionarios. Cabe señalar que, en la anterior expresión,  $R$  es el escalar de Ricci. Así, es posible construir la acción total considerando también la interacción materia-gravedad; por esta razón se añade la acción de Einstein-Hilbert, la cual permite asociar el tensor de Einstein con el campo vectorial que representa la materia. Como resultado, la acción del modelo a estudiar se define de la siguiente forma:

$$S = \int d^4x \sqrt{-\det(g_{\mu\nu})} \left( \frac{M_p^2 R}{2} - \frac{1}{4} F_{\mu\nu}^a F_a^{\mu\nu} + \frac{\alpha}{M_p^2} \mathcal{L}_4^1 \right), \quad (6)$$

en donde  $g_{\mu\nu}$  es la métrica espaciotemporal. Si bien a partir de la variación de la acción se obtienen las ecuaciones de Friedmann y de continuidad, el proceso quedaría incompleto ya que la configuración de Galileones vectoriales da lugar, generalmente, a una elevada anisotropía. La configuración de tríada cósmica (Armendariz-Picon, 2004) asegura la consistencia de las ecuaciones obtenidas con la asunción de un universo isótropo y homogéneo ya que tres vectores de igual norma y ortogonales entre sí no generan ninguna dirección privilegiada. Matemáticamente la tríada cósmica se expresa como

$$A_\mu^b = a\psi\delta_\mu^b, \quad (7)$$

en donde  $a$  es el parámetro de expansión,  $\psi = \psi(t)$  es una función escalar que sólo depende del tiempo y  $\delta_{\mu}^{\nu}$  es la función delta de Kronecker. Una vez impuesta la configuración de tríada cósmica a las ecuaciones de campo, se procede con el análisis analítico y numérico del sistema dinámico autónomo asociado.

### Sistema dinámico autónomo

Para adimensionalizar las ecuaciones obtenidas a través de la variación de la acción (6), y simplificarlas de manera óptima, se plantearon las siguientes variables asociadas al campo y su primera derivada:

$$x \equiv \frac{\dot{\psi}}{\sqrt{2}M_p H}, \quad y \equiv \frac{\psi}{\sqrt{2}M_p}, \quad z \equiv \frac{\dot{\psi}}{\sqrt{2}M_p H}, \quad (8)$$

en donde  $H$  es el parámetro de Hubble. También se definieron los parámetros adimensionales

$$P \equiv \frac{\ddot{\psi}}{M_p H^2}, \quad \epsilon \equiv -\frac{\dot{H}}{H^2}, \quad (9)$$

en donde  $\epsilon$  se conoce como el parámetro de slow-roll, y la condición  $\epsilon \ll 1$  indica un período de expansión de tipo rodadura lenta. Con base en las ecuaciones (8) y (9), la componente temporal de las ecuaciones de campo se reescribe como

$$1 = \alpha [-32y^4 - 188xy^3 + 10x^2y^2] + y^2 + 2xy + x^2 + 2g^2z^4, \quad (10)$$

mientras que las tres componentes espaciales, debido a la configuración de tríada cósmica, son iguales y equivalentes a la expresión

$$2\epsilon - 3 = \alpha [-340y^4 + 124y^4\epsilon + 316xy^3 + 614x^2y^2 + 104\sqrt{2}y^3P] + y^2 + 2xy + x^2 + 2g^2z^4. \quad (11)$$

Por otra parte, la variación de la acción respecto al campo  $A_{\mu}^a$  da como resultado

$$0 = \alpha [-218y^3 + 30xy^2 + 94y^3\epsilon + 10x^2y + 5\sqrt{2}y^2P] + \frac{P}{\sqrt{2}} + 2y + 3x - \epsilon y + 4g^2\frac{z^4}{y}. \quad (12)$$

La expresión (12) es consistente con la ecuación de continuidad proveniente de la conservación del tensor momentum - energía  $\nabla_{\mu}T^{\mu\nu} = 0$ , lo cual brinda confiabilidad y validez al desarrollo llevado a cabo. Por último para completar el conjunto de ecuaciones a resolver, se plantea el sistema dinámico de las variables definidas en la ecuación (8);

$$x' = \frac{P}{\sqrt{2}} + \epsilon x, \quad y' = x; \quad (13)$$

en donde  $x' \equiv dx/dN$  siendo  $N = \int H dt$  una escala de tiempo conocida como número de e-folds. La variable adimensional  $z(t)$  se deduce mediante el uso de la ligadura (10).

Debido a la consideración de isotropía y homogeneidad, el tensor momentum- energía es el de fluido perfecto y, por lo tanto, adquiere la forma

$$T_{\mu\nu} \equiv \text{diag}[-\rho_{tot}, P_{tot}, P_{tot}, P_{tot}], \quad (14)$$

en un sistema de referencia comóvil y cartesiano. En la anterior expresión  $\rho_{tot}$  y  $P_{tot}$  son la densidad de energía y presión respectivamente. De la adimensionalización de las ecuaciones de campo en las expresiones (10), es evidente que

$$\begin{aligned} \Omega_{YM} &= y^2 + 2xy + x^2 + 2g^2z^4, \\ \Omega_{Gal} &= \alpha [-32y^4 - 188xy^3 + 10x^2y^2], \end{aligned} \quad (15)$$

siendo  $\Omega_i = \rho_i/\rho_{tot}$  y  $\Omega_{tot} = \Omega_{Gal} + \Omega_{YM} = 1$ . Con un análisis similar para la ecuación (11) y teniendo en cuenta que la ecuación de estado para un fluido tipo radiación es  $P_{YM} = \rho_{YM}/3$ , se deduce que

$$\begin{aligned}
 P_{YM} &= \frac{\rho_{tot}}{3} (y^2 + 2xy + x^2 + 2g^2z^4), \\
 P_{Gal} &= \frac{\rho_{tot}}{3} \alpha (-340y^4 + 124y^4\epsilon + 316xy^3 \\
 &\quad + 614x^2y^2 + 104\sqrt{2}y^3P). \tag{16}
 \end{aligned}$$

La separación artificial del fluido total ( $\rho_{Gal} + \rho_{YM} = \rho_{tot}$ ), permite discernir cuál es el aporte al modelo de los dos términos de la acción asociados a los campos vectoriales. Ambos fluidos son de tipo radiación, pero uno es el comúnmente llamado fluido de Yang-Mills con densidad y presión positiva y el otro se denomina el fluido de los “Galileones vectoriales”, el cual posee densidad y presión negativa.

### Análisis del sistema dinámico

El análisis del sistema dinámico se lleva a cabo en dos etapas. En la primera etapa es necesario hallar los puntos críticos del sistema y observar cómo evoluciona el sistema dinámico en el tiempo sin considerar algún conjunto de condiciones iniciales en específico. En la segunda etapa es necesario hacer una detallada descripción del comportamiento de la solución cuando las condiciones iniciales se imponen cerca de los puntos críticos, ya que el sistema dinámico podría exhibir un comportamiento totalmente diferente en función de las características de los puntos críticos y las condiciones iniciales.

#### Comportamiento asintótico general y energía oscura

El análisis del espacio de fase ( **Figura 1**) revela el siguiente comportamiento asintótico: si  $N \rightarrow \infty$  entonces,

$$\begin{aligned}
 x &\rightarrow \infty, \\
 y &\rightarrow \beta x, \\
 z &\rightarrow \gamma x, \tag{17}
 \end{aligned}$$

con  $\beta = \frac{29}{11}$  y  $\gamma = \frac{\sqrt{29}(42837\alpha)^{1/4}}{11\sqrt{|g|}}$ . Las tres tendencias descritas anteriormente se ven reflejadas tanto en el diagrama de fase de la **figura 1**, como en las **figuras 2a y 2b**, donde también se observa dicho comportamiento asintótico. Al analizar las ecuaciones de evolución (13) para la variable “y” en su límite a tiempo infinito, se obtiene la ecuación diferencial,  $x' - x/\beta = 0$ .

La solución a tal expresión es una exponencial creciente, lo que concuerda con el límite a tiempo infinito de la variable “x”. Tal comportamiento hace que la magnitud de la densidad y presión de los dos fluidos artificiales (**ver figura 2c**) tiendan a infinito. Sin embargo, el sistema en su evolución posee un mecanismo de auto-ajuste fino, en donde  $\Omega_{Gal} \rightarrow -\Omega_{YM}$  como se observa en la **figura 2d**; este hecho evita que la densidad y presión total de energía tiendan a infinito.

Si bien las densidades de energía de ambos fluidos artificiales tienden a ser de igual magnitud y de signos opuestos, el mecanismo de autoajuste fino permite que la densidad total de energía sea finita y diferente de cero. Para demostrarlo, primero se supone que la suma de las dos densidades de energía en mención es

$$\rho_{Gal} + \rho_{YM} = \rho_{tot} \tag{18}$$

donde  $\rho_{tot}$  tiene un valor real finito. Luego se reformula la ecuación de tal forma que

$$1 = \frac{\rho_{tot}}{\rho_{Gal}} - \frac{\rho_{YM}}{\rho_{Gal}}, \tag{19}$$

y por último se evalúa en el límite  $\rho_{Gal} \rightarrow \infty$ , dando como resultado la relación entre densidades que se planteó inicialmente,

$$\lim_{\rho_{Gal} \rightarrow \infty} \frac{\rho_{YM}}{\rho_{Gal}} = -1; \tag{20}$$

de esta manera  $\Omega_{Gal} \rightarrow -\Omega_{YM}$ , y la suma de ambas densidades es un valor finito diferente de cero.

El autoajuste fino posee además una característica importante que le permite describir un período del universo dominado por la energía oscura; si se observa detalladamente el diagrama de fase de la **figura 1**, se aprecia que a medida que la solución (flechas rojas)

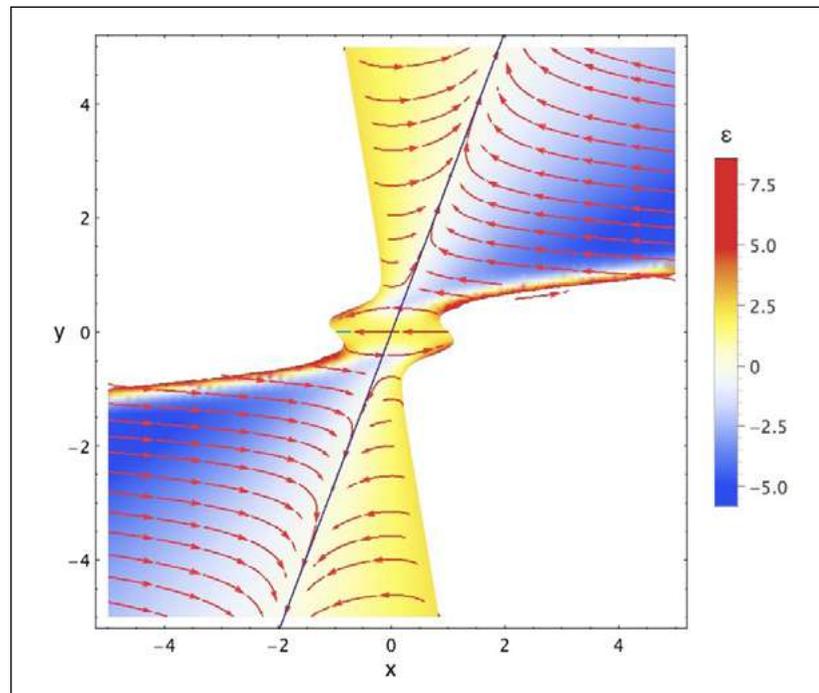
tiende al comportamiento asintótico (línea azul correspondiente a  $y = \beta x$ ), el parámetro  $\epsilon$  tiende a cero, lo que implica  $\omega = -1$  propio de un universo dominado por la energía oscura. Esto ocurre para un amplio conjunto de condiciones iniciales.

Para reafirmar la información que brinda el diagrama de fase, se puede efectuar un análisis más detallado de la evolución de algunos parámetros. En el conjunto de gráficas que se muestran a continuación, se aprecian las diferentes variables y parámetros en función del tiempo, para un conjunto de condiciones iniciales específico. En la **figura 2e** se observa que el valor del parámetro de Hubble,  $H/m_p \propto y^2/z^2$  se aproxima asintóticamente a su valor observado hoy en día,  $H_0 = 9,03h \times 10^{-61}$ , siendo  $h = 0,678 \pm 0,009$  (Aghanim, *et al.*, 2018). De otra parte, en la **figura 2f** se observa el valor del parámetro de estado del fluido de los Galileones vectoriales, el cual tiende a  $\omega_{Gal} \rightarrow 1/3$ . Finalmente, en la **figura 2g** se observa cómo el parámetro de estado total se aproxima asintóticamente a  $\omega_{tot} = -1$ , representando, por tanto, a un universo en expansión acelerada.

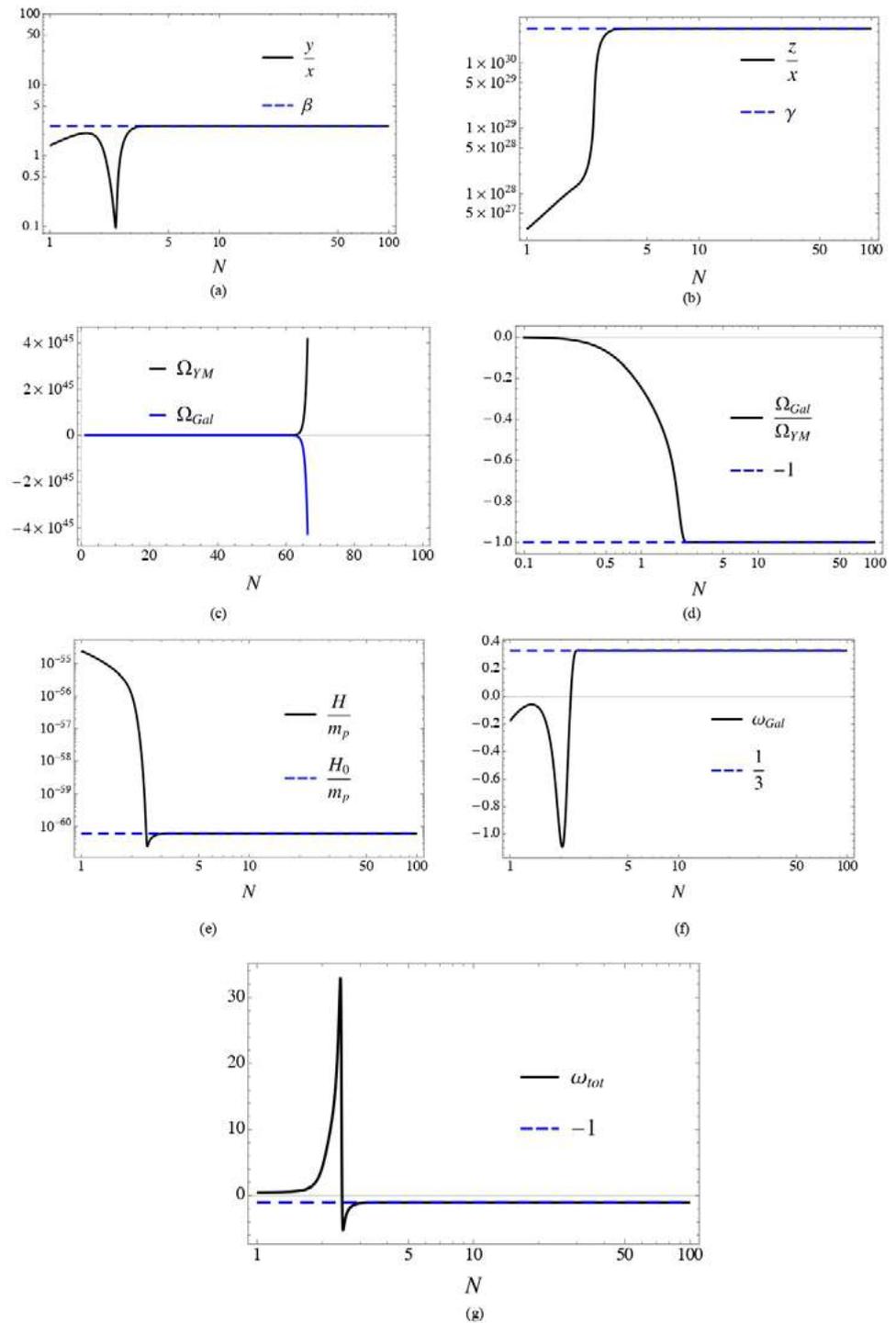
**Puntos críticos e inflación primordial**

El sistema autónomo obtenido en este modelo, como cualquier otro sistema dinámico, posee puntos de equilibrio en los cuales la solución se comporta de manera diferente a la expuesta en la subsección anterior. Dependiendo de las condiciones iniciales que se impongan y de las propiedades específicas de los puntos de equilibrio, es posible caracterizar un período inflacionario transitorio, propicio para modelar la expansión acelerada primordial.

Al realizar un análisis de los puntos de estabilidad del sistema dinámico (Burton, 1994) descrito en la ecuación (13), se encontraron ocho en total; dos de ellos son descartados rápidamente porque son puntos que poseen al menos una variable adimensional compleja, es decir, un campo  $\psi$  con componente imaginaria. De los seis puntos críticos restantes, cuatro son de la forma,  $\vec{x}_c = (x_c, y_c, z_c) = (0, c, 0)$ . Recordando la definición de las variables adimensionales (8), si  $y = cte$  y  $z = 0$ , entonces  $H \rightarrow \infty$  lo cual es inconsistente ya que la



**Figura 1.** Diagrama de fase para un valor de  $\alpha = 10^{-1}$  en donde se refleja la dinámica de la solución para las variables adimensionales  $x$  y  $y$ . También se observa la recta  $y = \beta x$  (línea azul), y el valor del parámetro  $\epsilon$  en las diferentes regiones mediante un código de colores. Nótese que, con excepción de la pequeña región central, la recta  $y = \beta x$  concuerda con  $\epsilon = 0$ .



**Figura 2.** Solución numérica para la obtención de una era del universo dominada por la energía oscura con condiciones iniciales  $x_0 = -1,0099$ ,  $y_0 = 0,01$ ,  $z_0 = 7 \times 10^{24}$  y los parámetros  $\alpha = 0,01$  y  $g = -4,37 \times 10^{-61}$ . (a) Gráfica de  $y/x$  vs número de e-folds y su valor límite  $\beta$  (línea discontinua). (b) Esta figura muestra el mismo análisis de la gráfica anterior, pero con la variable  $z/x$  y su límite  $\gamma$ . (c) Gráfica de la densidad de los dos fluidos artificiales  $\rho_{YM}$  y  $\rho_{Gal}$  tendiendo a  $\infty$  y  $-\infty$  respectivamente. (d) Esta gráfica comprueba el auto-ajuste fino  $\Omega_{Gal} \rightarrow -\Omega_{YM}$  el cual evita que  $\Omega_{tot} \rightarrow \infty$ . (e) Gráfica del parámetro de Hubble tendiendo a su valor actual  $H_0$ . (f) Esta gráfica demuestra que el fluido artificial  $\Omega_{Gal}$  tiende a comportarse como un fluido tipo radiación,  $\omega_{Gal} = 1/3$ . (g) Gráfica del parámetro de estado del fluido total  $\omega_{tot}$  indicando un periodo dominado por la energía oscura.

ecuación de Friedmann asocia directamente el parámetro de Hubble con la densidad de energía total, la cual debe ser finita. Finalmente, dos de los puntos críticos, siendo uno la imagen especular del otro ante una transformación  $y \rightarrow -y$ , cumplen con los requerimientos necesarios para describir un período inflacionario de tipo rodadura lenta (Lyth & Liddle, 2009), lo cual implica cumplir las condiciones  $\ll$

$$\epsilon = -\frac{\dot{H}}{H^2} \ll 1 \quad \text{y} \quad |\eta| = \left| \epsilon + \frac{1}{2\epsilon} \frac{d\epsilon}{dN} \right| \ll 1. \quad (21)$$

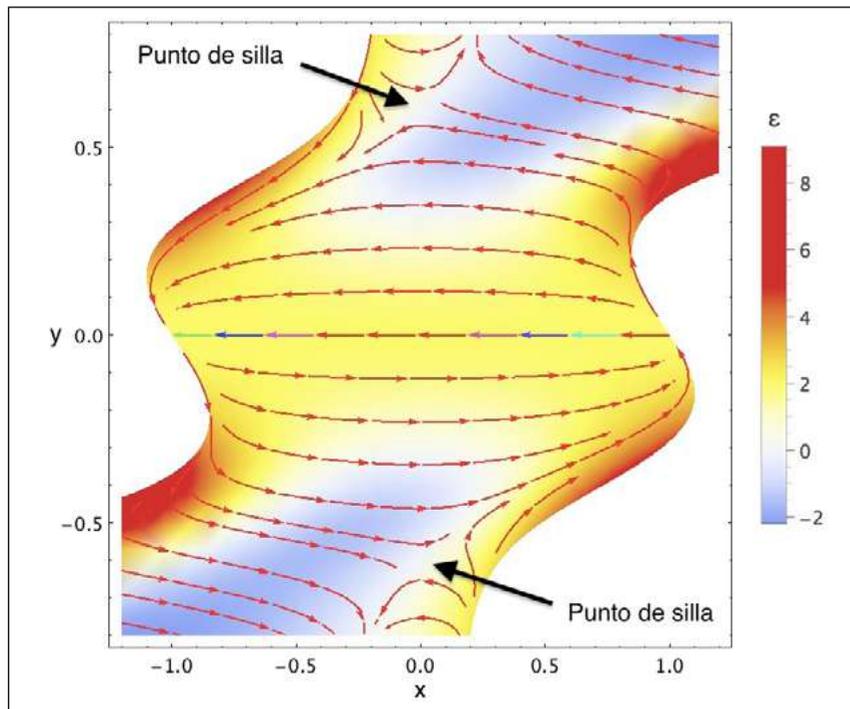
Sin embargo, es necesario que la inflación tenga una duración de al menos 68 e-folds para resolver los problemas clásicos de la cosmología estándar (Lyth & Liddle, 2009; Peter & Uzan, 2013). Ambos puntos críticos tipo silla, con condiciones iniciales muy precisas, logran el resultado esperado (tabla 1). Lamentablemente para el modelo, la duración de la era inflacionaria es altamente dependiente de las condiciones iniciales ya que un pequeño cambio en ellas hace que la duración del período inflacionario se reduzca drásticamente.

Al realizar un acercamiento al centro de la figura 1, es posible observar con detalle los puntos críticos tipo silla que posee el sistema dinámico (ver figura 3). Como se aprecia, los puntos señalados están asociados con un  $\epsilon \rightarrow 0$ ; por lo tanto, con las condiciones iniciales apropiadas, la solución se mantendrá cerca al respectivo punto crítico, indicando un período de inflación primordial, para luego alejarse a otra región del diagrama, señalando la culminación de inflación y el inicio de un período del universo dominado por radiación, el cual se ve representado gráficamente por oscilaciones alrededor de la línea  $y = 0$ .

Nuevamente, un análisis detallado de los diferentes parámetros y variables del modelo permite complementar la información obtenida a partir del diagrama de fase. Primero, en las figuras 4a y 4b se observa un comportamiento de  $\psi$  y  $\dot{\psi}$  prácticamente constante en un rango superior a 70 e-folds, lo cual es consistente con las curvas de los parámetros de rodadura lenta,  $\epsilon$  y  $\eta$ , presentadas en la figura 4c. También se aprecia en la figura 4d, un parámetro de Hubble cuya magnitud pertenece al régimen clásico en el cual está soportada la teoría ya que la magnitud de  $H(N)$  es mucho menor a la masa de Planck, la cual corresponde al límite entre la gravedad clásica y la gravedad cuántica. Finalmente, las figuras 4e y 4f muestran la distribución de la energía total durante inflación, y las figuras 4g y 4h confirman una presión negativa que genera expansión acelerada, además de un parámetro  $\omega_{tot}$  que tiende a 1/3, indicando un período de radiación después de inflación.

**Tabla 1.** Algunas propiedades fundamentales que los puntos críticos del sistema dinámico deben poseer para poder describir, de manera correcta, un período de expansión acelerada primordial. En ella se observa que dos de los ocho puntos críticos, siendo uno la imagen especular del otro ante una transformación  $y \rightarrow -y$ , cumplen con los tres requisitos, siendo estos puntos críticos los que se señalan en el diagrama de fase de la figura 3.

Puntos críticos	Coordenadas reales	H finito	Inflación prolongada
1	x	---	---
2	x	---	---
3	✓	x	---
4	✓	x	---
5	✓	x	---
6	✓	x	---
7	✓	✓	✓
8	✓	✓	✓



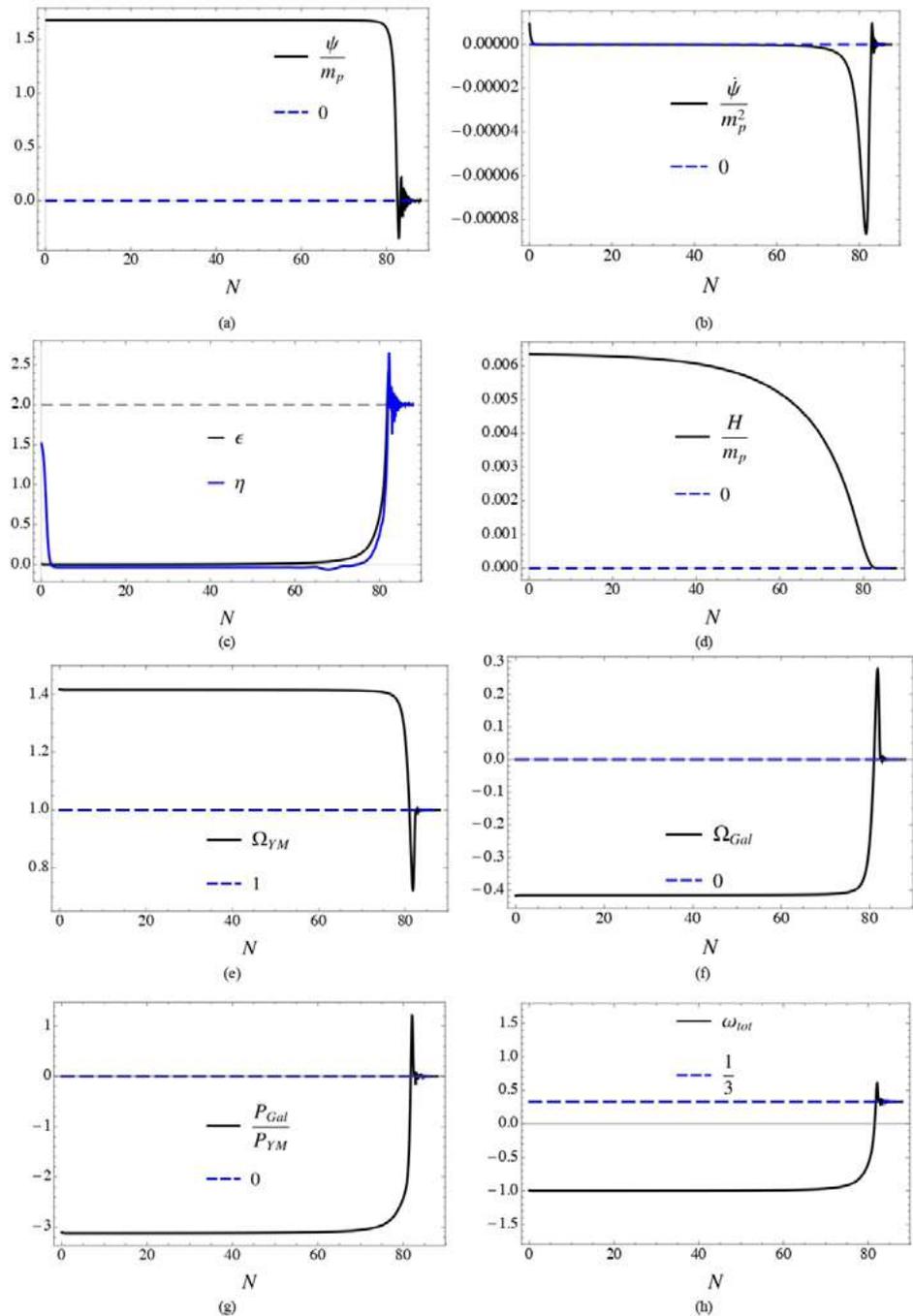
**Figura 3.** Diagrama de fase enfocado en la región central de la figura 1. En esta figura se aprecian mejor los puntos críticos tipo silla que dan lugar a la descripción de un período inflacionario.

### Conclusiones

Si bien los campos escalares han sido la principal herramienta para modelar los períodos de expansión acelerada del universo, debido a su capacidad de preservar la homogeneidad e isotropía (Bennett, *et al.*, 2013; Akrami, *et al.*, 2019), se ha demostrado en este artículo que los Galileones vectoriales, específicamente los asociados al término  $\mathcal{L}_4^1$  también pueden ser de gran utilidad a la hora de describir un universo en expansión acelerada gracias al concepto de tríada cósmica (Armendariz-Picon, 2004). Una de sus características más importantes es que el período inflacionario obtenido se produce de manera natural sin necesidad de añadir términos que no tienen una explicación física convincente. Esto se debe a que uno de los fundamentos del modelo indica que la acción que describe inflación, al igual que cualquier acción que modela un fenómeno físico, debe estar libre de patologías y, por lo tanto, debe estar contenida en la acción de los Galileones. Tal principio complementado con un término cinético ( $S_{YM}$ ) y uno geométrico ( $S_{EH}$ ) dieron lugar a la acción de la teoría, descrita en la ecuación (6).

Al obtener las ecuaciones de campo a partir de la acción, se verificó que el sistema dinámico posee un comportamiento asintótico ideal para modelar el período de la energía oscura, debido a que es un período que actualmente consta de un inicio pero no de un final. Por otra parte, los puntos críticos tipo silla son perfectos para modelar inflación primordial ya que, al poseer un  $\epsilon \approx 0$ , encajan con las características de tal época, y al ser inestables posibilitan que la dinámica de la solución describa un período inflacionario finito, cuyo final sea el inicio de una época dominada por la radiación.

A pesar de las virtudes descritas anteriormente, es importante recalcar que el autoajuste fino del sistema dinámico claramente no se aplica al caso de los puntos de silla, como se concluye de los diagramas de fase 1 y 3. Por lo tanto, el período de inflación primordial tendrá la duración adecuada para solucionar los problemas clásicos de la cosmología estándar siempre y cuando los valores iniciales para el sistema dinámico sean los adecuados.



**Figura 4.** Solución numérica para modelar una época inflacionaria con condiciones iniciales  $x_0 = 0.0011$ ,  $y_0 = 1.189$ ,  $z_0 = 14.911$  y los parámetros  $\alpha = 0.00649$  y  $g = -0.0001$ . (a) Esta primera figura muestra cómo el módulo del campo vectorial “ $\psi$ ” se mantiene casi constante hasta los 80 e-folds, condición necesaria para una inflación de tipo rodadura lenta. (b) Esta figura muestra un comportamiento similar para  $\dot{\psi}$  y prácticamente con la misma duración de e-folds. (c) Esta figura muestra las funciones  $\epsilon(N)$  y  $\eta(N)$ , ratificando lo planteado en la ecuación (21). (d) Esta figura muestra el parámetro de Hubble en función de  $N$ . (e) Gráfica de la densidad del fluido de Yang-Mills la cual al final de inflación corresponde al total de la densidad de energía,  $\Omega_{YM}=1$ . (f) Figura de la densidad del fluido del Galileón vectorial. (g) Relación entre presiones generadas por los dos fluidos artificiales. Se observa que la presión negativa de  $\Omega_{Gal}$  es dominante durante la inflación a pesar de que la densidad del fluido de Yang-Mills es mayor. (h) Parámetro de estado del fluido total. Se aprecia que al final del período inflacionario  $\omega_{tot} = 1/3$ , ecuación de estado propia de un período dominado por la radiación.

Cabe aclarar que ésta es una nueva rama de investigación en cuanto a inflación cósmica se refiere; por lo tanto, es necesario seguir analizando el modelo para comprobar su efectividad. Hay que realizar un análisis más profundo al Hamiltoniano del sistema, ya que se debe verificar que realmente no posea ningún tipo de inestabilidades. También es importante examinar qué otros Lagrangianos se pueden incorporar al modelo y robustecerlo, incluso pudiendo lograr que la teoría sea compatible con los más recientes resultados relacionados con la rapidez de las ondas gravitacionales (Abbott, *et al.*, 2017a, 2017b, 2017c).

## Agradecimientos

El más sincero agradecimiento a todas las personas que dedicaron tiempo y esfuerzo para la construcción de la teoría. A Juan Camilo Garnica por su valioso aporte en el cálculo variacional de tensores con información geométrica y a Luis Gabriel Gómez por su apoyo en el análisis computacional de las ecuaciones obtenidas. Este trabajo fue financiado por los siguientes proyectos de investigación: Colciencias - DAAD 110278258747 RC-774-2017, DIEF de Ciencias - UIS 2460, VCTI - UAN 2017239, and Centro de Investigaciones - USTA 1952392.

## Contribución de los autores

YR proporcionó la idea y trabajó en la construcción de la acción cuyas ecuaciones de campo dieron origen al sistema dinámico altamente no lineal que se analizó en este artículo. AN, mediante el programa “Maple”, realizó el cálculo tensorial, obteniendo así las ecuaciones de campo y de movimiento. El análisis de los diferentes puntos críticos y del comportamiento asintótico lo realizó cada autor por separado para estar seguros de los resultados. Todos los autores participaron en la redacción del artículo y en el diseño de las figuras.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses con respecto al contenido de este artículo.

## Referencias

- Abbott, B. P. *et al.* (2017a). Gravitational Waves and Gamma-rays from a Binary Neutron Star Merger: GW170817 and GRB 170817A. *Astrophys. J.* **848**: L13.
- Abbott, B. P. *et al.* (2017b). GW170817: observation of gravitational waves from a binary neutron star in spiral. *Phys. Rev. Lett.* **119**: 161101.
- Abbott, B. P. *et al.* (2017c). Multi-messenger Observations of a Binary Neutron Star Merger. *Astrophys. J.* **848**: L12.
- Aghanim, N. *et al.* (2018). Planck 2018 results. VI. Cosmological parameters. *arXiv:1807.06209 [astro-ph.CO]*.
- Aitchison, I. J. and Hey, A. J. (2012). Gauge theories in particle physics: A practical introduction, Volume 2: Non-Abelian Gauge theories: QCD and the electro-weak theory. CRC Press.
- Akrami, Y. *et al.* (2019). Planck 2018 results. VII. Isotropy and Statistics of the CMB. *arXiv:1906.02552 [astro-ph.CO]*.
- Allys, E., Beltrán Almeida, J. P., Peter, P. and Rodríguez, Y. (2016a). On the 4D generalized Proca action for an Abelian vector field. *JCAP.* **1609**: 026.
- Allys, E., Peter, P. and Rodríguez, Y. (2016b). Generalized SU(2) Proca theory. *Phys. Rev. D* **94**: 084041.
- Armendariz - Picon, C. (2004). Could dark energy be vector-like?. *JCAP.* **0407**: 007.
- Beltrán Jiménez, J. and Heisenberg, L. (2016). Derivative self-interactions for a massive vector field. *Phys. Lett. B* **757**: 405-411.
- Bennett, C. L. *et al.* (2013). Nine-Year Wilkinson Microwave Anisotropy Probe (WMAP) Observations: Final Maps and Results. *Astrophys. J. Suppl.* **208**: 20.
- Burton, T. D. (1994). Introduction to dynamic systems analysis. McGraw-Hill.
- Deffayet, C., Gao, X., Steer, D. A. and Zahariade, G. (2011). From k-essence to generalised Galileons. *Phys. Rev. D* **84**: 064039.

- 
- Horndeski, G. W.** (1974). Second-order scalar-tensor field equations in a four-dimensional space. *Int. J. Theor. Phys.* **10**: 363-384.
- Horndeski, G. W.** (1976). Conservation of Charge and the Einstein-Maxwell Field Equations. *J. Math. Phys.* **17**: 1980-1987.
- Lyth, D. H. and Liddle, A. R.** (2009). The primordial density perturbation: Cosmology, inflation and the origin of structure. Cambridge University Press.
- Nicolis, A., Rattazzi, R. and Trincherini, E.** (2009). The Galileon as a local modification of gravity. *Phys.Rev. D* **79**: 064036.
- Ostrogradsky, M.** (1850). Mémoires sur les équations différentielles, relatives au problème des isopérimètres. *Mem. Acad. St. Petersburg* **6**: 385-517.
- Peter, P. and Uzan, J.-P.** (2013). Primordial cosmology. Oxford University Press.
- Quigg, C.** (2013). Gauge theories of the strong, weak, and electromagnetic interactions. Princeton University Press.
- Rodríguez, Y.** (2015). A new pedagogical way of finding out the gauge field strength tensor in Abelian and non-Abelian local gauge field theories. *arXiv:1512.03827 [physics.gen-ph]*.
- Rodríguez, Y. and Navarro, A. A.** (2018). Non-Abelian S-term dark energy and inflation. *Phys. Dark Univ.* **19**: 129-136.
- Ryder, L. H.** (1996). Quantum field theory. Cambridge University Press.
- Woodard, R. P.** (2007). Avoiding dark energy with  $1/r$  modifications of gravity. *Lect. Notes Phys.* **720**: 403-433.
- Woodard, R. P.** (2015). Ostrogradsky's theorem on Hamiltonian instability. *Scholarpedia*, **10**: 32243.

Review article

## The Scalar Field Model of Dark Energy in the Framework of the Holographic Principle

### El modelo del campo escalar de la energía oscura en el marco del principio holográfico

✉ Luis Norberto Granda

Department of Physics, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Inaugural article by corresponding member of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences in January 23, 2020

#### Abstract

We study cosmological solutions for a scalar field minimally coupled to the curvature, in the framework of holographic dark energy. Phantom solutions can be obtained without introducing ghosts' degrees of freedom, and the autonomous system contains stable accelerated expansion solutions and de Sitter attractors. For the non-minimally coupled scalar field the special case of the conformal coupling is analyzed, and it is shown that dynamically evolving scalar field produces the effect of the cosmological constant.

**Keywords:** Dark Energy; Holographic Principle; Scalar Field

#### Resumen

Se estudian soluciones cosmológicas para un campo escalar acoplado mínimamente a la curvatura, en el marco del principio holográfico. Se pueden obtener soluciones phantom sin introducir grados de libertad fantasma, y el sistema autónomo contiene soluciones de expansión acelerada estables y atractores de Sitter. Para el campo con acoplamiento no-mínimo se analiza el caso especial del acoplamiento conforme y se demuestra que un campo escalar que evoluciona dinámicamente puede producir el efecto de la constante cosmológica.

**Palabras Clave:** Energía Oscura; Principio Holográfico; Campo Escalar

#### Introduction

The current accelerated expansion of the universe (Riess, *et al.*, 1998), (Perlmutter *et al.*, 1998), (Kowalski, *et al.*, 2008), (Hicken, *et al.*, 2009), (Ade, *et al.*, 2016), supposes a great challenge for the contemporary science. The source of this expansion, called dark energy, may consist of cosmological constant, conventionally associated with the energy of the vacuum or alternatively, could come from a dynamical varying scalar field at late times which also account for the missing energy density in the universe. In order to avoid the fine tuning and the coincidence problems, which relate to the inflationary behavior of the early universe and the late time dark energy dominated regime, the dark energy should have dynamical nature. This stimulates the interest in scalar fields that naturally arise in particle physics, including string theory, supergravity and generalized gravity theories such as the scalar tensor theories of gravity. So far a wide variety of scalar field models of dark energy have been proposed, including quintessence (Ratra and Peebles, 1988), k-essence (Armendariz, *et al.*, 2000), tachyon (Padmanabhan and Choudhury, 2002), phantom (Caldwell, 2002), ghost condensate (Arkani-Hamed, *et al.*, 2004) among others. The quintessence is an ordinary scalar field minimally coupled to gravity, with

**Citation:** Granda L.N. The Scalar Field Model of Dark Energy in the Framework of the Holographic Principle. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):133-141, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.966>

**Editor:** Gabriel Téllez Acosta

**Corresponding autor:**

Luis Norberto Granda;  
[luisngran@gmail.com](mailto:luisngran@gmail.com)

**Received:** August 12, 2019

**Accepted:** November 12, 2019

**Published:** March 31, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

particular potentials that lead to late time accelerated expansion. The equation of state for spatially homogeneous scalar field satisfies the inequality  $w < -1$ , and therefore can produce accelerated expansion. According to the current observational data (**Riess, et al., 1998**), (**Perlmutter, et al., 1998**), (**Kowalski, et al., 2008**), (**Hicken, et al., 2009**), (**Ade, et al., 2016**), the dark energy equation of state could be in a narrow region below the cosmological constant divide  $w = -1$ , i. e.  $w < -1$ , indicating that accelerated expansion is going through a phantom phase. Therefore, the quintessence field may not be adequate to describe the state of accelerated expansion of the universe and models which allow the phantom phase seem more suitable.

Among the models of dark energy, especially interesting is the scalar field model non-minimally coupled to curvature, which normally arises in quantum field theory in curved space time (**Ford, 19987**, **Birrell and Davis, 1982**) or after compactification of higher dimensional gravity theories and in the context of string theories. These kinds of couplings have been proposed by many authors to address the dark energy problem since these couplings provide in principle a mechanism to evade the coincidence problem, allow phantom crossing in some cases (**Perivolaropoulos, 2005**). A dynamical system for non-minimally coupled scalar field was studied in (**Sami, et al., 2012**), and in (**Granda and Jimenez, 2017**, **Granda and Jimenez, 2018**), the autonomous system analysis was studied for models with non-minimal Gauss-Bonnet and non-minimal kinetic couplings respectively.

Another interesting approach to explain the nature of the dark energy is based on some facts of quantum gravity known as holographic principle (**'t Hooft, 1993**), (**Susskind, 1994**), (**Bousso, 1999**). This principle establishes a connection between the short distance (ultraviolet) cut-off and the long distance (infrared) cut-off, given by a restriction on the size of the system in such a manner that prevents the formation of black holes with size larger than the size of the system (**Cohen, et al., 1999**), (**Hsu, 2004**). Applied to the dark energy issue, if we take the whole universe into account, then the vacuum energy related to this holographic principle is viewed as dark energy, usually called holographic dark energy. Based on this principle, the proposal of holographic dark energy have been developed in (**Cohen, et al., 1999**), (**Hsu, 2004**), (**Li, 2004**). Different IR cut-off scales such as Hubble scale, particle horizon and event horizon have been proposed to establish the holographic dark energy models. The Hubble scale can not give rise to an accelerated universe (**Hsu, 2004**), while the event horizon can produce an accelerated expansion (**Li, 2004**), but has problem with causality. A Holographic density model that is free of causality problem can explain the coincidence problem was presented in (**Granda and Oliveros, 2008**), (**Granda and Oliveros, 2008a**).

In this work we consider the scalar field in the framework of the holographic principle as proposed in (**Granda and Oliveros, 2008**), with the holographic density as the background vacuum energy and analyze the possible accelerating regimes that could take place under the effect of a scalar field in the framework the holographic principle. The non-minimal coupling in the framework of holographic principle has been studied in (**Ito, 2005**), (**Setare and Saridakis, 2008**). It should be said that such extension of the scalar field in the frame of holographic principle needs further theoretical foundation related with the microscopic nature of the vacuum energy.

## The scalar field in the framework of the holographic principle

Let us consider the simplest model of non-minimally coupled scalar field with potential in the presence of holographic dark energy (vacuum energy). The action for the scalar field with matter in a general background is given by

$$S = \int d^4x \sqrt{-g} \left[ \frac{1}{2\kappa^2} R - \frac{1}{2} \partial_\mu \phi \partial^\mu \phi - V(\phi) \right] + S_m \quad (1)$$

where  $\kappa^2 = 8\pi G$ ,  $S_m$  is the action for the matter fields which in the present case includes the usual baryonic and dark matter. Initially we consider the limit of dark energy dominance

and neglect the baryonic and dark matter contribution. We are considering the flat Friedmann-Robertson-Walker (FRW) metric with signature  $(-,+,+,+)$ . The Friedmann equation including the energy contribution from the holographic principle [40] is

$$H^2 = \frac{\kappa^2}{3} \left( \frac{1}{2} \dot{\phi}^2 + V(\phi) + \rho_A \right), \quad (2)$$

where

$$\rho_A = \frac{3}{\kappa^2} (\alpha H^2 + \beta \dot{H}), \quad (3)$$

and  $\rho_A$  is the energy contribution from the holographic principle. The equation of motion for the scalar field is given by

$$\ddot{\phi} + 3H\dot{\phi} + \frac{dV}{d\phi} = 0, \quad (4)$$

and the effective equation of state resulting from the time evolution of this model is

$$w_{\text{eff}} = -1 - \frac{2\dot{H}}{3H^2} \quad (5)$$

### Quintessence Solutions

To solve the equations (2) and (4), we can propose the following functions

$$H = \frac{p}{t}, \quad \phi = \phi_0 \ln \frac{t}{t_0}, \quad V = V_0 e^{\lambda\phi}. \quad (6)$$

Replacing these expressions in (2) it is found that under the restriction

$$\lambda\phi_0 = -2,$$

the following relation takes place (here we use  $\kappa^2 = M_p^2$ )

$$3M_p^2 [(1 - \alpha)p^2 + \beta p] = \frac{1}{2} \phi_0^2 + t_0^2 V_0 \quad (7)$$

And from the equation of motion (4) one finds

$$(3p - 1) \phi_0^2 - 2t_0^2 V_0 = 0. \quad (8)$$

The last two equations give us the initial values and in terms of the parameters

$$\phi_0^2 = 2M_p^2 [(1 - \alpha)p + \beta], \quad (9)$$

and

$$t_0^2 V_0 = M_p^2 (3p - 1) [(1 - \alpha)p + \beta]. \quad (10)$$

The scalar field and the potential keep the same functional dependence on time as in the simplest case of the canonical scalar field on FRW background with the advantage, in the present case, that there exist phantom solutions (leading to BR singularities) without resorting to ghost degrees of freedom. Using the initial value  $\phi_0$  one finds the power  $p$  as

$$p = \frac{1}{\alpha - 1} \left( \beta - \frac{\phi_0^2}{2M_p^2} \right). \quad (11)$$

In absence of scalar field this equation gives the usual restriction for accelerated expansion [40],  $\beta > \alpha - 1$ , and with the scalar field the Eq. (11) gives more possibilities including negative values of  $p$  leading to super acceleration, depending on the relation between  $\phi_0$  and  $Mp$ . Thus, the conditions for accelerated expansion ( $p > 1$ ) take the form

$$\beta < \frac{\gamma^2}{2} \quad \text{and} \quad \frac{1}{2} (2 + 2\beta - \gamma^2) < \alpha < 1 \quad (12)$$

or

$$\beta > \frac{\gamma^2}{2} \quad \text{and} \quad 1 < \alpha < \frac{1}{2} (2 + 2\beta - \gamma^2) \quad (13)$$

where  $\gamma = \phi_0/Mp$ . Note that these conditions take place whether  $\gamma$  is greater than or less than 1.

### Big Rip solutions

Let's consider the following solutions

$$H = \frac{q}{t_c - t}, \quad \phi = \phi_0 \ln(t_c - t), \quad V = V_0 e^{\lambda\phi} \quad (14)$$

with  $q > 0$ , which lead to Big Rip singularity at  $t = t_c$ . Replacing (14) in the Eqs. (2) and (4) one finds the same restriction,  $\lambda = -2/\phi_0$ , and the relations

$$\varphi_0^2 = 6M_p^2 \frac{(1-\alpha)q^2 - \beta q}{2 + 3q}, \quad (15)$$

and

$$\varphi_0^2 = 6M_p^2 \frac{(1-\alpha)q^2 - \beta q}{2 + 3q}, \quad (16)$$

and the expression for  $q$  in terms of  $\varphi_0$  is given by

$$q = \frac{1}{12(1-\alpha)} [3(2\beta + \gamma^2) + \sqrt{3(2\beta + \gamma^2)^2 + 48(\alpha - 1)\gamma^2}] \quad (17)$$

where  $\gamma = \varphi_0/Mp$ . The effective equation of state from (5) takes the value

$$w_{eff} = -1 - \frac{1}{q}.$$

From (15) and (16) follows that, given  $q > 0$ , we don't need to resort to ghost degrees of freedom, since  $\varphi_0^2 > 0$  whenever  $(1 - \alpha)q - \beta > 0$ , which implies that  $V_0 > 0$ . Thus, the standard canonical scalar field in the vacuum background generated by the holographic principle can describe an accelerated expansion with EoS bellow the phantom divide, i.e.  $w_{eff} < -1$ .

### The matter contribution and critical points

In this case the cosmological equations take the form

$$H^2 = \frac{\kappa^2}{3} \left( \frac{1}{2} \dot{\varphi}^2 + V(\varphi) + \rho_m \right) + \alpha H^2 + \beta \dot{H}, \quad (18)$$

$$-2\dot{H} - 3H^2 = \kappa^2 \left( \frac{1}{2} \dot{\varphi}^2 - V(\varphi) + p_m + p_\Lambda \right), \quad (19)$$

with the scalar potential given by

$$V = V_0 e^{\lambda\varphi} \quad (20)$$

where  $\rho_m$  and  $p_m$  are the density and pressure of the matter contribution respectively (baryonic and dark matter),  $p_\Lambda$  is the pressure corresponding to the vacuum energy. Both type of energy contributions are modeled by ideal fluids that obey the independent continuity equations

$$\dot{\rho}_m + 3H(\rho_m + p_m) = 0, \quad \dot{\rho}_\Lambda + 3H(\rho_\Lambda + p_\Lambda) = 0 \quad (21)$$

additionally, we have the equation of motion for the scalar field given by (4) which is not independent of (18) and (19). Here we assume that the equation of state for matter,  $w_m = p_m/\rho_m$  is constant, which allows the integration of the conservation equation, giving  $\rho_m = \rho_{m0} a^{-3(1+w_m)}$ . To understand some dynamical properties of the model we will consider the autonomous system and analyze the properties of the critical points. The dynamical variables can be deduced from (18) and will be defined as

$$x = \frac{\kappa\dot{\varphi}}{\sqrt{6}H}, \quad y = \frac{\kappa\sqrt{V}}{\sqrt{3}H}, \quad \Omega_m = \frac{\kappa^2\rho}{3H^2}, \quad \Omega_\Lambda = \alpha + \beta \frac{\dot{H}}{H^2} \quad (22)$$

which lead to the following restriction from Eq. (18)

$$x^2 + y^2 + \Omega_m + \Omega_\Lambda = 1 \quad (23)$$

and from Eqs. (4), (19) and (21), it is straightforward to derive the following equations

$$\frac{dx}{dN} = -3x + \frac{\sqrt{6}}{2} \lambda y^2 + \frac{3x}{2 - 3\gamma\beta} ((2 - \gamma)x^2 + \gamma(1 - y^2) - \alpha\gamma) \quad (24)$$

$$\frac{dy}{dN} = -\frac{\sqrt{6}}{2} \lambda xy + \frac{3y}{2 - 3\gamma\beta} ((2 - \gamma)x^2 + \gamma(1 - y^2) - \alpha\gamma) \quad (25)$$

where  $N = \ln a$  is the slow-roll variable and  $\gamma = 1 + w_m$ . Note that if one sets  $\alpha = \beta = 0$ , then the Eqs. (21)-(25) reduce to the autonomous system for the uncoupled quintessence scalar [33]. The effective equation of state is given by

$$w_{eff} = -1 + \frac{2[(2 - \gamma)x^2 + \gamma(1 - y^2) - \alpha\gamma]}{2 - 3\gamma\beta} \quad (26)$$

The following are the fixed points of the dynamical system (23)-(25).

$$\begin{aligned}
 P1 &= (x_c, y_c) = (0,0), & P2 &= \left(-\sqrt{\frac{2 + \gamma(\alpha - 3\beta - 1)}{2 - \gamma}}, 0\right), \\
 P3 &= \left(\sqrt{\frac{2 + \gamma(\alpha - 3\beta - 1)}{2 - \gamma}}, 0\right), \\
 P4 &= \left(\frac{3\gamma(2 - \beta\lambda^2) + 2\lambda^2 - D_1}{4\sqrt{6}\gamma}, -\frac{\sqrt{[2(\lambda^2 - 6) + 6\gamma - 3\beta\gamma\lambda^2]D_1 - D_2}}{4\sqrt{3}\gamma}\right), \\
 P5 &= \left(\frac{3\gamma(2 - \beta\lambda^2) + 2\lambda^2 - D_1}{4\sqrt{6}\gamma}, \frac{\sqrt{[2(\lambda^2 - 6) + 6\gamma - 3\beta\gamma\lambda^2]D_1 - D_2}}{4\sqrt{3}\gamma}\right), \\
 P6 &= \left(\frac{3\gamma(2 - \beta\lambda^2) + 2\lambda^2 + D_1}{4\sqrt{6}\gamma}, -\frac{\sqrt{[2(\lambda^2 - 6) + 6\gamma - 3\beta\gamma\lambda^2]D_1 - D_2}}{4\sqrt{3}\gamma}\right), \\
 P7 &= \left(\frac{3\gamma(2 - \beta\lambda^2) + 2\lambda^2 + D_1}{4\sqrt{6}\gamma}, \frac{\sqrt{[2(\lambda^2 - 6) + 6\gamma - 3\beta\gamma\lambda^2]D_1 - D_2}}{4\sqrt{3}\gamma}\right),
 \end{aligned} \tag{27}$$

where

$$\begin{aligned}
 D_1 &= \sqrt{9(\beta\lambda^2 - 2)^2\gamma^2 - 12\lambda^2(\beta\lambda^2 - 4\alpha + 2)\gamma + 4\lambda^4} \\
 &9(\beta\lambda^2 - 2)^2\gamma^2 - 3\gamma(24 - 8\alpha\lambda^2 + 4\beta\lambda^4 - 12\beta\lambda^2) + 4\lambda^2(\lambda^2 - 6).
 \end{aligned} \tag{28}$$

By setting  $\alpha = \beta = 0$  we recover the critical points corresponding to the minimally coupled scalar field. The critical points characterize different cosmological scenarios, depending on the parameters  $\alpha, \beta, \gamma, \lambda$ . Here we illustrate some cases that involve the effects of the holographic density:

**The point P1:**  $w_{eff} = -1 + \frac{2(\alpha-1)\gamma}{3\beta\gamma-2}, \Omega_m = \frac{2(\alpha-1)}{3\beta\gamma-2}, \Omega_\phi = 0, \Omega_\Lambda = \frac{2\alpha-3\beta\gamma}{2-3\beta\gamma}$ .

The corresponding eigenvalues are

$$\left(\frac{3(\alpha - 1)\gamma}{3\beta\gamma - 2}, \frac{3(\alpha - 3\beta - 1)\gamma + 6}{3\beta\gamma - 2}\right).$$

If we take  $\alpha = 1$ , then  $w_{eff} = -1$  and  $\Omega_m = 0$ . Then the energy becomes dominated by the holographic component and the point is a de Sitter solution with eigenvalues  $(0, -3)$ , which corresponds to marginally stable fixed point. On the other hand, if we take  $\alpha = 3\beta\gamma/2$ , then  $w_{eff} = \gamma - 1 = w_m$  with the energy density dominated by matter  $\Omega_m = 1$ , and eigenvalues

$$\left(\frac{3\gamma}{2}, \frac{3}{2}(\gamma - 2)\right),$$

which corresponds to a saddle point for  $0 < \gamma < 2$ . The case  $\alpha = \beta = 0$ , which corresponds to the standard quintessence scalar, gives the known matter dominated solution ( $\Omega_m = 1$ ) with  $w_{eff} = w_m$  [33]. In this last case the eigenvalues become  $(\frac{3}{2}(\gamma - 2), \frac{3\gamma}{2})$  giving a saddle point for  $1 < \gamma < 2$ . The de Sitter solution in this point is due to the holographic component.

**The point P2:**  $w_{eff} = 1, \Omega_m = \frac{2(\alpha-3\beta)}{\gamma-2}, \Omega_\phi = \frac{3\beta\gamma-\alpha\gamma+\gamma-2}{\gamma-2}, \Omega_\Lambda = \alpha - 3\beta$ .

The eigenvalues are

$$\left(\frac{6(3\beta\gamma - \alpha\gamma + \gamma - 2)}{3\beta\gamma - 2}, 3 + \sqrt{\frac{3(3\beta\gamma - \alpha\gamma + \gamma - 2)}{2(\gamma - 2)}}\lambda\right).$$

If we take  $\alpha = 3\beta$ , then  $\Omega_m = 0$  and the solution becomes dominated by the scalar field ( $\Omega_\phi = 1$ ) and is stable only under the conditions  $\lambda < -\sqrt{6}, \beta > \frac{2}{3\gamma}, 0 < \gamma < 2$ . Note that  $w_{eff} = 1$  for any value of the parameters, including the case of the quintessence scalar field corresponding to  $\alpha = \beta = 0$  ( $P2 = (-1, 0)$ ), giving also  $\Omega_m = 0$ , with the eigenvalues given by  $(-3(\gamma - 2), 3 + \sqrt{\frac{3}{2}}\lambda)$ , which lead to unstable ( $\lambda > -6$ ) or saddle point ( $\lambda < -6$ ) for  $0 < \gamma < 2$ . The difference between these two cases is that the inclusion of the holographic component can lead to stable fixed point. There is also a stable solution dominated by matter ( $\Omega_m = 1, \Omega_\phi + \Omega_\Lambda = 0$ ) if one sets

$$\gamma = 2(\alpha - 3\beta + 1) \text{ and } \lambda < -\sqrt{6}, \alpha > \frac{\lambda^4 - 6\lambda^2 + 36}{\lambda^4 - 6\lambda^2} \text{ and}$$

$$\frac{\alpha\lambda^2 + 6}{3\lambda^2} < \beta < \frac{\alpha + 1}{6} + \frac{1}{6}\sqrt{\alpha^2 + 2\alpha - 3}.$$

In this case the scalar field and holographic contribution cancel each other, which is not of interest since one of these density parameters should be negative.

**The point P3:** his point gives the same results

$$w_{eff} = 1, \Omega_m = \frac{2(\alpha - 3\beta)}{\gamma - 2}, \Omega_\phi = \frac{3\beta\gamma - \alpha\gamma + \gamma - 2}{\gamma - 2}, \Omega_\Lambda = \alpha - 3\beta,$$

with eigenvalues

$$\left( \frac{6(3\beta\gamma - \alpha\gamma + \gamma - 2)}{3\beta\gamma - 2}, 3 - \sqrt{\frac{3(3\beta\gamma - \alpha\gamma + \gamma - 2)}{2(\gamma - 2)}} \lambda \right),$$

and the stability for the scalar field dominated solution is reached under the conditions  $\lambda > \sqrt{6}, \beta > \frac{2}{3\gamma}, 0 < \gamma < 2$ . The quintessence case ( $\alpha = \beta = 0$ ), giving P3=(1,0)) is unstable for  $\lambda < \sqrt{6}$  and saddle for  $\lambda > \sqrt{6}$ , given that  $0 < \gamma < 2$ . The matter dominated solution that takes place for  $\gamma = 2 (\alpha - 3\beta + 1)$ , is stable under the restrictions

$$> \sqrt{6}, \alpha > \frac{\lambda^4 - 6\lambda^2 + 36}{\lambda^4 - 6\lambda^2} \text{ and } \frac{\alpha\lambda^2 + 6}{3\lambda^2} < \beta < \frac{\alpha + 1}{6} + \frac{1}{6}\sqrt{\alpha^2 + 2\alpha - 3}.$$

**The point P4:** First we note that for the case , and independently of the other parameters ( $\beta, \gamma, \lambda$ ),  $w_{eff} = -1$  and  $\Omega_m = 0, \Omega_\phi = 0, \Omega_\Lambda = 1$ . Due to its complexity to calculate the eigenvalues, we analyzed the case  $\gamma = 1$ , and have found that the point is an attractor if  $\beta > \frac{2(\lambda^2 + 3)}{3\lambda^2}$  for any  $\lambda \neq 0$ . This de Sitter attractor is due exclusively to the holographic component. For the quintessence scalar field  $\alpha = \beta = 0$ , the fixed point takes the values P4 =  $(\sqrt{\frac{3}{2}} \frac{\lambda}{\gamma}, -\sqrt{\frac{3\gamma(2-\gamma)}{2\lambda^2}})$  giving the stable scaling solution with  $w_{eff} = w_m$  for  $\lambda^2 > 3\gamma$ . One case of quintessence solution takes place if one sets  $\alpha = \beta = 2/\lambda^2$ . In this case we find  $w_{eff} = \frac{1}{6}(\lambda^2 - 6 - \sqrt{\lambda^4 - 12\gamma(\lambda^2 - 2)})$  with  $\Omega_m = 1 - 2/\lambda^2, \Omega_\phi = \frac{1}{2} - \frac{\sqrt{\lambda^4 - 12\gamma(\lambda^2 - 2)}}{2\lambda^2}, \Omega_\Lambda = \frac{1}{6} - \frac{4 - \lambda^2 + \sqrt{\lambda^4 - 12\gamma(\lambda^2 - 2)}}{2\lambda^2}$ . This point is an attractor with  $0 < \Omega_m, \Omega_\phi, \Omega_\Lambda < 1$  and  $-1 < w_{eff} < 0$  if  $-2\sqrt{\frac{2}{3}} < \lambda < -\sqrt{2}$  and  $0 < \gamma < \lambda^2/3$ . Another stable quintessence solution is obtained by taking  $\alpha = \gamma/3$  and  $\beta = 2/\lambda^2$ , giving  $w_{eff} = \frac{1}{6}(\lambda^2 - 6 - \sqrt{\lambda^2(\lambda^2 + 4\gamma^2 - 12\gamma)})$ . This point is an attractor with

$$-1 < w_{eff} < 1, \Omega_m = 1 - \frac{\gamma}{3}, \Omega_\phi = \frac{1}{2} - \frac{\sqrt{\lambda^2 + 4\gamma^2 - 12\gamma}}{2\lambda},$$

$$\Omega_\Lambda = \frac{2\gamma - 3}{6} + \frac{\sqrt{\lambda^2 + 4\gamma^2 - 12\gamma}}{2\lambda},$$

where all the density parameters are in the interval  $0 < \Omega_m, \Omega_\phi, \Omega_\Lambda < 1$  whenever  $\frac{3\sqrt{2}}{2} < \lambda \leq 3$  and  $\frac{\sqrt{9-\lambda^2}}{2} + \frac{3}{2} < \gamma < \lambda^2/3$  or  $\frac{11}{4} < \lambda < 3$  and  $\frac{\sqrt{3(48-5\lambda^2)}}{2\lambda^2} < \gamma < \frac{\lambda^2}{3}$ .

The point P5 as in the case of the point P4 contains a de Sitter attractor ( $w_{eff} = -1$ ) dominated by the holographic component ( $\Omega_\Lambda = 1$ ) for  $\alpha = 1$ , and the stability results from the restriction  $\gamma = 1$  and  $\beta > 2/3 (\lambda^2 + 3)$  for any  $\lambda \neq 0$ . This critical point contains also the quintessence solutions described for the point P4 with the same stability properties.

**The point P6:** For the scalar quintessence field, taking  $\alpha = \beta = 0$ , this critical point takes the values P6 =  $(\frac{\lambda}{\sqrt{6}}, \frac{\sqrt{6-\lambda^2}}{\sqrt{6}})$  and becomes stable node dominated by the scalar field with  $w_{eff} = -1 + \lambda^2/3$ , provided that  $\lambda < \sqrt{6}$  and  $\gamma > \lambda^2/3$ . By setting  $\alpha = 1$  in this point we find

$$w_{eff} = -1 + \gamma + (\frac{1}{3} - \frac{1}{2}\beta\gamma) \lambda^2, \Omega_m = \frac{\beta\lambda^2(4\lambda^2 - 6\gamma(\beta\lambda^2 - 2))}{8\lambda^2},$$

$$\Omega_\phi = 1 - \frac{3\beta\gamma}{2} + \frac{3\gamma}{\lambda^2}, \Omega_\Lambda = \frac{1}{4}(3\beta\gamma - 2)(\beta\lambda^2 - 2).$$

This point satisfies all the conditions for an attractor solution with accelerated expansion, but the analytical expression for the conditions on the parameters are very large and we limit ourselves here to the two numerical examples: taking  $\lambda = \sqrt{6}, \beta = 0.9, \gamma = 1.05$ , it is found  $w_{eff} = -0.785, \Omega_m = 0.18, \Omega_\phi = 0.11$  and  $\Omega_\Lambda = 0.71$ . Taking  $\lambda = 3\sqrt{3}$ ,

$\beta = 0.7$ ,  $\gamma = 1.065$ , one finds  $w_{eff} = -0.999$ ,  $\Omega_m = 0.0007$ ,  $\Omega_\phi = 0.00008$  and  $\Omega_\Lambda = 0.999$ . The above expressions for the main physical parameters simplify if one sets  $\beta = 2/\lambda^2$ . In this case we obtain

$$w_{eff} = -1 + \lambda^2/3, \Omega_m = 0, \Omega_\phi = 1, \Omega_\Lambda = 0.$$

This scalar field dominated critical point is an attractor if

$$0 < \lambda < \sqrt{2} \text{ and } \gamma \geq \frac{36\lambda^2 + 12\lambda^4 + \lambda^6}{108(1-\lambda^2) + 27\lambda^4}.$$

By taking  $\alpha = 1$  and  $\beta = \frac{2(3\gamma + \lambda^2)}{3\gamma\lambda^2}$ , this point gives a de Sitter saddle point dominated by the holographic component ( $\Omega_\Lambda = 1, \Omega_m = 0, \Omega_\phi = 0$ ) with eigenvalues  $(-3, 0)$ .

The point **P7** presents the same properties as the point **P6**, leading to stable de Sitter and quintessence attractors.

### Non-minimal coupling in the framework of the holographic principle

Here we assume the generalization of the holographic principle in the presence of non-minimally coupled scalar field. Let us start with the following action for a dark energy dominated universe

$$S = \int d^4x \sqrt{-g} \left[ \frac{1}{2\kappa^2} R - \frac{1}{2} \partial_\mu \phi \partial^\mu \phi - \frac{1}{2} \xi R \phi^2 \right], \quad (29)$$

Variation with respect to the metric, and assuming that the scalar field  $\phi$  has only time dependence, gives the following modified Friedman Eqs. in the flat FRW background [44, 45].

$$H^2 = \frac{\kappa^2}{3} \left( \frac{1}{2} \dot{\phi}^2 + 6\xi H \phi \dot{\phi} + 3\xi H^2 \phi^2 + \rho_\Lambda \right), \quad (30)$$

which corresponds to the (00) component of the variation with respect to the metric, and for the (11) component it is obtained

$$-2\dot{H} - 3H^2 = \kappa^2 \left[ \left( \frac{1}{2} - 2\xi \right) \dot{\phi}^2 - 2\xi (\phi \ddot{\phi} + 2H\phi \dot{\phi}) - \xi (2\dot{H} + 3H^2) \phi^2 + p_\Lambda \right], \quad (31)$$

where  $H$  is the Hubble parameter, and  $\rho_\Lambda, p_\Lambda$  are the energy density and pressure of the holographic dark energy. The equation of motion of the scalar field is the modified Klein-Gordon equation

$$\ddot{\phi} + 3H\dot{\phi} + 6\xi(\dot{H} + 2H^2)\phi = 0. \quad (32)$$

Replacing the holographic density (3) in (3), leads to the following Friedmann equation

$$H^2(1 - \alpha) = \frac{\kappa^2}{3} \left( \frac{1}{2} \dot{\phi}^2 + 6\xi H \phi \dot{\phi} + 3\xi H^2 \phi^2 \right) + \beta \dot{H}. \quad (33)$$

Although the above equations may include the potential, in this case we show that the effect of accelerated expansion can be obtained without the need to introduce a potential. Due to the non-minimal coupling from (30), the effective gravitational coupling can be expressed as

$$G_{eff} = \frac{G}{1 - 8\pi G \xi \phi^2}, \quad (34)$$

where  $G$  is the constant Newtonian coupling. The relative time variation of the gravitational coupling, obtained from (34) is given by

$$\frac{\dot{G}_{eff}}{G_{eff}} = - \frac{16\pi G \xi \phi \dot{\phi}}{1 - 8\pi G \xi \phi^2}. \quad (35)$$

An appropriate solution of the equations (32) and (33) should give the relative variation of the gravitational coupling consistent with current observational bounds.

The equation (33) simplifies under the restriction  $\alpha = 1$ , and has an exact solution for the scalar field for  $H = H_0 = \text{const.}$ , corresponding to de Sitter expansion with  $w_{eff} = -1$ . Setting  $\alpha = 1$  and  $H = H_0$  the equations (32) and (33) become

$$\frac{1}{2} \dot{\phi}^2 + 6\xi H_0 \phi \dot{\phi} + 3\xi H_0^2 \phi^2 = 0, \quad (36)$$

$$\ddot{\phi} + 3H_0 \dot{\phi} + 12\xi H_0^2 \phi = 0. \quad (37)$$

If one assumes the scalar field of the form

$$\varphi = \varphi_0 e^{\eta H_0 t}, \quad (38)$$

then, the Eqs. (36) and (37) have two solutions corresponding to

$$\xi = \frac{1}{6}, \quad \eta = -1 \quad \text{and} \quad \xi = \frac{3}{16}, \quad \eta = -\frac{3}{2} \quad (39)$$

Of special interest is the solution with  $\xi = 1/6$  corresponding to the conformal coupling of the scalar field. This de Sitter solution is not possible in absence of the holographic energy density. So, the non-minimally coupled scalar field in the framework of the holographic energy density can produce the same effect as the cosmological constant, leading to a de Sitter expansion when the coupling constant takes the conformal value  $\xi = 1/6$  and the scalar field evolves as  $\varphi = \varphi_0 e^{\eta H_0 t}$ .

For the solution (38), and using Eq. (35) we find the current value of  $\frac{\dot{G}_{eff}}{G_{eff}}$  as

$$\frac{\dot{G}_{eff}}{G_{eff}} = -\frac{2\xi H_0 (\varphi_0/M_p)^2 e^{2\eta H_0 t}}{1 - \xi (\varphi_0/M_p)^2 e^{2\eta H_0 t}}. \quad (40)$$

Here we used  $8\pi G = M_p^{-2}$  ( $M_p$  is the Planck mass) and  $H_0$  is the current value of the Hubble parameter. For the case of the conformal coupling ( $\xi = \frac{1}{6}, \eta = -1$ ), if we take  $\varphi_0/M_p \simeq 10^{-3}$  and  $t \sim H_0^{-1}$ , then the relative variation of  $\frac{\dot{G}_{eff}}{G_{eff}} \sim 10^{-18} \text{ yr}^{-1}$ , the gravitational coupling is of the order of , clearly satisfying the observational bounds.

## Discussion

In the present work we considered the usual canonical minimally coupled scalar field with an additional source, given by the vacuum energy, modeled by the holographic density (Granda and Oliveros, 2008). It was found that, under exponential potential, in the vacuum background generated by the holographic principle, the model admits the same solutions of the minimally coupled scalar field for the power-law expansion, with the advantage that in the present case additionally appear phantom solutions (leading to future Big Rip singularities) without resorting to ghost degrees of freedom. In presence of matter with constant equation of state  $w_m$ , the model presents a rich variety of critical points that give de Sitter attractors, stable quintessence solutions and saddle points. Thus for instance, the point **P1** contains a de Sitter solution dominated by the holographic component, with marginal stability due to the eigenvalues (0,-3). This point also contains matter dominated solution with  $w_{eff} = w_m$  which is a saddle point as in the case of absence of the holographic component. The point **P4** contains a de Sitter attractor dominated by the holographic component, and also contains stable quintessence ( $-1 < w_{eff} < 0$ ) solutions where all the energy components contribute.

The point **P6** contains attractor solutions with accelerated expansion where the different components can give contributions to the energy density, and also contains a scalar field dominated solution which is a stable node with accelerated expansion. The de Sitter solution for this critical point is dominated by the holographic component and is a marginally stable fixed point with eigenvalues (-3, 0). These results show that the phase space of the autonomous system is richer than in the case of minimally coupled scalar field, giving rise to more accelerated expansion scenarios.

In the case of non-minimally coupled scalar field, the holographic dark energy as given by (3), leads to interesting late time cosmological scenario: the model behaves as the cosmological constant, giving an exact de Sitter solution with dynamically evolving scalar field and without potential in the conformal coupling ( $\xi = 1/6$ ) regime.

It is worth doing a further analysis of the dynamical system for the scalar field with non-minimal coupling, in the framework of the holographic principle, to study its critical points and check if there are critical points with phantom behavior since, according to current observations, the equation of state of the dark energy could be below the cosmological constant divide. It would be also of interest to analyze the dynamical system of the scalar field, model (1)-(3), with a potential different from exponential, for instance with power-law potential.

## Acknowledgments

This work was supported by Universidad del Valle under project CI 71074, CI 71195.

## Conflicts of interest

The author declare that there are no conflicts of interest related to the contents of this article.

## References

- Ade, P. A. R., et al.** (2016). Planck 2015 Results. XIII. Cosmological Parameters. *Astron. And Astrophys.*, **594**: 1-63. DOI: <https://doi.org/10.1051/0004-6361/201525830>
- Arkani-Hamed, N., Cheng, H., Luty, M. A., Mukohyama, S.** (2004). Ghost Condensation and consistent infrared Modification of Gravity. *JHEP* 0405, **074**: 1-35.
- Armendariz-Picon, C., Mukhanov, V., Steinhardt, P. J.** (2000). A dynamical solution to the problem of a small cosmological constant and late-time cosmic acceleration, *Phys. Rev. Lett.*, **85**: 4438-4421.
- Birrell, N.D. and Davis, P.C.W.** (1982). *Quantum fields in curved space-time*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- Bousso, R.** (1999). A Covariant Entropy Conjecture. *JHEP*. **9907**: 1-33.
- Caldwell, R. R.** (2002). A phantom menace? Cosmological consequences of a dark energy component with super-negative equation of state. *Phys. Lett. B*. **545**: 23-29.
- Cohen, A., Kaplan, D., Nelson, A.** (1999). Effective Field Theory, Black Holes, and the Cosmological Constant. *Phys. Rev. Lett.* **82**: 4971-4974.
- Ford, L.H.** (1987). Gravitational Particle creation and Inflation. *Phys. Rev.* **D35**: 2955-2960.
- Granda, L. N., Jimenez, D. F.** (2017). Dynamical Analysis for a Scalar-Tensor Model with Gauss-Bonnet and Non-Minimal couplings. *Eur. Phys. J. C*. **77**, **679**: 1-12.
- Granda, L. N., Jimenez, D. F.** (2018). Dynamical Analysis for a Scalar-Tensor Model with Kinetic and Non-Minimal couplings. *IJMPD* 27, 1850030: 1-22.
- Granda, L. N., Oliveros, A.** (2008). Infrared Cut-off Proposal for the Holographic Density. *Phys. Lett. B* **669**: 275-277.
- Granda, L. N., Oliveros, A.** (2008a). New Infrared Cut-off for the Holographic Scalar Fields Models of Dark Energy. *Phys. Lett. B* **671**: 199-202.
- Hicken, M. et al.** (2009). Improved dark Energy Constraints from ~100 New CFA Supernova Type Ia Light Curves. *Astrophys. J.* **700**: 1097-1140.
- Hsu, S. D.** (2004). Entropy Bounds and Dark Energy. *Phys. Lett. B* **594**: 13-16.
- Ito, M.** (2005). Holographic Dark Energy Model with Non-minimal Coupling. *Europhys. Lett.* **71**: 712-715.
- Kowalski, M. et al.** (2008). Improved Cosmological Constraints from New, Old and Combined Supernova Datasets. *Astrophys. Journal*, **686**: 749-778.
- Padmanabhan, T., Choudhury, T. R.** (2002). Can the Clustered dark matter and the smooth dark energy arise from the same scalar field? *Phys. Rev. D* **66**: 081301
- Perlmutter, S. et al.** (1988). Discovery of a Supernova Explosion at Half the Age of the Universe and its Cosmological Constant. *Nature*. **391**: 51-54.
- Perivolaropoulos, L.** (2005). Crossing the Phantom Divide Barrier with Scalar-Tensor Theories. *JCAP* 0510, **001**: 1-16.
- Ratra, B., Peebles, J.** (1988). Cosmological consequences of a rolling homogeneous scalar field. *Phys. Rev. D* **37**: 3406-3427.
- Riess, A.G. et al.** (1998). Observational Evidence from Supernovae for an Accelerating Universe and a Cosmological Constant. *Astron. J.* **116**: 1009-1038.
- Sami, M., Shahalam, M., Skugoreva, M., Toporensky, A.** (2012). Cosmological Dynamics of Non-Minimally Coupled scalar Field system and Its late Time Cosmic Relevance. *Phys. Rev. D* **86**, 103532: 1-17.
- Setare, M.R., Saridakis, E.N.** (2009). Non-minimally Coupled Canonical, Phantom and Quintom Models of Holographic Dark Energy. *Phys. Lett.* **B671**: 331-338.
- Susskind, L.** (1995). The World as a Hologram. *J. Math. Phys.* **36**: 6377-6396.
- 't Hooft, G.** (1993). Dimensional Reduction in Quantum Gravity. *arXiv:gr-qc/9310026*.

Artículo original

## Determinación del espectro de energía de un haz de rayos X terapéutico de kilovoltaje a partir de su curva de atenuación

### Determination of energy spectrum of a therapeutic kilovoltage X-ray beam from its attenuation curve

• Ana Carolina Gonçalves<sup>1</sup>, • Jorge Homero Wilches Visbal<sup>2,\*</sup>,  
• Alessandro Martins Da Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Física, Universidad de São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia.

#### Resumen

Muchas áreas científicas y tecnológicas asociadas a procesos industriales, radiodiagnóstico y terapia radiante demandan altos niveles de precisión y practicidad en la medición de espectros de energía de rayos X. El espectro de un haz de rayos X puede determinarse de manera directa, a través de un detector de alta resolución, o de manera indirecta utilizando su curva de atenuación y una apropiada técnica matemática. La medición directa del espectro de rayos X suele ser costosa, problemática y exige considerable experticia. El propósito del presente trabajo fue determinar el espectro de energía de un haz de rayos X de kilovoltaje (kV) utilizando una medición indirecta del mismo, basada en la curva de atenuación del haz y en el uso de transformadas de Laplace. Para esto, i) se llevó a cabo una descripción completa y exhaustiva de la derivación matemática de la función que representa al espectro de energía; ii) se reconstruyó el espectro usando el algoritmo multistart junto con la función `lsqnonlin` de MATLAB; iii) se validó la reconstrucción del espectro comparando los valores de la capa semirreductora del espectro y de la curva de atenuación. Los resultados mostraron que los valores de las capas semirreductoras del espectro y la curva de atenuación fueron próximos entre sí y que el tiempo de cálculo del espectro fue notablemente corto. Por tanto, se concluye que la determinación indirecta del espectro de rayos X a partir de su curva de atenuación y mediante el uso novedoso de la sinergia multistart-`lsqnonlin`, es una alternativa más simple, más rápida y tan eficaz como la de medición directa del espectro.

**Palabras clave:** Espectroscopia; Rayos X; Transformadas de Laplace; Transmisión; Radioterapia; Radiología.

#### Abstract

Many scientific and technological areas associated with industrial process, diagnostic radiation images and radiation therapy demand high levels of accuracy and practicality for the measurement of X-ray energy spectra. The energy spectra of an X-ray beam can be determined either a direct or indirect measurement. Direct measurement uses a high energy resolution detector placed along the direction of the beam. Indirect measurement is based on the transmission curve of the beam and Laplace transforms. For this, i) a complete and exhaustive description of the mathematical derivation of the energy spectrum was carried out; ii) it was used the multistart algorithm along with the `lsqnonlin` function of MATLAB for the reconstruction of the spectrum; iii) the reconstruction of the spectrum was validated by comparing the half-value layer of the spectrum and the attenuation curve. The results showed that the half-value layer values of the spectrum and the attenuation curve were close to each other and the calculation time of the spectrum was considerably short. Therefore, it is concluded that the indirect determination of the X-ray spectrum from its attenuation curve by means of the novelty usage of the multistart-`lsqnonlin` synergy is a demonstrably simpler, faster and as effective alternative as the direct spectrum measurement.

**Keywords:** Spectroscopy; X-ray; Laplace transforms; Transmission; Radiotherapy; Radiology.

**Citación:** Gonçalves AC, Wilches-Visbal JH, Da Costa AM. Determinación del espectro de energía de un haz de rayos X terapéutico de kilovoltaje a partir de su curva de atenuación. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):142-152, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.965>

**Editor:** Román Eduardo Castañeda Sepúlveda

**\*Correspondencia:**

Jorge Homero Wilches Visbal;  
[jwilches@unimagdalena.edu.co](mailto:jwilches@unimagdalena.edu.co)/  
[jhwilchev@gmail.com](mailto:jhwilchev@gmail.com)

**Recibido:** 9 de agosto de 2019

**Aceptado:** 28 de noviembre de 2019

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

## Introducción

Desde su descubrimiento, en 1895, los rayos X han jugado un papel importante en la ciencia moderna, especialmente en el diagnóstico y tratamiento de varias enfermedades en medicina y odontología, lo que a su vez ha repercutido significativamente en el mejoramiento de la salud de muchas personas alrededor del mundo (**Pernicka & McLean, 2007**).

Rayos X terapéuticos de kilovoltaje (kV) son rutinariamente empleados para el tratamiento curativo de algunos tumores, tales como el carcinoma basocelular y el escamocelular de piel, bien como para el tratamiento paliativo de metástasis óseas (**Bilge, 2004**).

El espectro de energía es una parte esencial para la caracterización completa de un equipo de rayos X (**Malezan, et al., 2015**), puesto que tiene un gran impacto sobre la calidad y la dosis entregada por el haz de rayos X (**Nickoloff & Berman, 1993; Pamplona & Costa, 2010; Abbene, et al., 2012**). De aquí que el espectro y la calidad del haz de rayos X sean parámetros imprescindibles para el estudio de las propiedades dosimétricas en radiodiagnóstico (**Chen, et al., 2012**) y radioterapia (**De la Vega, et al., 2008**).

Se define al espectro de rayos X como la distribución energética de la radiación producida por un equipo de rayos X (**Nickoloff & Berman, 1993**). El espectro de rayos X, además, suele ser requerido para el modelamiento matemático y la optimización de sistema de imágenes en radiodiagnóstico (**Mainardi & Bonzi, 2008**) y radioterapia (**Li, et al., 2008**).

El espectro de energía de rayos X se puede medir de manera directa utilizando un espectrofotómetro (**Mainardi & Bonzi, 2008; Chen, et al., 2012**). Con todo, dado que la medición espectrométrica del haz de rayos X es demasiado costosa, exige una alta cualificación y requiere mucho tiempo, su aplicación en la rutina clínica no es común (**Baird, 1981; Pamplona & Costa, 2010; Chen, et al., 2012**).

Como alternativa, varios autores han reportado métodos indirectos de determinación del espectro de energía de un haz de rayos X a partir de la curva de atenuación del haz (**Dössel & Schlegel, 2010**) y del uso de transformadas de Laplace (**Delgado, 1999; Delgado, 2007; Mainardi & Bonzi, 2008**).

En su artículo pionero, Silberstein fue el primero en proponer el uso de la transformada de Laplace para la reconstrucción de espectros de rayos X a partir de una curva de atenuación (**Silberstein, 1993**). Poco más tarde, en 1936, Bell testó la eficiencia del método de Silberstein usando curvas experimentales (**Bell, 1936**). Décadas después, en 1970, Twidell desarrolló un código computacional para reconstruir espectros de rayos X de manera iterativa, por minimización del error entre datos de atenuación experimentales y numéricos (**Twidell, 1970**). En la década de los 80, fueron publicados varios trabajos para la reconstrucción de espectros de rayos X a partir de datos de atenuación, utilizando modelos matemáticos de tres o más parámetros, basados en diferentes métodos de solución (**Baird, 1981; Archer & Wagner, 1982; Kramer & Von Seggern, 1983; Kramer, et al., 1983; Archer, et al., 1985; Archer & Wagner, 1988a, 1988b**).

En la última década, diferentes estudios han explorado los aspectos experimentales y numéricos de la reconstrucción del espectro de rayos X a partir de la aplicación de distintas metodologías (**Delgado, 2009; Glover & Chantler, 2009; Menin, et al., 2014; Malezan, et al., 2015; Panthi, 2018**). Entre los trabajos que usaron el método de mínimos cuadrados para determinar el espectro de rayos X, se destaca el de **Archer & Wagner, 1988b**. En ese estudio, se plantea una modificación al modelo analítico de atenuación para remover artefactos relacionados con soluciones no realísticas del espectro. No obstante, no queda claro si la introducción de esa modificación era necesaria para suprimir los artefactos generados o si más bien bastaba con imponer restricciones al método de mínimos cuadrados.

Por otra parte, también ha sido reportada la derivación de espectros de energía de rayos X a partir del uso de códigos Monte Carlo (**Ay, et al., 2004; Bonifácio, et al., 2005**) y programas computacionales tales como IPEM78 (**Ay, et al., 2004**) y SpekCalc (**Poludniowski, et al., 2009**).

La capa semirreductora (CSR) es un parámetro comúnmente utilizado para describir la calidad de un haz de rayos X (Nickoloff & Berman, 1993; ChenAy, *et al.*, 2012; Al, 2017). La capa semirreductora se define como la espesura de un material absorbedor que reduce a la mitad la intensidad original del haz (Abbene, *et al.*, 2012). En haces de kV, la energía efectiva puede ser derivada a partir de la capa semirreductora, convirtiendo esta última a coeficiente de atenuación lineal o másico (Dössel & Schlegel, 2010; Chen, *et al.*, 2012). La energía efectiva es definida como la energía de un haz polienergético con igual capa semirreductora que un haz monoenergético (Chen, *et al.*, 2012, Correa, *et al.*, 2012). Luego, la energía efectiva también puede ser usada para evaluar la calidad de un haz de rayos X (Correa, *et al.*, 2012).

En el presente artículo, se propone reconstruir el espectro de energía de un haz de rayos X terapéutico, aplicando el método indirecto propuesto por Archer & Wagner, 1988a, fundamentado en la utilización de un par de transformadas de Laplace y en la medición experimental de la curva de atenuación del haz. Para resolver este método se utilizará, como novedad, el algoritmo multistart junto con la función lsqnonlin de MATLAB. La validación de la metodología de reconstrucción será realizada por comparación de los valores de la capa semirreductora de la curva de atenuación y del espectro, en lugar de hacerla cotejando el espectro reconstruido con el real, como hecho en artículos anteriores.

## Materiales y Métodos

### Modelamiento Matemático

Para un mismo medio material, bajo la condición de equilibrio de partículas cargadas (EPC), la dosis absorbida es equivalente al kerma colisional (Attix, 2008; Ma, 2014). Por tanto, si el medio material es el aire, se tiene que (Bos, 2011),

$$D_{ar} \stackrel{EPC}{\cong} K_{col,ar} = \int_0^{E_{max}} E \Phi(E) \left( \frac{\mu_{en}}{\rho} \right) dE, \quad (1)$$

donde  $D_{ar}$  es la dosis absorbida en aire,  $K_{col,ar}$  es el kerma colisional en aire,  $E_{max}$  es la energía máxima de los fotones del haz de energía nominal  $E$ ,  $\Phi(E)$ , es la distribución energética de fluencia,  $\left( \frac{\mu_{en}}{\rho} \right)$  es el coeficiente másico de absorción de energía y  $\rho$  es la densidad del material absorbedor.

El kerma colisional en aire también se puede escribir como (Smith, 2000),

$$K_{ar} = MN_k \quad (2)$$

en que  $M$  es la lectura de la cámara de ionización corregida por todas las variables de influencia y  $N_k$  es el coeficiente de calibración en términos de kerma en aire.

Reordenando los términos, a partir de las Ec. (1) y Ec. (2), se tiene que

$$M = \frac{1}{N_k} \int_0^{E_{max}} E \Phi(E) \left( \frac{\mu_{en}}{\rho} \right) dE. \quad (3)$$

Si un haz estrecho es atenuado por un material absorbedor de espesor,  $x$ , la distribución energética de fluencia viene a ser,

$$\Phi(E) = \Phi_0(0) e^{-\mu_m x} \quad (4)$$

donde  $\mu_m$  es el coeficiente másico de atenuación del material absorbedor.

De esta manera, la lectura de la cámara de ionización como función del espesor del material,  $M(x)$ , es,

$$M(x) = \frac{1}{N_k} \int_0^{\infty} E \Phi_0(0) e^{-\mu_m x} \left( \frac{\mu_{en}}{\rho} \right) dE, \quad (5)$$

donde el kerma en aire del material es, justamente,

$$K_{ar} = \int_0^{\infty} E \Phi_0(0) e^{-\mu_m x} \left( \frac{\mu_{en}}{\rho} \right) dE, \quad (6)$$

La transmisión relativa del haz a través del material absorbedor de espesor,  $T(x)$ , se define como la razón entre el kerma total del haz atenuado en aire,  $K_{ar}(x)$ , y el kerma total del haz no atenuado en aire,  $K_{ar}(0)$ ,

$$T_x = \frac{K_{ar}(x)}{K_{ar}(0)}, \quad (7)$$

Siendo lo mismo que,

$$T_x = \frac{M(x)}{M(0)}, \quad (8)$$

Por otra parte, sea,

$$F(E) = \frac{K_{ar}(x)}{K_{ar}(0)}. \quad (9)$$

Entonces, a partir de Ec. (5), Ec. (8) y Ec. (9), la transmisión relativa del haz se torna,

$$T(x) = \int_0^\infty F(E) e^{-\mu_m x} dE, \quad (10)$$

en que  $F(E) dE$  es la fracción de  $M(0)$  debida a los fotones de energía entre  $E$  y  $E + dE$ .

Cambiando la variable de integración de  $dE$  para  $d\mu_m$ , en la Ec. (9), resulta (**Archer & Wagner, 1988a**)

$$T(x) = \int_0^\infty -F(E) \frac{dE}{d\mu_m} e^{-\mu_m x} d\mu_m. \quad (11)$$

Para simplificar, considere que,

$$f(\mu_m) = -F(E) \frac{dE}{d\mu_m}, \quad (12)$$

donde  $f(\mu_m)$  es el prespectro relacionado con el espectro de energía del haz,  $F(E)$  (**Archer & Wagner, 1988a**),

Luego, a partir de Ec. (11) y Ec. (12), se obtiene,

$$T(x) = \int_0^\infty f(\mu_m) e^{-\mu_m x} d\mu_m, \quad (13)$$

en que si  $\mu_m$  es una función diferenciable y descendiente con respecto a  $E$ , siempre que  $E \rightarrow 0$ , entonces  $\mu_m \rightarrow \infty$ , o, si  $E \rightarrow \infty$ , entonces  $\mu_m \rightarrow 0$  (**Pamplona & Costa, 2010**).

Como la Ec. (13) concuerda con la definición de transformada de Laplace (**Dodson, 2002**), la curva de transmisión de un haz de rayos X puede ser rescrita así,

$$T(x) = \mathcal{L} [f(\mu_m)]. \quad (14)$$

La Ec. (14) es la representación matemática exacta del proceso de atenuación espectral.

Si la curva de transmisión es conocida, la transformada inversa de Laplace permite derivar el espectro de energía del haz de rayos X,  $F(E)$ , tal que,

$$F(E) = -\mathcal{L}^{-1} [T(x)] \frac{d\mu_m}{dE}, \quad (15)$$

o también,

$$F(E) = -f(\mu_m) \frac{d\mu_m}{dE}. \quad (16)$$

En este artículo se estudia un haz de rayos X de 80 kV producido en un ánodo de tungsteno. Para este material, la energía total de los electrones de la capa K es -69.5 keV, por lo que la emisión de rayos X característicos solo ocurriría para un valor de voltaje de tubo superior a este valor. La mayor parte de los rayos X emitidos son de frenado por causa de que aumentan fuertemente a medida que se aumenta del voltaje aplicado, lo que no sucede con los rayos X característicos. Sin embargo, la cantidad de rayos X característicos se incrementa para electrones con energía por encima de la energía de enlace de la capa K. La estabilidad de este proceso se alcanza para energías cinéticas más elevadas (**Dyson & Dyson, 2005**). La radiación característica de la capa L, no es generalmente importante y no será tenida en cuenta en este trabajo.

Para valores de voltaje de tubo superiores a la energía de enlace de la capa K, la curva de transmisión puede ser expresada como la superposición de su componente de frenado (espectro continuo),  $T_F(x)$  y su componente característica (espectro discreto),  $T_C(x)$ , esto es (**Archer & Wagner, 1988a**),

$$T(x) = T_F(x) + T_C(x). \quad (17)$$

Si  $r$  es la fracción de kerma en aire debida a la radiación de frenado en el espectro no atenuado, consecuentemente  $1 - r$  será la fracción de kerma en aire debida a la radiación característica. Con esto, los términos  $T_F(x)$  y  $T_C(x)$  son dados por,

$$T_F(x) = r \int_0^\infty f_F(\mu_m) e^{-\mu_m x} d\mu_m, \tag{18}$$

donde  $f_F(\mu_m)$  es la fracción de frenado del espectro de energía y,

$$T_C(x) = (1 - r) \sum_i C_i e^{-\mu_{m,i} x}, \tag{19}$$

donde  $C_i$  es la abundancia relativa del  $i$ -ésimo haz de rayos X característicos y  $\mu_{m,i}$  es el coeficiente másico de atenuación del  $i$ -ésimo haz de rayos X existente para un haz de energía nominal  $E$ .

Usando la propiedad asociativa de la transformada inversa de Laplace, de las Ec. (14) y Ec. (17), se tendría,

$$f(\mu_m) = \mathcal{L}^{-1} [T_C(x)] + \mathcal{L}^{-1} [T_F(x)]. \tag{20}$$

El significado físico de esta formulación está en que el último término es una suma de las funciones delta de Dirac,  $\delta$ , que representa a los rayos X característicos, ya que

$$f_C(\mu_m) = (1 - r) \sum_i C_i \mathcal{L}^{-1}[e^{-\mu_{m,i} x}] = (1 - r) \sum_i C_i \delta(\mu_m - \mu_{m,i}). \tag{21}$$

Usando la identidad,

$$\delta(E - E_i) = \frac{d\mu_m}{dE} \delta(\mu_m - \mu_{m,i}). \tag{22}$$

El espectro de la radiación característica,  $F_C(E)$ , se puede escribir como,

$$F_C(E) = (1 - r) \sum_i C_i \delta(E - E_i). \tag{23}$$

con lo que el espectro de energía del haz vendría a ser,

$$F(E) = rF_F(E) + (1 - r)F_C(E), \tag{24}$$

donde  $F_C(E)$  será entonces el espectro de energía de los rayos característicos. Las Ec. (17) y Ec. (24) constituyen la descripción matemática del espectro de rayos X teniendo en cuenta sus componentes de radiación de frenado y de radiación característica. (Archer & Wagner, 1988).

En este trabajo, se asume que la curva de transmisión viene dada por el modelo propuesto por Archer & Wagner (1988a), es decir,

$$T(x) = r \left[ \frac{ab}{(x+a)(x+b)} \right]^\vartheta e^{-\mu_{m,0} x} + (1 - r) \sum_i C_i e^{-\mu_{m,i} x}, \tag{25}$$

donde  $r, a, b, \vartheta$  son parámetros de ajuste a ser determinados y  $\mu_{m,0}$  es el coeficiente másico de atenuación del absorbedor a la energía máxima del haz.

Asimismo, el espectro de energía del haz de rayos X,  $F(E)$ , viene expresado matemáticamente como (Archer & Wagner, 1988a),

$$F(E) = \frac{r\pi^{1/2}(ab)^2}{\Gamma(\vartheta)} \left( \frac{\mu_m - \mu_{m,0}}{a - b} \right)^{\vartheta-1/2} e^{-\frac{(a+b)}{2}(\mu_m - \mu_{m,0})} \Gamma_{\vartheta-1/2} \left( \frac{1}{2} (a - b)(\mu_m - \mu_{m,0}) \right) \left( -\frac{d\mu_m}{dE} \right) + (1 - r) \sum_i C_i \delta(E - E_i) \tag{26}$$

donde  $\Gamma(\vartheta)$  es la función gamma y  $\Gamma_{\vartheta-1/2} \left( \frac{1}{2} (a - b)(\mu_m - \mu_{m,0}) \right)$  es una función de Bessel modificada.

### Metodología de reconstrucción espectral

La metodología seguida para el cálculo del espectro de rayos X es la siguiente:

1. Cálculo de la curva de transmisión. En primer lugar, se toma la lectura de la cámara de ionización sin material absorbedor. Seguidamente, se interponen placas de aluminio de 1 mm de espesor, progresivamente, de forma que la espesura va aumentando cada vez que se toma una nueva lectura. Se hace uso de la Ec. (8) para encontrar la curva de transmisión.

Resumiendo: la primera lectura, al no tener placa de aluminio ( $x = 0$  mm), se correspondería con  $T(0)$ ; la segunda, para  $x = 1$  mm (1 placa), con  $T(1)$ ; la tercera, para  $x =$

2\*1 mm = 2 mm (2 placas), con  $T(2)$ ; la cuarta, para  $x = 3*1\text{mm} = 3\text{ mm}$  (3 placas), con  $T(3)$  y así sucesivamente hasta llegar a  $x = 5\text{ mm}$ , con  $T(5)$ . Luego, la curva  $T(x)$  se expresa en función de  $x$ , con  $x = 1, 2, \dots, 5\text{ mm}$ . Como regularmente el espesor es indicado en términos de la densidad del absorbedor,  $x$  se convierte en  $x = \rho x$ .

2. Cálculo los parámetros de ajuste  $r, a, b, \vartheta$  de la Ec. (17). Para reproducir el coeficiente másico de atenuación de un haz polienergético, un polinomio de quinto grado es utilizado. Hecho esto, se procede a hallar  $\frac{d\mu_m}{dE}$  (Archer, et al., 1985). Las constantes del polinomio fueron determinadas utilizando la función fit de MATLAB. Para ánodos de tungsteno, los valores de la abundancia relativa y de los coeficientes másicos de atenuación para rayos X característico se consultaron en la **tabla 1** de Archer & Wagner (1988). Alternativamente, los valores de los coeficientes másicos de atenuación se pueden encontrar en las tablas del NIST (*National Institute of Standards and Technology*, en inglés).

Una vez establecidas las abundancias relativas y los coeficientes másicos de atenuación de los fotones de frenado y característicos en aluminio, se emplea algún método de optimización conducente a minimizar el funcional,  $\xi(T)$ ,

$$\xi(T) = T(x) - r \left[ \frac{ab}{(x+a)(x+b)} \right]^\vartheta e^{-\mu_{m,0}x} + (1-r) \sum_i C_i e^{-\mu_{m,i}x}, \quad (27)$$

donde  $T(x)$  es obtenida experimentalmente a través de la Ec. (8) y los datos del numeral 1. Como tentativa inicial de solución se tomaron valores aleatorios, para cada parámetro, usando la función rand de MATLAB. Las restricciones impuestas a los parámetros fueron  $a > 0; b > 0; \vartheta > 0$  y  $0 < r \leq 1$ .

3. Reconstrucción del espectro de rayos X. Después de que los parámetros de ajuste de la Ec. (27) han sido descifrados, se substituyen en la Ec. (18) para así dar con el espectro. La minimización del funcional,  $\xi(T)$ , fue llevada a cabo mediante el algoritmo multistart para la función lsqnonlin, perteneciente a la caja de herramientas de optimización de MATLAB. El número de puntos de partida del algoritmo multistart fue establecido en 50.

La validación de la reconstrucción espectral se realizó a partir de la comparación del valor de la capa semirreductora obtenida a partir del espectro de rayos X reconstruido con el de la capa semirreductora extraída de la curva de transmisión (Santos, et al., 2016). Esta forma de validación es más simple, rápida y práctica que aquella basada en la comparación del espectro reconstruido y el real, empleada en trabajos anteriores (Archer & Wagner, 1988a, 1988b), dado que no requiere del conocimiento del espectro real.

Asimismo, la medición del espectro real es un proceso complejo y problemático ya que: i) necesita disponer de un equipo especializado y altamente costoso como es el espectrómetro Compton; ii) exige preparar y/o contar con un operador experimentado en el manejo de tal equipo; iii) la caracterización del equipo y la medición del espectro toma mucho tiempo y iv) no es clínicamente práctico pues tocaría utilizar por mucho tiempo, a fin de realizar las mediciones, los equipos dedicados al tratamiento de los pacientes.

La solución ideal al problema de conseguir el espectro real sería que el fabricante lo proporcionara junto con el equipo o de alguna otra forma. Empero, esta información no suele ser suministrada con facilidad, incluso cuándo solicitada.

La capa semirreductora del espectro se calcula usando la ecuación,

$$CSR = \frac{x_1 \ln \left( \frac{2K_{ar,2}}{K_{ar,0}} \right) - x_2 \ln \left( \frac{2K_{ar,1}}{K_{ar,0}} \right)}{\ln \left( \frac{K_{ar,2}}{K_{ar,1}} \right)}, \quad (28)$$

donde  $K_{ar,0}$ ,  $K_{ar,1}$ , y  $K_{ar,2}$ , son los valores de kerma en aire medidos con la cámara de ionización sin material absorbedor ( $x_0$ ) y para valores de espesor del material absorbedor de  $x_1$  (medida experimental del espesor inmediatamente menor a la CSR obtenida por la curva de transmisión) y  $x_2$  (medida experimental del espesor inmediatamente mayor a la CSR obtenida por la curva de transmisión), respectivamente (Santos, et al., 2016).

De la discretización de la Ec. (6) y de la Ec. (18), se encuentra el valor del kerma en aire en función del espesor del absorbedor, o sea,

$$K_{ar}(x_j) = \sum_i^n F(E)_i M(0) e^{-\mu_{m,0} x_j} \Delta E_i, \tag{29}$$

donde  $i = [1, 2, \dots, n]$  es el  $i$ -ésimo haz de energía  $E_i$  que conforma el espectro de rayos X,  $n$  es el índice del haz de máxima energía de los fotones que conforma el espectro de rayos X;  $j = [0, 1, 2, \dots, 5]$  es el  $j$ -ésimo valor del espesor del material absorbedor y  $\Delta E_i$  es el intervalo de energía escogido.

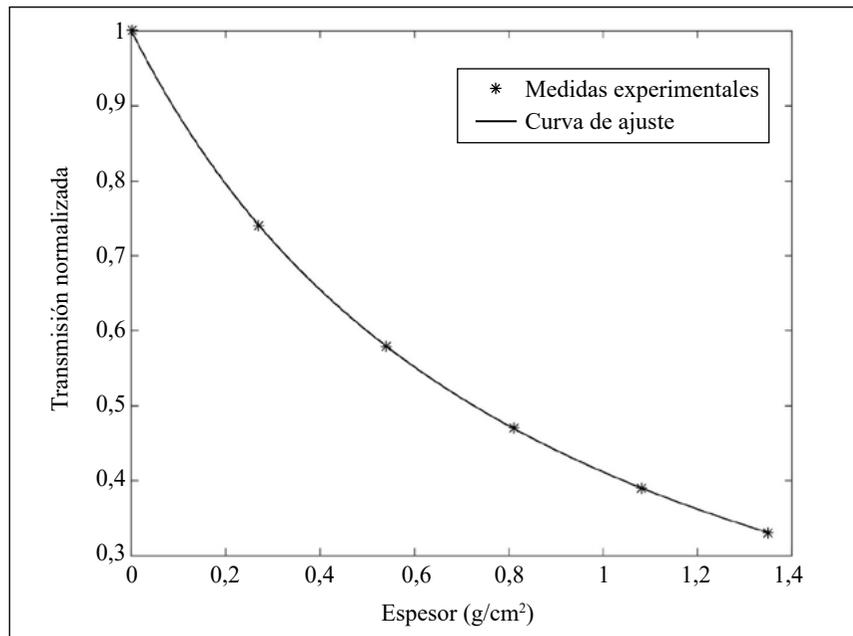
Para este trabajo, se utilizó un equipo de ortovoltaje Siemens Stabilipan II, perteneciente al Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (SP), Brasil, operando a 80 kV y 20 mA. Una cámara de ionización Radcal 2086 fue empleada para realizar las lecturas. Las lecturas fueron registradas a una distancia fuente-centro de la cámara de ionización de 40 cm.

Los cálculos involucrados en el proceso de reconstrucción fueron realizados con MATLAB® 2015a (Microsoft Windows 10 Home, CPU: 2,3 GHz, RAM: 4 Gb). El tiempo de cálculo del espectro fue de 8 s, aproximadamente.

### Resultados y discusión

En la **figura 1** se presenta la curva de transmisión normalizada del haz de rayos X terapéutico de 80 kV. El patrón de la curva de transmisión es el esperado de la literatura, esto es, un decaimiento exponencial progresivo que parte desde el valor de transmisión sin material absorbedor.

Los valores de los parámetros de ajuste de la ecuación (27) encontrados en el proceso de minimización, indispensables para generar el espectro de energía del haz de rayos X, son mostrados en la **tabla 1**.



**Figura 1.** Curva de transmisión normalizada. Energía nominal del haz,  $E = 80$  kV; distancia fuente-centro de cámara de ionización de 40 cm.

**Tabla 1.** Parámetros no lineales de ajuste encontrados para la generación de la curva de transmisión.

<i>a</i>	<i>b</i>	<i>g</i>	<i>r</i>
4,108	0,906	0,948	0,808

La **figura 2** muestra el espectro de energía de rayos X reconstruido para un haz de energía nominal de 80 kV. Su apariencia coincide con los datos de la literatura, es decir, una zona de corta extensión y baja energía seguida por un pico ancho que concentra la mayoría de los fotones y acabando con una zona que decae exponencialmente, con líneas verticales propias de los rayos X característicos, hasta la energía nominal del haz. La energía pico del espectro reconstruido se localizó en 29,5 kV.

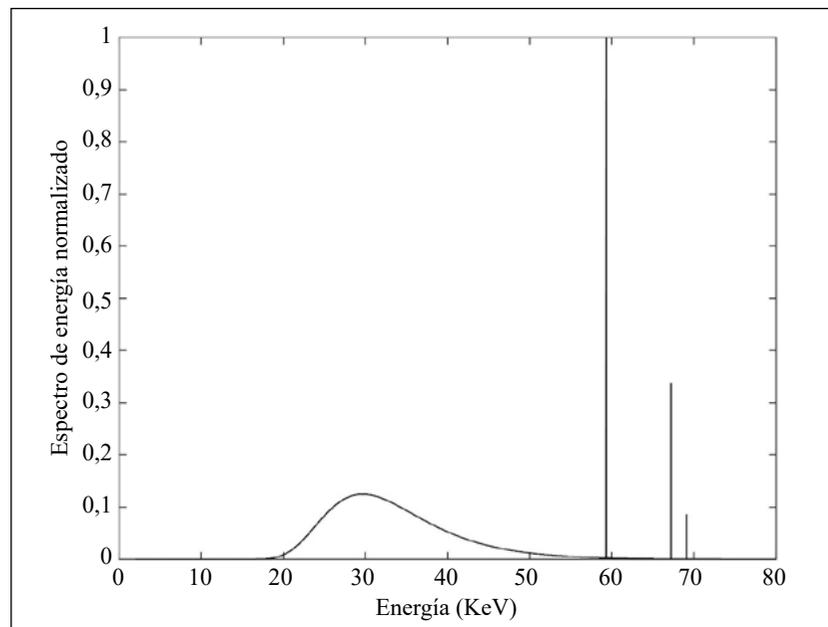
La capa semirreductora del espectro, como mencionado en la sección anterior, se calcula mediante las ecuaciones (28) y (29). Los valores de  $x_1$  y  $x_2$  son extraídos de las medidas experimentales de la curva de transmisión de la **figura 1**, siendo estos  $x_1 = 0,58 \text{ g/cm}^2$  y  $x_2 = 0,74 \text{ g/cm}^2$ . Una vez hecho todos los cálculos, considerando  $\Delta E_i = 2 \text{ kV}$ , se obtuvo el valor de la capa semirreductora del espectro.

Entretanto, para calcular el valor de la capa semirreductora de la curva de transmisión, se evalúa el valor del espesor de aluminio para el cual  $T = 0,5$ .

Los valores de la capa semirreductora obtenida a partir de la curva de transmisión y del espectro reconstruido se encuentran consignados en la **tabla 2**.

La validación del método, realizada comparando el valor de  $CSR_{F(E)}$  con el de  $CSR_{T(x)}$  vía el error relativo porcentual entre  $CSR_{F(E)}$  y  $CSR_{T(x)}$ , resultó en 2,65%.

Dado el pequeño error relativo porcentual resultante y el corto tiempo de cálculo del espectro, se colige que el procedimiento empleado para la reconstrucción del espectro de energía de un haz de rayos X terapéutico a partir de su curva de transmisión y la sinergia multistart-lsqnonlin mostró ser eficaz y rápido.



**Figura 2.** Espectro de energía de rayos X reconstruido. Las líneas verticales representan a los rayos X característicos. Energía nominal del haz,  $E = 80 \text{ kV}$ ; distancia fuente-centro de cámara de ionización, 40 cm.

**Tabla 2.** Valores de la capa semirreductora calculados a partir de la curva de transmisión y del espectro reconstruido.

CSR (g/cm <sup>2</sup> )	
Curva de transmisión ( $CSR_{T(x)}$ )	Espectro reconstruido ( $CSR_{F(E)}$ )
0,73	0,71

Adicionalmente, vale la pena hacer mención de que este método de reconstrucción espectral no presentó, en ningún caso, soluciones no realistas del espectro como las reportadas por **Archer & Wagner**, 1988b, debido a que el valor de  $\vartheta$ , siempre fue mayor que 0,6. Esto relleva el buen funcionamiento del algoritmo escogido para solucionar el problema.

Por otro lado, como no fue posible comparar el espectro reconstruido con el espectro real del equipo, el espectro reconstruido en este trabajo es un “espectro estimado” (**Baird**, 1981) que, por los resultados del método de validación, posee el mismo efecto clínico que el real, pero del cual no se tiene certeza si es próximo de este. Luego, una perspectiva futura de este trabajo sería hacer la validación de la reconstrucción tanto por comparación de CSR, como por comparación de espectros para, así, evaluar que tanto el espectro reconstruido se aproxima del espectro real del equipo.

## Conclusión

El método de reconstrucción espectral de un haz de rayos X a partir de su curva de atenuación y de la sinergia multistart-lsqnonlin de MATLAB mostró resultados satisfactorios en términos de eficacia y rapidez. Así, este método podría ser aplicado con confianza para calcular magnitudes dosimétricas o radiométricas a partir del espectro reconstruido.

El análisis de la curva de atenuación en comparación con los métodos espectroscópicos es una buena alternativa para caracterizar el haz, ya que estas curvas pueden ser obtenidas de manera simple en relación con la medición directa del espectro. Para esto, solo basta disponer de un equipo de rayos X y un conjunto electrómetro-cámara de ionización, elementos de rutina en cualquier servicio de radioterapia.

Para generalizar el uso de este método de reconstrucción se propone, como perspectiva futura, considerar un análisis que abarque haces de rayos X de diferente energía nominal y/o algún método de optimización híbrido que resulte en una mejor aproximación entre las capas semirreductoras asociadas a los espectros. Otra posibilidad futura del trabajo es la validación por comparación de espectros, previa determinación experimental, o por simulación Monte Carlo, del espectro real.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de, la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, la Coordenação de Pessoal do Nível Superior, del Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto y de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Magdalena.

## Contribución de los autores

ACG realizó las mediciones experimentales y participó integralmente en la elaboración del manuscrito. JHWV elaboró el software utilizado para el procesamiento de los datos y obtención de los resultados. Además, participó de la elaboración del manuscrito. AMDC propuso el tema, orientó en la metodología y revisó el manuscrito.

## Conflicto de intereses

Ninguno

## Referencias

- Abbene, L., Gerardi, G., Principato, F., Del Sordo, S., & Raso, G.** (2012). Direct measurement of mammographic x-ray spectra with a digital CdTe detection system. *Sensors*, **12** (6): 8390-8404.
- AL-Jasim, A. K., Hulugalle, S. N. C. W. M. P. S. K., & Al-Hamadani, H. K.** (2017). A Quality Control Test for General X-Ray Machine. *World Scientific News*, **90**: 11-30.
- Archer, B. R., & Wagner, L. K.** (1982). A Laplace transform pair model for spectral reconstruction. *Medical physics*, **9** (6): 844-847.
- Archer, B. R., Wagner, L. K., Johnston, D. A., Almond, P. R., & Bushong, S. C.** (1985). Analysis of errors in spectral reconstruction with a Laplace transform pair model. *Physics in Medicine & Biology*, **30** (5): 411.

- Archer, B. R., & Wagner, L. K.** (1988a). Determination of diagnostic x-ray spectra with characteristic radiation using attenuation analysis. *Medical physics*, **15** (4): 637-641.
- Archer, B. R., & Wagner, L. K.** (1988b). A modified x-ray spectra reconstruction technique. *Physics in Medicine & Biology*, **33** (12): 1399.
- Attix, F. H.** (2008). *Introduction to radiological physics and radiation dosimetry*. John Wiley & Sons.
- Ay, M. R., Shahriari, M., Sarkar, S., Adib, M., & Zaidi, H.** (2004). Monte Carlo simulation of x-ray spectra in diagnostic radiology and mammography using MCNP4C. *Physics in Medicine & Biology*, **49** (21): 4897.
- Baird, L. C.** (1981). X-ray spectra vs attenuation data: A theoretical analysis. *Medical physics*, **8** (3): 319-323.
- Bell, G. E.** (1936). Spectral distribution in the continuous X-ray spectrum and the specification of X-ray quality. *The British Journal of Radiology*, **9** (106): 680-688.
- Bilge, H.** (2004). Beam characteristics of kilovoltage radiotherapy unit. *Journal of BU ON.: official journal of the Balkan Union of Oncology*, **9** (3): 303-306.
- Bonifácio, D. A., Murata, H. M., & Morales, M.** (2005, July). Monte Carlo Simulation of X-ray spectra in diagnostic radiology and mammography using Geant4. In 2005 International Nuclear Atlantic Conference-INAC.
- Bos, A. J.** (2011, May). Fundamentals of radiation dosimetry. In *AIP Conference Proceedings*, **1345** (1): 5-23. AIP.
- Chen, S. C., Jong, W. L., & Harun, A. Z.** (2012). Evaluation of x-ray beam quality based on measurements and estimations using SpekCalc and IPEM78 models. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*, **19** (3): 22.
- Correa, E. D. L., Vivolo, V., & Potiens, M. D. P. A.** (2012). Determination of the effective energy in X-rays standard beams, mammography level. *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Brazil*.
- De la Vega J, M., Guirado, D., Vilches, M., Perdices, J. I., & Lallena, A. M.** (2008). Obtaining the intrinsic electron spectrum of linear accelerators using the relation between the current of the bending magnet and the absorbed dose in water. *Radiotherapy and Oncology*, **86** (1): 109-113.
- Delgado, V.** (1999). Comparison between measured and predicted attenuation curves of x-ray beams. *Medical physics*, **26** (10): 2183-2189.
- Delgado, V.** (2007). Determination of x-ray spectra from attenuation data by imposing a priori positiveness and bounded support: Theory and experimental validation. *Medical physics*, **34** (3): 994-1006.
- Delgado, V.** (2009). Determination of x-ray spectra from Al attenuation data by imposing a priori physical features of the spectrum: Theory and experimental validation. *Medical physics*, **36** (1): 142-148.
- Dodson, C. T. J.** (2002). *Introduction to laplace transforms for engineers*. School of Mathematics, Manchester University Lecture Notes.
- Dössel, O., & Schlegel, W. C. (Eds.)**. (2010). *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering September 7-12, 2009 Munich, Germany: Vol. 25/IX Neuroengineering, Neural Systems, Rehabilitation and Prosthetics (Vol. 25)*. Springer Science & Business Media.
- Dyson, N. A., & Dyson, N. A.** (2005). *X-rays in Atomic and Nuclear Physics*. Cambridge University Press.
- Glover, J. L., & Chantler, C. T.** (2009). A method to determine the absolute harmonic content of an X-ray beam using attenuation measurements. *X-Ray Spectrometry: An International Journal*, **38** (6): 510-512.
- Kramer, H. M., & Von Seggern, H.** (1983). The determination of x-ray spectra from attenuation data: Part I: The potentials of various methods. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, **213** (2-3): 373-380.
- Kramer, H. M.** (1983). The determination of x-ray spectra from attenuation data: Part II: Experimental results. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, **214** (2-3): 445-450.
- Li, G., Wu, A., Lin, H., & Wu, Y.** (2008). Electron spectrum reconstruction as nonlinear programming model using micro-adjusting algorithm. In *7th Asian-Pacific Conference on Medical and Biological Engineering (pp. 451-454)*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ma, C. C.** (2014). *AAPM. Measurement of radiation*, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, USA. Disponible en <https://www.aapm.org/meetings/2014AM/ReviewCourses/documents/T06MaMeasurementchapter.pdf>, accedida en noviembre de 2019.

- Mainardi, R. T., & Bonzi, E. V.** (2008). An indirect method of X-ray spectra measurement by simultaneous attenuations of the scattered beam. *Radiation Physics and Chemistry*, **77** (5): 537-544.
- Malezan, A., Tomal, A., Antoniassi, M., Watanabe, P. C. A., Albino, L. D., & Poletti, M. E.** (2015). Spectral reconstruction of dental X-ray tubes using laplace inverse transform of the attenuation curve. *Radiation Physics and Chemistry*, **116**: 278-281.
- Menin, O. H., Martinez, A. S., & Costa, A. M. D.** (2016). Reconstruction of bremsstrahlung spectra from attenuation data using generalized simulated annealing. *Applied Radiation and Isotopes*, **111**: 80-85.
- Nickoloff, E. L., & Berman, H. L.** (1993). Factors affecting x-ray spectra. *Radiographics*, **13** (6): 1337-1348.
- Panthi, R.** (2018). Determination of the Energy Spectra of Clinical X-Ray Beams Using Dose-Depth Datasets (Doctoral dissertation). Oklahoma State University. Disponible en: [https://shareok.org/bitstream/handle/11244/317776/PANTHI\\_okstate\\_0664D\\_15685.pdf?sequence=1](https://shareok.org/bitstream/handle/11244/317776/PANTHI_okstate_0664D_15685.pdf?sequence=1), accedida en noviembre de 2019.
- Pamplona, G. S., & Costa, A. M.** (2010). Determinação do espectro de raios X a partir da curva de transmissão para um equipamento de radiografia dentária. *Revista Brasileira de Física Médica*, **4** (2): 23-25.
- Pernicka, F., & McLean, I. D.** (2007). Dosimetry in diagnostic radiology: an international code of practice. International Atomic Energy Agency.
- Poludniowski, G., Landry, G., DeBlois, F., Evans, P. M., & Verhaegen, F.** (2009). SpekCalc: a program to calculate photon spectra from tungsten anode x-ray tubes. *Physics in Medicine & Biology*, **54** (19): N433.
- Santos, J. C., Gonzales, A. H. L., Terini, R. A., & Costa, P. R.** (2016). Determinação da camada semirredutora e da tensão aplicada a partir de espectros emitidos por um tubo de raios X. *Revista Brasileira de Física Médica*, **10** (3): 28-33.
- Silberstein, L.** (1933). XXXIV. Spectral composition of an X-ray radiation determined from its filtration curve. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, **15** (98): 375-394.
- Smith, F. A.** (2000). A primer in applied radiation physics. World Scientific Publishing Company.
- Twidell, J. W.** (1970). The determination of X-ray spectra using attenuation measurements and a computer program. *Physics in Medicine & Biology*, **15** (3): 529.

Artículo de revisión

## Efecto de la nanoestructura sobre las propiedades térmicas y magnéticas de nanomateriales tipo 2D y 0D

### Effect of nanostructure on the thermal and magnetic properties of 2D and 0D type nanomaterials

● Gustavo Zambrano

Grupo de Películas Delgadas, Departamento de Física, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Artículo de posesión para el ingreso como miembro correspondiente a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

#### Resumen

En este artículo de revisión se presenta un estudio relacionado con el efecto que tiene la nanoestructura sobre las propiedades y aplicaciones de los nanomateriales. Dado el amplio campo de investigación de la ciencia de los nanomateriales se analizan en particular los recubrimientos protectores nanoestructurados 2D de barrera térmica de YSZ (Yttria-Stabilized Zirconia –  $ZrO_2/Y_2O_3$  – Zirconia Estabilizada con Itria) depositados en película delgada por la técnica PVD (Physical Vapour Deposition - Deposición en fase física de vapor) de pulverización catódica (sputtering) bajo ángulo oblicuo y el de las nanopartículas magnéticas 0D de ferritas de Co-Zn ( $Co_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ ) obtenidas mediante el método de co-precipitación química. Para el caso de los recubrimientos protectores nanoestructurados 2D de barrera térmica de YSZ se concluyó que el valor de la conductividad térmica ( $k$ ) está fuertemente influenciado por la microestructura “en zigzag” de los recubrimientos PVD con disminución de ( $k$ ) en un orden de magnitud, cuando las columnas cambian de orientación de crecimiento normal ( $\alpha=0$ ) con respecto a la superficie del sustrato, a una microestructura en un patrón de “zigzag” con  $n=50$  repeticiones. Esto muestra el potencial del crecimiento de películas delgadas YSZ al manipular la nanoestructura en una la deposición bajo ángulo oblicuo, como un método efectivo para mejorar la propiedad de aislante térmico de este material. Por otro lado, pudimos establecer que las propiedades magnéticas de las nanopartículas de  $Co_{1-x}Zn_xFe_2O_4$  como el campo coercitivo y la magnetización de saturación están fuertemente correlacionadas con el tamaño de partícula y las propiedades de la estructura cristalina, y la ferrita de  $Co_{1-x}Zn_xFe_2O_4$  presenta una tendencia al comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente. Este resultado implica que las nanopartículas magnéticas pueden considerarse material magnético blando. Lo anterior hace atractivas las nanopartículas de  $Co_{1-x}Zn_xFe_2O_4$  para aplicaciones en el campo de la fotónica y la electrónica, como también para aplicaciones biomédicas.

**Palabras claves:** Materiales nanoestructurados; Zirconia estabilizada con itria; Ferritas de cobalto zinc; Pulverización catódica; Co-precipitación química.

#### Abstract

In this review paper, we present a study related to the nanostructure effect on the properties and applications of nanomaterials. Given in fact the broad field of research of the nanomaterials science, we analyze in particular the 2D YSZ (Yttria-Stabilized Zirconia- $ZrO_2/Y_2O_3$ ) thermal barrier nanostructured protective thin film coatings deposited by PVD (Physical Vapor Deposition) sputtering technique at an oblique angle, and the 0D magnetic nanoparticles of Co-Zn ferrites ( $Co_{1-x}Zn_xFe_2O_4$ ) obtained by chemical co-precipitation method. In the case of YSZ thermal barrier 2D nanostructured protective coatings, it was concluded that the value of thermal conductivity ( $k$ ) is strongly influenced by the “zigzag” microstructure of PVD coatings. A decrease of ( $k$ ) in an order of magnitude, when the columns change from normal growth orientation ( $\alpha = 0$ ) with respect to the substrate surface, to a microstructure in a “zigzag” pattern with  $n = 50$  repetitions, is presented. This shows the growth potential of YSZ thin films by manipulating the nanostructure at an oblique angle

**Citación:** Zambrano G. Efecto de la nanoestructura sobre las propiedades térmicas y magnéticas de nanomateriales tipo 2D y 0D. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):153-168, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.916>

**Editor:** Édgar Emir González

**Correspondencia:**

Gustavo Zambrano;  
[gustavo.zambrano@correounivalle.edu.co](mailto:gustavo.zambrano@correounivalle.edu.co)

**Recibido:** 17 de junio de 2019

**Aceptado:** 28 de noviembre de 2019

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

deposition as an effective method to improve the thermal insulating property of this material. On the other hand, we can established that the magnetic properties of the  $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles such as the coercive field and the saturation magnetization are strongly correlated to particle size and crystal structure properties, and the  $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  ferrite presented a tendency to superparamagnetic behavior at room temperature. This result implies that the magnetic nanoparticles can be considered soft magnetic material. The above makes  $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles attractive for applications in the field of photonics and electronics, as well as for biomedical applications.

**Key words:** Nanostructured materials; Yttria stabilized zirconia; Zinc cobalt ferrites; Sputtering; Chemical co-precipitation.

## Introducción

Los nanomateriales o materiales nanoestructurados son aquellas sustancias físicas con un tamaño mínimo entre 1-100 nm por lo menos en una de sus dimensiones, o que tengan una estructura interna o una estructura de superficie en el orden de escala de los nanómetros (ISO/TS 80004-1:2015, Ozin, *et al.*, 2009). Las propiedades físicas y químicas de los nanomateriales son diferentes a las del mismo material a escala de los micrones, de los milímetros o en bulk. De hecho, los materiales con estructura a nanoescala presentan frecuentemente unas propiedades ópticas, electrónicas, magnéticas, mecánicas, etc; excepcionales y novedosas (Hubler & Osuagwu, 2010). Los nanomateriales son pues la base de la nanociencia y pueden ser física y químicamente manipulados para aplicaciones específicas en diferentes campos de la ciencia y la tecnología. El campo de los nanomateriales presenta actualmente un rápido desarrollo debido a sus aplicaciones potenciales en la nanoelectrónica, como catalizadores, para almacenamiento de memoria de datos, componentes estructurales, recubrimientos protectores antidesgaste o de barrera térmica, como biomateriales, biosensores, etc (Cao, 2004).

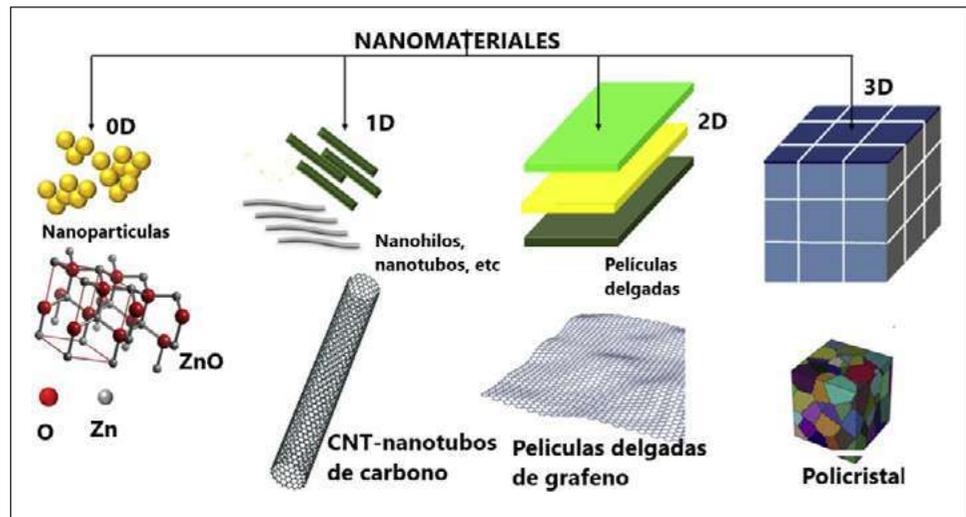
Los nanomateriales pueden ser clasificados por su tamaño y dimensiones en cuatro tipos (Bansi Dhar & Md. Azahar, 2018):

- Cerodimensionales (0D) con tamaños entre 1-50 nm, como las nanopartículas (NPs).
- Unidimensionales (1D) entre 1-100 nm con las otras dos dimensiones en el orden de las micras, como los nanohilos, nanofibras, nanotubos, etc.
- Bidimensionales (2D) en la escala nanométrica y con la otra dimensión en la escala de las micras, como las películas delgadas con estructura nanométrica, multicapas en película delgada, donde el área de los nanomateriales 2D puede ser de varios micrómetros cuadrados pero un con espesor siempre en el rango de la nanoescala.
- Tridimensionales (3D), donde no hay dimensiones a nanoescala ya que todas las dimensiones están a microescala. Los materiales en bulk son 3D ya que se componen de bloques individuales que pueden estar en una escala nanométrica entre 1 y 100 nm o más.

La figura 1 ilustra esquemáticamente la clasificación anteriormente descrita.

Diversas técnicas (físicas, químicas, biológicas e híbridas) pueden ser utilizadas para producir los nanomateriales a diferentes dimensiones, tales como NPs coloidales, nanoclusters, nanopolvos, nanotubos, nanohilos, películas delgadas, etc. Entre las técnicas físicas más utilizadas están la de pulverización catódica (sputtering en inglés), ablación laser, arco eléctrico, molienda mecánica y entre las químicas, las de co-precipitación química y sol-gel.

En el presente artículo se quiere mostrar el efecto que tiene la nanoestructura del material sobre sus propiedades y posibles aplicaciones, basado en algunos de los trabajos de investigación llevados a cabo en el Grupo de Películas Delgadas de la Universidad del Valle. Dado el amplio campo de investigación de la ciencia de los nanomateriales se tomara concretamente el caso de recubrimientos protectores nanoestructurados de barrera térmica de YSZ (Yttria-Stabilized Zirconia –  $\text{ZrO}_2/\text{Y}_2\text{O}_3$  – Zirconia Estabilizada con Itria) en película delgada depositados por la técnica PVD (Physical Vapour Deposition - Deposición en fase física de vapor) de pulverización catódica (sputtering) bajo ángulo



**Figura 1.** Representación esquemática de nanomateriales cerodimensionales (0D), unidimensional (1D), bidimensional (2D) y tridimensional (3D)

oblicuo y el de las nanopartículas magnéticas de ferritas de Co-Zn ( $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ ) obtenidas mediante el método de co-precipitación química. Los recubrimientos de barrera térmica de YSZ y las nanopartículas magnéticas de ferritas de Co-Zn pueden ser clasificados como nanomateriales 2D y 0D, respectivamente.

### Zirconia estabilizada con itria (YSZ)

Los sistemas de recubrimiento de zirconia estabilizada con itria (YSZ) se usan ampliamente para la protección térmica, contra la oxidación y la corrosión en caliente de componentes de alta temperatura en motores de turbina de gas y diésel (Meier & Gupta, 1994), y, de otro lado, el electrolito YSZ es un conductor iónico estándar (Skinner & Kilner, 2003) utilizado en celdas de combustible, siendo un material frágil debido a su alta dureza (Fujikane, *et al.*, 2007). Para la protección térmica, contra la oxidación y la corrosión en caliente de los componentes de alta temperatura, los requisitos multifuncionales de estos recubrimientos dictan el uso de un sistema de recubrimiento que consiste en tres capas separadas: un recubrimiento de barrera térmica (TBC) poroso, 7-8% en peso de zirconia estabilizada con itria (7-8YSZ) que proporciona aislamiento térmico, una capa de óxido de térmicamente crecido ( $\alpha$ -alúmina) que inhibe el transporte de oxígeno al componente, y una capa de enlace de aluminuro de platino con bajo contenido de azufre o una superaleación de MCrAlY (donde M es Ni o Co) (Wortman, *et al.*, 1989, Gell, *et al.*, 1999). Por lo general para aplicaciones aeronáuticas, una capa gruesa de un TBC (el espesor suele ser de cientos de micrones) se deposita mediante rociado por plasma atmosférico (APS –air plasma spray) (Koosloos, *et al.*, 1998) o deposición física en fase de vapor por haz de electrones (EB-PVD – Electron Beam Physical Vapour Deposition) (Unal, *et al.*, 1994). Sin embargo, para otras aplicaciones, las películas delgadas de YSZ TBC se pueden depositar mediante pulverización catódica y deposición por láser pulsado (PLD-Pulsed Laser Deposition). En ambos casos, la estructura columnar típica de las películas depositadas con láser pulsado o por pulverización catódica se ve muy influenciada, entre otros parámetros, por la presión, la temperatura, el grosor y la relación ion-átomo que inciden sobre el sustrato o el voltaje de polarización del sustrato (Messier, *et al.*, 1984, Hultman, *et al.*, 1991, Heiroth, *et al.*, 2010).

El YSZ es el recubrimiento usualmente utilizado para aplicación en motores de turbina de gas y diésel debido a su baja conductividad térmica,  $\kappa$ , su relativo alto coeficiente de expansión térmica (comparado con otros cerámicos) y su buena resistencia a la erosión

(Jones, 1996). La baja conductividad térmica de YSZ en bulk es el resultado de la baja conductividad térmica intrínseca de zirconia y la adición de itria (Morrell & Taylor, 1985). En general, se utiliza una concentración de itria en el rango de 6 a 8% en peso, ya que esta composición maximiza la vida útil del TBC por efecto de la espaliación del recubrimiento, debido a la formación de la fase  $t'$  metaestable (Jones, 1996). Esta fase produce una microestructura compleja que resiste la propagación de grietas y la transformación en la fase monoclinica (que produce un 4% de cambio de volumen) al enfriarse y da lugar a la espaliación del recubrimiento.

La conductividad térmica del YSZ depende de si está en bulk y de la técnica usada para depositar el recubrimiento. En la **tabla 1** se presentan los valores de conductividad térmica del 8YSZ, que dependen del tipo de crecimiento (laminado-APS o columnar -EBPVD) y de la nanoestructura del recubrimiento (porosidad, tamaño de grano, espesor) para el caso de las técnicas que tienen un mayor control de la nanoestructura y que producen capas más delgadas (de unas cuantas micras).

En la literatura se reportan dos formas de reducir la conductividad térmica del TBC YSZ obtenido por deposición física en fase de vapor (PVD). El primer camino es la adición de dopantes de óxidos de tierras raras (REO). Klemens and Gell (1998), concluyen que el co-dopaje con REO puede resolver los problemas relacionados con la estabilidad de la fase de alta temperatura (tetragonal) del  $ZrO_2$  y se pueden lograr importantes reducciones en la conductividad térmica que se aproximan a los valores obtenidos por APS ( $k \approx 0.8$  W/mK). La segunda forma es manipular la microestructura del recubrimiento, que básicamente implica incluir campos de tensiones o interfaces en el interior del material, de tal manera que actúen como centros de dispersión de los fonones, ya que a escala nanométrica la principal vía de transferencia de calor es a través de las oscilaciones de la red cristalina del material. En el estudio realizado por Soyez, *et al.* (2000) con YSZ nanocristalino, se observó la dependencia de la conductividad térmica con el tamaño de grano, para películas con espesores de 0,5 y 1,2  $\mu m$  y composiciones de itria entre 8 y 15% en moles.

Otra aproximación al efecto de la variación de la estructura a micro y nanoescala es el uso de multicapas, ya que el valor de la resistencia térmica del recubrimiento en forma de multicapas es la suma en serie de las resistencias térmicas de las interfaces y es allí donde se produce la interacción entre el fonón y los centros de dispersión que se encuentran en ellos. Se han realizado estudios en sistemas multicapa de  $Al_2O_3/YSZ$  obtenidos a través de EB-PVD y  $YSZ/SiO_2$  multicapa (Lee, *et al.*, 1998) obtenidos mediante haz de iones-PVD, pero las mediciones de conductividad térmica obtenidas no muestran disminuciones significativas, independientemente de los materiales. La técnica, y el número de capas utilizadas (An, *et al.*, 1999), además del tamaño de grano y la generación de interfaces que utilizan sistemas multicapa, se debe tener en cuenta también el efecto del espesor del recubrimiento en su conductividad térmica. Resumiendo, creando imperfecciones dentro de la red, el camino libre medio de los fonones debe cambiar produciéndose una mayor dispersión y por lo tanto un decrecimiento de la conductividad térmica.

De la misma manera, otro parámetro experimental importante usado para modificar la micro y nanoestructura es cambiar la dirección del flujo incidente de las especies depositantes con respecto a la superficie del sustrato. La mayoría de las películas producidas por técnicas de PVD utilizan una incidencia normal y conducen a un crecimiento columnar

**Tabla 1.** Valores de la conductividad térmica ( $\kappa$ ) del YSZ en bulk y cuando es depositado como recubrimiento por diferentes técnicas.

Conductividad térmica	En bulk (Kyongjun A., <i>et al.</i> , 1999)	APS (Morrell P, Taylor R., 1985, Filla BJ. 1997)	EBPVD (Portal R., 1997) [20]	Sputtering, PLD, etc. (Kabacoff LT. 1998, Amaya C, <i>et al.</i> , 2012)
$\kappa$ (W/mK)	2,2 – 2,6	0,8 – 1,0 (25 °C)	1,5 – 1,9	0,6 – 1,8

normal al sustrato. Los depósitos bajo ángulo oblicuo (OAD - oblique angle deposition) también conocidos como “glancing angle deposition” (GLAD), se logran cuando el sustrato se inclina y forma un ángulo elevado entre el flujo de material y la superficie del sustrato. De esta manera, en la microestructura, la dirección de crecimiento de la columna sigue la orientación del flujo de material que se realiza típicamente mediante técnicas de deposición direccional, como el PVD. Se han realizado varios estudios para dilucidar la influencia de la microestructura de película delgada desarrollada por PVD bajo la técnica GLAD en la morfología y estructura (Takadoun, *et al.*, 2005, Lintymer, *et al.*, 2003) de diferentes materiales de película delgada, así como en sus propiedades mecánicas (Fujikane, *et al.*, 2007) [8], eléctrica (Lintymer, *et al.*, 2003) y ópticas (Motohiro & Taga, 1989, Robbie, *et al.*, 1996).

En estos resultados que se presentan se quiere mostrar la influencia del depósito bajo ángulo oblicuo, de recubrimientos protectores de 8YSZ por la técnica de pulverización catódica r.f. (13.56 MHz) asistida con campo magnético, sobre la nanoestructura y morfología del recubrimiento y el efecto que esto tiene sobre el comportamiento de la conductividad térmica del mismo.

## Efecto del depósito bajo ángulo oblicuo sobre las propiedades del 8YSZ

### *Efecto sobre la nanoestructura del crecimiento columnar*

Basados en la metodología descrita en la **información suplementaria S1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/916/2718>, el número de repeticiones en forma de “zigzag” se varió sistemáticamente para  $n=1, 2, 10, 30, 50$  y  $70$ , manteniendo constante el espesor total ( $3.5 \mu\text{m}$ ) de la multicapa. Por esta razón, el período espacial ( $\Lambda$ ) disminuye cuando  $n$  aumenta. En detalle las condiciones de depósito se encuentran descritas en (Amaya, *et al.*, 2017).

La **figura 2a** para un periodo de  $n = 2$ , muestra que los espesores del crecimiento de la columna son mayores en la posición  $\alpha_1$  (capa gruesa) que en la posición  $\alpha_2$  (capa delgada); esto debido a que la cantidad de átomos provenientes del blanco que contribuyen al crecimiento del recubrimiento, depende en gran medida de la posición de la muestra en el porta-sustrato, es decir si está más cerca del flujo de átomos proveniente del blanco la capa, para un tiempo dado, es más gruesa, y viceversa. Sin embargo, cuando el número de repeticiones aumenta a  $n = 10$  (**Figura 2b**) y  $n = 30$  (**Figura 2c**), la microestructura en “zigzag” se traslada al interior de las columnas, pero las columnas mismas no están prácticamente inclinadas (**Figura 2d**).

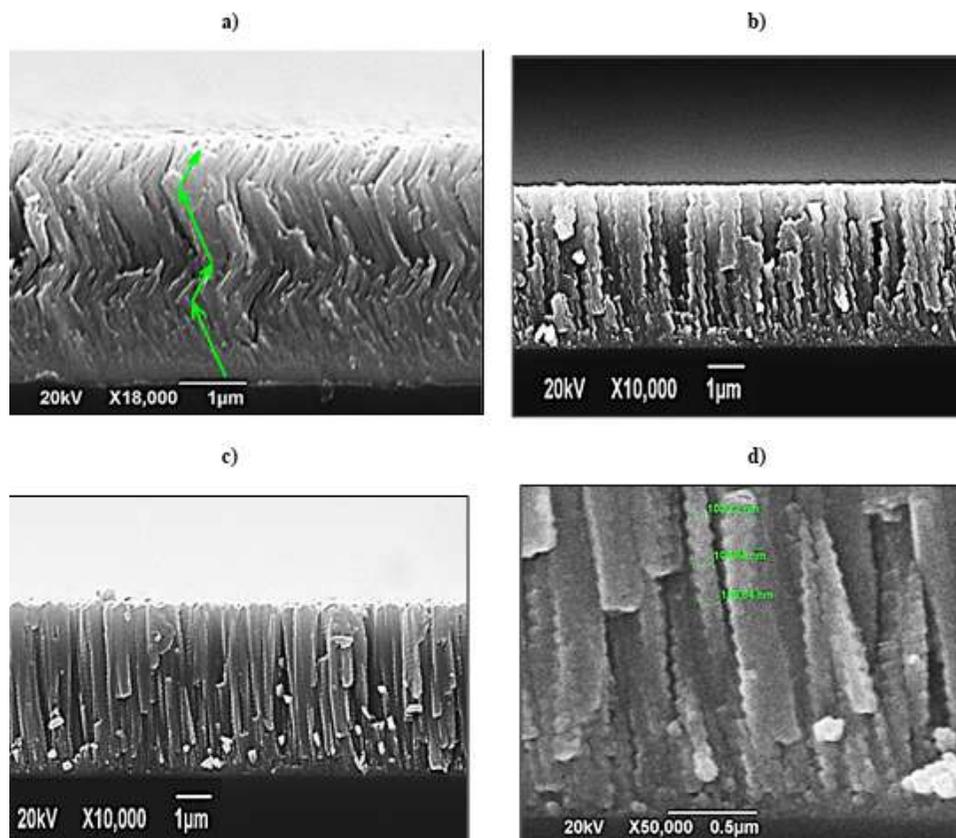
Lo anterior es debido a que se estableció un mismo tiempo total de depósito para todos los recubrimientos, o sea el espesor se mantuvo aproximadamente constante ( $\sim 3,5 \mu\text{m}$ ) para todos los valores de ( $n$ ), acortando el tiempo entre repeticiones, es decir los cambios de la posición del sustrato de  $\alpha_1$  hacia  $\alpha_2$ . Por tanto, las columnas no alcanzan a inclinarse como un todo, manteniendo una dirección de crecimiento perpendicular al plano del sustrato. Resumiendo, se puede concluir que el incremento del periodo ( $n$ ) afecta la nanoestructura del recubrimiento, pasando de columnas inclinadas en su totalidad (para  $n=1, 2$ ) y orientadas hacia el flujo de material evaporado, evolucionando a columnas con orientación de crecimiento perpendicular a la superficie del sustrato que, sin embargo, conservan el patrón de crecimiento en “zigzag” en su interior (para  $n=10, 30, 50$  y  $70$ ), que se repite en función del número de cambios de la inclinación del sustrato durante el tiempo total de crecimiento.

### *Efecto sobre la microestructura del recubrimiento*

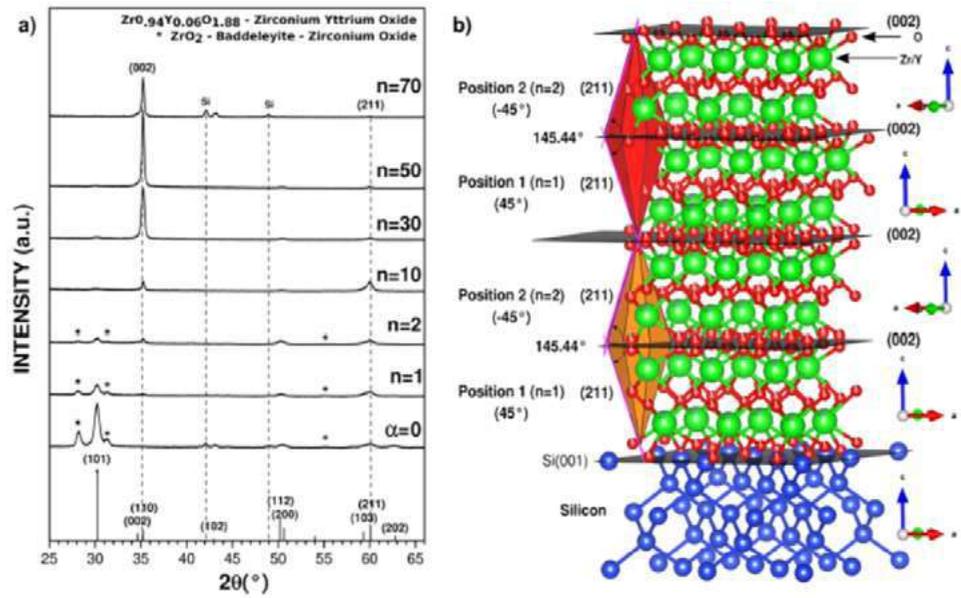
La **Figura 3a** presenta el patrón de difracción de rayos-x (DRX) registrado en configuración Bragg-Bretano para el recubrimiento de 8YSZ obtenido bajo incidencia normal ( $\alpha=0^\circ$ ) y a diferente número de repeticiones de la estructura en “zigzag” (de  $n=1$  a  $n=70$ ), donde a  $\alpha=0^\circ$  se identifica una mezcla de dos fases: la tetragonal del óxido de YSZ ( $\text{Zr}_{0.94}\text{Y}_{0.06}\text{O}_{1.88}$ )

y la monoclinica Baddeleyita del óxido de zirconio ( $ZrO_2$ ) (cartas JCPDF #01-089-9068 y #01-070-8739, respectivamente). Se observa para  $n=1$  una orientación preferencial en el plano (002) de la fase tetragonal, cuya intensidad relativa de difracción se intensifica gradualmente con el aumento de  $n$ . Además, para  $n=1, 2$  y  $10$  se observa también una significativa orientación preferencial en el plano (211) de la fase tetragonal.

Las muestras con un valor alto número de  $n$  ( $n=30, 50$  y  $70$ ) evolucionan hacia una orientación preferencial mono-axial en el plano (002); es decir existe una pérdida de orientación de las facetas piramidales de tipo  $\{112\}$ . Por esta razón, el aumento de la intensidad en el plano (002) da como resultado una desaparición aparente de los picos de Baddeleyite cuando  $n>10$ . Este último es probablemente una consecuencia del aumento de defectos estructurales tales como vacancias desordenadas en los sitios de la Zr que afectan directamente la intensidad de la reflexión (211), así como la profusión de dislocaciones tanto nanoporosas como microestructurales. Por lo tanto, en el arreglo columnar vertical del apilamiento hace que aparezca un aumento correspondiente de la intensidad en el pico de difracción (002), como se mencionó anteriormente, que es la causa principal de no poder identificar los planos de difracción correspondientes a la fase de Baddeleyite. Ahora bien, teniendo en cuenta el predominio de la estructura tetragonal y el modelo multiaxial de orientaciones preferenciales, así como las características nanoestructurales en forma de “zigzag” observadas en las microfotografías SEM para muestras obtenidas por OAD, se propone una simulación cristalográfica (Figura 3b) de la disposición de los planos de la estructura en forma de “zigzag” obtenida a partir de los datos experimentales de DRX y haciendo uso del programa VESTA™. El modelo microestructural propuesto se basa en



**Figura 2.** Imágenes SEM (Amaya, *et al.*, 2017) en sección transversal de recubrimientos de YSZ depositados sobre sustratos de silicio con microestructura “zigzag” a)  $n=2$ , b)  $n=10$ , c)  $n=30$  y d) detalle del interior de las nano-columnas obtenidas.



**Figura 3.** (a) Patrones de DRX para recubrimientos 8YSZ depositados en un ángulo de incidencia normal ( $\alpha=0$ ) y a diferente número de repetición de la estructura del “zigzag”. (b) Esquema de la disposición cristalográfica de los planos de la estructura en forma de “zigzag” simulada a partir de los datos experimentales (Amaya, *et al.*, 2017).

el papel clave que juega la inclinación específica del sustrato (por ejemplo,  $\alpha = \pm 45^\circ$ ) en la promoción del crecimiento de las facetas bipiramidales tetragonales  $\{211\}$  a un lado del plano  $\{001\}$ , por ejemplo, el plano (002). El plano (002) es un contacto de macla donde los cristales individuales están asociados a una inversión de dirección. Es decir, la dirección de crecimiento es  $[001]$  y la superficie de los cristales de macla está formada por las facetas  $\{211\}$ . De acuerdo con este esquema, cuando el ángulo de inclinación del sustrato se cambia en  $90^\circ$  (desde  $+45^\circ$  hasta  $-45^\circ$ ), los planos  $\{001\}$  actúan como límite de macla, con el subsiguiente crecimiento de las caras piramidales en dirección paralela pero opuesta. Se nota una diferencia en longitud entre ambos brazos de los cristales de la macla debido al crecimiento asimétrico para las configuraciones  $+45^\circ$  y  $-45^\circ$  (ver Figura 2a). La disposición de las estructuras “zigzag” al mismo nivel, o en otras palabras, a lo largo de la dirección  $[010]$ , consiste en un apilamiento de facetas  $\{211\}$  contiguas. Es decir, los “codos” están entrelazados a lo largo de la dirección de la bisectriz del ángulo entre dos facetas de la forma  $\{211\}$  - por ejemplo, el ángulo  $(-2-11)^\wedge(211)$  en la figura 3b, donde se representan morfologías bipiramidales completas. El ángulo del “codo” resulta ser de  $145.44^\circ$  y el ángulo entre los planos (002) y (211) de  $72.72^\circ$ .

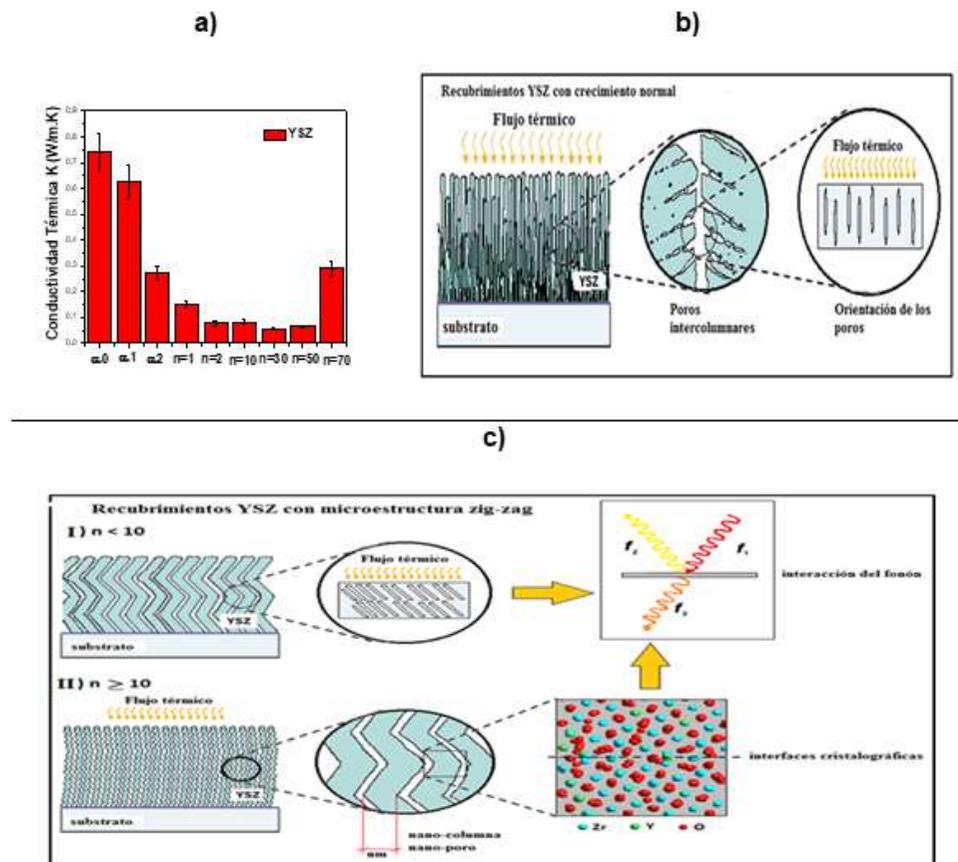
### Efecto sobre la conductividad térmica del 8YSZ

Con base en la técnica de placas calientes y el método de doble capa (González de la Cruz, *et al.*, 2000, Mansanares, *et al.*, 1990) (ver información suplementaria S2, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/916/2720>), se determinó la conductividad térmica de los recubrimientos de 8YSZ depositados sobre sustratos de vidrio. En la figura 4a se presenta una gráfica que resume el comportamiento de la conductividad térmica en todas las muestras de 8YSZ, para diferentes valores de  $\alpha$  y  $n$ . Para  $\alpha=0$ , la conductividad térmica ( $\kappa$ ) presenta un valor de  $0.74 \pm 0.05$  W/mK, similar al reportado por Amaya *et al.* de  $0.57 \pm 0.06$  W/mK. Ambos valores son para recubrimientos 8YSZ crecidos por la técnica de la pulverización catódica r.f. en iguales condiciones de depósito, pero en el segundo caso (Amaya, *et al.*, 2012), determinando la densidad, difusividad térmica y calor específico por separado. Como se muestra en la figura 4 (a), para los

recubrimientos 8YSZ depositados con la estructura “zigzag”, la conductividad térmica ( $\kappa$ ) disminuye drásticamente en un orden de magnitud cuando aumenta el número de bicapas  $n$ . Sin embargo, para  $n = 70$ , la conductividad térmica comienza de nuevo a aumentar.

Para explicar el este comportamiento de la conductividad térmica se debe tener en cuenta que el transporte térmico de calor a escala nanométrica es debido a los fonones (Cahill, *et al.*, 2014). Los fonones tienen un amplio rango de variación de la frecuencia y un rango aún mayor de sus trayectorias libres medias (mfps por sus siglas en inglés). Sin embargo, la mayor parte del calor a menudo es transportada por fonones de un vector de onda grande, y que tienen mfps de 1 a 100 nm a temperatura ambiente. Por lo tanto, en muchos sistemas similares al estudiado aquí, la escala de los centros de dispersión de fonones es la misma que la de los mfps de los fonones y a veces son comparables con la longitud de onda de los fonones. Debido a esto, las interfaces o los límites de grano del material pueden desempeñar un papel fundamental en el transporte térmico a nanoescala (Cahill, *et al.*, 2014). En este sentido, se puede proponer una interpretación fenomenológica para explicar la reducción de la conductividad térmica cuando aumenta el número de repeticiones ( $n$ ) de las columnas inclinadas en “zigzag”, con respecto a la conductividad térmica del recubrimiento depositado con un crecimiento de columnas normales a la superficie del sustrato.

En la **figura 4b** se presenta un flujo térmico incidente paralelo a las columnas crecidas para un recubrimiento de 8YSZ depositado con una dirección normal al flujo de material evaporado con respecto a la superficie del sustrato. En contraste, la **figura 4c-I** es una



**Figura 4.** a. Comportamiento de la conductividad térmica de todos los recubrimientos de YSZ depositados, variando el ángulo  $\alpha$  y el periodo  $n$  (Amaya, *et al.*, 2017). b. Ilustración esquemática de microestructura y porosidad de recubrimientos PVD con crecimiento normal al sustrato. c. influencia de la microestructura “zigzag” sobre la conductividad térmica del recubrimiento de YSZ.

representación esquemática para recubrimientos a  $n < 10$ , lo que indica que cuando los recubrimientos son depositados bajo un ángulo oblicuo, se forma una microestructura “zigzag” que crea interfaces cristalográficas inclinadas como se pudo observar en las micrografías SEM en sección transversal. Esto genera que el camino libre medio del fonón disminuya debido a la interacción de la trayectoria del flujo térmico con estas interfaces, trayendo como consecuencia la disminución de la conductividad térmica del recubrimiento. Ahora bien, a  $n \geq 10$  (**Figura 4c-II**), la estructura “zigzag” se traslada al interior de las columnas, las cuales crecen prácticamente sin presentar inclinación, pero dando lugar a un refinamiento del diámetro columnar, así como a la formación de nanoporos intercolumnares que contribuyen a una mayor dispersión del fonón. Finalmente, para  $n = 70$  se presenta de nuevo un incremento en la conductividad térmica el cual se puede asociar a que el espesor total del recubrimiento es aproximadamente constante (cerca a  $3.5 \mu\text{m}$ ) para todos los valores de  $n$  y por lo tanto el tiempo entre repeticiones de los “zigzag” es bastante corto. Lo anterior genera que las columnas no se alcancen a inclinar como un todo, impidiendo la formación de interfaces, además de disminuir la cantidad de poros intercolumnares por unidad de área superficial; por lo tanto, el camino libre medio de fonones en ausencia de estos centros de dispersión, comienza a aumentar nuevamente, aumentando de nuevo la conductividad térmica del material.

### ***Ferrofluidos de nanopartículas magnéticas de Co-Zn***

Los ferrofluidos (FFs) son sistemas coloidales compuestos de nanopartículas magnéticas monodominio con un diámetro medio de alrededor de 30 nm, que están dispersas en un líquido portador. Recientemente, los ferrofluidos (FF) o fluidos magnéticos han sido objeto de interés debido a sus inusuales propiedades ópticas, electrónicas y magnéticas (**Bahadur, et al., 2005, Perez-Castillejos, et al., 2000, Piso, 1999**), que pueden modificarse aplicando un campo magnético externo. Pero el uso de partículas magnéticas de tamaño nanométrico ha expandido sus aplicaciones en campos como la biomedicina, ya que se han propuesto, por ejemplo, como una terapia alternativa y localizada para el tratamiento de tumores malignos, donde las nanopartículas son direccionadas hacia ellos. Al estar el fluido en contacto con el tumor, se coloca en un campo magnético alterno, haciendo que las nanopartículas generen calor y destruyan el tumor. Se debe tener en cuenta que, para aplicaciones médicas, estos materiales deben ser biocompatibles, o sea deben ser funcionalizados. Hoy en día los FF son materiales prometedores para el diagnóstico y la terapia del cáncer. De otro lado, las nanopartículas de ferrita de cobalto-zinc han atraído en los últimos años una considerable atención debido a sus amplias aplicaciones en varios campos tecnológicos, incluidos dispositivos electrónicos y ferrofluidos, material prospectivo para aplicaciones biomédicas en diagnóstico y terapia del cáncer, administración magnética de medicamentos, dispositivos de microondas, fotónica de cristales y sistemas de almacenamiento de información de alta densidad (**Sherer & Figueredo Neto, 2005, Gupta & Gupta, 2005, Salata, 2004, Jordan, et al., 2001, Jordan, et al., 1999**). La característica especial de los FF es la combinación del comportamiento normal del coloide con sus propiedades superparamagnéticas, asociado al pequeño tamaño de partícula ( $< 30 \text{ nm}$ ). En el presente trabajo, las nanopartículas magnéticas de ferrita de  $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  ( $x = 0.21, 0.44, 0.75$ ) se prepararon por el método de coprecipitación química a partir de soluciones salinas acuosas en un medio alcalino.

### ***Efecto de la composición del FF de $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ sobre el tamaño de las nanopartículas magnéticas***

Después de la síntesis de los ferrofluidos a  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  en una mezcla en solución a partir de los precursores de  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , and  $\text{FeCl}_3$  con su respectiva estequiometría y usando ácido oleico ( $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$ ) como surfactante para evitar que las nanopartículas se aglomeren (una descripción detallada del proceso de síntesis de las nanopartículas se puede encontrar en (**López, et al., 2012**), se debe determinar la composición química de los ferrofluidos obtenidos para diferentes concentraciones de Zn. con ayuda de la técnica EDX (Energy-

Dispersive X-Ray Spectroscopy) con una microsonda Philips XL30 ESEM para análisis químico (12 KV), equipada con una ventana para la detección de elementos ligeros. La **tabla 2** muestra la composición química de los ferrofluidos sintetizados, donde la concentración de  $x=\text{Zn}/\text{Zn}+\text{Co}$  varía entre 0.21 y 0.75 y la relación  $\text{Fe}/\text{Zn}+\text{Co}$  es prácticamente de 1:2, cuando varía la concentración de Zn.

La técnica de microscopía electrónica de transmisión (transmission electron microscopy-TEM) permite por su resolución determinar el tamaño de las nanopartículas. En las **figuras 5a y 5b** se muestran (López, *et al.*, 2012) las imágenes de alta resolución de TEM (HRTEM) a dos escalas diferentes, donde se puede observar que las nanopartículas preparadas por este método son monocristales. Por otro lado, el recuadro en la **figura 5b** muestra el patrón de difracción de área seleccionada (SAED por sus siglas en inglés) obtenido para una nanopartícula. Los anillos de difracción de la imagen corresponden a un grupo de planos atómicos dentro de las partículas, lo que demuestra que las nanopartículas son estructuralmente uniformes. En otras palabras, estos patrones de franjas indican una estructura altamente cristalina en la muestra, representada por anillos de difracción bien pronunciados. De otro lado, en las **figuras 5 (c) y (d)** (López, *et al.*, 2012) se presentan los histogramas con la distribución de tamaños para las nanopartículas de  $\text{Co}_{0.79}\text{Zn}_{0.21}\text{Fe}_2\text{O}_4$  y  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$  tomados a partir de las imágenes de TEM para un número de 60 partículas. Al realizar la estadística a través de una distribución del tipo lognormal, se obtuvo un valor para el diámetro de las nanopartículas de  $(24,9\pm 0,1)$  nm y de  $(13,2\pm 0,1)$  nm, respectivamente.

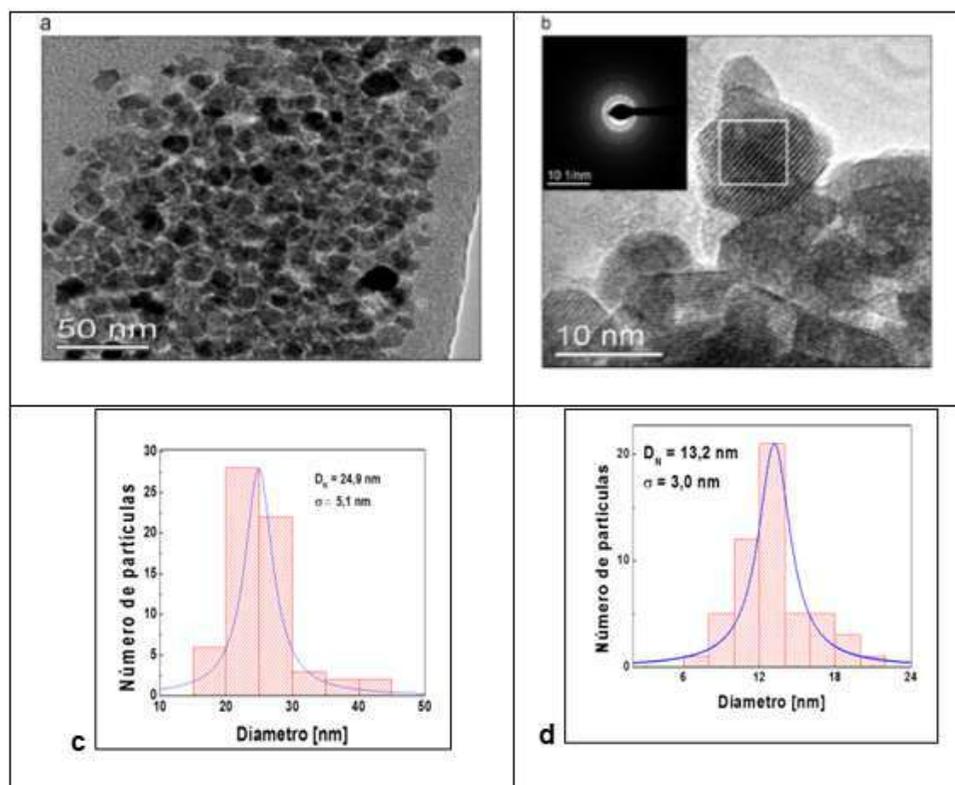
El anterior resultado indica que al aumentar el porcentaje atómico de Zn, sustituyendo al átomo magnético de Co, el tamaño de las nanopartículas de  $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  disminuye. Lo anterior está de acuerdo con el tamaño de cristalito calculado a partir de los patrones de difracción de rayos X utilizando la fórmula de Scherer, presentados por J. López *et al.* y por otros autores (Xinyong and Kutal, 2002, Bahadur, *et al.*, 2005). Esto implica que se puede controlar la microestructura y el tamaño de las nanopartículas de  $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  variando su composición.

#### **Efecto del tamaño de las nanopartículas sobre el comportamiento magnético de las $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$**

El comportamiento de un material magnético y su clasificación depende entre otras características, de la composición y tamaño de las partículas magnéticas que lo constituyen. Bajo cierto tamaño crítico del diámetro de la partícula, las propiedades magnéticas de las partículas pequeñas se rigen por la presencia de dominios magnéticos y paredes de dominio. La formación de las paredes de dominio depende del equilibrio entre las energías de intercambio y de anisotropía magnetocristalina. La **figura 6a** muestra una representación esquemática del comportamiento del campo coercitivo como función del tamaño de las partículas magnéticas, donde podemos ver que a medida que disminuye su tamaño se pasa de partículas magnéticas multidominio a monodominio para un tamaño crítico de aproximadamente 30 nm. De otro lado, para tamaños de las nanopartículas magnéticas  $<10$  nm, se presenta una disminución drástica del campo coercitivo y una tendencia a un comportamiento superparamagnético con campos coercitivos muy pequeños, donde el momento magnético de la partícula en su conjunto fluctúa libremente en respuesta a la

**Tabla 2.** Porcentaje atómico y relaciones  $x=\text{Zn}/\text{Zn}+\text{Co}$  y  $\text{Fe}/\text{Zn}+\text{Co}$  para las nanopartículas de  $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  para tres valores de concentración de Zn (López, *et al.*, 2012)

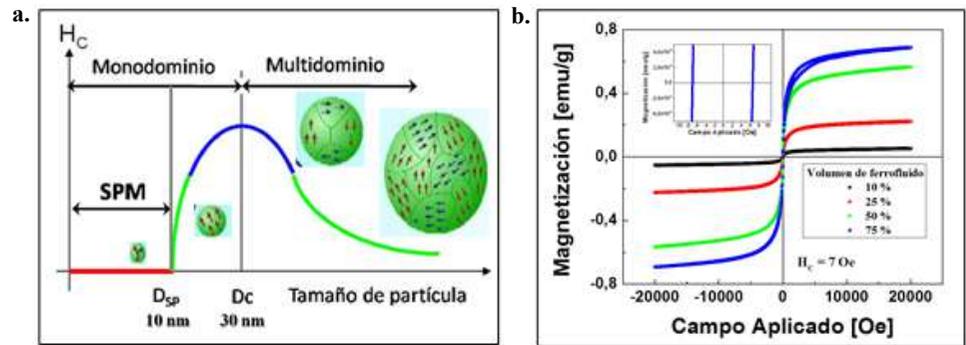
Muestra	% atómico Co	% atómico Zn	% atómico Fe	Zn/Zn+Co	Fe/Zn+Co
$\text{Co}_{0.79}\text{Zn}_{0.21}\text{Fe}_2\text{O}_4$	11	3	30	0,21	2,14
$\text{Co}_{0.56}\text{Zn}_{0.44}\text{Fe}_2\text{O}_4$	9	7	33	0,44	2,06
$\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$	3	9	26	0,75	2,16



**Figura 5.** Imágenes HRTEM de nanopartículas de  $\text{Co}_{0.79}\text{Zn}_{0.21}\text{Fe}_2\text{O}_4$  en dos escalas diferentes: (a) 50 nm y (b) 10 nm. El recuadro muestra el patrón de difracción (SAED) de la muestra de  $\text{Co}_{0.79}\text{Zn}_{0.21}\text{Fe}_2\text{O}_4$ . Histogramas de tamaño de partículas para las ferritas de Co-Zn a)  $\text{Co}_{0.79}\text{Zn}_{0.21}\text{Fe}_2\text{O}_4$  b)  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$ .

energía térmica, mientras que los momentos atómicos individuales mantienen su estado ordenado uno respecto de los otros (Knobel, *et al.*, 2008, Pei, *et al.*, 2007). En otras palabras, cada nanopartícula puede tratarse como un monodominio con un gran momento magnético en presencia de un campo magnético externo  $H$  aplicado, ya que cuando se aplica el campo externo, el momento magnético ( $\mu$ ) de las partículas trata de alinearse en la dirección del campo magnético que conduce a una magnetización macroscópica del sistema (comportamiento colectivo de las nanopartículas magnéticas).

La caracterización magnética de las nanopartículas de  $\text{Co}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  se llevó a cabo a través de curvas de histéresis magnética utilizando un magnetómetro de muestra vibrante (VSM-por sus siglas en inglés) del sistema de medición de propiedades físicas (PPMS) de Quantum Design<sup>TM</sup>. Las medidas de magnetización como función del campo aplicado se realizaron a temperatura ambiente aplicando un campo entre -20.000 y 20.000 Oe. La figura 6b (López, *et al.*, 2014) muestra las curvas típicas de histéresis  $M$  vs.  $H$  para la ferrita  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$  suspendida en el solvente orgánico portador, tomadas a temperatura ambiente y a diferentes concentraciones del ferrofluido. A partir de las curvas de histéresis es posible observar que las nanopartículas de  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$  muestran una tendencia al comportamiento superparamagnético, característica de un material ferromagnético suave, ya que exhiben una magnetización de saturación entre  $\sim 0.09$  y  $0.7 \text{ emu/g}$  y un bajo campo coercitivo con un valor de  $\sim 6.0 \pm 0.2 \text{ Oe}$  (ver el recuadro de la figura 6b). López, *et al.*, 2012, describen que a medida que aumenta la concentración de zinc en % at, el tamaño del cristalito y el campo coercitivo de las nanopartículas magnéticas de  $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  disminuye, lo que demuestra que las propiedades estructurales y magnéticas pueden ser manipuladas variando el tamaño de las nanopartículas.



**Figura 6. a.** Representación esquemática del comportamiento del campo coercitivo como función del tamaño de las partículas magnéticas. **b.** Curvas de histéresis magnética para nanopartículas de  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$  tomados a temperatura ambiente y a diferentes concentraciones de ferrofluido.

El comportamiento magnético de las nanopartículas es relevante para aplicaciones concretas en los diferentes campos. Por ejemplo, en las aplicaciones biomédicas, es importante tener magnetizaciones de saturación y susceptibilidades altas y además,

como en el caso de las nanopartículas magnéticas de  $\text{Co}_x\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ , debido a su bajo campo coercitivo requieren de un pequeño campo magnético externo para eliminar cualquier magnetismo residual en la muestra, o sea que se puede desmagnetizar fácilmente (Girgis, *et al.*, 2011), lo que implica que se puede eliminar su efecto en el organismo después del respectivo procedimiento biomédico llevado a cabo con ellas.

Recientemente, (Torres-Rodríguez, *et al.*, 2019) reportan que las nanopartículas de ferritas de  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$  han sido exitosamente utilizadas en un protocolo de purificación magnética del ácido desoxirribonucleico (ADN), ya que, por el resultado del protocolo del ensayo, se considera que es un material que tiene un mejor comportamiento de su núcleo magnético (core-shell) en comparación con las nanopartículas de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) tradicionalmente usadas. De igual manera, en otro trabajo reciente (Proença, *et al.*, 2019) también con nanopartículas de  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$ , se reporta el uso de estas por primera vez para la detección de biomarcadores en las muestras de suero de pacientes con cáncer de próstata y sanos. Los autores demuestran que debido a la alta capacidad magnética de las ferritas de  $\text{Co}_{0.25}\text{Zn}_{0.75}\text{Fe}_2\text{O}_4$  en comparación con las ferritas tradicionales ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), aquellas presentan una gran ventaja para ser usadas como herramienta para la separación eficaz y más rápida de biomoléculas para la detección temprana de cáncer de próstata.

Finalmente, las nanopartículas de  $\text{Co}_x\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  también se han estudiado para su uso en otros campos diferentes al de las aplicaciones biomédicas. López Medina, *et al.*, 2016, muestran que cuando el FF de  $\text{Co}_x\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  se encapsula y se lo somete a un campo magnético externo sintonizable aplicado perpendicular a la película del encapsulado, se observan agregados de nanopartículas magnéticas autoensambladas que forman columnas en un cristal fotónico 2D (PC-photonic crystal) con arreglo hexagonal. Ese PC presenta una estructura de bandas fónicas (PBS-photonic band structure), donde el FF con menor concentración de Zn ( $\text{Co}_{0.75}\text{Zn}_{0.25}\text{Fe}_2\text{O}_4$ ) a un bajo campo magnético perpendicularmente aplicado, presenta una banda prohibida completa en el rango del IR ( $\lambda \approx 10.6 \mu\text{m}$ ). Este resultado permite considerar los FF como potenciales PC magneto-controlables para aplicaciones tecnológicas, por ejemplo, como filtros.

## Conclusiones

Los estudios realizados con los materiales nanoestructurados 2D del 8YSZ y 0D de las nanopartículas de  $\text{Co}_x\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ , revelan la fuerte influencia de la nanoestructura sobre la microestructura cristalina, propiedades y aplicaciones de estos nanomateriales. En el caso del 8YSZ se puede establecer a partir de los análisis de DRX y TEM, que los

cambios de simetría producidos por la inclinación del plano del sustrato con respecto al flujo de vapor mejoran las propiedades de aislamiento térmico, lo que es importante para la aplicación del 8YSZ como recubrimiento protector de barrera térmica. De hecho, los estudios de conductividad térmica indican que el valor de  $\kappa$  es fuertemente influenciado por la microestructura “zigzag” del recubrimiento PVD de 8YSZ, con una disminución de la conductividad térmica en un orden de magnitud, cuando las columnas cambian de un crecimiento con orientación normal con respecto a la superficie del sustrato ( $\alpha = 0$ ), a una microestructura zig-zag de un patrón con  $n = 50$  repeticiones. Más aun, en términos prácticos de una aplicación sería suficiente un valor  $n=2$ , ya que, a partir de ese valor de  $n$ , la conductividad térmica no varía de manera significativa. Con respecto a las nanopartículas magnéticas de  $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  el valor de la concentración de Zn, afecta el tamaño de las nanopartículas y este a su vez sus propiedades magnéticas, con una tendencia hacia un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente, con campos coercitivos muy bajos. Este resultado implica que las nanopartículas magnéticas de  $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$  pueden considerarse material magnético blando. Lo anterior las hace atractivas para aplicaciones biomédicas, como también en el campo de la fotónica y la electrónica.

## Información Suplementaria

**Figura 1S.** La técnica de depósito bajo ángulo oblicuo (OAD). Ver figura 1S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/916/2717>

**Información suplementaria S1.** La técnica de depósito bajo ángulo oblicuo (OAD). Ver información suplementaria S1 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/916/2718>

**Figura 2S.** (a) Configuración experimental utilizada para las rotaciones de 180o en el plano obteniéndose una morfología de crecimiento en “zigzag”. (b) Vista en sección transversal de SEM de película delgada de YSZ obtenida bajo esta configuración con un período ( $n = 1$ ) (Amaya, *et al.*, 2019). Ver figura 2S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/916/2719>

**Información suplementaria S2.** Determinación de la conductividad térmica en películas delgadas. Ver información suplementaria S2 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/916/2720>

## Agradecimientos

El autor agradece al Centro de Excelencia en Nuevos Materiales (CENM) de la Universidad del Valle y al laboratorio nacional LIDTRA del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) – Unidad Querétaro-México, por la infraestructura de los laboratorios para la realización de varios de los análisis aquí presentados. Los estudios que se describen en este trabajo se llevaron a cabo en el marco de proyectos de investigación de convocatorias internas de la Universidad del Valle (CI 7923, 7871 y 7703) y de COLCIENCIAS (contratos 6242014 y 20130002).

## Contribución del autor

Este artículo de revisión es inédito y de autoría completa de quien lo presenta y está basado en proyectos de investigación y temas de tesis de maestría y doctorado ya finalizadas, llevadas a cabo bajo la dirección del autor.

## Conflicto de intereses

El autor certifica que no tiene ningún conflicto de intereses.

## Referencias

Alvarado-Gil, J.J., Zelaya-Angel, O., Sanchez-Sinencio, F., Yáñez Limón, J. M., Vargas, H., Figueroa, J.C.C. (1995). Photoacoustic monitoring of processing conditions in cooked tortillas: Measurements of thermal diffusivity. *J Food Sci.* **60**: 438-442.

- Amaya, C., Caicedo, J.C., Yáñez-Limón, J.M., Vargas, R.A., Zambrano, G., Gómez, M.E., Prieto, P. (2012). A non-destructive method for determination of thermal conductivity of YSZ coatings deposited on Si substrates. *Mater Chem Phys.* **136**: 917.
- Amaya, C., Prias-Barragán, J.J., Aperador, W., Hernández-Landaverde, M.A., Ramírez-Cardona, M., Caicedo, J.C., Rodríguez, L.A., Snoeck, E., Gómez, M.E., and Zambrano, G. (2017). Thermal conductivity of yttria-stabilized zirconia thin films with a zigzag microstructure. *J Appl Phys.* **121**: 245110-1-245110-9.
- Amaya, C., Prias-Barragan, J.J., Caicedo, J.C., Yáñez-Limón, J.M., Zambrano, G. (2109). Chapter 8: Impact of the Glancing Angle Deposition on the Yttria-Stabilized Zirconia Growth and Their Thermal Barrier Coating Properties. En J.A. Perez-Taborda and A.G. Avila Bernal. *Coatings and thin film technologies* (149-170). London, SE19SG – United Kingdom. Printed in Croatia. IntechOpen.
- An, K., Ravichandran, K.S., Dutton, R. E., Semiatin, S.L. (1999). Microstructure, texture, and thermal conductivity of single layer and multilayer thermal barrier coatings of Y2O3-stabilized ZrO2 and Al2O3 made by physical vapor deposition. *J Am Ceram Soc.* **82** (2): 399-406.
- Baba, T., Ono, A. (2001). Improvement of the laser flash method to reduce uncertainty in thermal diffusivity measurements. *Meas Sci Technol.* **12**: 2046-2057.
- Bahadur, D., Giri, J., Bibhuti, B.N., Sriharsha, T., Pradhan, P., Prasad, N.K., Barick, K.C., Ambashta, R.D. (2005). Processing, properties, and some novel applications of magnetic nanoparticles. *Pramana J Phys.* **65** (4): 663-679.
- Bansi Dhar, M., Md. Azahar A. (2018). Nanomaterials for Biosensors: Fundamentals and Applications. En Bansi Dhar Malhotra and Md. Azahar Ali. Chapter 1, *Nanomaterials in Biosensors: Fundamentals and Applications* (1-74). Amsterdam, Netherlands. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-04697-4>.
- Bento, A.C., Dias, D.T., Olenka, L., Medina, A.N., Baesso, M.L. (2002). On the application of the photoacoustic methods for the determination of thermo-optical properties of polymers. *Braz J Phys.* **32**: 483-494.
- Cahill, D.G., Braun, P.V, Chen, G., Clarke, D.R, Fan, S., Goodson, K.E, Keblinski, P., King, W.P., Mahan, G.D., Majumdar, A., Maris, H.J., Phillpot, S.R., Pop, E., Shi, L. (2014). Nanoscale thermal transport. II. 2003-2012. *Appl Phys Rev.* **1**: 011305.
- Cao, G. (2004). *Synthesis, Properties and Applications*. London, England. Imperial College Press.
- Filla, B.J. (1997). A steady-state high-temperature apparatus for measuring thermal conductivity of ceramics. *Rev Sci Instrum.* **68** (7):2822.
- Fujikane, M., Setoyama, D., Nagao, S., Nowak, R., Yamanaka, S. (2007). Nanoindentation examination of yttria-stabilized zirconia (YSZ) crystal. *J Alloy Compd.* **431** (1-2): 250-255.
- Gell, M., Jordan, E., Vaidyanathan, K., MaCarron, K., Barber, B., Sohn, Y., Tolpygo, V.K. (1999). Bond bond stress and spallation mechanisms of thermal barrier coatings. *Surface and Coating Technology.* **53-60**: 120-121.
- Girgis, E., Wahsh, M.M., Othman, A.G., Bandhu, L., Rao, K.V. (2011). Synthesis, magnetic and optical properties of core/shell Co1-xZnxFe2O4/SiO2 nanoparticles *Nanoscale Res Lett.* **6**: 460. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-6-460>.
- González de la Cruz, G., Gurevich, Y.G., Logvinov, G.N., Muñoz Aguirre, N. (2000). Effective thermal conductivity and thermal diffusivity of two layer samples in photoacoustic experiments. *Super y Vacio.* **10**: 40-47.
- Gupta, A.K., Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomaterials.* **26** (18): 3995-4021.
- Heiroth, S., Lippert, T., Wokaun, A., Döbeli, M., Rupp, J. L.M., Scherrer, B. (2010). Yttria-stabilized zirconia thin films by pulsed laser deposition: Microstructural and compositional control. *J Eur Ceram Soc.* **30** (2): 489-495.
- Hubler, A., Osuagwu, O. (2010). Digital quantum batteries: Energy and information storage in nanovacuum tube arrays. *Complexity.* **15** (5): 48-55. <https://doi.org/10.1002/cplx.20306>.
- Hultman, L., Munz, W.D, Musil, J., Kadlec, S., Petrov, I., Greene, J.E. (1991). Low-energy (~100 eV) ion irradiation during growth of TiN deposited by reactive magnetron sputtering: Effects of ion flux on film microstructure. *J Vac Sci Technol A: Vacuum, Surfaces, and Films.* **9**: 434.
- ISO/TS 80004-1:2015 - *Nanotechnologies — Vocabulary — Part 1: Core terms.* (2015). International Organization for Standardization. Retrieved 8 January 2018.

- Jones, R.L.** (1996). Experiences in seeking stabilizers for zirconia having hot corrosion-resistance and high temperature tetragonal ( $t'$ ) stability. Naval Research Laboratory. NRL/MR/6170-96-7841.
- Jordan, A., Scholz, R., Wust, P., Fahling, H., Roland F.** (1999). Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. *J Magn Magn Mater.* **201**: 413-419.
- Jordan, A., Scholz, R., Maier-Hauff, K., Johannsen M., Wust P., Nadobny, J., Schirra H., Schmidt, H., Deger S., Loening S., Lanksch W., Roland F.** (2001). Presentation of a new magnetic field therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic fluid hyperthermia. *J Magn Magn Mater.* **225**: 118-126.
- Kabacoff, L.T.** (1998). Thermally sprayed nano-structured thermal barrier coatings. NATO Workshop on Thermal Barrier Coatings, Aalborg, Denmark, AGARD-R-823, paper 12.
- Klemens, P. G., Gell, M.** (1998). Thermal conductivity of thermal barrier coatings. *Mat Sci Eng A.* **245**: 143-149.
- Knobel, M., Nunes, W.C., Socolovsky, L.M., Biasi, E.D., Vargas, J.M., Denardin, J.C.** (2008). Superparamagnetism and other magnetic features in granular materials: a review on ideal and real systems, *J Nanosci Nanotechnol.* **8** (6): 2836-57.
- Koosloos, M.F.J., van Liempd, G.G., Houben, J.M.** (1998). Effect of local thermal shock load on plasma sprayed thermal barrier coatings. *Surface Eng.* **14** (2): 144.
- Kyongjun, A., Ravichandran, K.S., Semiatin, S.L.** (1999). Microstructure, texture, and thermal conductivity of single-layer and multilayer thermal barrier coatings of Y2O3 stabilized ZrO2 and Al2O3 made by physical vapor deposition. *J Amer Ceram Soc.* **82** (2): 299.
- Lee, S.M., Matamis, G., Cahill, D.G.** (1998). Thin-film materials and minimum thermal conductivity. *Microscale Thermophysical Engineering.* **2**: 31-36.
- Li, X., Kutal, C.** (2002). Synthesis and characterization of superparamagnetic CoFeO nanoparticles. *J Alloy Compd.* **349**: 264-268.
- Lintymer, J., Gavaille, J., Martin, N., Takadom, J.** (2003). Glancing angle deposition to modify microstructure and properties of sputter deposited chromium thin films. *Surf Coat Tech.* **174-175**: 316.
- López, J., González-Bahamon, L.F., Prado, J., Caicedo, J.C., Zambrano, G., Gómez, M.E., Esteve, J. and Prieto, P.** (2012). Study of magnetic and structural properties of ferrofluids based on cobalt-zinc ferrite nanoparticles. *J Magn Magn Mater.* **324**:394 - 402.
- López, J., González, L.F., Quiñonez, M.F., Gómez, M.E., Porrás-Montenegro, N., Zambrano, G.** (2014). Magnetic field role on the structure and optical response of photonic crystals based on ferrofluids containing Co<sub>0.25</sub>Zn<sub>0.75</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, *J Appl Phys.* **115**: 193502-1-193502-7.
- López Medina, J.A., González Reyes L.E., Porrás-Montenegro, N., Zambrano, G.** (2016). Band structure dependence on the external perpendicular magnetic field and Zn concentration of photonic crystals made of Co<sub>1-x</sub>Zn<sub>x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *IEEE T Mag.* **52** (1): 4600107.
- Mandelis, A., Zver, M.M.** (1985). Theory of photopyroelectric spectroscopy of solids. *J Appl Phys.* **57**: 4421-4430.
- Mansanares, A.M., Bento, A.C., Vargas, H., Leite, N.F. and. Miranda, L.C.M.** (1990). Photo-acoustic measurement of the thermal properties of two-layer systems. *Phys Rev B.* **42**: 4477.
- Mayen Mondragon R, Yáñez-Limón J.M.** (2006). Study of blue phases transition kinetics by thermal lens spectroscopy in cholesteryl nonanoate. *The Review of Scientific Instruments.* **77**: 044903-1 – 044903-7.
- Meier, S.M., Gupta, D.K.** (1994). The evolution of thermal barrier coatings in gas turbine engine applications. *J Eng Gas Turbines Power.* Trans. ASME. **116** (1): 250-257.
- Messier, R., Giri, A.P., Roy, R.A.** (1984). Revised structure zone model for thin film physical structure. *J Vacuum Sci Technol A.* **2**: 500.
- Morrell, P., Taylor, R.** (1985). Thermal diffusivity of thermal barrier coatings of ZrO<sub>2</sub> stabilized with Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *High Temperatures - High Pressures.* **17**: 79.
- Motohiro, T., Taga, Y.** (1989). Thin film retardation plate by oblique deposition. *Appl Optics.* **28**: 2466.
- Ozin, G.A., Arsenault, A.C., Cademartiri, L.** (2009). *Nanochemistry: A Chemical Approach to Nanomaterials*, second ed. London, England. Royal Society of Chemistry.
- Pei, W., Kumada, H., Natusme, T., Saito, H., Ishio, S.** (2007). Study on magnetite nanoparticles synthesized by chemical method. *J Magn Magn Mater.* **310** (2): 2375-2377.

- Pérez-Castillejos, R., Plaza, J.A., Esteve, J., Losantos, P., Acero, M.C., Cane, C., Serra-Mestres, F.** (2000). The use of ferrofluids in micromechanics. *Sensors Actuat.* **84**: 176-180.
- Piso, M.I.** (1999). Applications of magnetic fluids for inertial sensors. *J Magn Magn Mater.* **201** (1): 380-384.
- Portal, R.** (1997). Etude de la conductivite thermique de couches minces de ZrO<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> deposees par EB-PVD. Rapport de stage SNECMA.
- Prías-Barragán, J.J., Muñoz-Gómez, A.P., Ariza-Calderón, H.** (2102). System for Measuring Thermal Conductivity in Multiple Solid Samples. Co-patent 2012-9821.
- Proença, C.A., Baldo, T.A., Freitas, T.A., Materón, E.M., Wong, A., Durán, A.A., Melendez, M.E., Zambrano, G., Faria, R.C.** (2019). Novel enzyme-free immunomagnetic microfluidic device based on Co<sub>0.25</sub>Zn<sub>0.75</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> for cancer biomarker detection. *Anal Chim Acta.* Accepted. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.04.047>.
- Robbie, K., Brett, M.J.** (1997). Sculptured thin films and glancing angle deposition: Growth mechanics and applications. *J Vac Sci Technol. A.* **15**: 1460-1465.
- Robbie, K., Brett, M.J., Lakhtakia, A.** (1996). Chiral sculptured thin films. *Nature.* **384**: 616.
- Rosencwaig, A., Gersho, A.** (1976). Theory of the photo acoustic effect of solids. *J Appl Physics.* **47**: 64-69.
- Salata, O.V.** (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine, *J Nanobiotechnology* **2** (3): 1-6.
- Scherer, C., Figueiredo Neto, A.M.** (2005). Ferrofluids: properties and applications, *Braz J Phys.* **35** (3A): 718-727.
- Skinner, S.J., Kilner, J.A.** (2003). Oxygen ion conductors. *Materials Today.* **6** (3): 30-37.
- Soyez, G., Eastman, J.A., Thompson, L.J., Bai, G.R., Baldo, P.M.** (2000). Grain-size-dependent thermalconductivity of nanocrystalline yttria-stabilized zirconia films grown by metal-organic chemical vapor deposition. *Applied Physics Letters.* **77** (8): 1155-1157.
- Takadom, J., Lintymer, J., Gavaille, J., Martin, N.** (2005). Chromium multilayered thin films with orientated microstructure. *J Physique IV France.* **123**: 137.
- Torres-Rodríguez, J., Soto, G. López Medina, J.A., Portillo-López, A., Hernández-López, E.L., Vargas Viveros, E., Elizalde Galindo, J.T., Tiznado, H., Flores, D.L., Muñoz-Muñoz, F.** (2019). Cobalt zinc ferrite and magnetite SiO<sub>2</sub> nanocomposite powder for magnetic extraction of DNA. *J Sol-Gel Sci Technol.* Accepted. <https://doi.org/10.1007/s10971-019-05017-z>.
- Unal, O., Mitchell, T.E., Heuer, A.H.** (1994). Microstructures of Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Stabilized ZrO<sub>2</sub> Electron Beam Physical Vapor Deposition Coatings on Ni Base Superalloys. *J Amer Ceramic Soc.* **77** (4): 984-992.
- van Kranenburg, H., Lodder, J.C.** (1994). Tailoring growth and local composition by oblique-incidence deposition: a review and new experimental data. *Mater Sci Eng.* **11** (7): 295-354.
- Wortman, D.J., Nagaraj, B.A., Duderstadt, E.C.** (1989). Thermal barrier coatings for gas turbine use. *Mat Sci Eng. A121*: 443.
- Zambrano Romero, G.A., Gómez de Prieto, M.E., Prieto Pulido, P.A., Caicedo Angulo, J.C. y Amaya Hoyos, C.A.** (2016). Dispositivo para depósito en ángulo oblicuo de materiales a escalas nano y micrométricas mediante técnicas PVD. Co-patent 14-185631.

Artículo original

**Determinación del rol del tiburón cazón antillano *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae) en el flujo de metilmercurio en las redes tróficas del Caribe colombiano**

**Determination of the role of the Antillean shark *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae) in the flow of methylmercury within the trophic webs of the Colombian Caribbean**

✉ Ramiro Rueda-Bernal<sup>1</sup>, ✉ Arturo Acero P.<sup>2</sup>, ✉ Néstor Hernando Campos-Campos<sup>2,\*</sup>,  
✉ José Luis Marrugo-Negrete<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Biología, Línea de Biología Marina, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe.

<sup>2</sup> Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe.

<sup>3</sup> Laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental, Universidad de Córdoba.

Resumen

El metilmercurio (MeHg) es la forma orgánica más tóxica del mercurio. Es una neurotoxina cuya ingestión produce graves consecuencias en los seres humanos. En Colombia se generan desechos mercuriales en diferentes actividades, siendo los ecosistemas marinos los más afectados debido a la capacidad de bioacumulación y biomagnificación de las especies de diferentes niveles tróficos. Para evaluar el estado de contaminación por MeHg del Caribe colombiano y determinar su variación espacio-temporal, se analizaron ejemplares de *Rhizoprionodon porosus* como especie biomonitora (n=45). Se recolectaron muestras de tejido y contenido estomacal durante diferentes épocas en tres departamentos distintos, La Guajira, Atlántico y Bolívar. Las muestras se liofilizaron, se les hizo una extracción líquido-líquido con tolueno y cisteína, y se determinaron las concentraciones en los tiburones y sus presas con un analizador directo de mercurio (DMA80). Con estos resultados se calculó el factor de biomagnificación del metal en los compartimentos estudiados en las redes tróficas del Caribe colombiano. En los tres sitios hubo concentraciones de MeHg superiores a las establecidas como seguras por la Organización Mundial de la Salud, siendo los sectores adyacentes a los ríos Magdalena y Sinú los más afectados. La prueba de Kruskal-Wallis evidenció diferencias significativas entre las épocas de muestreo de los diferentes sitios. La correlación de Spearman demostró una relación entre la talla del individuo y la concentración de MeHg, lo que indica que *R. porosus* es una especie bioacumuladora de MeHg en las redes tróficas del mar Caribe colombiano.

**Palabras clave:** Metilmercurio; Bioacumulación; Biomagnificación; *Rhizoprionodon porosus*; Caribe sur.

Abstract

Methylmercury (MeHg) is the most toxic organic form in which mercury can be found. It is a neurotoxin whose intake causes serious consequences in humans. In Colombia, different activities generate mercurial waste and marine ecosystems are the most affected due to the bioaccumulation and biomagnification capacity of species in different trophic levels. In this context, we evaluated samples of *Rhizoprionodon porosus* as biomonitor species (n=45) to verify MeHg contamination in the Colombian Caribbean and assess its spatial and temporal variation. Samples of tissue and stomach contents were collected during different times in three different departments, La Guajira, Bolívar and Atlántico. The samples were lyophilized, then liquid-liquid extractions with toluene and cysteine were performed, and concentrations were determined in sharks and their prey using a direct mercury analyzer (DMA80). With these results, we calculated the biomagnification factor of

**Citación:** Rueda-Bernal R, Acero P. A, Campos-Campos NH, Marrugo-Negrete JL. Determinación del rol del tiburón cazón antillano *Rhizoprionodon porosus* (Carcharhinidae) en el flujo de metilmercurio en las redes tróficas del Caribe colombiano. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):169-181, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.855>

**Editor:** Jaime Ricardo Cantera

**\*Correspondencia:**

Néstor Hernando Campos;  
nhcampos@unal.edu.co

**Recibido:** 13 de marzo de 2019

**Aceptado:** 20 de noviembre de 2019

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

the metal in the compartments of the trophic Colombian Caribbean networks under study. In all three sites, the concentrations of MeHg were higher than those established as safe by the World Health Organization and the sectors adjacent to the Magdalena and Sinú rivers were the most affected. The Kruskal-Wallis test showed significant differences between sampling times of the different sites. The Spearman correlation showed that there was a relationship between the size of the individual and the concentration of MeHg, which allowed to conclude that *R. porosus* is bioaccumulating MeHg in the trophic networks of the Colombian Caribbean.

**Keywords:** Methylmercury; Bioaccumulation; Biomagnification; *Rhizoprionodon porosus*; Southern Caribbean.

## Introducción

El metilmercurio (MeHg) es la forma orgánica más tóxica del mercurio y es la que más se acumula en el tejido de los peces (Kraepiel, *et al.*, 2003). Se ha demostrado que el constante consumo de alimentos procedentes del mar pone en riesgo la salud de las personas, pues el MeHg perjudica principalmente el sistema nervioso central y también se comporta como una nefrotoxina e inmunotoxina (Bose-O'Reilly, *et al.*, 2010).

Son diversas las actividades humanas que generan desechos con mercurio. La minería, la agricultura, la quema de combustibles fósiles, entre otros, son fuentes de emisión que se han sumado a las naturales y hacen que este metal sea hoy una amenaza para los seres humanos. En Colombia las fuentes contaminantes son muy variadas y hay un gran número de actividades como la minería en las que se manipula el mercurio de manera ilegal, perjudicando así los cuerpos de agua adyacentes y los recursos que estos proveen (Mancera & Álvarez, 2006). En los ecosistemas marinos el mercurio (Hg) se incorpora en compuestos inorgánicos y, posteriormente, es transformado en MeHg por la acción de diferentes microorganismos que constituyen el primer nivel de la cadena alimentaria mediante la cual el metal es transferido hasta llegar a especies que, como los tiburones del género *Carcharhinus*, ocupan los niveles superiores de las redes tróficas (Park, 2012).

El cazón antillano (*Rhizoprionodon porosus*) es un depredador común en los ecosistemas marinos de la costa Caribe colombiana y su pesca es una actividad frecuente en varios sectores de la región. Al tratarse de una especie exclusivamente carnívora que se alimenta de pequeños peces e invertebrados y que ocupa el nivel trófico 4.0 en los ecosistemas del Caribe (Froese & Pauly, 2019), el cazón antillano es un tiburón que acumularía y magnificaría el MeHg con facilidad, lo que implica un riesgo para la salud debido a la falta de información y de estudios que faciliten el control y determinen las características de los animales aptos para el consumo.

Teniendo en cuenta los hábitos de vida del tiburón cazón antillano, y con el fin de conocer más a fondo el estado de contaminación por MeHg del ecosistema en que este se desenvuelve, resulta de gran utilidad conocer su papel en el flujo del MeHg a través de las redes tróficas, así como determinar la concentración de MeHg en el tejido de estos animales, realizar comparaciones espacio-temporales de los valores y conocer la forma en que este metal es acumulado, lo que permitiría utilizar la especie como un buen modelo centinela. Además, este constituye un primer paso necesario para proponer medidas preventivas en las comunidades expuestas y las poblaciones mayormente asociadas con las fuentes de contaminación, con base en los criterios establecidos internacionalmente con respecto a los límites de consumo de MeHg. En este estudio se abordan dichos objetivos a partir de material recolectado en tres localidades del Caribe continental colombiano.

## Materiales y métodos

### Sitios de estudio

Se establecieron tres sitios de muestreo a lo largo de la costa Caribe colombiana (Figura 1). El primero fue Isla Fuerte, una isla pequeña, con poco menos de mil habitantes y un área de 3,25 km<sup>2</sup> en el departamento de Bolívar, ubicada a 30 km de la desembocadura del río Sinú y a 150 km del río Atrato. La isla se caracteriza por su temperatura promedio de



**Figura 1.** Mapa indicando la ubicación geográfica de los puntos de muestreo

27 a 28 °C y por albergar diferentes tipos de ecosistemas marinos (Ladino, 2014). Para la obtención de las muestras se monitorearon los arribos diarios a puerto de más de 30 lanchas de pesca de cordel con recorridos diurnos de 15 km de distancia desde la costa.

Aproximadamente 150 km más al norte, adyacente a Barranquilla (Atlántico), uno de los mayores centros urbanos e industriales de Colombia, se encuentra la desembocadura del principal cuerpo fluvial de Colombia, el río Magdalena; allí se ubica la comunidad pesquera de Las Flores, que representa el segundo punto de estudio establecido en este trabajo. Tratándose de la desembocadura de un río cuyo cauce se extiende a lo largo de 12 departamentos, el resultado de la pesca con palangre o líneas de anzuelos en Bocas de Ceniza, la cual se desembarca en Las Flores, fue de suma importancia para esta investigación. Allí la temperatura del agua tiene un promedio anual de 28,2 °C (Caiafa, *et al.*, 2011). El Magdalena bajo, como se denomina este sector del río, presenta los menores caudales durante el período comprendido entre enero y marzo, los mayores de octubre a diciembre y caudales promedio de 7.200 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup> el resto del año, y arrastra 144 toneladas de sedimentos limosos y arcillosos al año (Restrepo, *et al.*, 2016).

El tercer punto de muestreo fue Cabo de la Vela en La Guajira. El aislamiento social y la lejanía con respecto a los centros urbanos hacen de ésta una localidad bastante particular. La población más cercana es Uribia, ubicada a 60 km de distancia, mientras que el río Ranchería, aproximadamente a 100 km hacia el suroeste, constituye la principal descarga fluvial de la región. A pesar de las temperaturas ambientales altas que se registran, la temperatura promedio del agua es baja (<24 °C) como consecuencia de la surgencia (Páramo, *et al.*, 2011). Las faenas de pesca se realizaron durante la noche a no más de 18 km de la costa y los palangres se ubicaron en diferentes puntos de la costa del Cabo, el parque eólico Jepírachi y Puerto Bolívar.

#### **Obtención de muestras**

Se hicieron tres visitas a cada uno de los sitios de estudio en tres épocas diferentes del año. La primera se llevó a cabo en noviembre de 2015 (época de lluvias), la segunda en abril de 2016 (época de sequía) y la última en agosto del mismo año (transición). Se extrajo una porción de aproximadamente 100 g del tejido muscular ubicado frente al origen de la aleta dorsal de los ejemplares y la totalidad del contenido estomacal. En cada período se recolectaron diez muestras por sitio de estudio, cinco correspondientes al tejido y cinco al contenido estomacal. Se muestrearon en total 45 individuos y los respectivos contenidos estomacales.

### **Tratamiento de las muestras**

Una vez los animales se encontraban en puerto, se registraron el peso, la talla y el sexo de cada individuo. Utilizando un cuchillo cerámico se extrajo una porción de 100 g de tejido muscular de cada ejemplar y las muestras se almacenaron individualmente en un cuarto frío a -20 °C. El resultado de la disección del contenido estomacal de cada individuo se depositó en bolsas herméticas y separadas para su almacenamiento a -20 °C. Posteriormente, las muestras fueron transportadas en neveras de poliestireno con hielo al laboratorio; allí se secaron por liofilización para poder cuantificar el MeHg. Los procedimientos de preparación de las muestras y la determinación de MeHg se llevaron a cabo en el Laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental de la Universidad de Córdoba (Montería, Colombia).

### **Determinación de MeHg**

Una vez liofilizadas, las muestras se maceraron en un mortero de porcelana. El contenido estomacal de cada individuo también fue secado por liofilización y posteriormente macerado y homogenizado. Para preparar cada muestra fue necesario realizar una extracción líquido-líquido empleando bromuro de hidrógeno (HBr), tolueno y L-cisteína. La cuantificación de las concentraciones de MeHg se hizo en un analizador directo de mercurio Milestone, modelo DMA 80 siguiendo las recomendaciones del método 7473 de la *United States Environmental Protection Agency* (EPA) y validado para determinación de mercurio total y MeHg. El principio fundamental de esta técnica es la descomposición térmica, la amalgamación y la espectroscopia de absorción atómica.

La exactitud de la determinación se evaluó como porcentaje de recuperación (%R), el cual se halló añadiendo a las muestras de los peces solución estándar en las concentraciones conocidas. Se manejó un %R entre 93,91 y 95,62 %. La precisión evaluada como repetitividad y reproducibilidad (coeficiente de variación, C.V.) de las muestras analizadas fluctuó en un rango de 1,94 a 3,68 y 1,92 a 4,07 %, respectivamente.

### **Cálculo del factor de biomagnificación**

El factor de biomagnificación se calculó para cada individuo utilizando la siguiente ecuación:  $FBM = C_o/C_w$ , donde FBM es el factor de biomagnificación,  $C_o$  es la concentración de MeHg en el tiburón y  $C_w$  es la concentración del MeHg en el contenido estomacal.

### **Análisis estadísticos**

Todas las pruebas estadísticas se hicieron utilizando los programas R Project for Statistical Computing y SPSS Statistics. Las pruebas de Shapiro-Wilk, Barlett y Levene demostraron que los datos no eran normales ni de varianzas homogéneas, por lo que se procedió a realizar un análisis no paramétrico. Se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para probar si existían diferencias en las concentraciones de MeHg y los factores de biomagnificación entre las épocas de muestreo y los diferentes sitios de estudio. La relación entre las variables se evaluó mediante la correlación no paramétrica de Spearman ( $p=0,05$ ).

## **Resultados**

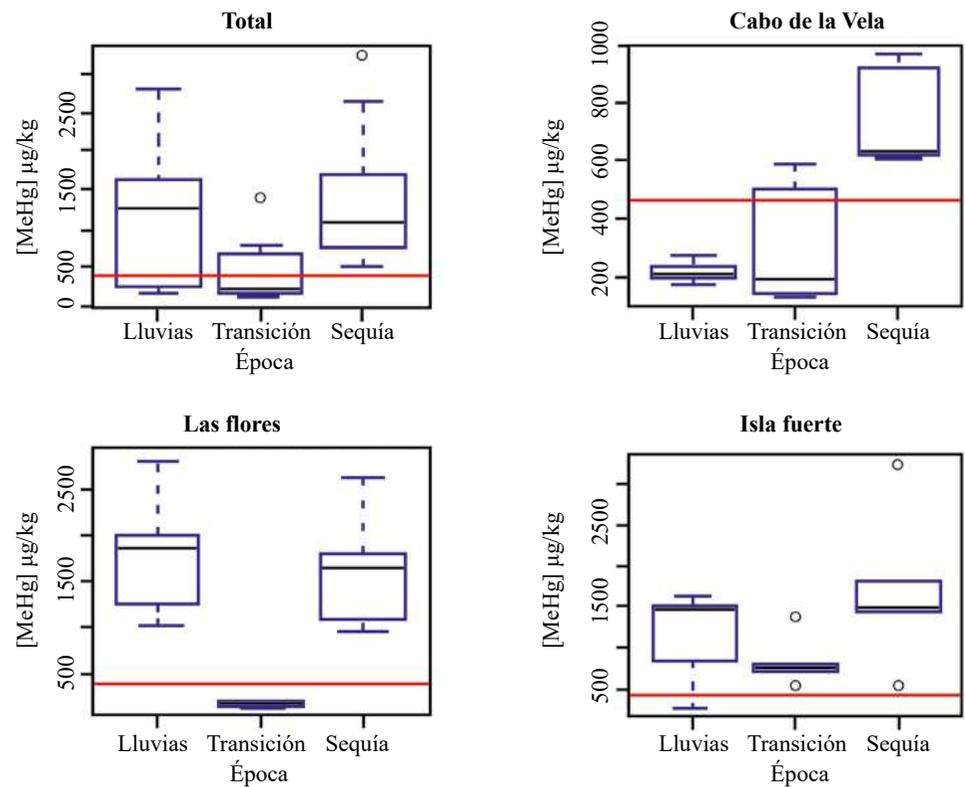
Se analizaron 45 individuos, 31 hembras y 14 machos. En la **figura 2** se presentan las concentraciones de MeHg en el tejido de los tiburones expresadas en peso húmedo ( $\mu\text{g MeHg/kg}_{(p.h.)}$ ) en las diferentes localidades y épocas de muestreo. Los contenidos de MeHg presentaron diferencias significativas ( $p=0,05$ ) entre las estaciones de muestreo (**Tabla 1**), con los mayores contenidos en las estaciones de Las Flores e Isla Fuerte y los menores en el sector del Cabo de la Vela (**Figura 2**).

Con respecto a los períodos de muestreo, se observó que los valores máximos se presentaron en la época lluviosa en Las Flores y en la época seca en Isla Fuerte y en el Cabo de la Vela. Los valores más bajos en las concentraciones de MeHg en los tejidos de tiburón se presentaron, en general, durante el período de transición (julio a agosto).

Los niveles máximos admitidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2000) en alimentos son de 0,5  $\mu\text{g MeHg/g}$  y un consumo máximo semanal de 1,6  $\mu\text{g}$

de MeHg por cada kg de peso corporal (Poulin & Gibb, 2008). Para el análisis de riesgo del consumidor, en el presente estudio se estableció un supuesto según el cual una persona con un peso promedio de 70 kg consume aproximadamente 1.000 g de este tipo de tejido mensualmente. Con base en dicho supuesto, se estableció que los valores promedio de hembras y machos excedían los valores establecidos como seguros por la OMS (2000), es decir, un consumo mensual de 448 µg de MeHg para una persona con ese peso corporal.

Según el análisis de Kruskal-Wallis, en Las Flores y el Cabo de la Vela se presentaron las mayores variaciones entre las diferentes épocas (Tabla 2). Por su parte, en Isla Fuerte no se evidenció ninguna diferencia que pudiera atribuirse a la época en la que fueron capturados los animales. A pesar de que los valores máximos en el Cabo de la Vela fueron



**Figura 2.** Contenido de MeHg en µg/kg<sub>(p.h.)</sub> en *Rhizoprionodon porosus* según la época en cada uno de los sitios de estudio. Debido a los valores obtenidos, el eje Y del gráfico perteneciente al Cabo de la Vela presenta una escala diferente a las demás. Línea roja indica la concentración máxima recomendada por la OMS (2000) para el consumo de alimentos.

**Tabla 1.** Valores promedio, medianas y significación asintótica de los contenidos de MeHg en µg /kg<sub>(p.h.)</sub> en *Rhizoprionodon porosus* según la prueba de Kruskal-Wallis

	Lluvias		Transición		Sequía		Significación
	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	
Cabo de La Vela	217,1	202,14	309,3	189,9	747,4	630,9	<b>0,009</b>
Las Flores	1809,9	1888,90	162,6	150,9	1637,0	1654,4	<b>0,006</b>
Isla Fuerte	1115,8	1483,10	848,2	782,1	1714,2	1516,3	0,215
Caribe colombiano	1111,5	1272,50	440,0	199,0	1366,2	1102,5	<b>0,001</b>

**Tabla 2.** Valores promedio, medianas y valores de significación asintótica de los contenidos de MeHg en  $\mu\text{g}/\text{kg}_{(p.h.)}$  en el contenido estomacal de *Rhizoprionodon porosus* según la prueba de Kruskal-Wallis

	Lluvias		Transición		Sequía		Significación
	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	
Cabo de La Vela	95,3	106,84	107,2	106,18	229,0	59,12	0,733
Las Flores	163,1	154,7	58,9	56,84	408,6	284,9	<b>0,031</b>
Isla Fuerte	96,9	92,8	130,6	127,1	86,8	93,7	0,640
Caribe colombiano	118,7	105,7	98,9	96,1	241,8	97,9	0,651

los más bajos, en la época de sequía se elevó allí el contenido de una manera drástica, superando los valores límites recomendados por la OMS (2000). En Las Flores se presentó el cambio más drástico en el período de transición, durante el cual ninguna muestra sobrepasó los niveles permisibles y la disminución en las concentraciones promedio llegó a ser más de diez veces en comparación con el resto del año, tal como lo evidenció el resultado del análisis de Kruskal-Wallis (**Tabla 2**). En Isla Fuerte, como lo indican los valores de significación, a pesar de apreciarse una disminución en la época de transición, no se presentaron diferencias significativas ( $p=0,05$ ) y el MeHg excedió notablemente los niveles establecidos como seguros por la OMS (2000) durante todo el año, y en todas las muestras se registraron concentraciones altamente tóxicas (**Figura 2**).

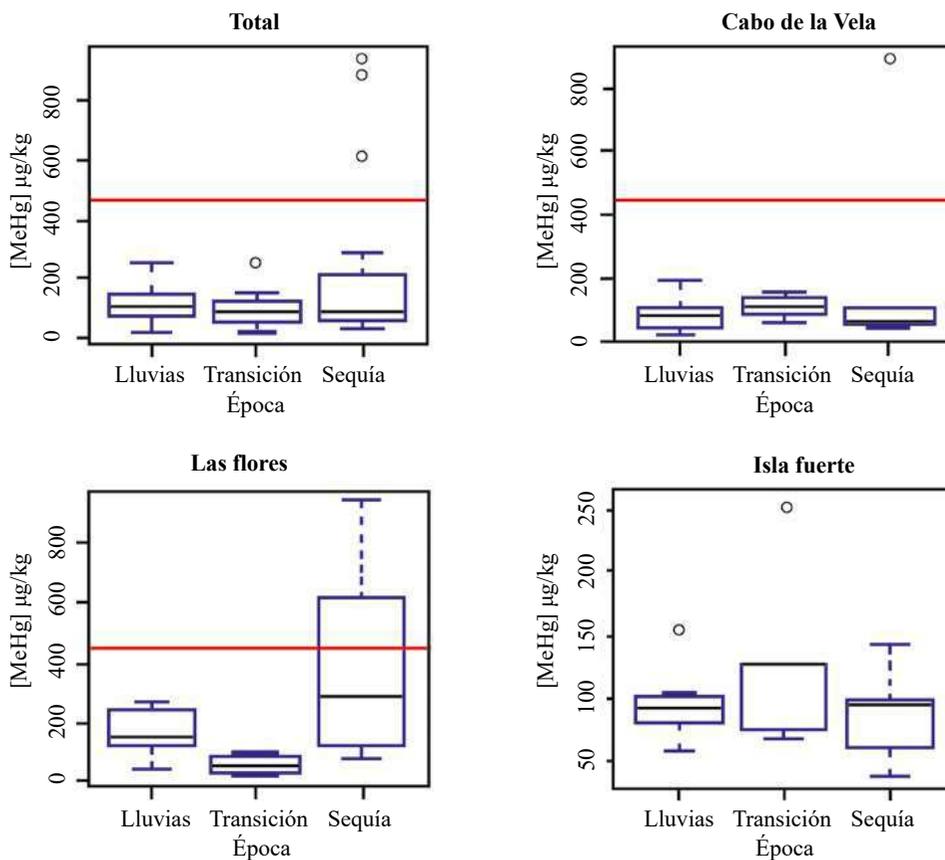
En la **figura 3** se muestran las concentraciones de MeHg medidas en los contenidos estomacales, las cuales fueron, en general, bajas, a diferencia de los contenidos en el músculo. El máximo contenido se encontró en las muestras de Las Flores durante la época seca, en tanto que los valores más bajos se presentaron en Isla Fuerte; en el Cabo de la Vela el contenido fue semejante al hallado en el músculo. Solo en el segundo muestreo en Las Flores las concentraciones excedieron los valores de la OMS (2000) de  $1,6 \mu\text{g}$  de MeHg por cada kg de peso. Según el análisis de Kruskal-Wallis (**Tabla 2**), solo en Las Flores se presentaron diferencias significativas ( $p=0,05$ ) entre las épocas de muestreo y las concentraciones de los contenidos estomacales.

#### **Factor de biomagnificación**

A partir de las concentraciones de MeHg en el tejido y los contenidos estomacales de los tiburones, se determinó el factor de biomagnificación para cada uno de los sitios de muestreo (**Figura 4**). En cuanto al total de los datos del Caribe colombiano, la prueba de Kruskal-Wallis arrojó diferencias significativas ( $p=0,05$ ) entre los valores de este factor en las diferentes épocas. Sin embargo, al hacer el análisis con los datos de cada sitio por separado, el único lugar en que hubo diferencias significativas entre las épocas fue la estación de Las Flores. En el Cabo de la Vela e Isla Fuerte la variación temporal no fue significativa, aunque al analizar los valores promedio de cada sitio en sus respectivas temporadas, estos coincidieron en cuanto al notable aumento durante la época seca (**Tabla 3**).

#### **Talla de los tiburones**

Al comparar los tamaños de los tiburones capturados en los tres sitios, se obtuvo un valor de significación asintótica de 0,003, lo cual indica que se registraron diferencias notorias entre las tallas de los especímenes en las tres localidades (**Tabla 4**). Al analizar las muestras por separado, se evidenció que estas diferencias se debían a las tallas de las capturas en La Guajira, puesto que entre Las Flores e Isla Fuerte los tamaños promedio no presentaron grandes diferencias. Asimismo, y a pesar de que solo en Las Flores se presentó una variación significativa, en los tres sitios las capturas de mayor tamaño se registraron en el periodo de sequía. Los tamaños de los tiburones capturados en el Cabo de la Vela fueron los menores durante todo el año (**Figura 5**).



**Figura 3.** Contenido de MeHg en  $\mu\text{g}/\text{kg}_{(p.h.)}$  en contenido estomacal de *Rhizoprionodon porosus* según la época en cada uno de los sitios de estudio. Línea roja indicando la concentración máxima recomendada por la OMS (2000). Nota: en Isla Fuerte todos los valores se encuentran por debajo de los límites establecidos por la OMS (2000), por ende, la escala del eje Y varía en sus valores.

### Correlación de Spearman

Utilizando un intervalo de confianza de 99 %, en la prueba de Spearman se evidenció una correlación positiva en todos los sitios de estudio entre las concentraciones de MeHg en el tejido de *R. porosus* y la talla, el peso y el factor de biomagnificación (**Tabla 5**).

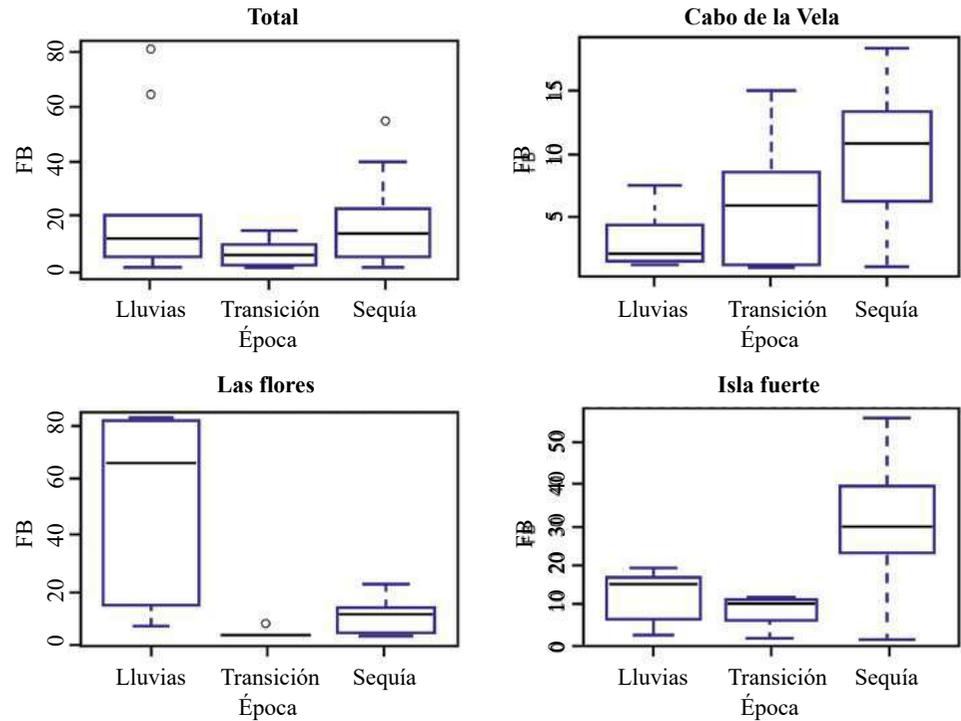
## Discusión

Los tres puntos estudiados en el Caribe colombiano presentaron una relación positiva entre la talla de los individuos de *R. porosus* y las concentraciones de MeHg en sus tejidos, lo cual evidencia el papel que éste cumple como bioacumulador en dichos ecosistemas. Sin embargo, los resultados de esta investigación presentan diferencias notables en el comportamiento de otras variables, como el factor de biomagnificación y las concentraciones de MeHg en los contenidos estomacales, por lo cual es pertinente un análisis por cada sitio de muestreo.

### Cabo de la Vela

El Cabo de la Vela fue el sitio con menos problemas de contaminación por MeHg en el tejido de *R. porosus*. Probablemente por ser una zona desértica, alejada de la civilización, este no es un resultado inesperado. Sin embargo, un promedio anual de  $424,3 \mu\text{g MeHg}/\text{g}_{(p.h.)}$  en el tejido de esta especie no es un valor deleznable, pues dicha concentración se encuentra en el límite de los valores establecidos como aptos para el consumo humano por la OMS (2000). Además, es importante enfatizar que en el Cabo de la Vela los tiburones

capturados presentaron los menores pesos y tallas, por debajo de 60 cm, a excepción de un ejemplar. En *R. porosus* esas tallas corporales corresponden a una edad que no sobrepasa los tres años de vida (Lessa, *et al.*, 2009), lo cual puede favorecer una menor concentración de MeHg en comparación con las otras dos localidades de estudio. Asimismo, el tipo, la cantidad y el tamaño de las presas que puede consumir un tiburón pequeño del género



**Figura 4.** Factor de biomagnificación en *Rhizoprionodon porosus* según la época en cada uno de los sitios de estudio.

**Tabla 3.** Promedios, medianas y valores de significación asintótica de los factores de biomagnificación según la prueba de Kruskal-Wallis

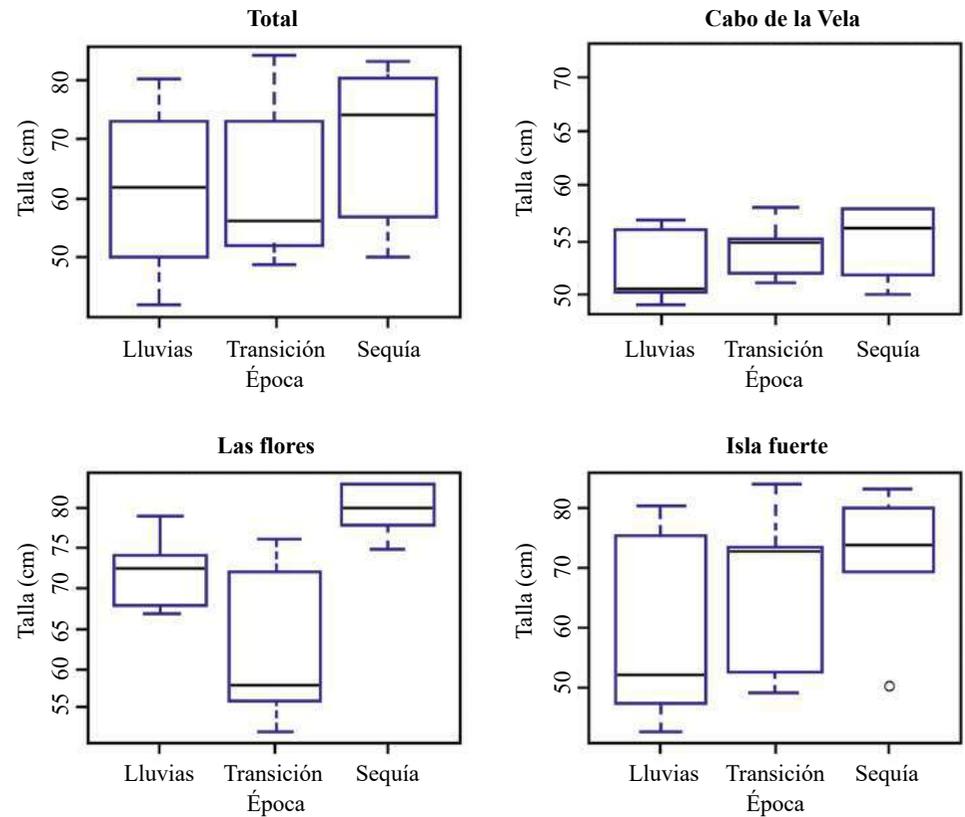
	Lluvias		Transición		Sequía		Significación
	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	
Cabo de La Vela	3,43	2,12	6,37	6,01	10,00	10,67	0,379
Las Flores	53,04	66,35	3,48	2,70	11,10	11,70	<b>0,006</b>
Isla Fuerte	12,90	15,40	8,22	10,01	29,80	29,70	0,124
Caribe colombiano	23,40	11,45	6,02	6,01	17,00	13,51	<b>0,045</b>

**Tabla 4.** Promedios, medianas y valores de significación asintótica de las tallas de *Rhizoprionodon porosus* según la prueba de Kruskal-Wallis

	Lluvias		Transición		Sequía		Significación
	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	
Cabo de La Vela	52,00	50,10	54,20	55,00	57,60	56,00	0,388
Las Flores	72,16	72,15	62,80	58,00	79,80	80,00	0,013
Isla Fuerte	59,70	52,10	66,40	73,00	71,20	74,00	0,414
Caribe colombiano	61,80	62,00	61,13	56,00	69,50	74,00	0,003

*Rhizoprionodon* son limitados, en tanto que los tiburones más grandes y longevos pueden alimentarse de peces robustos e, incluso, de algunos depredadores de los niveles superiores (Tagliafico, *et al.*, 2015).

Los resultados demostraron un marcado incremento en las concentraciones de MeHg en los tiburones del Cabo de la Vela en la época de sequía, llegando a superar en más del 70 % los niveles establecidos como seguros por la OMS (2000). Es posible que esta diferencia entre la época de sequía y el resto del año esté ligada al fenómeno de surgencia que se da anualmente en esta región entre diciembre y marzo. Teniendo en cuenta que la mayor tasa de metilación del mercurio se da en áreas profundas (Roldán, *et al.*, 2014),



**Figura 5.** Talla (longitud) de los individuos de *Rhizoprionodon porosus* capturados según la época en cada uno de los sitios de estudio.

**Tabla 5.** Resultados de la correlación de Spearman (Rho).

	Talla	Tiburón	Peso	Presa	FB
Talla	1,000	0,437**	0,916**	0,268	0,225
Tiburón	0,437**	1,000	0,615**	0,272	0,632**
Peso	0,916**	0,615**	1,000	0,292*	0,359*
Presa	0,268	0,272	0,292*	1,000	-0,171
FB	0,225	0,632**	0,359*	-0,171	1,000

Tiburón: [MeHg] en *Rhizoprionodon porosus*.

Presa: [MeHg] en contenido estomacal.

FB: factor de biomagnificación. n=45.

\* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral)

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral)

durante el período de surgencia grandes cantidades de MeHg pueden ser arrastradas a lo largo de la columna de agua y entrar a ser parte de las redes tróficas costeras y superficiales de forma acelerada.

Además, este afloramiento anual viene acompañado no solo del ascenso del producto de la metilación del metal sino también de cianobacterias y fitoplancton que, al permanecer en aguas superficiales, llevan a cabo la inclusión del mercurio orgánico directamente a las redes tróficas pelágicas y mesopelágicas (**Heimbürger, et al., 2010**). Asimismo, existe una concordancia entre el patrón de distribución del MeHg de los tiburones y sus contenidos estomacales a lo largo del año, pues en estos últimos los valores de mayor concentración también se presentaron durante la sequía (época de máxima surgencia).

El factor de biomagnificación promedio para el Cabo de la Vela fue de 6,7. **Galván (2007)** registró un valor de 4,4 para este factor en peces (*Symbolophorus evermanni*) y tiburones (*Isurus oxyrinchus*) en el sur de Baja California. Teniendo en cuenta que el estudio en California incluyó peces de aproximadamente 8 cm y tiburones que llegaban a medir hasta 4,5 m, se puede pensar que el factor de biomagnificación de 6,7 registrado en tiburones de 60 a 70 cm en el Cabo de la Vela sería crítico.

Es difícil establecer las probables fuentes de contaminación por MeHg en La Guajira debido a su locación desértica, alejada de centros urbanos y de actividad portuaria (Puerto Bolívar, un puerto para la exportación minera de carbón, se halla a cerca de 100 km de distancia) e industrial. Por otro lado, uno de los principales ríos de La Guajira, el Ranchería, se nutre de la descarga de diferentes arroyos, algunos directamente relacionados con la minería de carbón, lo que, a pesar de su lejanía del Cabo de la Vela, puede incidir en los valores hallados. En este sentido vale la pena señalar que en algunos de estos arroyos se ha encontrado carbón con trazas considerables de mercurio (**Morales & Carmona, 2007**). El flujo constante de embarcaciones de gran calado, los desechos de la quema de combustibles fósiles por parte de las locomotoras de transporte carbonero, el aporte directo de más de 100 lanchas de pesca artesanal y la descarga de algunos ríos, parecen ser los principales factores asociados con los niveles de MeHg detectados en *R. porosus* en el Cabo de la Vela.

### **Las Flores**

En la localidad de Las Flores los individuos de *R. porosus* presentaron una talla promedio de 71 cm, lo que corresponde a individuos de aproximadamente cuatro años de edad (**Lessa, et al., 2009**). Allí la concentración promedio de MeHg en el músculo superó los 448 µg/Kg, lo que indica que el consumir raciones de 1.000 g de ese tejido se excedería el límite recomendado por la OMS. Sin embargo, se establecieron diferencias significativas entre la concentración de MeHg y el factor de biomagnificación y la época del año. Estas diferencias temporales pueden ser el resultado de diferentes factores asociados con esta localidad de estudio. Las Flores se encuentra influenciada por los ciclos de inundación del río Magdalena, cuyo caudal recibe los desechos provenientes de más de 12 departamentos de Colombia y que, además, recibe el aporte directo del río Cauca, fuente hídrica muy afectada por la explotación minera de oro (**Olivero, et al., 2018**) y que, según **Cormagdalena (2016)**, tuvo un gran efecto sobre el caudal del río Magdalena a finales de 2015, momento en el que se realizaron los registros más altos de MeHg en el tejido del *R. porosus* en Las Flores.

Por otro lado, al incrementarse el caudal del río, aumenta la navegabilidad, siendo mayor el tamaño y la cantidad de botes que circulan en este sector del río, lo que provoca una mayor cantidad de residuos mercuriales (**Ospina, 2008**). Además, Las Flores se encuentra bajo la influencia directa de uno de los mayores centros urbanos e industriales de Colombia, la ciudad de Barranquilla, y es probable que durante la época de lluvia la cantidad de material orgánico que estaría arrastrando el río atrajera una mayor cantidad y diversidad de presas de *R. porosus*, razón por la cual se registró en esta localidad un factor de biomagnificación variable, con los registros más altos en la época de lluvia.

### ***Isla Fuerte***

En Isla Fuerte no se presentaron diferencias significativas entre las variables medidas en las diferentes épocas del año. No obstante, esa uniformidad probablemente está asociada con el estado crítico de la contaminación por MeHg registrado en el presente estudio. Todas las muestras de tejido de tiburón excedieron los límites postulados por la OMS (2000) para el consumo humano. Las mayores concentraciones de MeHg en *R. porosus* se determinaron en la época seca, seguidas por las muestras de las épocas lluviosa y de transición. De diciembre a abril en Isla Fuerte los vientos alisios provenientes del noreste generan un fuerte oleaje y la influencia de la pluma de sedimentos del río Sinú, en los que ya se han detectado niveles significativos de mercurio (Feria, *et al.*, 2010), es más intensa que en el resto del año (Ladino, 2014).

Según Trudel & Rasmussen (2006), existe una relación directa entre la tasa y el costo metabólico y la concentración de mercurio en el tejido de los animales, como se ha demostrado utilizando modelos bioenergéticos en los cuales, al incrementarse la tasa metabólica en los peces, el mercurio se acumula de forma acelerada en sus tejidos. Asimismo, otros estudios han revelado que algunos tiburones de la familia Carcharhinidae del océano Atlántico presentan un aumento significativo en sus ritmos cardiacos durante el verano, lo que genera un costo energético más elevado (Dowd, *et al.*, 2006).

Con base en lo expuesto, es posible plantear que las altas concentraciones de MeHg presentes en *R. porosus* en la época de sequía estarían directamente relacionadas con el incremento en la temperatura superficial del mar y su consecuente efecto metabólico. Sin embargo, hasta la fecha no hay registros bibliográficos que soporten esta hipótesis. Ahora bien, teniendo en cuenta la relación entre el gasto energético y la tasa de acumulación de MeHg ya mencionada, es innegable que el muestreo de verano en Isla Fuerte probablemente estuvo influenciado por este factor, pues las capturas en dicha época consistieron de cuatro hembras grávidas y un macho de talla considerable. El desarrollo de los embriones en una hembra tarda hasta 12 meses y es un periodo de tiempo en el que el gasto energético incrementa exponencialmente, haciéndolas más propensas a acumular MeHg en sus tejidos en relación con su peso.

### **Conclusiones**

La región Caribe colombiana presenta sectores con alto grado de contaminación por metilmercurio y exhiben una clara variación espaciotemporal en las concentraciones de este metal. Los ejemplares usados como biomonitores en los tres sitios de estudio evidenciaron la tendencia del MeHg a bioacumularse y biomagnificarse en estas redes tróficas, lo cual podría resultar en un grave problema de salud pública para las distintas comunidades.

### **Agradecimientos**

Este trabajo fue financiado por la Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe, y su proyecto de Fortalecimiento: la Relación entre el grupo de Fauna Marina, Biodiversidad y Usos y la línea de Biología Marina del posgrado en Biología. Se agradece también a la Universidad de Córdoba y su Laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental y al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andreis (INVEMAR). Por último, se hace un reconocimiento especial a los pescadores de las diferentes regiones por su colaboración durante la fase de campo. Contribución No. 492 del Instituto de Estudios en Ciencias del Mar CECIMAR, de la Sede Caribe de la Universidad Nacional de Colombia.

### **Contribución de los autores**

RRB: muestreos y procesamiento de la información; AA y NHC: supervisión y redacción del manuscrito. JLM: determinaciones de las concentraciones de Hg y MeHg, control de calidad de las metodologías analíticas.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Referencias

- Bose-O'Reilly, S., McCarty, K. M., Steckling, N., Lettmeier, B.** (2010). Mercury exposure and children's health. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. **40** (8): 186-215.
- Caiafa, I., Narváez, J., Borrero, S.** (2011). Algunos aspectos de la dinámica poblacional del jurel *Caranx hippos* en Bocas de Ceniza, Caribe colombiano. *Revista MVZ Córdoba*. **16** (1): 2324-2335.
- Cormagdalena.** (2016). Niveles del Río. Colombia: Corporación Autónoma Regional del Río Magdalena. Fecha de consulta: 29 octubre de 2016. Disponible en: [niveles.cormagdalena.gov.co](http://niveles.cormagdalena.gov.co)
- Dowd, W. W., Brill, R. W., Bushnell, P. G., Musick, J. A.** (2006). Standard and routine metabolic rates of juvenile sandbar sharks (*Carcharhinus plumbeus*), including the effects of body mass and acute temperature change. *Fishery Bulletin*. **104** (3): 323-331.
- Feria, J., Marrugo, J., González, H.** (2010). Heavy metals in Sinú River, department of Córdoba, Colombia, South America. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*. **55**: 35-44.
- Froese, R. & Pauly, D.** Editors. (2019). FishBase. World Wide Web electronic publication. Fecha de consulta: 12 de agosto de 2015. Disponible en: <https://www.fishbase.se/summary/903>
- Galván, F.** (2007). Bioacumulación de mercurio en tiburones de Baja California Sur. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, México. Fecha de consulta: 20 de agosto de 2016. Disponible en: [http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos\\_anexo/20071053\\_5344.pdf](http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos_anexo/20071053_5344.pdf)
- Heimbürger, L., Cossa, D., Marty, J., Migon, C., Averty, B., Dafour, A., Ras, J.** (2010). Methyl mercury distributions in relation to the presence of nano- and picophytoplankton in an oceanic water column (Ligurian Sea, North-western Mediterranean). *Geochimica et Cosmochimica Acta*. **74** (19): 5549-5559.
- Kraepiel, A. M., Keller, K., Chin, H. B., Malcolm, E. G., Morel, F. M.** (2003). Sources and variations of mercury in tuna. *Environmental Science & Technology*. **37** (24): 5551-5558
- Ladino, F.** (2014). Metaanálisis de la población del tiburón tolo (*Rhizoprionodon porosus*) en Isla Fuerte Caribe colombiano. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, p. 10-19.
- Lessa, R., Santana, F., De Almeida, Z.** (2009). Age and growth of the Brazilian sharpnose shark, *Rhizoprionodon lalandii* and Caribbean sharpnose shark, *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) on the northern coast of Brazil (Maranhão). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. **4** (4): 532-544.
- Mancera, N. J. & Álvarez, R.** (2006). Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. Fecha de consulta: 20 de julio de 2015. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028578001.pdf>
- Morales, Y. & Carmona, L.** (2007). Estudio de algunos elementos traza en carbones de la cuenca Cesar-Rancheria, Colombia. *Boletín de Ciencias de la Tierra- Número 20*. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, p. 75-88.
- Olivero, J., Solano, B., Acosta, I.** (1998). Total mercury in muscle of fish from two marshes in gold-fields, Colombia. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. **61** (2): 182-187.
- Organización Mundial de la Salud - OMS.** (2000). Guía para evaluar los datos de contaminantes químicos para su uso en avisos sobre peces, Vol. 2, Evaluación de riesgos y peces. Washington, DC (20460).
- Ospina, M.** (2008). La navegación fluvial en Colombia. Organization of American States - OAS. Fecha de consulta: 15 de abril de 2016. Disponible en: [https://www.oas.org/cip/docs/areas\\_tecnicas/11.../10\\_la\\_nav\\_fluv\\_colombia.ppt](https://www.oas.org/cip/docs/areas_tecnicas/11.../10_la_nav_fluv_colombia.ppt)
- Páramo, J., Correa, M., Núñez, S.** (2011). Evidencias de desacople físico-biológico en el sistema de surgencia en La Guajira, Caribe colombiano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. **46**: 421-430.
- Park, J.-D.** (2012). Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*. **45**: 344-352.
- Poulin, J. & Gibb, H.** (2008). Mercurio: Evaluación de la carga de morbilidad ambiental a nivel nacional y local. Editora, Prüss-Üstün A. Organización Mundial de la Salud, Ginebra. (OMS, Serie Carga de Morbilidad Ambiental, n° 16). Fecha de consulta: 20 de agosto de 2016. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78130/1/9789243596570\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78130/1/9789243596570_spa.pdf?ua=1)

- 
- Restrepo, J. D., Escobar, R., Tosic, M.** (2016). Fluvial fluxes from the Magdalena River into Cartagena Bay, Caribbean Colombia: Trends, future scenarios, and connections with upstream human impacts. *Geomorphology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geomorph.2016.11.007>
- Roldán, M., Blasco, R., Huertas, M., Caballero, F., Conrado, V., Martínez, M.** (2014). *Biotecnología Ambiental*. *Arbor*. **190** (768): 2.
- Tagliifico, A., Rago, N., Barany, M., Rangel, S.** (2015). Biología de *Rhizoprionodon lalandii* (Elasmobranchii: Carcharhinidae) capturado en la pesca artesanal de Isla de Margarita, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*. **63** (4): 1091-1103. Fecha de consulta: 6 de agosto, 2019. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442015000401091&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442015000401091&lng=en&tlng=es)
- Trudel, M. & Rasmussen, J.** (2006). Bioenergetics and mercury dynamics in fish: A modelling perspective. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1890-1902. Fecha de consulta: 30 de octubre de 2015. Disponible en: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/f06-081?journalCode=cjfas#.WCiaVOHhDok>

Artículo original

## Estado poblacional de *Crocodylus acutus* Cuvier y *Caiman crocodilus fuscus* (Cope) en Puerto Badel y Correa, Bolívar, Colombia

### Population status of the American crocodile *Crocodylus acutus* Cuvier and spectacled caiman *Caiman crocodilus fuscus* (Cope) in Puerto Badel and Correa municipalities, department of Bolívar, Colombia

● Waldo Guerra-Cárdenas<sup>1</sup>, ● Sharon Martínez-García<sup>1</sup>, ● Adriana Bermúdez<sup>1,2</sup>,  
● Gabriel R. Navas-S<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Biología Descriptiva y Aplicada, Programa de Biología, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Hidrobiología, Programa de Biología, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia

## Resumen

Se evaluaron la distribución espacial, la abundancia relativa y la estructura de tallas de *Crocodylus acutus* y *Caiman crocodilus fuscus* en Puerto Badel y Correa, Bolívar, mediante conteos mensuales nocturnos con lámparas en cuatro rutas de muestreo entre noviembre de 2015 y marzo de 2016. Se recorrieron 14 ciénagas y diez caños en una extensión aproximada de 215 km ( $\bar{X}=14,3 \pm 5,9$  km). Se registraron 332 avistamientos durante el estudio, 26 de *C. acutus* y 306 de *C. c. fuscus*. La abundancia relativa para *C. acutus* fue de 0,11 avistamientos/km y para *C. c. fuscus*, de 1,26 avistamientos/km. Se encontraron poblaciones sin adultos mayores y una mayor proporción de juveniles en ambas especies. El tamaño poblacional de *C. acutus* osciló entre 0 y 9 individuos ( $n=3,89 \pm 5,18$ ) en Puerto Badel, y entre seis y 22 ejemplares ( $n=13,99 \pm 7,99$ ) en Correa. La población de *C. c. fuscus* fluctuó entre 49 y 81 individuos ( $n=64,80 \pm 15,72$ ) en Puerto Badel, en tanto que en Correa el valor estuvo entre 81 y 117 babillas ( $n=100,72 \pm 15,56$ ).

**Palabras clave:** Crocodylia; Crocodylidae; Alligatoridae; estructura poblacional; Caribe; Neotrópico.

## Abstract

We assessed the spatial distribution, relative abundance, and size distribution in classes of *Crocodylus acutus* and *Caiman crocodilus fuscus* in Puerto Badel and Correa municipalities, Bolívar department, using monthly spotlight surveys on four sampling routes between November 2015 and March 2016. We covered 14 marshes and ten streams, amounting to approximately 215 km ( $\bar{X} = 14.3 \pm 5.9$  km). We recorded 332 sightings during the study, 26 of *C. acutus* and 306 of *C. c. fuscus*. We estimated a relative abundance of 0.11 sightings/km for *C. acutus* and 1.26 for *C. c. fuscus*. We found populations without adults and with a large proportion of juveniles in both species. *C. acutus* population size ranged between zero and nine individuals ( $n=3.89 \pm 5.18$ ) in Puerto Badel and from six to 22 ( $n=13.99 \pm 7.99$ ) in Correa. The estimated population of *C. c. fuscus* ranged between 49 and 81 individuals ( $n=64.80 \pm 15.72$ ) in Puerto Badel and that of the spectacled caimans between 81 and 117 ( $n=100.72 \pm 15.56$ ) in Correa.

**Keywords:** Crocodylia; Crocodylidae; Alligatoridae; population structure; Caribbean; Neotropic.

**Citación:** Guerra-Cárdenas W, Martínez-García S, Bermúdez A, Navas-S, GR. Estado poblacional de *Crocodylus acutus* Cuvier y *Caiman crocodilus fuscus* (Cope) en Puerto Badel y Correa, Bolívar, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):182-193, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.797>

**Editor:** Arturo Acero

**\*Correspondencia:**

Gabriel R. Navas-S;  
[gnavass@unicartagena.edu.co](mailto:gnavass@unicartagena.edu.co)

**Recibido:** 30 de noviembre de 2018

**Aceptado:** 22 de noviembre de 2019

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

## Introducción

Colombia y Brasil son los países con mayor número de especies de crocodílidos en el mundo (King & Burke, 1989; Barahona, *et al.*, 1996; Ross, 1998). De las aproximadamente 24 especies de este orden actualmente descritas, Colombia tiene seis, cuatro de los ocho géneros y dos de las tres familias (Grigg & Kirshner, 2015).

Debido a las bajas densidades poblacionales que presenta *Crocodylus acutus* Cuvier, 1807 (caimán aguja), y la reducción y fragmentación de sus poblaciones, está catalogada en el Libro Rojo de reptiles de Colombia como “en peligro” (“EN”) (Morales-Betancourt, *et al.*, 2015). La babilla, *Caiman crocodilus fuscus* (Cope, 1868), está clasificada como “en preocupación menor” (LC), aunque es la subespecie más empleada en el comercio de pieles (Morales-Betancourt, *et al.*, 2013).

La información sobre la historia natural y las iniciativas de conservación de los crocodílidos colombianos después de los trabajos realizados hace más de 30 años (Medem, 1981, 1983) es escasa, se encuentra dispersa y, en ocasiones, es de difícil acceso (Morales-Betancourt, *et al.*, 2013). Según Balaguera-Reina, *et al.* (2015), durante la última década *C. acutus* se ha muestreado debidamente solamente en el 37 % del territorio nacional y las evaluaciones de abundancia del caimán aguja se han hecho en los departamentos de La Guajira, Magdalena, Córdoba, Norte de Santander, Cesar, Boyacá y Santander. Por ello es importante retomar las investigaciones sobre los crocodílidos silvestres, con el fin de comprender su papel en los ecosistemas y adoptar las estrategias apropiadas para su protección (Balaguera-Reina, 2007). En este sentido, es indispensable y urgente determinar el estado poblacional de estas especies, así como diseñar y mantener un programa de monitoreo (Morales-Betancourt, *et al.*, 2013).

El objetivo de este estudio fue evaluar el estado poblacional (distribución, estructura de tamaños y abundancia relativa) de *C. acutus* y de *C. c. fuscus* durante la temporada seca en los corregimientos de Puerto Badel (Arjona) y Correa (María La Baja) en Bolívar para contribuir al conocimiento de las poblaciones silvestres de crocodílidos en ese departamento y en el Caribe colombiano.

## Materiales y métodos

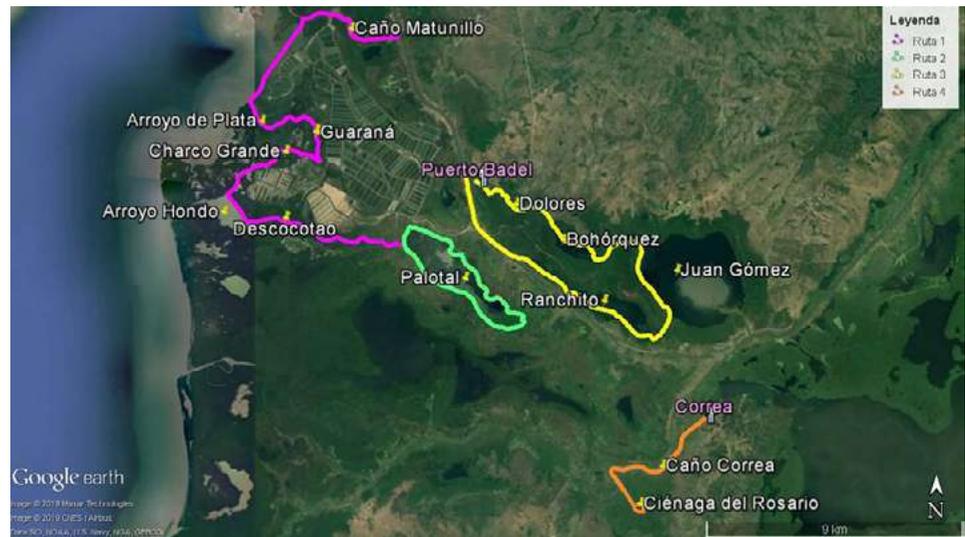
### Área de estudio

El área de estudio incluyó parte del complejo de humedales pertenecientes al bajo Canal del Dique, específicamente de los corregimientos de Puerto Badel, Arjona (10°7' N; -75°28' O; 10 m.s.n.m.) y Correa, María La Baja (10°2' N; -75°24' O). Ambos corregimientos tienen características rurales y agropecuarias con actividades de pesca, ganadería, cacería, agricultura y de la industria camaronera (Ahumada-Lagares & Penso-Martínez, 2014). Sin embargo, un grupo pequeño de habitantes gana su sustento únicamente de la explotación de la fauna silvestre y ve en las babillas y caimanes una oportunidad para resolver las urgencias económicas del momento (Fundación Biodiversa, 2004).

### Muestreos

Se establecieron cuatro rutas de monitoreo, tres en Puerto Badel y una en Correa (Figura 1).

**Ruta 1.** (Inicio: 10°9'45.30"N/75°30'14.10"O; final: 10°5'52.70"N/75°30'11.90"O; 20 km recorridos). Comenzó en el caño Matunillo, el cual está conectado al Canal del Dique; siguió por la ciénaga Arroyo de Plata, abierta a aguas marinas, y las ciénagas de aguas salobres de Guaranao, Charco Grande, Bocona, Arroyo Hondo, Descocotao, Enea y Puerto Rey, y terminó en el caño La Zanja. Este complejo de ciénagas se caracteriza por presentar tres tipos de mangle: *Rhizophora mangle* (mangle rojo), *Laguncularia racemosa* (mangle bobo) y *Avicennia germinans* (mangle negro). Parte importante del recorrido está en cercanías de la granja camaronera C.I. OCEANOS S.A.



**Figura 1.** Rutas de muestreos

**Ruta 2.** (Inicio y final:  $10^{\circ}5'13.61''N/75^{\circ}29'11.78''O$ ; 12,3 km recorridos). Incluyó la ciénaga de Palotal, cuya vegetación está conformada principalmente por pajonales distribuidos por toda la orilla y, en menor proporción, por eneales (*Typha dominguensis*), bijao (*Talia geniculata*), taruya o buchón de agua (*Eichhornia* sp.), anón de agua (*Annona glabra*), cantagallo (*Erythrina fusca*) y oreja de ratón (*Salvinia auriculata*). En ella se desarrolla una importante actividad pesquera artesanal, especialmente de las comunidades de los corregimientos de Rocha y Puerto Badel.

**Ruta 3:** (Inicio:  $10^{\circ}6'54.20''N/75^{\circ}28'23.50''O$ ; final:  $10^{\circ}5'38.18''N/75^{\circ}28'2.98''O$ ; 20 km recorridos). Incluyó las ciénagas de Dolores, Bohórquez, Juan Gómez y Ranchito. Entre la vegetación acuática se destacan *R. mangle* (mangle rojo) y *Conocarpus erectus* (mangle zaragoza) y, en menor proporción, el helecho matatigre (*Acrostichum aurens*), eneales (*T. dominguensis*), arepuelas (*Nymphaea* sp.), buchón de agua (*Eichhornia* sp.), anón de agua (*A. glabra*) y cantagallo (*E. fusca*). Especial mención merecen las grandes extensiones de “majate”, el cual sirve como refugio y alimento para los peces y tortugas. De este sistema cenagoso se abastece el acueducto de la ciudad de Cartagena de Indias.

**Ruta 4:** (Inicio:  $10^{\circ}2'40.14''N/75^{\circ}24'17.55''O$ ; final:  $10^{\circ}0'54.21''N/75^{\circ}25'37.50''O$ ; 6,6 km recorridos). Incluyó el caño Correa y la ciénaga del Rosario. Caño Correa presenta comunidades vegetales herbáceas, graminoides y arbustivas y parcelas aledañas utilizadas para la siembra de plátano, yuca y maíz; tiene tránsito permanente de los habitantes de las poblaciones cercanas. La ciénaga del Rosario tiene una vegetación dominada por el mangle rojo (*R. mangle*), el mangle zaragoza (*C. erectus*) y el mangle bobo (*L. racemosa*). La presencia de eneas (*T. dominguensis*), matatigre (*A. aurens*) y oreja de ratón (*S. auriculata*) proporciona un hábitat natural a las babillas y caimanes, además de poseer una fauna y una flora muy conservadas.

Entre noviembre de 2015 y marzo de 2016 se realizaron 15 recorridos nocturnos en las cuatro rutas utilizando un bote de fibra de vidrio de aproximadamente 4 m de largo por 1 m de ancho, impulsado por remos, que se desplazaba a una velocidad aproximada de 5 km/h en caños y ciénagas y variaba en los sectores con densa vegetación.

Los muestreos se hicieron en luna nueva o en los días anteriores o posteriores (**Medem**, 1981). Los conteos se iniciaban a las 19:00 y la hora final dependía del largo de la trayectoria. En la ruta 1 se hicieron tres conteos en una distancia recorrida de 20 km cada uno; en la ruta 2 fueron cuatro conteos en una distancia promedio de 12,2 km (mínimo 12 km y máximo 12,3 km). En la ruta 3 se hicieron cuatro conteos en una distancia de 20 km cada uno, y en la ruta 4 fueron cuatro conteos en una distancia de 6,6 km cada uno.

Los conteos nocturnos se efectuaron utilizando lámparas frontales (Chabreck, 1966; Sánchez, *et al.*, 2011) para reconocer y ubicar a los caimanes y babillas. Se emplearon lámparas LED de 150 lumens, cuya luz, al incidir sobre el *tapetum lucidum* de los animales permitió detectarlos hasta aproximadamente 200 m de distancia. Tal como lo menciona Salas-Araya (1985), se asumió que cuando se reflejaban tonalidades rojo-amarillentas, la especie correspondía a *C. acutus*, y si eran rojizas, a *C. crocodilus*. Cuando fue posible acercarse a los ejemplares la identificación se corroboró con la morfología de la cabeza y la presencia de la cresta ósea interocular en *C. c. fuscus* y su ausencia en *C. acutus*. La longitud total (LT) de los ejemplares se estimó visualmente en función del tamaño de la cabeza y de los ojos.

La estructura poblacional se estableció agrupando los ejemplares avistados en clases, con lo que se buscaba reducir el error en la clasificación de los tamaños de los individuos avistados, ya que, por basarse en la estimación visual, la descripción del tamaño varía mucho según la experticia del observador. De esta manera se establecieron las siguientes clases de *C. acutus*: clase I, menos de 60 cm; clase II, de 61 a 120 cm; clase III, de 121 a 180 cm; clase IV, de 181 a 240 cm, y clase V, más de 240 cm (Seijas, 1981). Los individuos de *C. c. fuscus* se agruparon según la clasificación de Ayarzagüena (1983) en: clase I, de 50 cm o menos; clase II, de 50,1 a 120 cm; clase III, de 120,1 a 180 cm; clase IV, de 180,1 cm o más. Los individuos que se sumergieron antes de poder estimar la longitud total se registraron como “sólo ojos” (Messel, *et al.*, 1981). Tanto los conteos como la estimación de los tamaños estuvieron a cargo del mismo investigador.

Se estimó la abundancia relativa, es decir, el número de individuos avistados por kilómetros recorridos (avistamientos/km) en cada una de las rutas (Cupul-Magaña, 2009).

Para determinar la fracción visible (que serviría para estimar el tamaño de la población total que fue posible observar), se utilizaron dos métodos. El primero fue el de King, *et al.* (1990):

$$p = \frac{\bar{X}}{(2s + \bar{X}) 1,05}$$

dónde *p* es la fracción visible,  $\bar{X}$  es el valor promedio del número de ejemplares observados y *s* es la desviación estándar. El segundo fue el propuesto por Messel, *et al.* (1981), es decir, el promedio de las observaciones en los cinco meses de muestreo se dividió por el mayor número de avistamientos registrados para obtener la fracción visible observada:

$$p = \bar{X} / \text{valor mayor de avistamientos durante los muestreos.}$$

El tamaño poblacional (*n*) se estimó mediante la fórmula propuesta por Messel, *et al.* (1981):

$$N = \frac{\bar{X}}{p} \pm \frac{[1,96 (s)]^{1/2}}{p}$$

dónde  $\bar{X}$  es el valor promedio del número de cocodrilos observados, *p* es la fracción visible y *s* es la desviación estándar. Se utilizaron los valores obtenidos a partir de los dos métodos de la fracción visible para calcular el tamaño poblacional, seleccionando el menor (subestimación de la población).

## Resultados

En las cuatro rutas en el bajo Canal del Dique se recorrieron 14 ciénagas y diez caños y se abarcaron aproximadamente 215 km ( $\bar{X}=14,3 \pm 5,9$  km), con un esfuerzo de 71 horas de muestreo nocturno a lo largo de los cinco meses de muestreo (Tabla 1).

Se hicieron 332 avistamientos, 306 de *C. c. fuscus* y 26 de *C. acutus*.

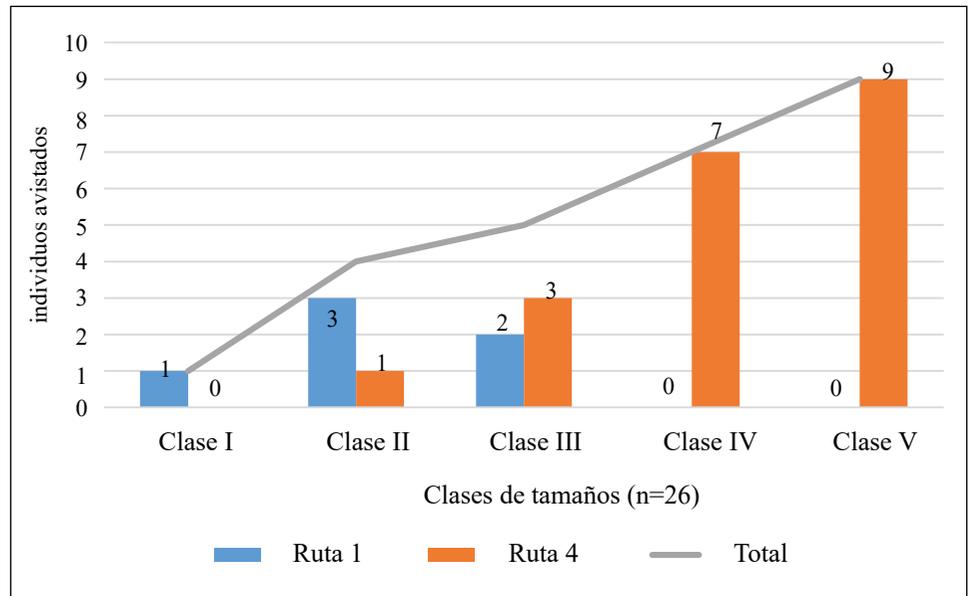
### *Crocodylus acutus*

Durante el período de estudio la abundancia relativa promedio de *C. acutus* en el bajo Canal del Dique fue de 0,12 avistamientos/km. En noviembre se obtuvo el valor más bajo de abundancia (0,10 avistamientos/km), en tanto que en febrero se registró el valor máximo (0,26 avistamientos/km), el cual disminuyó drásticamente en marzo (Figura 2).

**Tabla 1.** Abundancia de las dos especies de crocodílidos registrada en los corregimientos de Puerto Badel y Correa, departamento de Bolívar.

Mes	Especie	Clases	Número de individuos observados				
			Ruta 1	Ruta 2	Ruta 3	Ruta 4	Total
Noviembre	<i>C. c. fuscus</i>	I, II	2	-	-	-	2
	<i>C. acutus</i>	II	2	-	-	-	2
Diciembre	<i>C. c. fuscus</i>	I, II, III, IV	3	15	29	82	129
	<i>C. acutus</i>	I, II, III, IV, V	3	0	0	4	7
Enero	<i>C. c. fuscus</i>	I, II, III	15	14	11	38	78
	<i>C. acutus</i>	III, IV, V	1	0	0	6	7
Febrero	<i>C. c. fuscus</i>	I, II, III	-	5	15	38	58
	<i>C. acutus</i>	II, IV, V	-	0	0	10	10
Marzo	<i>C. c. fuscus</i>	I, II, III	-	3	12	24	39
	<i>C. acutus</i>	-	-	0	0	0	0
Total	<i>C. c. fuscus</i>	I, II, III, IV	20	37	67	182	306
	<i>C. acutus</i>	I, II, III, IV, V	6	0	0	20	26
			26	37	67	202	332

(\*): no se hizo recorrido.



**Figura 2.** Clases de tamaño de *Crocodylus acutus* registradas en las rutas 1 y 4

Se registraron individuos de todas las clases de tamaño, siendo los de clase V los más avistados (nueve avistamientos), y los de clase I, los menos avistados (un avistamiento).

En cuanto a las rutas, solo hubo avistamientos de *C. acutus* en las rutas 1 y 4. En la ruta 1 se registraron, en promedio, 0,13 avistamientos/km (mínimo 0,1 y máximo 0,2 avistamientos/km), siendo diciembre el mes con mayor abundancia relativa (0,2 avistamientos/km); solo se registraron avistamientos de ejemplares de la clase I (un avistamiento, 17 %), de la clase II (tres avistamientos, 50 %) y de la clase III (dos avistamientos, 33 %) (Figura 2). En la ruta 4 la abundancia relativa promedio fue de 0,75 avistamientos/km (mínimo 0 y máximo 1,5 avistamientos/km), siendo febrero el

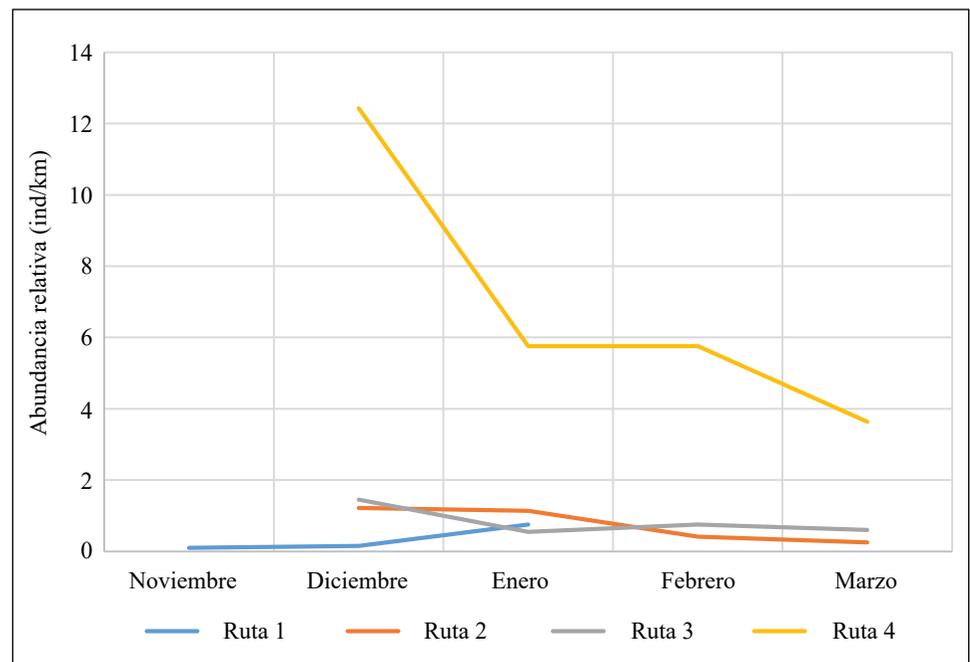
mes con el valor más alto (1,52 avistamientos/km) y diciembre el del valor más bajo (0,61 avistamientos/km); no se registraron avistamientos de individuos de la clase I, hubo un avistamiento de la clase II (5 %), tres de la clase III (15 %), siete de la clase IV (35 %) y nueve de la clase V (45 %).

La fracción visible calculada con el método de **King, et al.** (1990) fue de 0,37 y el tamaño de población estimado fue de  $14,07 \pm 7,67$ . Con el método de **Messel, et al.** (1981) la fracción visible fue de 0,52 y el tamaño poblacional estimado, de  $10 \pm 5,45$ . Por lo tanto, subestimando la población, el tamaño poblacional (n) de *C. acutus* osciló entre 5 y 15 ejemplares ( $n=10 \pm 5,45$ ) en la zona estudiada del bajo Canal del Dique durante el período de noviembre de 2015 a marzo de 2016.

### *Caiman crocodilus fuscus*

La abundancia relativa promedio de *C. c. fuscus* durante los cinco meses de muestreo fue de 1,42 avistamientos/km. En noviembre se registró el valor más bajo (0,1 avistamientos/km) y en diciembre el máximo registrado durante el estudio (3,81 avistamientos/km) (**Figura 3**). Se encontraron las cuatro categorías de tamaño establecidas para esta especie; el mayor número de ejemplares se registró en la clase II (149 individuos, 48,7 %), seguida de la clase III (14 individuos, 4,6 %), en tanto que de la clase I se avistaron 138 individuos (45,1 %) y de la clase IV, un solo individuo (0,3 %); cuatro babillas se incluyeron en la categoría “solo ojos” (1,3 %).

En cuanto a las rutas, en la ruta 1 el máximo valor se obtuvo en enero (0,75 avistamientos/km) y el más bajo en noviembre (0,10 avistamientos/km). La clase dominante fue la II (27 avistamientos, 73 %), luego la I (9 avistamientos, 24 %) y la clase III (1 avistamiento, 3 %); no se observaron individuos de las clases IV y V. En la ruta 2 hubo una abundancia relativa promedio de 0,76 avistamientos/km, con el mínimo en marzo (0,25 avistamientos/km) y el máximo en diciembre (1,22 avistamientos/km); en la clase I se registraron 16 avistamientos (24 %), en la II, 46 (68 %), en la clase III se registraron 3 (5 %); a dos ejemplares no se les pudo estimar la longitud total y se incluyeron en la categoría “solo ojos” (3 %). En la ruta 3 el promedio de la abundancia relativa fue de 0,84 avistamientos/km, con el mínimo en enero (0,55 avistamientos/km) y el máximo en diciembre (1,45 avistamientos/km); la



**Figura 3.** Abundancias relativas mensuales de *Caiman crocodilus fuscus* en las rutas de muestreo

clase dominante fue la II (18 avistamientos, 90 %), seguida de la clase I (dos avistamientos, 10 %); no se avistaron individuos de las clases III y IV. Por último, en la ruta 4 el valor máximo de abundancia relativa se obtuvo en diciembre (12,42 avistamientos/km) y el más bajo en marzo (3,64 avistamientos/km), con un promedio de 6,89 avistamientos/km. En la clase I se obtuvo el mayor número de avistamientos (111 avistamientos/km, 61 %), seguida de la II (58 avistamientos, 32 %), la III (10 avistamientos/km, 5 %); hubo un avistamiento de la clase IV (1 %) y dos de “solo ojos” (1 %).

Con el método de **King, et al.** (1990) la fracción visible fue de 0,37 y el tamaño poblacional estimado de  $163,24 \pm 25,64$ . Con la fórmula de **Messel, et al.** (1981) la fracción visible fue de 0,47 y el tamaño poblacional de  $129 \pm 20,26$ . Subestimando la población de *C. c. fuscus* en el bajo Canal del Dique, el tamaño poblacional estimado durante el período de noviembre de 2015 a marzo de 2016 osciló entre 109 y 149 ejemplares ( $n=129 \pm 20,26$ ).

## Discusión

Este estudio aporta información sobre la abundancia, la distribución y la estructura de las poblaciones de caimanes aguja y babillas del bajo Canal del Dique, la cual es fundamental para su conservación a nivel local y regional.

La abundancia relativa promedio de *C. acutus* (0,12 avistamientos/km) es una de las más bajas registradas en el país. En el Caribe colombiano los mayores valores se han encontrado especialmente en parques nacionales: 7,78 individuos/km en el Parque Natural Nacional Vía Isla de Salamanca, Magdalena (**Balaguera-Reina & González-Maya**, 2009); 5,17 individuos/km en el de Paramillo, Córdoba (**Viloria-Lagares, et al.**, 2017) y en zonas con por lo menos un sector de manejo especial: 1,37 avistamientos/km en bahía Portete, Guajira (**De la Hoz-Villareal, et al.**, 2008), y 1,09 avistamientos/km en bahía de Cispatá, Córdoba (**Ulloa-Delgado & Sierra-Díaz**, 2006). La abundancia también fue más baja que la encontrada en el interior del país: 1,30 avistamientos/km en Norte de Santander (**Ulloa-Delgado**, 2011), y 1,07 avistamientos/km en el río Ermitaño, en Boyacá y Santander (**Barrera**, 2004). La mayor cantidad de avistamientos de *C. acutus* se presentó en y cerca de la ciénaga del Rosario, en Correa, un área poco intervenida y de complicado acceso. Estas condiciones de aislamiento y poca circulación humana parecen favorecer el resguardo de muchas especies de fauna silvestre, incluidos los crocodílidos (**Ulloa-Delgado & Sierra-Díaz**, 2012), especialmente por la desarrollada vegetación manglárica (**Ulloa-Delgado & Sierra-Díaz**, 2012).

Durante los meses de muestreos se recogieron en repetidas ocasiones los comentarios de pescadores artesanales y trabajadores de las empresas (C.I. OCEANOS S.A.) en el sentido de que los ejemplares adultos y subadultos de *C. acutus* se desplazaban desde las ciénagas y caños en estudio a las piscinas de engorde de camarón de las empresas camaroneras ubicadas en el centro de la ruta número 3 (**Figura 1**), posiblemente en búsqueda de alimento, como ya lo habían reportado **Ulloa-Delgado & Sierra-Díaz** (2002) en la camaronera Agrosoledad, en la zona de Cispatá.

La estructura de clases de *C. acutus* en toda el área de estudio incluyó todos los tamaños, con un 62 % de la población total para las clases V y IV; en menor medida se registraron subadultos (35 % de las clases III y II) y juveniles (4 % de la clase I). El bajo registro de subadultos avistados puede deberse a que este grupo posee altas tasas de crecimiento, alta mortalidad natural de juveniles o ciertos niveles de marginación por la acción de los adultos (**Thorbjarnarson**, 1989; **Sasa & Chávez**, 1992; **Brandon-Pliego**, 2007) y, además, los juveniles pueden haberse quedado escondidos en la vegetación manglárica y escapar de la detección durante los conteos (**Platt & Thorbjarnarson**, 2000); esto contrasta con lo registrado por **Ulloa-Delgado** (2011) en Norte de Santander donde avistó un mayor porcentaje de individuos de las clases I, II y IV.

El tamaño poblacional de *C. acutus* en el área de estudio osciló entre 5 y 15 ejemplares, con una abundancia absoluta de 26, lo cual se acerca al reportado por **Barrera** (2004) en el río Ermitaño entre Boyacá y Santander (14 individuos); por **Balaguera-Reina &**

**González-Maya** (2009) en la Vía Parque Isla de Salamanca (14 individuos); por **Farfán-Ardila** (2013) en el PNN Tayrona (34 individuos), y por **Viloria-Lagares, et al.** (2017) en el PNN Paramillo (37 individuos), aunque más bajo que lo reportado por **Ulloa-Delgado** (2011) en cuatro ríos de Norte de Santander (196 individuos); por **Hernández-Hurtado, et al.** (2011) en los sistemas estuarios de San Blas, Nayarit, México (333 individuos), y en la **Reserva de la Biósfera La Encrucijada** (2011) (1,023 individuos).

La abundancia relativa promedio de *C. c. fuscus* para las zonas de estudio en el bajo Canal del Dique (1,42 avistamientos/km) fue semejante a la de poblaciones aprovechadas e impactadas en la zona norte del embalse El Guájaro, departamento del Atlántico (2,32 individuos/km) (**Agudelo & Vergara**, 2005), en Vía Parque Isla de Salamanca ( $1,37 \pm 1,22$  individuos/km) (**Balaguera-Reina & Gonzalez-Maya**, 2009), en la ciénaga de Zapatosa ( $0,56 \pm 0,42$  individuos/km) (**Balaguera-Reina**, 2012) y en ciénaga de Costilla, departamento del Cesar ( $2,60 \pm 1,64$  ind/km) (**Balaguera-Reina**, 2012), lo cual puede ser el resultado de su aprovechamiento ilegal.

Se observó una diferencia en la abundancia relativa promedio por mes entre las cuatro rutas estudiadas. En las rutas 1, 2 y 3, cercanas a Puerto Badel, no se registraron valores promedios de abundancias que alcanzaran la unidad; por otra parte, en la ruta 4 se encontraron valores mensuales de abundancia relativa considerablemente más elevados, con el pico más alto en diciembre (12,42 avistamientos/km). En el período en el que se realizaron los muestreos se presentó el fenómeno de El Niño 2015-2016 (**IDEAM**, 2015) con una de las mayores intensidades que se hayan documentado, lo que ocasionó que los niveles de agua bajaran en todos los sitios de monitoreo. En Puerto Badel, los caños y ciénagas son transitadas casi a diario por pescadores del corregimiento y otros pueblos aledaños. Así pues, el contacto constante con lanchas, ruido de motores, pescadores y cazadores, genera cambios en el comportamiento de los ejemplares que, de alguna manera, afectan la determinación poblacional porque se tornan huidizos y difíciles de avistar (**Ron, et al.**, 1998). Por otro lado, en el caso de la ciénaga del Rosario (ruta 4), donde ha habido poca presión de caza, los animales son más fáciles de contar (**Ron et al.**, 1998).

La estructura poblacional de *C. c. fuscus* en toda la zona de estudio fue similar a la registrada en el Caribe y la cuenca del Magdalena por otros autores, quienes también observaron una estructura de tamaños típica de poblaciones sujetas a aprovechamiento, en la que prevalecen individuos de tallas menores (clases I y II), algunos ejemplares de la clase III pocos o ningún individuo de la clase IV (**Barahona, et al.**, 1996; **Ulloa-Delgado & Cavanzo-Ulloa**, 2003; **Agudelo & Vergara**, 2005; **Forero-Medina, et al.**, 2006; **Ardila-Robayo, et al.**, 2009; **Balaguera-Reina, et al.**, 2010; **Moreno-Arias, et al.**, 2013). Asimismo, la estructura poblacional registrada coincide con lo encontrado para toda el área del Caribe por **Rodríguez-Melo** (2000), que, según los criterios establecidos por **Velasco & Ayarsagüena** (1995), corresponde a la típica de poblaciones explotadas. La poca presencia de individuos de las clase III y IV en las rutas 1, 2 y 3 podría indicar cierta presión de caza sobre las tallas comercialmente aptas (60 a 130 cm), como lo menciona **Balaguera-Reina** (2012). El hecho de que en la ruta 4 se encontraron en mayor proporción ejemplares de la clase I indica que la especie se reproduce exitosamente y demuestra que condiciones favorables de hábitat y alimentación para la reproducción (**Forero-Medina, et al.**, 2006).

La población de *C. c. fuscus* en toda el área de estudio fluctuó entre 109 y 149 ejemplares, con una abundancia absoluta de 306 avistamientos en el área de estudio en el bajo Canal del Dique. **Moreno-Arias, et al.** (2013) detectaron 464 babillas durante todo el muestreo en las zonas del río Magdalena en el departamento de Cundinamarca; **Balaguera-Reina, et al.** (2010), por su parte, registraron 226 ejemplares en el río Atrato en el Chocó. Además, el valor obtenido en la zona de estudio fue mayor que el registrado por **Viloria-Lagares, et al.** (2017) en el PNN Paramillo (12 individuos), por **Balaguera-Reina** (2012) en la ciénaga de Zapatosa (35 individuos) y en la ciénaga de Costilla (81 individuos) en el departamento del Cesar, y por **Balaguera-Reina & González-Maya** (2009) en la Vía Parque Isla de Salamanca (82 individuos).

Se considera que las poblaciones de crocodílidos sujetas a extracción permanente tienen cierta tendencia a localizarse en los sitios más alejados y ocultos para el hombre, por lo que su observación es difícil (Medem, 1981; Ulloa-Delgado & Cavanzo-Ulloa, 2003), por ello se pudo encontrar una población más grande tanto de babillas como de caimanes en la ciénaga del Rosario que en el caño Correa y la población en las rutas 1, 2 y 3 de Puerto Badel, donde, a pesar de tener características óptimas para el desarrollo de los individuos, se reduce su presencia, principalmente de adultos, por el constante flujo humano (Medem, 1981; Ulloa-Delgado & Cavanzo-Ulloa, 2003).

Se puede afirmar que hay diferencias en la abundancia relativa de las poblaciones de *C. c. fuscus* y *C. acutus* en las rutas y sitios de muestreo, aparentemente determinada por la diferencia de tamaño de las rutas, la cercanía de los asentamientos humanos, la cacería y la oferta trófica, entre otros.

En la estructura poblacional de *C. acutus* en la ruta 4 del municipio de Correa predominaron los adultos (clases V y IV), por lo que es probable que se presente un aumento progresivo en el tamaño poblacional cuando se den los procesos reproductivos en el grupo de adultos. Sin embargo, es fundamental continuar monitoreando con métodos de captura y recaptura para determinar el sexo de los individuos y establecer la dinámica de esta población. En general, no es posible estimar de forma precisa el estado la población de *C. acutus* en el área de estudio debido a los pocos registros (26) en una extensión tan amplia de espejo de agua (215 km) y a la escasez de individuos de todas las clases de tamaño.

Los corregimientos de Correa y Puerto Badel presentan las condiciones propicias para el desarrollo de las poblaciones de crocodílidos por su alta disponibilidad de hábitats y de afluentes hídricos, lo que influye en los cuerpos de agua.

## Agradecimientos

A Sergio Medrano-Bitar por darnos la oportunidad de trabajar en este proyecto y por sus aportes, por confiar en nosotros y compartirnos sus conocimientos. A la comunidad de Puerto Badel y Correa por su apoyo, hospitalidad y gran amabilidad. A la Universidad de Cartagena por su apoyo logístico y económico a través de las convocatorias internas de apoyo a grupos y semilleros de investigación (Actas 065-2018 y 136-2018). A la Universidad Metropolitana de Manchester por su apoyo a los proyectos de los semilleros de investigación de la Universidad de Cartagena.

## Contribución de los autores

WGC, SMG y AB concibieron el estudio. Los cuatro autores establecieron el diseño de muestreo y la estrategia de análisis de datos. WGC y SMG hicieron los muestreos en campo. GRNS lideró la elaboración final del manuscrito.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses con respecto al contenido del presente manuscrito.

## Referencias

- Agudelo, W. & Vergara, J. (2005). Estatus poblacional de la babilla (*Caiman crocodilus fuscus*) y algunos aspectos relacionados con la ecología de la especie en la zona norte del embalse El Guájaro, La Peña - Arroyo de Piedra, departamento del Atlántico, Colombia. Barranquilla, Colombia: Universidad del Atlántico, tesis de grado, 112 pp.
- Ahumada-Lagares, G. A. & Penso-Martínez, L. D. (2014). Caracterización socioeconómica de la subregión del Canal del Dique. Observatorio del Caribe Colombiano. *Aguaita*. **26**: 37-61.
- Ardila-Robayo, M.C., Moreno-Arias, R.A., Martínez-D., W., Zúñiga, H. (2009). Plan de conservación de la babilla (*Caiman crocodilus fuscus*) en Cundinamarca. Bogotá, Colombia: Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, informe interno, 165 pp.
- Ayarzagüena J. (1983). Ecología del caimán de anteojos (*Caiman crocodilus* L.) en los llanos de Apure (Venezuela). *Doñana, Acta Vertebrata*, número especial. **10**: 45-117.

- Balaguera-Reina, S.A.** (2007). Distribución espacial y descripción del hábitat de los *Crocodylia* del Parque Nacional Natural Vía Isla Salamanca, Caribe colombiano. Bogotá, Colombia: Universidad Jorge Tadeo Lozano, tesis de grado, 121 pp.
- Balaguera-Reina, S.A.** (2012). Relaciones etno-zoológicas, hábitat y estructura poblacional de *Caiman crocodilus fuscus* en las ciénagas de Zapatosa y Costilla, Departamento del Cesar, Colombia. *Herpetotrópicos*. **8** (1-2): 05-12.
- Balaguera-Reina, S.A. & González-Maya, J.F.** (2009). Estructura poblacional, abundancia, distribución y uso de hábitat de *Caiman crocodilus fuscus* (Cope 1868) en la Vía Parque Isla de Salamanca, Caribe colombiano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. **44** (1):145-152.
- Balaguera-Reina, S.A., Venegas-Anaya, M., Densmore, L.D.** (2015). The biology and conservation status of the American crocodile in Colombia. *Journal of Herpetology*. **49** (2):200-206.
- Balaguera-Reina, S.A., Barbosa-Cabanzo, J., Moná-Sanabria, Y., Farias-Cutidor, N., Caicedo-Herrera, D., Martínez-Palacios R., González-Maya, J.F.** (2010). Estado poblacional de *Caiman crocodilus* en la cuenca baja y media del río Atrato, departamento de Chocó, Colombia. *Revista Latinoamericana de Conservación*. **1** (2):131-135.
- Barahona, S., Bonilla, P., Martínez, A., Naranjo, H., Rodríguez, M.A.** (1996). Estado, distribución, sistemática y conservación de los *Crocodylia* colombianos. Censo 1994 1996. En Ministerio del Medio Ambiente (Ed.), Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. CITES (32-51). Bogotá, CITES.
- Barrera, L.** (2004). Estado actual de un relicto poblacional del caimán aguja (*Crocodylus acutus* Cuvier, 1807) en una zona del Magdalena Medio. Bogotá, Colombia: Proaves - Fundación Omacha, 01-08.
- Brandon-Pliego, J.** (2007). Estudio poblacional de *Crocodylus acutus* (Cuiver, 1807; Reptilia: Crocodylia) en Jamiltepec, Oaxaca. *Ciencia y Mar*. **11** (33):29-37.
- Cerrato, C.** (1991). Composición y tamaño de poblaciones silvestres de caimanes (*Caiman crocodilus chiapasius*) y cocodrilos (*Crocodylus acutus*) de la costa del Caribe de Honduras, Centro América. San José, Costa Rica: Universidad Nacional Heredia. Tesis de maestría, 121 pp.
- Chabreck, R.H.** (1966). Methods of determining the size and composition of alligator population in Louisiana. *Proceedings of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners*. **20**: 105-112.
- Cherkiss, M., Románach, S., Mazzotti, F.J.** (2011). The American Crocodile in Biscayne Bay, Florida. *Estuaries and Coasts*. **34**: 529-535.
- Cupul-Magaña, F.G.** (2009). ¡A contar cocodrilos! Comentarios y ejercicios básicos sobre algunos métodos para evaluar poblaciones silvestres. *Ciencia y Mar*. **14** (38):3-14.
- De La Hoz-Villarreal, D., Patiño-Flores, E., Gómez-González, J., Mejía-López, F., Báez, L.** (2008). Population diagnosis and some reproductive aspects of Caimán Aguja (*Crocodylus acutus*) in Bahía Portete, La Guajira peninsula, Colombia. En *Crocodyle Specialist Group* (Ed.), *Crocodyles* (450-466). Cambridge, Reino Unido; *Proceedings of the 19th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*.
- Farfán-Ardila, N.** (2013). Ecología poblacional de *Crocodylus acutus* (Cuvier 1807) en el Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano. Tunja, Colombia: Universidad Tecnológica y Pedagógica de Colombia. Tesis de grado, 136 pp.
- Forero-Medina, G., Castaño-Mora, O.V., Rodríguez-Melo, M.V.** (2006). Ecología del *Caiman crocodilus fuscus* en San Andrés isla, Colombia: un estudio preliminar. *Caldasia*. **28** (1):115-124.
- Fundación Biodiversa.** (2004). Desarrollo de un proyecto para determinar la relación entre conservación y uso de la especie *Caiman crocodilus fuscus*, por parte de la zootecnia en ciclo cerrado y las comunidades para el desarrollo de un sistema mixto de producción en la ecorregión Canal del Dique. Cartagena de Indias, Colombia: Informe interno, CARDIQUE, 55 pp.
- Grigg, G. & Kirshner, D.** (2015). *Biology and evolution of crocodylians*. Cornell University Press, Ithaca (New York), 649 pp.
- Hernández-Hurtado, H., Romero-Villaruel, J., Hernández-Hurtado, P.** (2011). Ecología poblacional de *Crocodylus acutus* en los sistemas estuarinos de San Blas, Nayarit, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. **82** (3): 887-895.
- IDEAM.** (2015). El Niño evoluciona a categoría fuerte. Bogotá, Colombia. Fecha de consulta: 20 de octubre de 2018. Disponible en: [http://www.ideam.gov.co/web/sala-de-prensa/noticias/-/asset\\_publisher/96oXgZAhHrhJ/content/el-nino-evolucion-a-categoria-fuerte](http://www.ideam.gov.co/web/sala-de-prensa/noticias/-/asset_publisher/96oXgZAhHrhJ/content/el-nino-evolucion-a-categoria-fuerte)
- King, F.W. & Burke, R.L.** (1989). *Crocodylian, Tuatara and Turtle Species of the World. A taxonomic and geographic reference*. Washington D.C., Association of Systematics Collections, 216 pp.

- King, W., Espinal, M., Cerrato, C.** (1990). Distribution and status of the crocodilians of Honduras. En Crocodile Specialist Group (Ed.), Crocodile (313-354). Gland, Suiza: Proceeding of the 10 th Working Meeting of the IUCN.
- Medem, F.** (1981). Los Crocodylia de Sur América. Los Crocodylia de Colombia. Bogotá, Colciencias, vol I, 356 pp.
- Medem, F.** (1983). Los Crocodylia de Sur América. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia y Colciencias, vol II, 406 pp.
- Messel, H., Vorlicek, G.C., Wells, A.G., Green, W.J.** (1981). Surveys of tidal river systems in Northern Territory of Australia and their crocodile populations. Sydney, Australia: Pergamon Press, Monographs 1, 466 pp.
- Morales-Betancourt, M.A., Lasso, C.A., De La Ossa V.J., Fajardo-Patiño, A.** (2013). VIII. Biología y conservación de los Crocodylia de Colombia. Bogotá, Colombia: Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 336 pp.
- Morales-Betancourt, M.A., Lasso, C.A., Páez, V.P., Bock, B.C.** (2015). Libro rojo de reptiles de Colombia (2015). Bogotá, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y Universidad de Antioquia, 258 pp.
- Moreno-Arias, R.A., Ardila-Robayo, M.C., Martínez-Barreto, W., Suárez-Daza, R.M.** (2013). Ecología poblacional de la babilla (*Caiman crocodilus fuscus*) en el valle del río Magdalena (Cundinamarca, Colombia). *Caldasia*. **35** (1): 25-36.
- Platt, S. & J. Thorbjarnarson.** (2000). Status and conservation of the American crocodile, *Crocodylus acutus*, in Belize. *Biological Conservation*. **96**: 13-20.
- Reserva de la Biosfera La Encrucijada.** (2011). Monitoreo poblacional de cocodrilianos (*Crocodylus acutus* y *Caiman crocodilus fuscus*) en la Reserva de la Biosfera La Encrucijada. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Fecha de consulta: entre febrero y diciembre de 2016. Disponible en: [http://www.conanp.gob.mx/acciones/fichas/encru\\_coco/index.html](http://www.conanp.gob.mx/acciones/fichas/encru_coco/index.html)
- Rodríguez-Melo, M.** (2000). Estado y distribución de los Crocodylia en Colombia. Compilación de resultados del Censo Nacional, 1994 a 1997. Bogotá, Ministerio del Medio Ambiente e Instituto de Investigaciones Alexander Von Humboldt, 71 pp.
- Ron, S.R., Vallejo, A., Asanza, E.** (1998). Human influence on the wariness of *Melanosuchus niger* and *Caiman crocodilus* in Cuyabeno, Ecuador. *Journal of Herpetology*. **32**: 320-324.
- Ross, J.P.** (1998). Crocodiles, Status Survey and Conservation Action Plan. Cambridge, Reino Unido: IUCN/SSC Crocodiles Specialist Group, IUCN, 96 pp.
- Salas-Araya, C.E.** (1985). Contribución al conocimiento sobre el manejo del *Crocodylus acutus* Cuvier (Crocodylia, Crocodylidae) en el Refugio Nacional de Fauna Silvestre Dr. Rafael Lucas Rodríguez Caballero. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica. Tesis de grado, 49 pp.
- Sánchez, O., López, G., García, A., Benítez, H.** (2011). Programa de Monitoreo del Cocodrilo de Pantano (*Crocodylus moreletii*) México-Belice-Guatemala. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 270 pp.
- Sasa, M. & Chaves, G.** (1992). Tamaño, estructura y distribución de una población de *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. **40**: 131-134.
- Thorbjarnarson, J.B.** (1989). Ecology of the American Crocodile, *Crocodylus acutus*. En P. Hall y R. Bryant, R. (Eds.), Crocodiles: Their Ecology, Management and Conservation (228-257). Gland, Suiza: A Special Publication of the Crocodile Specialist Group.
- Ulloa-Delgado, G.A.** (2011). Plan de manejo preliminar para la conservación de las poblaciones del caimán aguja *Crocodylus acutus* (Cuvier, 1807) en los ríos Sardinata, San Miguel, Nuevo Presidente y Tibú departamento de Norte de Santander cuenca del Catatumbo de Colombia. Bogotá, Colombia; Corponor, Ecopetrol, informe interno, 36 pp.
- Ulloa-Delgado, G.A. & Cavanzo-Ulloa, D.** (2003). Conservación, manejo y uso sostenible de la babilla (*Caiman crocodilus fuscus*) en la bahía de Cispatá. Etapa 1: Caracterización y diagnóstico de las poblaciones *Caiman crocodilus fuscus* y su hábitat natural. Montería, Colombia: Corporación Autónoma Regional de los Valles del Sinú y del San Jorge, 111 pp.
- Ulloa-Delgado, G.A. & Sierra-Díaz, C.L.** (2002). Cocodrilos y manglares de la bahía de Cispatá, departamento de Córdoba-Colombia. Fase I: Caracterización y diagnóstico de las poblaciones de *Crocodylus acutus* y su hábitat natural. Cartagena de Indias, Colombia: Informe final, 117 pp.
- Ulloa-Delgado, G. A. & Sierra-Díaz, C.** (2006). Experimental pilot project for the conservation of *Crocodylus acutus* by local communities in the mangrove of Cispatá Bay, Cordoba, Colombia, South America. Gland, Suiza: Crocodile Specialist Group, Crocodiles, Proceedings of the 18th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group, IUCN.

- 
- Ulloa-Delgado, G.A. & Sierra-Díaz, C.** (2012). Proyecto de conservación del *Crocodylus acutus* de la Bahía de Cispatá con la participación de las comunidades locales. San Antero, Colombia: Corporación Autónoma Regional de los Valles del Sinú y del río San Jorge, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Instituto de Investigaciones Biológicas Alexander Von Humboldt y Asociación comunitaria para la conservación del caimán de la Bahía de Cispatá, Documento de apoyo técnico para la solicitud de la Enmienda del Apéndice 1 al 2 de la CITES.
- Velasco, A. & Ayarzagüena, J.** (1995). Situación actual de las poblaciones de Baba (*Caiman crocodilus*) sometidas a aprovechamiento comercial en los llanos venezolanos. Publicación Asociación Amigos Doñana, Sevilla, España. **5**: 14-19.
- Viloria-Lagares, T.A., Moreno-Arias, R.A., Bloor, P.** (2017). Assessment of American Crocodile, *Crocodylus acutus* (Crocodylidae), and Brown Caiman, *Caiman crocodilus fuscus* (Alligatoridae), Populations in the Paramillo National Natural Park, Colombia. *Herpetological Conservation and Biology*. **12**: 24-32.

Artículo de revisión

## Las tareas zoológicas de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada (1783-1816)

### The zoological tasks of the Royal Botanical Expedition to the New Kingdom of Granada (1783-1816)

● Germán Amat-García<sup>1</sup>, ● Henry D. Agudelo-Zamora<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Programa Informática de la Biodiversidad, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

#### Resumen

La literatura relacionada con las tareas zoológicas de la Expedición Botánica en el Nuevo Reino de Granada es muy escasa y, a diferencia de las labores realizadas en botánica, es indiscutible que no se produjo el mismo nivel de conocimiento. Pese a que existen registros del inventario del material zoológico neogranadino enviado a Madrid y a otros museos de Europa entre 1776 (primera remesa zoológica hecha por José Celestino Mutis) y 1816 (repatriación a España del material que había conformado la Expedición), se desconoce el destino final de la mayoría de las muestras e ilustraciones. Sin embargo, gracias a los manuscritos, cartas, diarios, actas y memorias publicadas por autores contemporáneos de la obra mutisiana, es posible reconstruir los hechos más notables de los trabajos zoológicos realizados en el marco de la Expedición Botánica (1783-1816). Aunque Mutis creó la sección de Zoología, los estudios llevados a cabo no fueron producto de un trabajo colectivo, sistemáticamente planificado, ni con grandes asignaciones de recursos físicos o financieros.

En este ensayo se detallan los principales reportes zoológicos de acuerdo con la cronología de la Expedición y con base en los trabajos de José Celestino Mutis, Jorge Tadeo Lozano, Fray Diego García y Francisco José de Caldas, considerados los artífices del conocimiento faunístico en la Nueva Granada en la transición del siglo XVIII al siglo XIX. También se dan a conocer algunas especies animales registradas en los inventarios de la época, con lo que, sin lugar a dudas, se cumplieron labores importantes, como la recolección, preservación, clasificación, descripción e identificación de especímenes, con anotaciones geográficas y de comportamiento de las especies reconocidas.

**Palabras clave:** Colombia; Expedición Botánica; Zoología; fauna.

#### Abstract

The literature related to the zoological reports of the Botanical Expedition to the New Kingdom of Granada is very scarce and, unlike the work done in botany, it is indisputable that the same level of knowledge did not occur. Although there are records of the inventory of zoological material sent from the Vice-royalty of Nueva Granada to Madrid and other museums in Europe between 1776 (first zoological consignment made by José Celestino Mutis) and 1816 (repatriation to Spain of the material produced by the Expedition), the final destination of the samples and illustrations is unknown. However, thanks to the manuscripts, letters, diaries, acts, and memoirs published by contemporary authors of Mutis' work, it is possible to reconstruct the most notable facts of the zoological studies carried out within the framework of the Botanical Expedition (1783-1816). Although Mutis created the Zoology section, the studies carried out were not the result of collective and systematically planned work, or with large allocations of either physical or financial resources.

In this essay, we detail the main zoological reports following the chronology of the Expedition based on the works of José Celestino Mutis, Jorge Tadeo Lozano, Fray Diego García, and Francisco José de Caldas, considered as the architects of wildlife knowledge in the Nueva Granada in the

**Citación:** Amat-García G, Agudelo-Zamora HD. Las tareas zoológicas de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada (1783-1816). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):194-213, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.1016>

**Editor:** Martha Patricia Ramírez Pinilla

**\*Correspondencia:**

Germán Amat-García;  
[gdamatg@unal.edu.co](mailto:gdamatg@unal.edu.co)

**Recibido:** 26 de septiembre de 2019

**Aceptado:** 19 de diciembre de 2019

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

transition from the 18th to the 19th century. Some animal species recorded in the inventories of the time are also disclosed. Undoubtedly, important work was accomplished, such as the collection, preservation, classification, description, and identification of specimens along with geographical and behavioral annotations of the recognized species.

**Keywords:** Colombia; Botanic Expedition; Zoology; wildlife.

## Referentes históricos de los estudios zoológicos en el Nuevo Reino de Granada (siglo XVIII)

La Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada fue el primer programa de investigaciones en Historia Natural de la actual Colombia, creado bajo el modelo de la investigación naturalista impartido en la Europa del siglo XVIII. Se forjó gracias al liderazgo del médico y botánico gaditano José Celestino Mutis (1732-1808), quien llegó a la Nueva Granada el 24 de febrero de 1761. En esta empresa se involucraron otras áreas distintas a la botánica, como la Zoología, la Astronomía, la Geografía y la Mineralogía.

Los estudios zoológicos neogranadinos que se cumplieron en el marco de la Expedición Botánica entre 1783 y 1816 reflejan el interés de la Europa de los siglos XVIII y XIX de recolectar, inventariar, clasificar y depositar en sus gabinetes y museos especímenes de plantas y animales. Estas tareas consolidaron la Historia Natural como un paradigma del conocimiento para describir e interpretar la composición y el orden de la naturaleza.

Uno de los objetivos de Mutis era incluir en su obra expedicionaria un inventario zoológico realizado en el Nuevo Reino de Granada para su publicación en Madrid. Ello suponía que en América se llevaría a cabo casi la totalidad del trabajo científico, es decir, la recolección, el montaje de muestras zoológicas, su descripción y clasificación, así como el dibujo y la ilustración. A pesar de que algunas de estas tareas se cumplieron parcialmente, nunca estuvieron a la altura de los estudios botánicos, aunque sus productos, sin publicarse oportunamente, alcanzaron una iconografía admirable reconocida mundialmente (**Díaz-Piedrahita, 1997**).

Para entender la génesis del conocimiento zoológico en el país a mediados del siglo XVIII, podemos mencionar los siguientes cuatro referentes históricos importantes.

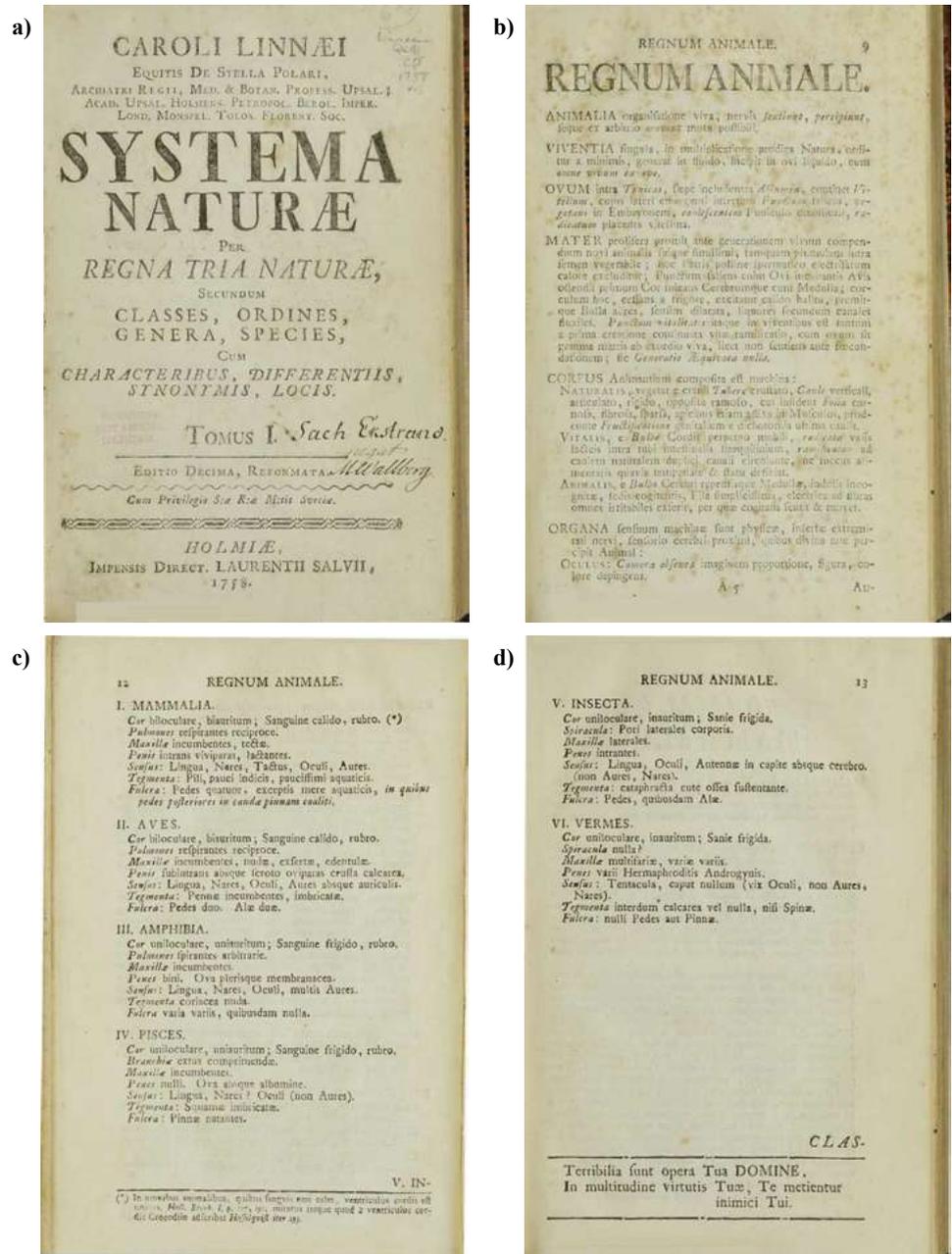
*Las expediciones en el marco de los estudios sobre Historia Natural.* Iniciadas en España desde la época de las cortes de Carlos V (1516-1556) y Felipe II (1556-1598), se fortalecieron con Carlos III (1759-1788), quien halló en esta rama del saber un instrumento idóneo para el expansionismo político de la monarquía española y la necesidad de abastecer el Gabinete de Historia Natural y de poner a prueba la utilidad económica de productos naturales como la cochinilla, la quina, la cera de palma, el canelo, el guayaco, diversas maderas, bálsamos y aceites, entre otros (**Puerto-Sarmiento, 2000**).

*Las publicaciones de catálogos e ilustraciones zoológicas.* Las del conde de Buffon (1707-1788), por ejemplo, estimularon el emprendimiento de los inventarios zoológicos, con descripciones taxonómicas detalladas y otros aspectos de Historia Natural (**Buffon, 1749**). Aunque la influencia del pensamiento evolucionista sobre los organismos vivos de Jean-Baptiste de Monet, caballero de Lamarck (1744-1819) solo se dio luego de la publicación de su *Filosofía Zoológica* en 1809 (**De Monet, 1986**), este recibió un gran apoyo de Georges Cuvier (1769-1832) para acometer sus conocidos estudios sobre los animales invertebrados. Buffon, Lamarck y Cuvier fueron citados en los prolegómenos de la *Fauna Cundinamarquesa* reportada por Jorge Tadeo Lozano (1771-1816) (**Universidad Jorge Tadeo Lozano-UJTL, 2014**), siendo el último de los autores un exponente fundamental del desarrollo de la Historia Natural en la Nueva Granada.

*La publicación en 1758 de la décima edición del Systema Naturae de Carl Linneo (1707-1778).* En esta obra el autor propuso un nuevo sistema de clasificación para los animales basado en la referencia binomial. El uso de esta influyente obra permitió inventariar las faunas regionales en los territorios de la América meridional. José Celestino Mutis y

Jorge Tadeo Lozano se refirieron a la utilidad de esta obra en los estudios faunísticos de la Expedición (Archivo del Museo Nacional de Ciencias Naturales - ACN002333/435, 1818; UJTL, 2014) (Figura 1).

El conocimiento zoológico durante la primera década del siglo XX quedó adscrito a las distintas disciplinas que hoy conocemos en el ámbito de las ciencias de la vida (morfología, embriología, fisiología, ecología, genética, evolución, etc.). Por lo tanto, los estudios de Historia Natural desarrollados hacia fines del siglo XVIII e inicios del siglo XIX perdieron la fuerza disciplinaria gestada en el seno del movimiento intelectual más



**Figura 1.** El *Systema Naturae* (Carl Linneo. Suecia. 1758, Tomo I.), obra muy influyente en los estudios de Historia Natural para el conocimiento de la fauna mundial a finales del siglo XVIII. **a)** Portada de la obra. **b)** Diagnósis taxonómica del reino Animal (página 9). **c y d)** Grupos animales definidos a nivel de clase taxonómica (páginas 12-13)

importante del siglo XVIII, como fue la Ilustración (Tewbury, 2014). Paralelamente, se han continuado áreas del conocimiento formalmente dirigidas hacia los distintos grupos animales como la entomología, dedicada a los insectos; la aracnología, que estudia los arácnidos; la malacología, dedicada a los moluscos; la ictiología o estudio de los peces; la herpetología, dedicada a los anfibios y reptiles; la ornitología o estudio de las aves y la mastozoología, que estudia los mamíferos. Este ordenamiento resulta útil para determinar y evaluar los desarrollos históricos de las diferentes especialidades zoológicas y el papel que tuvieron, particularmente en nuestro país, en el marco de la Expedición Botánica de la Nueva Granada, calificada como el primer programa científico de este territorio.

Las labores zoológicas en la Expedición Botánica se derivaron principalmente de los trabajos de José Celestino Mutis, Jorge Tadeo Lozano, Fray Diego García y Francisco José de Caldas (**Figura 2**). Estas labores se basaban en la recolección, descripción, clasificación, identificación taxonómica e ilustración de los ejemplares, y se acompañaban de anotaciones sobre la distribución geográfica y el comportamiento de las especies reconocidas. También se cumplieron tareas de remisión de muestras zoológicas a los Gabinetes de Madrid y a Upsala (Blanco-Villero, 2008).

### Los inventarios zoológicos de José Celestino Mutis (1760-1808)

José Celestino Mutis fue, ante todo, un naturalista integral; reconoceremos aquí especialmente sus tareas zoológicas en el marco de la cronología de la Expedición por las revelaciones de sus cartas y diarios, así como a partir de algunos datos publicados por estudiosos de la obra mutisiana (Vezga, 1936; Uribe, 1953; Jara, 1981; Hernández de Alba, 1983a; Hernández de Alba, 1983b; Schumacher, 1984; Amaya, 1986; Gomis & Fernández, 1986; Gómez-Gutiérrez, 1998; Restrepo, *et al.*, 1993; Gómez-Gutiérrez, 1998; Pérez-Arbeláez, 1998; Amaya, 2005; Blanco-Villero, 2008). Desde el punto de vista zoológico el trabajo de Blanco-Villero (2008) representa hoy la fuente de conocimiento más completa sobre los distintos grupos zoológicos abordados en la Expedición.

### Llegada de España y establecimiento en la Nueva Granada (1761-1776)

Aunque se había dispuesto desde España su oficio como médico cirujano del virrey Pedro Messía de la Cerda (1700-1783), Mutis llegó a la Nueva Granada con el proyecto de obtener el mayor conocimiento posible en Historia Natural, aspecto que Blanco-Villero describe de la siguiente forma:

Es evidente que la mayoría de las anotaciones del Diario corresponden a hallazgos y descripciones botánicas, pero desde luego no son las únicas. El Diario está plagado de otro tipo de observaciones: médicas, etnográficas, paisajísticas, episódicas y por supuesto zoológicas.

Basta leer algunos de los pasajes del Diario para darse cuenta [de] que todo interesa a Mutis; desde la meteorología a la geología, desde las costumbres a las supersticiones, desde los animales a las plantas. Desde muy pronto podemos ver que el gaditano sigue una metodología en lo que a animales y plantas se refiere y esta metodología va siendo perfeccionada a medida que se avanza en su lectura (Blanco-Villero, 2008:14).

En el Diario de Mutis existen anotaciones de sus primeras observaciones zoológicas a su arribo a la Nueva Granada (altamar) y posteriormente a Santafé; registra por primera vez tiburones (clase *Chondrichthyes*), caimanes (*Caiman crocodilus*), tortugas del Magdalena (*Podocnemis* spp.), aves mochileras (*Psarocolius decumanus*) y toninas (familia *Delphinidae*) (ARJBM-CSIC, 1760-1808a). Desde julio de 1761 inició su correspondencia con Linneo y en una primera carta le recomendó emprender el estudio de las hormigas para poder acceder a la membresía de la Academia de Ciencias de Upsala. Mutis relata en su diario lo acontecido con Linneo:



**Figura 2.** Tres de los artífices de las tareas zoológicas realizadas en el marco de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada (1783-1816). **a)** José Celestino Mutis (óleo sobre tela de Ricardo Gómez Campuzano, 1947. Archivo histórico ICN). **b)** Jorge Tadeo Lozano (óleo sobre tela de Roberto López Ocampo. Museo Nacional de Colombia). **c)** Francisco José de Caldas (óleo sobre tela de autor desconocido, 1837. Colegio Mayor del Rosario).

Me encarga especialísimamente que trabaje en describir las especies de hormigas, sus costumbres y economía, y que al punto le remita mis trabajos, para ser admitido en el número de aquellos sabios. Con esta noticia no tardé en registrar mis manuscritos, y me hallé con el gusto de haber recogido 13 especies de hormigas, que habitan las orillas del río de la Magdalena (citado en **Blanco-Villero**, 2008:15).

Pero la extensión de este trabajo mirmecológico lo desarrollaría Mutis en firme solo hasta 1777 con ocasión de su traslado a la Provincia de Mariquita, donde se cumplieron sus exploraciones en la región de la Mina Real del Sapo, concretamente en el lugar que él mismo denominó el “Cerro de las hormigas” (**Wilson & Gómez**, 2010:75).

En 1761 se dio a la tarea de realizar los primeros inventarios de aves y peces que se conocen para el país (**ARJBM-CSIC**, 1761); en esta oportunidad Mutis clasificó bajo nombres vernáculos cerca de 81 especies de aves (**Figura 3a**) y 39 especies de peces asociadas todas estas con el río Magdalena (**Agudelo-Zamora**, 2019). Enumeró por primera vez especies de peces registradas actualmente para las cuencas del Magdalena y el Cauca, como el “bocachico” (*Prochilodus magdalenae*), el “barbudo” (*Pimelodus* sp.), la “doncella” (*Sorubim cuspicaudus*), la “dorada” (*Brycon* spp.), la “mojarra” (*Caquetaia* sp.), entre otros (**Figura 3b**). **Agudelo-Zamora** (2019) elaboró una lista de nombres científicos válidos basada en los nombres vernáculos de peces registrados por Mutis para la Nueva Granada y relacionó los nombres comunes con aquellos validados por la taxonomía actual. De forma similar, listó aves como el “gallinazo” (*Vultur* sp.), el paujil (*Crax* sp.), el “gallo de ciénagas” o “gallinazo negro” (*Coragyps atratus*), el “guazale” o tucán (*Ramphastus swainsonii*) y el “copetón” (*Zonotrichia capensis*), entre otras.

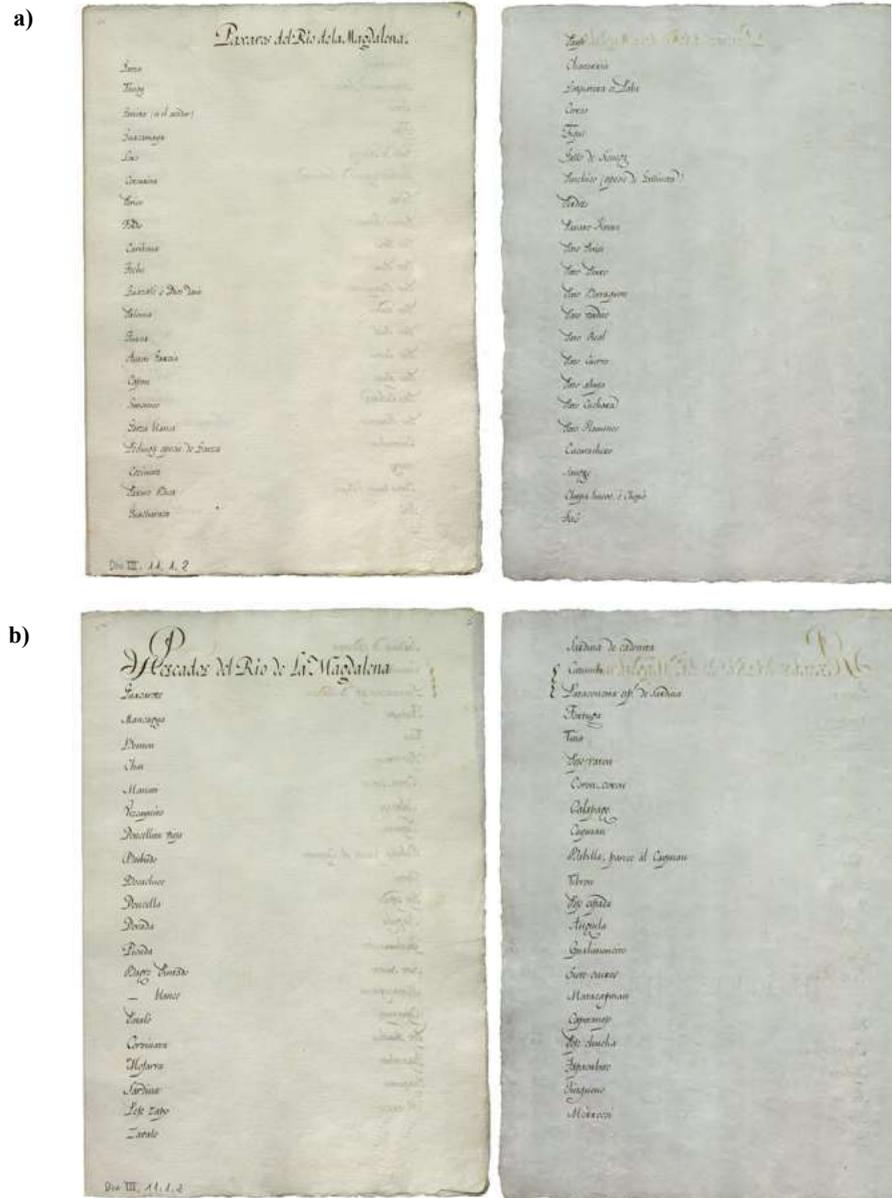
En 1764, bajo la autorización de Clemente XIII, Mutis se ordenó como sacerdote, sin suspender sus funciones de médico en la Nueva Granada; a estas actividades se sumaron sus cátedras en el Colegio del Rosario y, por supuesto, las tareas zoológicas de la Expedición. En 1766 le enviaría a Linneo una primera remesa con insectos. El 16 de enero de 1767 Linneo le agradece el envío con estas palabras:

*Conviene así pues que yo os mande mis agradecimientos más grandes y calurosos por una colección tan extraordinaria de insectos rarísimos que jamás he recibido de nadie de tierras lejanas. ¡Si solamente supiera como expresar mi reconocimiento para no morir como un ingrato... Siento que estos insectos hayan llegado después de la nueva edición del Systema Naturae...!* (citado en **Blanco-Villero**, 2008:18).

En 1773 Mutis le envió a Linneo una segunda remesa, con la inclusión de aves disecadas mediante un método de preservación rudimentario en el que se vaciaban los intestinos y se rellenaba cada ejemplar con algodón embebido en polvos de tabaco y pimienta (Hernández De Alba, 1983b; Blanco-Villero, 2008). Entre las aves enviadas figuraban la “tijereta pequeña de Bogotá” (*Tyrannus savana*), la “pollita de agua” (*Fulica* sp.) y el “coclí negro” (*Ardea* sp.).

### Permanencia en la Provincia de Mariquita (1777–1790)

En 1777, como parte de sus actividades en las Minas Reales del Sapo y Coello (1777–1783), Mutis remitió un primer lote zoológico al Real Gabinete de Madrid para incrementar sus existencias, lo que ayudaría a superar en riquezas naturales a los Gabinetes de



**Figura 3.** Listados de (a) aves, y (b) peces del río Magdalena, elaborados por José Celestino Mutis (1761), en los cuales se incluyen reptiles. Fuente: Archivo del Real Jardín Botánico-CSIC 1761. Div. III, 11, 1, 2 ©

Italia, Suecia, Inglaterra e, incluso, Francia. Esta remesa contenía dos especies de primates (macaco negro de los Andaquíes y macaco verdoso pequeño), unas plumas de cóndor (*Vultur gryphus*), y diversos insectos como gorgojos (*Curculionidea*) y escarabajos (*Scarabaeidae*) (Amaya, 1999).

En 1778 una reveladora misiva de Mutis a Peter Jonas Bergius (1730–1790), reconocido botánico y pteridólogo sueco, le manifiesta que gracias al tiempo disponible y a su pasión, logró concentrarse en esta época en su trabajo mirmecológico:

*Olvidaba participarte que cerca de dos años ha que me hallo en estas Minas de Ibagué, dirigiendo el establecimiento de ellas y logrando un dulcísimo descanso. Con este motivo ha podido perfeccionar muchas cosas de Historia Natural y entre ellas cuento la Historia de las Ormigas de América, obra que desde los principios de mi amistad con el caballero Linné comencé por las instancias y ruegos de tan Grande Hombre para que concluida la remitiese a la Academia de Upsala, y fuese yo alistado entre los Sabios de aquella Academia por la interposición de mi grande favorecedor* (citado en Blanco-Villero, 2008:24).

En efecto, Mutis dio a conocer en sus escritos de diario más de una centena de especies de hormigas reseñando aspectos de su taxonomía, distribución y comportamiento. Entre las especies de hormigas que más estudió están las “hormigas arrieras” (*Atta* spp.) y las “pataloas” (*Eciton* spp.); de ellas obtuvo importantes anotaciones de campo referentes a su distribución, conformación de nidos y comportamiento (Fernández, 2009; Wilson & Gómez-Durán, 2010). Otras especies mencionadas en su estudio corresponden a la “hormiga tigre” (*Camponotus abdominalis*), la “hormiga bizcochuelera” (*Monomorium pharaonis*), la “hormiga de la muerte” (*Cephalotes atratus*), la “hormiga guata” (*Labidus caecus*) y la “hormiga cucuncha” (*Dolichoderinae*), entre otras.

Las memorias de su trabajo mirmecológico le permitieron a Mutis consolidar dos documentos importantes; el más nutrido fue el material prometido a Linneo para su inclusión en la Academia de Ciencias de Upsala (Suecia), pero tal y como lo indican Puig-Samper, et al. (2004), este nunca fue enviado y se desconoce su destino final. El otro documento fue titulado por Mutis *Observaciones sobre hormigas y comejenes hechas en Santafé de Bogotá*; en 1872 estuvo en manos de Miguel Colmeiro, Jiménez de la Espada y otros naturalistas de la Real Sociedad Española de Historia Natural en Madrid, hasta que se publicó tres años después en el volumen 6 de la Revista Mensual de Filosofía, Literatura y Ciencias, editada en Sevilla, España (Wilson & Gómez-Durán, 2010). Mutis realizó otras observaciones entomológicas que incluían abejas y avispas (orden Hymenoptera), comejenes (orden Isoptera), chinches (orden Hemiptera), escarabajos (Coleoptera), grillos (Orthoptera), moscas (Diptera), mariposas y polillas (Lepidoptera).

Otras observaciones hacen referencia a reptiles, especialmente especies de ofidios del género *Bothrops*, entre los que se cuenta la “talla x” (*Bothrops asper*). Mutis había ordenado a los peones y a los herborizadores la recolección de toda serpiente que llegase a sus manos; luego mantenía los individuos vivos durante un corto tiempo para su estudio y examen para luego preservarlos en alcohol o aguardiente. También hay cortas reseñas de ofidios como la “petaca” (*Boa constrictor*) y la “toche” (*Spilotes pullatus*) y anfisbénidos como la “tatacúa” o “Cecilia” (*Anphisbaena alba*) (Echeverry, 1983).

Según los diarios de Mutis (ARJBM-CSIC, 1760-1808), en 1777 obtuvo información sobre mamíferos de la región, entre los cuales se cuenta el “ulamá” (*Herpailurus yaguarondi*), el armadillo (*Dasypus* sp), el oso hormiguero (*Myrmecophaga tridactyla*), el “pecarí barbiblanco” (*Tayassu pecari*). Siete años después volvió a registrar otras especies de mamíferos como el “mono colorado capuchino” (*Alouatta seniculus*), el “perezoso” (*Choloepus hoffmanni*), el oso hormiguero (*Myrmecophaga trydactyla*), y la comadreja (*Mustela* spp).

El proyecto de Mutis (1783–1790) se consolidó con la promulgación de un decreto real que en 1783 avalaba la iniciación formal de las actividades con una asignación de recursos físicos y financieros en la provincia de Mariquita. En esta época sus anotaciones

mirmecológicas no tuvieron la intensidad de las actividades cumplidas en El Sapo. En 1788 remitió una segunda remesa al entonces Real Gabinete de Ciencias de Madrid, que pasó a constituirse en el Museo de Historia Natural de Madrid en 1847. En esta remesa envió esqueletos de aves con sus nombres rotulados en el pico, algunos frascos con reptiles de varias especies preservadas en aguardiente y un panal grande construido en cera con algunas abejas (Gomis & Fernández, 1986).

### Reinstalación en Santafé de Bogotá (1790-1808)

En este período Mutis se encargó de continuar con el inventario de ejemplares zoológicos. Como muestra de ello se tiene el Catálogo de *Nombres de Pajaros en las cercanías de Santa Fé*, listado en el que Mutis enumera cerca de 59 especies, de las cuales 34 nombres están relacionados con Santa Fé, seis clasificados como de tierra caliente, diez que se encuentran en Cartagena y nueve en Honda (ARJBM-CSIC, 1760–1808a) (Figura 3b).

En 1801 Mutis recibe la visita del barón Alexander von Humboldt, quien venía en compañía del botánico y médico francés Aimé Bonpland (Nieto, 2010; Amaya, 2013). Unos años después, Humboldt exaltó en su *Diario* la generosidad del sacerdote gaditano. En efecto, Mutis le facilitó toda la infraestructura de la Expedición, donándole descripciones, láminas y material biológico, especialmente botánico (Díaz-Piedrahita, 1997). Con respecto al material zoológico, según Agudelo-Zamora (2019), le proporcionó al barón información ictiológica que el propio Mutis había planeado publicar. Dicha información estaba relacionada con dos especies endémicas de la sabana de Santafé que posteriormente serían descritas por el mismo Humboldt como “capitán de la sabana” (*Eremophilus mutisii*) y “guapucha” (*Grundulus bogotensis*) (Humboldt, 1811; Humboldt & Valenciennes, 1833) de forma semejante a la descripción del “capitán” realizada por el propio Mutis y hallada en el Archivo del Real Jardín Botánico-CSIC (1760–1808b), donde el gaditano se refería a un nuevo género (*nov. gen.*) de pez (*Apod.*), conocido como *Trichocephalus* (género inédito); además, Mutis identificó esta especie con el nombre común de “Capitán”. Así, la comparación de las descripciones de Humboldt (1811) y de Mutis (ARJBM-CSIC, 1760–1808b) revela un gran parecido:

*EREMOPHILUS. APOD. CHAR. GENERICUS ESSENTIALIS. Corpus elongatum. Cirri maxillares 4, nasales semitubulosi 2. Pinna dorsalis et analis. Membrana branchiostega radiis 1-2. EREMOPHILUS MUTISII. Corpore elongato, plumbeo, caerulescenti, maculis daedaleis olivaceis variegato; operculi branchiostegi; duplicatura spinuloso-serrata. (Humboldt, 1811).*

*CAPITÁN. TRICHOCEPHALUS MUTIS (NOV. GEN). Apod. Cav. gen. esient., Branchial membrane. rad. tentacula cirrhiformia VI, quonum duo breviora (1 al oculos xxx), nasalia. Pinna dorsalis. (ARJBM-CSIC, 1760–1808b).*

El caso de la “guapucha” es similar al del “capitán”, ya que en el mismo documento Mutis menciona esta especie, descrita posteriormente por Humboldt y Valenciennes (1833). Sin embargo, en el documento Mutis solo se refiere al conteo de los radios y le asigna un epíteto al género, nombrándolo “guapucha”, cuyo autor es él mismo (Agudelo-Zamora, 2019). Humboldt señaló que había observado esta especie en la casa del propio Mutis (Humboldt & Valenciennes, 1833). Esto permite afirmar que el documento escrito por Mutis sobre estas dos especies es anterior a la visita del barón en 1801; en esa oportunidad Mutis adoptó el nombre genérico de *Atherina* (Linneo, 1758: 315.), usado previamente por Linneo e incluido en el *Systema Naturae* de 1758. Esto último está evidenciado y soportado con lo descrito por Ozonas (2006), quien esclarece que Mutis contaba con dicha versión para asignarle el género a la “guapucha”. En este sentido, no puede asegurarse que haya habido algún tipo de sustracción por parte de Humboldt o Bonpland a Mutis, ya que como se ha indicado antes, Mutis les obsequió muchas láminas y material a los expedicionarios. Sin embargo, se ha puesto en duda la originalidad en las ilustraciones del expedicionario prusiano, como lo sugirió el propio Lagasca en su misiva del 3 de mayo de 1827 al barón, cuando este botánico español se encontraba en su exilio en Londres:

Cierro esta carta, asegurando à V. que estoy firmemente persuadido que varios de los dibujos de las plantas publicadas por V. en sus obras tituladas *Plantae aequinoctiales* y *Monographia Melastomae et Rhexiae* son copias de los de la *Flora de Bogotá*, aunque por lo general más o menos recortados para acomodarlos al tamaño de la obra (citado en **Puig-Samper, et al.**, 2004:86).

Los conocimientos zoológicos de Mutis, al contrario de la botánica, eran pobres y supeditados a los textos de soporte que tenía en su biblioteca (**Amaya**, 2012), entre los cuales se destaca el *Systema Naturae* de Linneo de 1759, obra que fue entregada en Cádiz por Fredrik Logie (1739–1785), discípulo de Linneo (**Ozonas**, 2009). Pasado un tiempo, Mutis también contaría con la doceava edición, ya que la menciona en su Diario de observaciones:

En la edición del año de 1767 del *Systema Naturae*, padeció la equivocación el Caballero Linné (**Mutis**, 1760–1790:207).

### **Fray Diego García, artífice del aprovisionamiento zoológico de la Expedición Botánica (1783–1789)**

En septiembre de 1783, año de la promulgación real de la Expedición Botánica, el arzobispo virrey Antonio Caballero y Góngora encargó al clérigo Diego García, un religioso de la Orden Franciscana, la tarea de dar a conocer la existencia de animales en el territorio de la Nueva Granada conforme a los objetivos científicos de la Expedición. El clérigo concentró sus tareas zoológicas en el alto valle del río Magdalena.

Por instrucciones de José Celestino Mutis, debía registrar en sus primeras correrías por las provincias de Neiva la presencia de especies, especialmente de peces, aves y mamíferos (**Mantilla y Díaz-Piedrahita**, 1992). En una carta del propio José Celestino Mutis a Fray Diego García, fechada en Santafé el 15 de mayo de 1784, señala:

*[...] irá formando listas de todos los cuadrúpedos y pájaros por medio del compañero cazador, elegido a su arbitrio, que se le agrega para la consecución de estos animales.*

*En la adjunta instrucción impresa hallará el modo de abrir los animales para conservar las pieles, y el de rellenarlos interiormente con algodones del modo mejor a mantener y representar su estado natural. Los polvos que allí se citan para la conservación son muy fáciles de preparar en cualquier parte.*

*Entre los cuadrúpedos se han de solicitar con especial cuidado el Mapurito, el Dormilón (remitido en la primera colección, a quien le falta la cabeza), todas las especies de perico-ligeros, osos hormigueros, el ulamá y la tunata (especie de runcho que lleva sus hijuelos sobre la espalda, enroscando sus colas con la madre). De estos determinadamente se desean el macho y la hembra. De todos los demás se advertirá solamente si es macho o hembra.*

*Entre las aves, el buitre y el rey de gallinazos, macho y hembra. De las demás se advertirá siempre el sexo; bien que si hubiere alguna diferencia bien notable entre macho y hembra se hará todo empeño en recoger uno de cada sexo.*

*Al abrir los pájaros para conservar la piel con las plumas, se advertirán las cosas siguientes:*

*El sexo por el ovario o los testículos. La figura de la lengua, y si es entera o partida en la punta. Los colores del ojo de la pupila (que vulgarmente llaman la niña) y el de la uva o bien el ruedo o espacio que la circunda. Estas tres cosas perecen después de disecado el animal, y es necesario apuntarlo al tiempo de hacer la conservación. La advertencia sobre el color de los ojos se tendrá también presente en los cuadrúpedos.*

*Cada pieza conservada después de bien seca se deberá envolver en lienzo común para que no padezcan el pelo y pluma con las otras.*

*Se espera de la industria y celo del comisionado que desempeñará estos nuevos encargos con su bien acreditada conducta (citado en Hernández de Alba, 1983a, II: 307–309).*

El religioso contratado por la Expedición tenía unas capacidades naturalistas especiales, aunque de formación autodidacta y con preferencias hacia la ornitología (**Mantilla & Díaz-Piedrahita, 1992**). Durante el período entre 1783 y 1789 Fray Diego García logró obtener la información más completa sobre la historia natural de más de 200 especies a partir del material recolectado de animales, entre los que se cuentan artrópodos, peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos. De ellos, el clérigo describió detalladamente dos especies de reptiles, 53 de aves y dos de mamíferos (**Mantilla-Meluk, et al., 2014**).

Los especímenes o sus muestras los remitía a Mutis desde la localidad donde los obtenía, junto con la información de campo que obtenía. Fray Diego García tuvo tan buen desempeño en su trabajo zoológico que el propio Mutis le escribía los siguientes comentarios al arzobispo virrey Antonio Caballero y Góngora en carta del 18 de mayo de 1785:

*Excelentísimo señor: en cumplimiento de la orden que se sirvió dar vuestra excelencia al Padre Fray Diego García para que pusiese en mi poder todas las producciones de Historia Natural que recogiese en su peregrinación por la provincia de Neiva, acaba de ejecutarlo personalmente, entregándome la relación que dirijo a vuestra excelencia y las contenidas producciones, que prontamente seguirán bien acondicionadas para su remisión a la Corte. Por la mencionada relación confirmará vuestra excelencia su acertada elección, pues con la mayor economía y celo del Real servicio sigue desempeñando este Padre la comisión* (citado en **Mantilla & Díaz-Piedrahita, 1992a**).

Entre los especímenes que Fray Diego García envió a Mutis también se encontraban ejemplares vivos, como lo menciona este en su carta del 27 de marzo de 1785 en la cual le hace, además, unas advertencias sobre la fauna:

*Muy señor mío y siempre venerado dueño: por mano del oficial real D. Pedro Diago, dirijo ésta a que acompañe una Nutria lechona, que se alimenta con leche de vaca, plátano maduro, pan de trigo mascado y sobre todo pescado fresco que es el natural de ella. Acompañe siete patos carreteros, cuatro hembras y tres machos... un Alcarabán...Asimismo un patico picisí* (citado en **Hernández de Alba, 1983b, III: 341–342**).

En 1789, cuando tenía 49 años, Fray Diego García marcha a Mompóx, donde permaneció por cinco años en el convento hasta la fecha de su muerte, el 19 de mayo de 1794. Todo parece indicar que fueron 11 años los que dedicó Fray Diego García a la Expedición Botánica, de los cuales los últimos seis los concentró en sus tareas zoológicas (**Mantilla & Díaz-Piedrahita, 1992**).

El botánico e historiador Santiago Díaz-Piedrahita calificó a Fray Diego García como el primer zoólogo sistemático del país por el rigor científico de muchas de sus descripciones (**Mantilla-Meluk, et al., 2014**), que no se limitaron a la simple reseña de las características externas de la especie, sino que se acompañaron de mediciones y anotaciones adicionales exhaustivas sobre los colores y comportamientos de los especímenes en vivo. Sobre el desempeño del clérigo zoólogo Díaz-Piedrahita comenta:

*Aunque Fray Diego tenía la formación cultural y la inteligencia suficientes para realizar una labor sobresaliente en el campo de la historia natural, adoleció de formación científica; esta falla fue compensada con el esfuerzo personal y con una inclinación natural hacia el estudio de los seres vivos. No contó con mayores estímulos y su trabajo estuvo determinado por lealtad y obediencia hacia sus superiores, actitud propia de su condición de fraile* (**Díaz-Piedrahita, 2001:11**).

## Contribuciones zoológicas de Jorge Tadeo Lozano Maldonado de Mendoza (1803–1808)

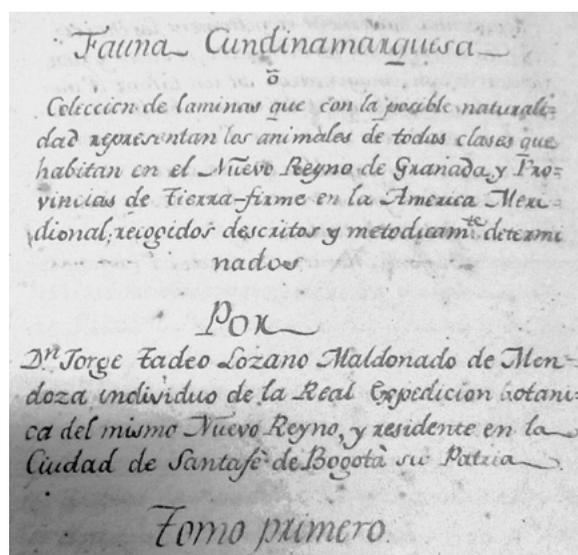
Jorge Tadeo Lozano se vinculó a la Expedición Botánica en 1803, como auxiliar científico y director sustituto de la sección de Zoología. Su trabajo consistió en la coordinación de las tareas de colección, ilustración, descripción y clasificación de los animales del virreinato.

En 1806 se retiró a la hacienda de su familia, “El novillero”, para redactar el informe de su *Fauna Cundinamarquesa* (**Figura 4**), que fue dado a conocer posteriormente en el volumen 48 (páginas 347 y subsiguientes) del *Semanario del Nuevo Reino de Granada*, en 1809, bajo el título “Fragmento de una obra titulada: Fauna Cundinamarquesa, o descripción de los animales del Nuevo Reyno de Granada” (**Lozano, 1809**). Este estudio constituye el primer inventario zoológico publicado en el país. En el prólogo de la obra, Tadeo Lozano hace alusión a la escasez de recursos con los que se iniciaron las tareas zoológicas encargadas por la Expedición Botánica, aunque recibió donaciones tanto bibliográficas como de muestras zoológicas, y lo más importante para él, el apoyo de su jefe José Celestino Mutis, quien puso a su disposición sus pintores de láminas, su biblioteca y sus sabios consejos:

*Yo solo, rodeado de dificultades, entregado a mis propias fuerzas, dirigido por mi corto talento y poco número de libros de mi pequeña biblioteca, y sin contar con otro auxilio pecuniario más que el que puede proporcionarme lo reducido de mi caudal, me animé a poner en ejecución este proyecto, pero apenas hacía algún tiempo que lo había puesto en planta, cuando la Providencia me facilitó algunos medios para desempeñarlo, con que yo jamás habría imaginado poder contar. En efecto, don Enrique Umaña, tan amigo mío como de las ciencias naturales que profesa, se desprendió gustoso de algunos libros selectos que podrían ilustrarme; don Ignacio Tejada, don Santiago Pérez Valencia, don Manuel Pardo y don José Ayarza se han encargado voluntariamente de hacer venir de las distintas provincias de que son oriundos sus respectivas producciones animales.*

*[...] No contento con haberme facilitado de antemano las empresas de esta naturaleza, formando excelentes pintores en la escuela gratuita de dibujo, que para el efecto sostiene a sus expensas, y de la cual han salido los que han ejecutado las láminas de esta obra, apenas supo que la había proyectado, cuando con la mayor generosidad se ofreció a ayudarme con sus sabios consejos, me franqueó su biblioteca copiosa y me comunicó muchos objetos que podía incluirse en ella (**Lozano, 1809**).*

En el tomo I de la *Fauna Cundinamarquesa* se referenciaron 37 especies de insectos, reptiles, aves y mamíferos, incluido el hombre, con la inclusión de algunas láminas (**Tabla 1**) Jorge Tadeo Lozano pensaba adoptar como modelo para su *Fauna Cundinamarquesa*



**Figura 4.** Primera página de la *Fauna Cundinamarquesa* dada a conocer por Jorge Tadeo Lozano. Santafé de Bogotá, 26 de diciembre de 1809. Fuente: Biblioteca Luis Ángel Arango, Colección Libros Raros. Bogotá.

la obra de Carl Linneo *Fauna Suecica* (1746), pero se vio muy limitado, sobretodo en la obtención de un producto completo y terminado, por lo que resolvió que la estrategia más apropiada sería la de preparar los distintos tomos a medida que fuera progresando el estudio.

Había contemplado que cada tomo se estructuraría con las descripciones taxonómicas de cerca de 20 especies, acompañadas de información sobre su historia natural y geográfica y de láminas ilustrativas, arregladas por clases y órdenes en el sentido linneano (UJTL, 2014; Blanco-Villero, 2008). Este proyecto se modificó sustancialmente con la intención de incluir, además de la fauna silvestre, los animales domesticados. También se desvió del formato típicamente taxonómico al considerar la importancia del uso de la fauna por el hombre. Aunque sus propósitos de estudio fueron completamente válidos, se evidenció una debilidad en su formación como taxónomo al descartar todas las acepciones sinonímicas en

**Tabla 1.** Listado de especies animales citadas en los estudios zoológicos en el marco de la Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada (1783-1816). § Este nombre no corresponde a la especie de Nueva Granada por tener un distribución asiática.

Clase taxonómica	Nombre común citado por Mutis	Nombre científico	Referencia
Insecta	Mojojoy	<i>Rynchophorus palmarum</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Arriera	<i>Atta</i> sp	Wilson y Gómez, 2010
	Escarabajo metálico gigante	<i>Euchroma gigantea</i>	Mutis, 1784
	Nuche	<i>Dermatobia hominis</i>	Mutis, 1784
	Pataloa	<i>Eciton</i> sp.	Wilson y Gómez Durán, 2010
	Hormiga tigre	<i>Camponotus abdominalis</i>	Wilson y Gómez Durán, 2010
	Hormiga bizcochuelera	<i>Monomorium pharaonis</i>	Wilson y Gómez Durán, 2010
	Hormiga de la muerte	<i>Cephalotes atratus</i>	Wilson y Gómez Durán, 2010
	Hormiga guata	<i>Labidus caecus</i>	Wilson y Gómez Durán, 2010
	Hormiga cucuncha	<i>Dolichoderus</i> sp.	Wilson y Gómez Durán, 2010
	Cochinilla grana	<i>Dactylopius coccus</i>	Molina, 2014
	Cucuyo	<i>Pyrophorus</i> sp.	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Falena de Santa Fé	<i>Thysania agrippina</i>	Garzón 2014 en: Universidad Jorge Tadeo Lozano, (2014)
Osteichthyes	Grana cochinilla	<i>Dactylopius coccus</i>	Caldas (semanario de NG)
	Bocachico	<i>Prochilodus magdalenae</i>	Mutis (1761), Mutis (1953), Agudelo-Zamora (2019)
	Pataló u Hocicón	<i>Ichthyoelephas longirostris</i>	Mutis (1761), Mutis (1953), Agudelo-Zamora (2019)
	Guapucha	<i>Grundulus bogotensis</i>	Mutis (1761), Humboldt y Valenciennes (1821), Agudelo-Zamora (2019)
	Capitán	<i>Eremophilus mutisii</i>	Mutis (1761), Humboldt (1805), Agudelo-Zamora (2019)
	Dorada	<i>Brycon</i> spp	Mutis (1761), Agudelo-Zamora (2019)
	Doncella	<i>Sorubim cuspidatus</i>	Mutis (1761), Agudelo-Zamora (2019)
Reptilia	Cuatronarices	<i>Bothrops schlegeli</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Caimán	<i>Caiman crocodylus</i>	Mutis (1761), Mutis (1953)
	Tortuga del Magdalena	<i>Podocnemis lewyana</i>	Mutis (1761), Mutis (1953)
	Talla X	<i>Bothrops asper</i>	Mutis (1953), Echeverry (1983)
	Petaca	<i>Boa constrictor</i>	Mutis (1953), Echeverry (1983)
	Chantan	-	Mutis (1953)
	Toche	<i>Spilotes pullatus</i>	Mutis (1953), Echeverry (1983)

Clase taxonómica	Nombre común citado por Mutis	Nombre científico	Referencia
Aves	Perico	<i>Ara militaris</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Águila negra común	<i>Buteo albonotatus</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Ave mochilera	<i>Psarocolius decumanus</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Capitán de gallinazos	<i>Cathartes aura</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Pajuil	<i>Crax alberti</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Pajuil de montaña	<i>Crax salvini</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Aguelitas	<i>Columba passerina</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Chavarría	<i>Chauna chavaria</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Tente en el ayre	<i>Falco spraverius</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Gallo de ciénaga	<i>Coragyps atratus</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Copetón	<i>Coragyps atratus</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Pato pisicí	<i>Anas discors</i>	Hernández De Alba (1983b)
	Pollita de agua	<i>Fulica</i> sp	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Coclí negro	<i>Ardea</i> sp	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
	Yoloyo	-	Mutis (1953)
	Guaco	-	Mutis (1953)
	Vichofué	<i>Pitangus sulphuratus</i>	Mutis (1953)
	Cotorra pechiblanca	<i>Pionites melanocephalus</i>	Universidad Jorge Tadeo Lozano, (2014)
	Pato carretero	<i>Oressochen jubatus</i>	Hernández De Alba (1983b)
	Mammalia	Puma	<i>Felis concolor</i>
Leopardo		<i>Felis pardalis</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Nutria lechuda		<i>Lontra longicaudis</i>	Hernández De Alba (1983b)
Tonina		<i>Delphinidae</i>	Mutis (1953)
Ulamá		<i>Herpailurus yaguarondi</i>	Hernández De Alba (1983b)
Armadillo		<i>Dasypus</i> sp	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Oso hormiguero		<i>Myrmecophaga trydactyla</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Pecarí barbiblanco		<i>Tayassu pecari</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Mono colorado capuchino		<i>Alouatta seniculus</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Perezoso		<i>Choloepus hoffmanni</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Runcho o Fara		<i>Didelphis philander</i>	Universidad Jorge Tadeo Lozano, (2014)
Comadreja		<i>Mustela felipei</i>	Mantilla & Díaz-Piedrahita (1992a)
Crustacea		Caracol múrice	<i>Murex cichorium</i> §

los registros de la fauna reportada. En la actualidad los manuscritos originales de esta obra, que cuentan con textos fragmentarios y sin láminas, están depositados en la biblioteca Luis Ángel Arango (UJTL, 2014).

En los números 15 al 20 del *Semanario del Nuevo Reino de Granada* de 1808 (Nieto-Olarte, 2007), Jorge Tadeo Lozano publicó su “Memoria sobre las serpientes y plan de observaciones para aclarar la Historia Natural de las que habitan el Nuevo Reyno de Granada y para cerciorarse de los verdaderos remedios capaces de favorecer a los que han sido mordidos por las venenosas” (Lozano, 1808). En esta publicación el autor estudió la composición taxonómica de los ofidios de la Nueva Granada con base en el arreglo de Cuvier. Describió las propiedades físicas de los venenos, los tipos de mordeduras y los posibles remedios que los campesinos curanderos empleaban para curarlas.

## Los aportes zoológicos de Francisco José de Caldas (1810)

A mediados de 1801 se inició la correspondencia entre Mutis y Caldas, quien residía en Popayán (solo se conserva la primera carta de Caldas a Mutis, en la que el payanés inicia así: “Señor doctor don José Celestino Mutis. Muy señor mío de toda mi estimación: recibí la primera carta de usted ¿pero qué carta? Dos buenos tubos de barómetro y las obras maestras de Linneo [...]” (Caldas, [1788-1816] 1978:98–102). Para esta época, Mutis le había enviado dos tubos de barómetro y los libros de Carl Linneo, cuya lectura y estudio lo introdujeron en los estudios botánicos. La relación entre el joven naturalista y el gaditano se fortaleció un año más tarde con la vinculación de Caldas a la Expedición Botánica para emprender observaciones meteorológicas, estudios sobre el árbol de la quina y dar cuenta de sus viajes a Santafé, Popayán, Quito y Guayaquil, todo ello acompañado de anotaciones fitogeográficas y recolección de material botánico (González-Pérez, 1984).

Entre 1796 y 1807 Caldas ya había elaborado 44 escritos científicos cuyo contenido era producto de sus observaciones geodésicas, meteorológicas, fitogeográficas y sobre los árboles de la quina que había logrado obtener en algunos de sus viajes programados. Entre estos escritos figuran sus primeras anotaciones zoológicas, relacionadas con aves, las cuales forman parte del manuscrito producido en *Obras inéditas. Quito, 1802-1807* (Ruíz, 1995; Gómez, 2019).

En 1808 Caldas se radicó finalmente en Santafé e inició dos años más tarde sus oficios de editor del *Semanario del Nuevo Reyno de Granada*. El 10 de enero de 1810 dio a conocer su segunda contribución zoológica, relacionada con la importancia del insecto cochinilla, *Dactylopius cacti* Linn., para diversificar la economía en el virreinato de Nueva Granada, ya que del cuerpo de las hembras del insecto se extrae un pigmento, el ácido cármico, con el que se tiñen los textiles para la ropa y los lienzos de pintura (Figura 5) y cuyo uso tradicional había sido reportado en la Nueva España en el siglo XVI (Trabulse, 1997). Caldas, además de incluir su diagnosis taxonómica, registró la cría de la cochinilla como una actividad que ya se practicaba principalmente en las provincias de Pamplona y Tunja y en los alrededores de Santafé. También hizo anotaciones sobre los “tunos” (*Opuntia* spp.), como plantas hospederas y, en general, sobre las condiciones climáticas y de hábitat más apropiadas para el establecimiento natural del insecto. El nombre taxonómico de *Dactylopius cacti* Linn., citado por Caldas, hoy corresponde a *Dactylopius coccus*, descrito por Costa en 1835 (Molina, 2014).



**Figura 5.** Cuerpos deshidratados de las hembras de la cochinilla (*Dactylopius coccus*), un insecto del que se extrae un tinte que Caldas proponía cultivar para su comercio en la Nueva Granada (1810)

En el año tercero del *Semanario* se publicó la tercera parte de la relación sobre la cochinilla, en la que Caldas establece el modo de cultivarla. En este escrito describe la manera apropiada de preparar el terreno, la plantación previa de los “tunos” y la inducción para que los insectos hembras se establezcan. Por último, describe la manera de extraer los insectos, su sacrificio y su transporte como “semillas vivas” a grandes distancias (Caldas [1801–1816]; 1966). Se ha postulado un aporte zoológico adicional de Caldas, una pequeña colección entomológica conformada por 106 insectos: 49 mariposas (orden *Lepidoptera*), 10 polillas (orden *Lepidoptera*), 26 escarabajos (orden *Coleoptera*), nueve moscas (orden *Diptera*) y una libélula (orden *Odonata*). En la actualidad este insectario, conservado en dos cajas, es propiedad de Jorge Reynolds Pombo, emparentado por línea materna con Caldas, quien lo habría recibido por herencia familiar (Reynolds, 2019).

**Tabla 2.** Principales tareas emprendidas en el área de Zoología de la Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada (1783-1816).

Tareas realizadas	Ejecutor (es)	Fecha
1. Primer inventario de las aves y peces del Nuevo Reino de Granada	José Celestino Mutis	1761
2. Envío de la primera remesa zoológica a Linneo (Upsala, Suecia)	José Celestino Mutis	1766
3. Envío de la segunda remesa zoológica a Linneo (Upsala, Suecia)	José Celestino Mutis	1773
4. Envío de la primera remesa zoológica al Real Gabinete de Historia Natural de Madrid	José Celestino Mutis	1777
5. Exploraciones mirmecológicas en la región de la Mina Real del Sapo (Provincia de Mariquita)	José Celestino Mutis	1777-1783
6. Observaciones y recolecciones herpetológicas en la Provincia de Mariquita	José Celestino Mutis	1784
7. Inventarios entomológicos locales y clasificación de insectos, escorpiones y crustáceos de la Nueva Granada	José Celestino Mutis	1785
8. Observaciones y recolecciones de mamíferos en la Provincia de Mariquita	José Celestino Mutis	1785
9. Elaboración de las primeras láminas zoológicas	Pedro Caballero Pimentel	1785
10. Intercambio del conocimiento ictiológico del Nuevo Reino de Granada	José Celestino Mutis, Alexander von Humboldt y Aimé Bonpland	1801
11. Recolección, preservación, y descripción de especímenes y muestras zoológicas de la Provincia de Mariquita	Fray Diego García	1783-1789
12. Planeación de la <i>Fauna Cundinamarquesa</i> y elaboración del tomo primero	Jorge Tadeo Lozano	1803-1809
13. Publicación sobre Historia Natural de las serpientes del Nuevo Reino de Granada	Jorge Tadeo Lozano	1808
14. Publicación sobre la biología, cultivo y factibilidad comercial de la cochinilla <i>Dactylopius coccus</i>	Francisco José de Caldas	1809-1810
15. Inventario y embalaje de manuscritos, especímenes, muestras y láminas zoológicas, con destino al Real Gabinete de Historia Natural de Madrid.	Sinforoso Mutis	1816

Con el trasfondo de los confusos sucesos independentistas, las tareas de la Expedición se clausuraron en 1816 con un inventario global realizado por Sinforoso Mutis, botánico y sobrino de Mutis. Este fue enviado a Madrid en 104 cajones bajo la supervisión de Pablo Morillo y la custodia del teniente coronel Antonio van Halen. Después de ser formalmente recibidos por Fernando VII, el material zoológico fue destinado al Gabinete de Historia Natural, hoy Museo de Historia Natural de Madrid. En la actualidad persiste una duda en cuanto al número de cajones inventariados; **Díaz-Piedrahita** (2000) indica que existieron 104 cajones, mientras que **Puig-Samper, et al.** (2004) sostienen que fueron 105 los remitidos, de los cuales 85 contenían todo lo relacionado con botánica. Los cajones botánicos serían inventariados de nuevo por Mariano Lagasca para su remisión final al Real Jardín Botánico de Madrid (**ACN0023/435, ACN0023/438**). Los 20 cajones restantes, con minerales y animales, fueron entregados al Real Gabinete de Historia Natural, hoy Museo de Historia Natural de Madrid. En una carta fechada el 30 de abril de 1827, Lagasca le narra al barón de Humboldt que 18 cajones contenían minerales, antigüedades y un paquete con dibujos de insectos, pero le advierte sobre la pérdida de un gran número de manuscritos y dibujos pertenecientes al material zoológico relacionado por Mutis (citado en **Puig-Samper, et al., 2004:82**). Francisco Antonio Zea, miembro de la Expedición en los últimos años, le transmitió a Cavanilles, director del Real Jardín Botánico en esta época, el mismo suceso. También Lagasca asegura (citado en **Puig-Samper, et al., 2004:82**) que diferentes personalidades (sin especificar quienes) leyeron en casa de Mutis el manuscrito de las hormigas, probablemente aquel que enviaría Mutis a Linneo, con el fin de vincularse como miembro de la Academia de Upsala.

Las actividades aquí detalladas se agruparon en 15 tareas consideradas como las más relevantes en el presente estudio (**Tabla 2**). Dichas actividades no dieron los frutos esperados en términos de productos, como tampoco los casi 20.000 ejemplares desecados y las 5.393 láminas iconográficas del trabajo botánico. Así como ocurrió con el componente botánico, la publicación de resultados logrados no se cumplió. Aunque las escasas publicaciones zoológicas de la Expedición Botánica no trascendieron en la literatura zoológica mundial, se considera que el primer programa de investigación entomológica del Nuevo Mundo se gestó gracias al estudio mirmecológico de Mutis (**Wilson & Gómez-Durán, 2010**). En la actualidad muchos autores aseguran que una muestra significativa de material zoológico de la Expedición, compuesto por documentos completos, textos fragmentarios, láminas, ejemplares completos de insectos o incompletos, como huesos y pieles, se extraviaron definitivamente (**Pérez-Arbeláez, 1968; España, 2007; Blanco-Villero, 2008**).

Un inventario zoológico detallado de la Expedición arrojaría una cifra aproximadamente de 500 especies, cuya composición taxonómica podría conocerse en un futuro a partir de las fuentes bibliográficas mencionadas en este trabajo, con lo que se podría tener una aproximación a la diversidad animal del siglo XVIII en la Nueva Granada.

## Conclusiones

Los estudios zoológicos llevados a cabo en el marco de la Real Expedición Botánica de Nueva Granada conformaron el primer programa de investigaciones en Historia Natural creado bajo el modelo de la investigación naturalista que se impartía en la Europa de los siglos XVIII y XIX.

Las principales tareas zoológicas, en el marco de la Expedición Botánica se derivaron de:

- los inventarios y la recolección de ejemplares zoológicos de José Celestino Mutis, especialmente insectos, peces, aves y mamíferos, así como de las dos memorias que escribió relacionadas con la Historia Natural de las hormigas;
- los estudios zoológicos plasmados en la publicación del Tomo I de la *Fauna Cundinamarquesa*, bajo la coordinación de Jorge Tadeo Lozano;
- las descripciones y la preservación de muestras de especímenes de insectos, peces, reptiles, aves y mamíferos recolectadas entre 1783 y 1790 por Fray Diego García, religioso de la Orden Franciscana, y

d). las contribuciones entomológicas de Francisco José de Caldas, que consistieron en la publicación en su *Semanario de la Nueva Granada*, de escritos sobre la biología, la distribución y la cría de la cochinilla, *Dactylopius coccus*, para impulsar la economía local del virreinato.

Uno de los objetivos de Mutis era la inclusión en su obra expedicionaria de una muestra zoológica del Nuevo Reino de Granada para su publicación en Madrid, lo que suponía que en América se realizaría casi la totalidad del trabajo científico, es decir, la recolección, el montaje de muestras zoológicas, su descripción y clasificación, así como el dibujo y la ilustración. A pesar de que efectivamente se cumplieron algunas de estas tareas, nunca estuvieron a la altura de los estudios botánicos, pero sus productos incluyeron una iconografía con gran reconocimiento mundial.

En síntesis, se presenta una relación ordenada de los aportes de la Real Expedición Botánica asociados con la fauna de la Nueva Granada, aunque estos sean fragmentarios debido a la desaparición de textos, láminas y muestras zoológicas en el transcurso de más de dos siglos de haber sido registrados.

## Agradecimientos

Los autores agradecen muy especialmente al Real Jardín Botánico y al Museo Nacional de Ciencias Naturales – CSIC de Madrid (España). Al Real Jardín Botánico por brindar la disponibilidad de los archivos correspondientes al Catálogo documental *José Celestino Mutis* y su autorización para la reproducción del listado original de aves y peces de Mutis en esta publicación. A Esteban Manrique Reol, director del Real Jardín Botánico de Madrid, a Esther García Guillén, curadora de los Archivos del Real Jardín Botánico, a Irene Fernández de Tejada de Garay y Abel Blanco, de la Unidad de archivo del Real Jardín Botánico, por su asistencia en los trámites administrativos. A Mónica Vergés Alonso y a María del Pilar Rodríguez Luque del Archivo del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid. A los revisores anónimos por sus innumerables aportes que permitieron mejorar sustancialmente el documento.

Dedicamos este trabajo a la memoria del distinguido botánico e historiador de la ciencia en Colombia Santiago Díaz Piedrahita con motivo del quinto aniversario de su fallecimiento.

## Contribución de los autores

GAG concibió el estudio. GAG y HAZ participaron en la escritura del documento y su análisis.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses con respecto al contenido y los resultados del artículo.

## Referencias

- Agudelo-Zamora, H.D.** (2019). José Celestino Mutis: The first Ichthyologist and the gestation of this field in the Nueva Granada (sometido a publicación).
- Amaya, J. A.** (1986). Celestino Mutis y la Expedición Botánica. Editorial DEBATE. Madrid. 78 pp.
- Amaya, J. A.** (1999). Mutis, apôtre de Linné en Nouvelle-Grenade. Histoire de la Botanique dans la vice-royauté de la Nouvelle-Grenade (1760-1783). *Treb. Inst. Bot. Barcelona*. XVI (1): 478.
- Amaya, J. A.** (2005). Mutis, apóstol de Linneo: historia de la botánica en el virreinato de Nueva Granada (1760-1783). Instituto Colombiano de Antropología e Historia. ISBN: 958-8181-32-1. Vol. 2: 1063 p.
- Amaya, J. A.** (2012). Los libros de historia natural del Fondo José Celestino Mutis de la Biblioteca Nacional de Colombia. Maqueta para levantar su inventario comentado. p 77–107. En: Zambrano, B. T. (Editor). (2012). *Independencia: historia diversa*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, ISBN: 978-958-761-326-1. 648 pp.

- Amaya, J. A.** (2013). Como débil muestra de admiración y gratitud»: José Celestino Mutis en la obra de Humboldt y Bonpland. p 77–100. En: Restrepo Forero, O. E (editores). *Proyecto Ensamblando en Colombia. Colección CES. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Humanas, Centro de Estudios Sociales CES, Bogotá D.C.* ISBN 978-958-761-606-4. 525 pp.
- Archivo del Museo Nacional de Ciencias Naturales - ACN0023/435.** (1818). Archivo del Museo Nacional de Ciencias Naturales (España). 38 pp.
- Archivo del Museo Nacional de Ciencias Naturales - ACN0023/438.** (1818). Archivo del Museo Nacional de Ciencias Naturales (España). 40 pp.
- Archivo del Real Jardín Botánico- ARJBM-CSIC.** (1761). Pajaros del Rio de la Magdalena y Pescados del río de la Magdalena, Div. III, 11, 1, 2. Listado, Madrid. 8 folios.
- Archivo del Real Jardín Botánico - ARJBM-CSIC.** (1760-1808a). Catálogo autógrafo de José Celestino Mutis de pájaros de las cercanías de Santa Fé, Div III, 11, 1, 23. Listado, Madrid. 1 folio. Incluidos aves de Cartajena, Honda y de Tierras Calientes.
- Archivo del Real Jardín Botánico- ARJBM-CSIC.** (1760-1808b). Descripción del *capitán*. Autógrafa de José Celestino Mutis, Div. III, 11, 1, 15. Listado. Incluidos conteos de la *guapucha*.
- Blanco-Villero, J.M.** (2008). Mutis y la Zoología. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Cádiz. Segunda época. **31** (1): 13-39.
- Buffon, G. L. L. D.** (1749). Histoire naturelle générale et particuliere: avec la description du Cabinet du Roy. Paris: Impr. royale, 1, 612 pp. Doi: 10.5962/bhl.title.62978
- Caldas, F. J.** ([1801-1816] 1966). Obras completas. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 531 pp.
- Caldas, F. J.** ([1788-1816] 1978). Cartas de Caldas. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Separata Especial. Bogotá.
- De Monet, J. B.** (1986). Filosofía Zoológica. Noctulabium, 3. Editorial Alta Fulla. Barcelona. 261 pp.
- Díaz-Piedrahita, S.** (1997). La Botánica en Colombia, hechos notables en su desarrollo. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Enrique Pérez-Arbeláez. No 6. Santafé de Bogotá. 125 pp.
- Díaz-Piedrahita, S.** (2001) Fray Diego García y los orígenes de la zoología sistemática en Colombia. Revista Colombia Ciencia y Tecnología. **19** (1): 3-11.
- Echeverry, R.** (1983). El discurrir de Mutis por el Departamento del Tolima antigua Provincia de Mariquita. Universidad del Tolima. Colciencias. 30 pp.
- Fernández, F.** (2009). Mutis y las hormigas. Revista de Innovación y Ciencia. Asociación Colombiana para el Avance de la Ciencia. **16** (1): 57-66.
- Gómez-Gutiérrez, A.** (1998). Al cabo de las velas: expediciones científicas en Colombia, siglos XVIII, XIX y XX. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, Bogotá. 276 p.
- Gómez-Gutiérrez, A.** (2019). Sucesivas apreciaciones sobre la obra fitogeográfica de Francisco José de Caldas. En: Álvarez Polo, Y.; Díez Fonnegra, G. A.; Moreno Mosquera, A.; Suárez Lozano, I.F. (editores). Bicentenario. Francisco José de Caldas, 1768-1816. Bogotá: Editorial del Rosario. p. 227-235. Doi: 10.2307/j.ctvk12ssq.5
- Gomis, A. & Fernández, J.** (1986). La labor zoológica de José Celestino Mutis y Jorge Tadeo Lozano en la Real Expedición Científica del Nuevo Reino de Granada. En: Ferrero, M. (editor). Actas del Simposium del 250 aniversario del nacimiento de Joseph Celestino Mutis. Cádiz, pp. 395-408.
- Hernández De Alba, G.** (1983a). Archivo epistolar del sabio naturalista Don José Celestino Mutis. Tomo I. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica. Editorial Presencia Ltda., Bogotá, D.E., 522 pp.
- Hernández De Alba, G.** (1983b). Archivo epistolar del sabio naturalista Don José Celestino Mutis. Tomo III. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica. Editorial Presencia Ltda., Bogotá, D.E., 522 pp.
- Humboldt, F. H. A. v.** (1811). Mémoire sur l'*Eremophilus* et l'*Astroblepus*, deux nouveaux genres de l'ordre des apodes. Voyage de Humboldt et Bonpland, Deuxième partie. Recueil d'Observations de Zoologie et d'Anatomie comparée. Paris. v. 1: 17-20, Pls. 6-7.
- Humboldt, F. H. A. v. & Valenciennes, A.** (1833). Recherches sur les poissons fluviatiles de l'Amérique Équinoxiale. En: Recueil d'observations de zoologie et d'anatomie comparée, faites dans l'Océan Atlantique, dans l'intérieur du Nouveau continent et dans la Mer du Sud pendant les années 1799, 1800, 1801, 1802 et 1803 / Par Al. De Humboldt Et A. Bonpland; Rédigé Par Alexandre De Humboldt. Deuxième Partie: Observations De Zoologie Et D'Anatomie Comparée, Deuxième Volume, v. 2: 403 pp.

- Jara, V. E.** (1981). La Expedición Botánica de Mutis y la Cultura Hispánica. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica. Editorial Kelly, Bogotá, D.E., 199 pp.
- Linnaei, C.** (1746). Fauna Suecica. Sumtu & literis Laurentii. Stockholmiae. 411pp.
- Linnaeus, C.** (1758). Systema naturæ: per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomo 1. Editio Decima Reformata. 1-824. Holmiæ (Estocolmo): Impensis Direct Laurentii Salvii. Doi: 10.5962/bhl.title.542
- Lozano, J. T.** (1806). Fauna Cundinamarquesa. Manuscrito (fragmentos) fechado el 26 de diciembre de 1809. Biblioteca Luis Ángel Arango, Sala Raros y Manuscritos, Manuscritos científicos. 149 pp.
- Lozano, J. T.** (1808). Libros para aprender a leer, y Muestras para escribir. Semanario del Nuevo Reyno de Granada, N0. 14. 107-168. Fecha de consulta: entre agosto y diciembre de 2019. Disponible en: [https://catalogoenlinea.bibliotecanacional.gov.co/client/es\\_ES/search/asset/132616](https://catalogoenlinea.bibliotecanacional.gov.co/client/es_ES/search/asset/132616)
- Lozano, J. T.** (1809). De una obra titulada: Fauna Cundinamarquesa ò descripción de los animales del Nuevo Reyno de Granada. Semanario del Nuevo Reyno de Granada, N0. 48. 347-386. Fecha de consulta: entre agosto y diciembre de 2019. Disponible en: [http://catalogoenlinea.bibliotecanacional.gov.co/client/es\\_ES/search/asset/132635](http://catalogoenlinea.bibliotecanacional.gov.co/client/es_ES/search/asset/132635)
- Mantilla, L. C. & Díaz-Piedrahita, S.** (1992a). Fray Diego García, su vida y su obra científica en la Expedición Botánica. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Enrique Pérez Arbeláez. No 7. Santafé de Bogotá. 284 pp.
- Mantilla, L. C. & Díaz-Piedrahita, S.** (1992b). Fray Diego García y los orígenes de la Zoología Sistemática en Colombia. Colombia Investiga. **19** (1): 3-11.
- Mantilla-Meluk, H., Cadena, A., Jiménez-Ortega, A.** (2014). Historia de la Mastozoología en Colombia. Pasado, presente y perspectiva. Pp 153-174. En: Historia de la mastozoología en Latinoamérica, las Guayanas y el Caribe. J Ortega, J.L Martínez, D.G Tirira (editores). Editorial Murciélago Blanco y Asociación Ecuatoriana de Mastozoología, Quito y México, DF.
- Molina, J.** (2014). Caldas y la Entomología económica. Hipótesis. **16**: 32-39.
- Mutis, J. C.** (1760-1790). Diario de observaciones de José Celestino Mutis. (Incompleto. Publicado y prologado por Hernández de Alba, G., 1957). Instituto Colombiano de Cultura Hispánica ed. Bogotá D.C: Editorial Minerva LTDA.
- Mutis, J. C.** (1953). Escritos científicos de Don José Celestino Mutis / Compilación y notas de Guillermo Hernández de Alba. Prólogo de Gonzalo Hernández de Alba Ospina, Profesor de la Universidad Nacional e Individuo correspondiente de la Academia Colombiana de Historia, Miembro honorario de la Sociedad Colombiana de Historia de la Medicina, etc. Tomo II. Matemáticas, Astronomía, Ciencias Naturales y Crítica literaria. Bogotá, D. E.: Instituto Colombiano de Cultura Hispánica; Editorial Kelly. 326 pp.
- Nieto-Olarte, M.** (2000). Remedios para el imperio. Historia Natural y la apropiación del Nuevo Mundo. Instituto Colombiano de Antropología e Historia. Bogotá, D.C., 280 pp.
- Nieto-Olarte, M.** (2007). Orden natural y orden social: ciencia y política en el Semanario del Nuevo Reyno de Granada (Vol. 43). Editorial CSIC-CSIC Press. 475 pp.
- Nieto-Olarte, M.** (2010). Americanismo Y Eurocentrismo: Alexander Von Humboldt Y Su Paso Por El Nuevo Reino De Granada. Editorial: Universidad de los Andes, Ediciones Uniandes. ISBN: 978-958-695-510-2. 120 pp.
- Ozonas, B. R.** (2009). 6. José Celestino Mutis, amistad y colaboración con Carlos Linneo. Monografía XXVI: José Celestino Mutis en el bicentenario de su fallecimiento. Madrid: Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia, pp. 123-149.
- Pérez-Arbeláez, E. P.** (1998). José Celestino Mutis. Su vida y su obra. Fondo FEN Colombia. Segunda edición. Editorial Guadalupe. Bogotá, 362 pp.
- Puerto-Sarmiento, F. J.** (2009). La Ciencia en España, el modelo ilustrado de expedición científica y la expedición botánica de José Celestino Mutis. II. En: Ribas, Ozona, B. (editor). 2009. José Celestino Mutis, en el bicentenario de su fallecimiento (1808-2008). Madrid: Instituto de España, Real Academia Nacional de Farmacia. pp. 77-94.
- Puig-Samper, M. Á., Maldonado, J. L., Fraga, X.** (2004). Dos cartas inéditas de Lagasca a Humboldt en torno al legado de Mutis. Asclepio. **56** (2): 65-86. Doi: 10.3989/asclepio.2004.v56.i2.53
- Restrepo, O., Arboleda, L. C., Bejarano, J. A.** (1993). Historia Social de la Ciencia en Colombia. Tomo 3. Historia natural y ciencias agropecuarias. Santafé de Bogotá: Tercer Mundo Editores. 459 p.

- Reynolds, J. Andrade, M.G., Lancheros, D., Henao, E.** (2019). Mariposas, escarabajos, libélulas y polillas recolectadas por Francisco José de Caldas. Abertura de dos cajas bicentenarias, descubrimiento de especies y curaduría. En: Álvarez Polo, Y.; Diez Fonnegra, G. A.; Moreno Mosquera, A.; Suárez Lozano, I.F. (editores). Bicentenario. Francisco José de Caldas, 1768-1816. Bogotá: Editorial del Rosario. pp. 227–235. Doi: 10.2307/j.ctvk12ssq.15
- Ruíz, P.** (1995). La Fauna de Colombia. En: Monografías de Fauna de Colombia, Vol. I Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. pp: 13-31.
- Schumacher, H. A.** (1984). Mutis, un forjador de la cultura. Ecopetrol. Bogotá. 325 pp.
- Tewksbury, J., Anderson, J., Bakker, J., Billo, T., Dunwiddie, P., Groom, M., Del Río C.** (2014). Natural History's Place in Science and Society. *BioScience*. **64** (4): 300-310. Doi: 10.1093/biosci/biu032
- Trabulse, E.** 1997. Historia de la ciencia en México. Sección de obras de ciencias y tecnología. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 542 pp.
- Universidad Jorge Tadeo Lozano - UJTL.** (2014). Jorge Tadeo Lozano: Estudios Científicos. UTADDEO. Bogotá. 172 pp.
- Uribe, L.** (1953). La Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada, su obra y sus pintores. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exac. y Nat.* **9** (33-34): 1-13.
- Veza, F.** (1936). La Expedición Botánica. Biblioteca Aldeana de Colombia. Editorial Minerva, S.A. Bogotá. 212 pp.
- Wilson, E.,** Gómez, J.M. (2010). Kingdom of Ants. Jose Celestino Mutis and the Dawn of Natural History in the New World. The Johns Hopkins University Press. Baltimore. p. 10-11.

Artículo original

## Efectos del defoliador *Atta cephalotes* Linnaeus. en el crecimiento y el desarrollo fisiológico e hidráulico de árboles juveniles de *Gmelina arborea* Roxb. en condiciones controladas

### Effects of the *Atta cephalotes* Linnaeus. defoliator on the growth and physiological and hydraulic development in juvenile trees of *Gmelina arborea* Roxb. under controlled conditions

● Juan Carlos Valverde<sup>1,\*</sup>, ● Dawa Méndez<sup>2</sup>, ● Dagoberto Arias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecofisiología Forestal y Aplicaciones Ecosistémicas (ECOPLANT), Cartago, Costa Rica

<sup>2</sup>Escuela de Ingeniería Forestal, Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica

## Resumen

*Atta cephalotes* es una especie de insecto defoliador que afecta el desarrollo del *Gmelina arborea* en condiciones de cultivo comercial; sin embargo, son pocos los estudios que analizan el proceso de recuperación del *G. arborea* desde el punto de vista fisiológico. En el presente análisis se evaluaron los efectos de la defoliación por *A. cephalotes* en el crecimiento y el desarrollo fisiológico e hidráulico de árboles juveniles. Se utilizaron 25 árboles con edad y condiciones morfométricas similares bajo las mismas condiciones ambientales; 16 de ellos se expusieron al ataque del insecto y su recuperación se evaluó durante 510 días, valorando el crecimiento (de diámetro y altura total), el desarrollo fisiológico (índice de área foliar, IAF; transpiración y valores de SPAD) e hidráulico (turgencia, movimiento del flujo de la savia, MFS, y contenido de humedad foliar, CHF). Se encontró que las plantas atacadas sufrieron un déficit de crecimiento diamétrico del 39,0 % y de 64,3 % en altura. A nivel fisiológico se requirieron 120 días para la recuperación de los valores de SPAD y 150 días para recuperar la conductancia estomática y el IAF a niveles similares a los del control. En cuanto a las variables hidráulicas, el periodo fue menor: la turgencia foliar se recuperó en 45 días y el MFS y la CHF en 60 días para alcanzar los mismos valores del control. Este comportamiento se explicaría por el estrés de la defoliación que obliga al árbol a reiniciar la recomposición foliar, lo que requiere el movimiento de azúcares, nutrientes y agua y hace que el movimiento hidráulico sea primordial para evitar la muerte del árbol por estrés.

**Palabras clave:** *Atta cephalotes*; defoliación; hidráulica arborea; fisiología arborea; *Gmelina arborea*.

## Abstract

*Atta cephalotes* is a species of scrubbing insect that affects the development of *Gmelina arborea* under commercial cultivation conditions. There has been little research regarding the physiological aspects of the recovery process of the affected tree. In the present study, we analyzed the effects of the defoliation generated by *A. cephalotes* on the growth and the physiological and hydraulic development of juvenile trees. We used 25 trees with similar age and morphometric conditions and placed them under the same environmental conditions; 16 of them were exposed to the attack by the insect and their recovery was evaluated for 510 days assessing growth (diametric and total height), physiological (index of foliar area - IFA, transpiration, and SPAD values) and hydraulic development (turgidity, sap flow movement - SFM, and foliar moisture content-CHF). We found that the trees under attack failed to recover their growth rate with a deficiency of 39.0% in diameter and 64.3% in height. At the physiological level, they required 120 days to recover the SPAD values and 150 days to recover the stomatal conductance and the IAF at similar levels to the control. On the other hand, with the hydraulic variables, the period was shorter: leaf turgor was recovered in 45 days and the MFS and CHF in 60 days to the same values of the control. This behavior would be explained by the defoliation stress which forces the tree to restart the foliar recomposition through the movement of sugars, nutrients, and water for which the hydraulic movement is essential to avoid death due to stress.

**Keywords:** *Atta cephalotes*; defoliation; tree hydraulics; tree physiology; *Gmelina arborea*

**Citación:** Valverde JC, Méndez D, Arias D. Efectos del defoliador *Atta cephalotes* Linnaeus. en el crecimiento y el desarrollo fisiológico e hidráulico de árboles juveniles de *Gmelina arborea* Roxb. en condiciones controladas. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):214-226, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.1030>

**Editor:** Jairo Castaño Zapata

**\*Correspondencia:**

Juan Carlos Valverde;  
[jvalverde@tec.ac.cr](mailto:jvalverde@tec.ac.cr)

**Recibido:** 17 de octubre de 2019

**Aceptado:** 16 de enero de 2020

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

## Introducción

*Gmelina arborea* es una especie arbórea perenne originaria del sureste asiático que se desarrolla naturalmente en regiones tropicales y subtropicales (Stuhrmann, *et al.*, 1994); se utiliza ampliamente en proyectos de reforestación con fines comerciales debido a su simplicidad de reproducción sexual y vegetativa (Swamy, *et al.*, 2003). La madera se usa comúnmente en embalajes, construcción, fabricación de muebles, y biomasa con fines energéticos, entre otros, por sus excelentes propiedades físicas y mecánicas (Swamy, *et al.*, 2004). En Costa Rica es una de las especies más usadas en los programas de reforestación comercial con fines maderables y cuenta con un mercado de gran demanda, al punto que se ha desarrollado un ambicioso programa de mejoramiento genético para incrementar su productividad y resistencia a patógenos, específicamente a hongos y bacterias (Ávila-Árias, *et al.*, 2015; Murillo-Gamboa, *et al.*, 2016).

Uno de los factores que deben considerarse en los programas de reforestación forestal con *G. arborea* es el control fitosanitario para evitar el ataque de plagas o patógenos que reduzcan la productividad del cultivo o aumenten la mortalidad de los individuos, lo que afectaría directamente la calidad y viabilidad económica del cultivo (Maniklal & Yogesh, 2010). Entre las plagas que más afectan a *G. arborea* se encuentra el defoliador *Atta cephalotes*, hormiga forrajera generalista que forma colonias de gran tamaño y tiene capacidad de defoliar grandes áreas en poco tiempo (Valadares & Nascimento, 2016), lo que incide directamente en la productividad, la supervivencia y la calidad de los individuos afectados. En los estudios de Bhusal, *et al.* (2019) se ha determinado una disminución del 33 % de la productividad y un aumento del 20 % en la mortalidad en cultivos de *Malus domestica* debido a la pérdida de área foliar, que genera un estrés fisiológico negativo en el individuo, el cual pierde su capacidad fotosintética obligando a que la energía acumulada por el organismo se dedique a la recuperación, con el consecuente estancamiento del crecimiento y la aparición de condiciones críticas que llevan a la muerte de la planta (Valadares, *et al.*, 2015).

Los estudios sobre el ataque del *A. cephalotes* en especies arbóreas han aumentado en las últimas décadas; se destaca entre ellos la investigación de Ribeiro & Woessner (1980), quienes analizaron el efecto de defoliación de *A. cephalotes* en *G. arborea* y *Pinus caribaea* var. *hondurensis* y encontraron una tasa de reducción diaria del 6 % en el índice de área foliar de los árboles. Por su parte Peres Filho, *et al.* (2002) analizaron en condiciones de invernadero la incidencia y la gravedad del ataque de *Atta sexdens* en la cobertura foliar de 41 especies tropicales y encontraron variaciones significativas entre especies, con mayor efecto en las especies de lámina foliar amplia. Awotoye, *et al.* (2016) analizaron en 16 especies arbóreas tropicales la recuperación de la cobertura foliar y establecieron un retardo del crecimiento del 10 al 26 %, en tanto que Arenas & Roces (2016) analizaron los patrones de distribución y ataque de la hormiga en cultivos agrícolas y encontraron nidos con áreas de desarrollo de 2 a 20 m<sup>2</sup> y con una capacidad de afectación de 500 m a la redonda. Silva-Junior, *et al.* (2017), por su parte, evaluaron el tipo de ataque de *A. sexdens* en cultivos de *Zea mays* y determinaron una defoliación total en el 36 % del cultivo y un 28 % de afectación parcial con un 29 % de pérdida en la productividad. Por último, Santos-Reis, *et al.* (2019) analizaron distintos métodos de control de la plaga en una región tropical y determinaron que los métodos químicos tuvieron mayor efectividad para controlar el ataque de la especie en árboles juveniles.

Sin embargo, hasta el momento no se ha reportado ningún estudio enfocado en evaluar el previo, durante y después de un ataque de *A. cephalotes* desde una perspectiva fisiológica e hidráulica y su impacto en el crecimiento a lo largo del tiempo. Santana-Vieira, *et al.* (2010) mencionan que en el desarrollo de planes de manejo integral de plagas se deben entender y dimensionar los efectos que tiene la plaga en el desarrollo y la capacidad de recuperación de la plata afectada; con un mayor conocimiento sería posible desarrollar paquetes tecnológicos para mitigar el efecto del patógeno y mejorar la calidad de los individuos. Por ello es fundamental entender el desarrollo fisiológico de las plagas

defoladoras. **Amaral & Machado-Santelli** (2008) mencionan cómo este tipo de plagas reduce el área foliar y con ello la capacidad de que el organismo desarrolle los procesos de fotosíntesis y generación de azúcares necesarios para su crecimiento, lo que incide en el estrés fisiológico y, por ende, en la generación de enzimas y aminoácidos que generan estancamiento; a ello deben agregarse los factores ambientales como la falta de agua o nutrientes que desencadenan la marchitez permanente y la muerte de la planta.

**Valverde & Arias** (2018) mencionan que el conocimiento de la fisiología y la hidráulica de las especies arbóreas tropicales es fundamental para el desarrollo de actividades silviculturales que permitan mejorar la calidad y supervivencia de los cultivos y adoptar medidas de mitigación frente a los ataques de patógenos. En este sentido, son necesarias las investigaciones que permitan entender el estrés fisiológico e hidráulico generado por la defoliación, y cuantificar y dimensionar el proceso de recuperación del árbol y la forma en que incide en el crecimiento y calidad del cultivo. En dicho contexto, el objetivo de este trabajo consistió en analizar los efectos de la defoliación generada por *A. cephalotes* en el crecimiento y desarrollo fisiológico e hidráulico de árboles juveniles de *G. arborea* en condiciones controladas.

## Materiales y métodos

### *Especie y condiciones del estudio*

Se incluyeron 25 árboles de *G. arborea* con una edad inicial de 11 meses; el material empleado consistió en semillas mejoradas procedentes de un huerto semillero del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) que se sembraron en macetas de 40 cm de profundidad y 35 cm de diámetro; el sustrato empleado fue un suelo franco arcilloso, con un pH de 6,2, una disponibilidad de nitrógeno de 2,3 cmol kg<sup>-1</sup>, una de fósforo de 0,16 cmol kg<sup>-1</sup> y de potasio de 4,3 cmol kg<sup>-1</sup>, y 5,5 % de material orgánico. Además, se aseguró que el suelo estuviera libre de patógenos, para lo cual se esterilizó previamente, y que fuera homogéneo, lo que se garantizó filtrándolo para eliminar piedras y desechos orgánicos.

Las macetas se colocaron con una separación 50 cm y se ubicaron en un sitio totalmente expuesto a la intemperie, alejadas a 30 m a la redonda del árbol más próximo y con una exposición diaria de 12 horas de luz natural. No se aplicó fertilizante alguno a las plantas durante el experimento y se les suministraron 700 ml/semana de agua según las indicaciones de **Valverde** (2015) en sus ensayos de estrés hídrico con la misma especie en condiciones controladas; la base de la maceta se forró con aluminio para evitar que en los días de lluvia el agua se filtrara a la maceta.

El sitio de estudio fue un campo de prácticas ubicado en Cartago, Costa Rica (9°84' N; 83°86' O), situado a una altitud de 1.320 m, con una temperatura media anual de 25 °C y una precipitación anual de 2.100 mm concentrada en siete meses de lluvia de mayo a noviembre (**Instituto Meteorológico Nacional - IMN**, 2018). En el sitio se instalaron tres miniestaciones climáticas automatizadas (iButton, Maxim integrated™), las mediciones se realizaron cada hora durante todo el tiempo del estudio, lo que permitió registrar una temperatura promedio de 27 °C y una humedad relativa del 68 %.

### *Tiempo de estudio y ataque del *Atta cephalotes**

El experimento se desarrolló entre diciembre del 2016 y mayo del 2018 (510 días en total) y se inició en época de transición lluviosa a seca; las plantas se adaptaron a las condiciones del estudio durante dos meses antes del inicio del experimento tiempo en el que no se recolectaron datos fisiológicos debido a la gran variabilidad que mostraron los individuos. En febrero del 2017, 16 plantas de *G. arborea* se expusieron al ataque de hormigas *A. cephalotes* y a partir de ese momento se evaluó el proceso de recuperación hasta el final del experimento. La colonia de hormigas se ubicó a una distancia de 120 m de las plantas y su tamaño aproximado fue de 3,2 m<sup>2</sup>, con un conteo de bocas de 26,3 por m<sup>2</sup>, con un montículo de altura promedio de 1,63 m, un montículo principal de 2,85 m<sup>3</sup> y un área

de respiradero de 0,62 m<sup>2</sup>; el ancho de la pinta principal fue de 10,82±5,66 cm, con un número de hormigas obreras de 32,66±12,65 por minuto; todas las evaluaciones del nido se ajustaron a la metodología de **Montoya-Lerna, et al.** (2006).

Además de las plantas atacadas, se mantuvieron nueve plantas de control en las mismas condiciones, las cuales se protegieron con agentes químicos (imidacloprid al 0,03 % en dosis de 1.000 ml/ha<sup>-1</sup>, aplicado dos veces durante el desarrollo del estudio) y físicos (se colocaron láminas metálicas de 20 cm alrededor de las plantas) para evitar su defoliación.

En el experimento se evaluaron el crecimiento diamétrico a nivel de base del individuo y la altura total y las variables fisiológicas e hidráulicas cada 30 días durante los primeros 360 días y luego cada 90 días hasta el final de experimento. En el caso específico del ataque de *A. cephalotes* el índice de área foliar (IAF) se evaluó diariamente hasta que el árbol se defolió en su totalidad. Las mediciones se hicieron entre las 09:00 y las 11:00 (GMT-6 Central América) con el fin de mantener la homogeneidad en las condiciones de muestreo; se controló la temperatura, la humedad relativa y la luminosidad para que su variabilidad no infiriera en los datos obtenidos.

#### ***Pérdida de IAF por el ataque de A. cephalotes***

Para determinar la pérdida de IAF se empleó la metodología de **Valverde, et al.** (2017); las mediciones se tomaron mediante fotografías digitales hemisféricas a la misma hora (GMT-6 Central América) y se les aplicó el mismo procedimiento de análisis empleado para la recuperación foliar.

#### ***Variables fisiológicas evaluadas***

A cada planta de *G. arborea* se le seleccionaron tres hojas de edad intermedia según la metodología de **Valverde & Arias** (2018), caracterizadas por estar libres de defectos, para valorar las siguientes variables: contenido relativo de clorofila (medido con SPAD), conductividad estomática (Gs) y área foliar específica (AFE).

El valor del contenido relativo de clorofila en las hojas se midió con un SPAD-502 (Konica Minolta®), que cuenta con un área efectiva de valoración de 5 mm<sup>2</sup>.

La conductividad estomática se evaluó mediante el uso de un Leaf Porometer CS-1 (Degacon Devices, Inc®), que cuenta con una cámara de apertura de medición de 6,35 mm de diámetro.

Para el IAFs e consideró el índice de área de la planta (IAP), definido por la sumatoria del área foliar y la parte leñosa aérea de la planta, como parámetro para obtener el IAF indirecto a partir de imágenes fotográficas hemisféricas. Las mediciones se hicieron en marzo de 2016 aplicando la metodología propuesta por **Mougin, et al.** (2014) y **Chianucci, et al.** (2014), con clima totalmente nublado y sin presencia de viento.

Para obtener las fotografías digitales hemisféricas se utilizó un teléfono móvil marca ASUS®, modelo Zenfone 5, con una cámara de 8MP (una resolución de 2024 pixeles × 2024 pixeles en formato RGB) y con la aplicación móvil Fisheye Pro, versión 1.2 (R22) para la plataforma Android. Todas las fotografías se tomaron niveladas con la ayuda de un trípode, a una altura de 60 cm sobre el nivel del suelo y con la dirección hacia el norte previamente marcada.

Las fotografías hemisféricas se procesaron con el programa CAN\_EYE, versión 6.3.13, previamente calibrado siguiendo el método descrito en el manual del fabricante (**Weiss, et al.**, 2004). Se limitó el grado de visión de las imágenes a 60° y con la opción de recorte del programa se eliminaron las copas de los árboles que rodeaban a cada individuo de estudio, con el fin de prevenir las distorsiones y sesgos en el cálculo del IAP; asimismo, se configuró un ángulo zenith (sobre el eje espacial Z) de 2,5° y un azimut (sobre el eje espacial Y) de 5° (**Chianucci, et al.**, 2014), con un análisis de pixeles del tipo *No mixed pixels* (2 clases); el algoritmo seleccionado fue el IAF-2000 de 4 anillos debido a que en estudios previos de **Chianucci, et al.** (2015) demostró tener una mayor precisión en especies tropicales.

### **Variables hidráulicas evaluadas**

**Turgencia foliar (Pp).** Este parámetro se determinó mediante unidades ZIM-probe (Yara®) de 82 mm<sup>2</sup> de cobertura, cuyos valores se generan a partir del principio de la ecuación 1.

$$P_p = \left( \frac{b}{aP_c + b} \right)^{\frac{1}{a}} \cdot F_a \cdot P_{clamp} \quad (1),$$

donde  $a$  y  $b$  son constantes,  $F_a$  es el factor de atenuación específico de la hoja y  $P_{clamp}$  es un factor de atenuación del sensor. Las hojas seleccionadas para recolectar datos con el Zim-probe se caracterizaron por no tener presencia de agua superficial ni defectos o decoloraciones atípicas que pudieran producir distorsiones en la medición.

**Movimiento del flujo de savia (MFS).** El MFS se monitoreó con la técnica de pulso de compensación por calor desarrollada por **Gower, et al.** (1999). Se utilizaron sensores de MFS de ICT International©, con una profundidad máxima de evaluación de 60 mm y el equipo utilizó un pulso de calor de 1 J h<sup>-1</sup>; se instalaron aproximadamente a 20 cm por encima de nivel del suelo. Las tasas de flujo de tallo (l h<sup>-1</sup>) de ambos tratamientos se monitorearon específicamente a las 06:00, 12:00 y 15:00 (GMT-6 Central América); para el ajuste del equipo se utilizaron los datos anatómicos disponibles para la especie (**Zimberman, et al.**, 2008). Las mediciones se realizaron en los mismos puntos de muestreo a lo largo del tiempo, manteniendo constante el protocolo de instalación, con los puntos de medición de los sensores cubiertos con una capa de 5 cm de algodón y tres capas de aluminio, tal como se recomienda en la metodología de **Bush, et al.** (2010).

**Contenido de humedad foliar (CHF).** De cada planta se extrajo una hoja compuesta que se pesó y secó a una temperatura de 80 °C durante 48 horas para obtener el peso seco que permitió calcular el contenido de humedad con la ecuación 2:

$$CHF(\%) = \left( \left( \frac{PS}{PV} \right) - 1 \right) \cdot 100 \quad (2),$$

donde  $CHF$  es el contenido de humedad en porcentaje,  $PS$  es el peso seco de la hoja compuesta (en gramos) y  $PV$  es el peso fresco de la hoja compuesta (en gramos).

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Para la reducción del IAF se utilizó estadística descriptiva y para estimar la pérdida de tiempo, estadística descriptiva. El diseño experimental fue simple aleatorio; con el fin de evaluar el efecto del ataque de *A. cephalotes* en el crecimiento y la fisiología e hidráulica de los árboles, se aplicaron previamente los supuestos de normalidad y homocedasticidad propios de la estadística paramétrica. Posteriormente se hizo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y a las variables que mostraron diferenciaciones se les aplicó la prueba de Tukey, con un nivel de significación de 0,05. Los análisis se realizaron con el programa STATISTICA 10.3.

Debe mencionarse que los aspectos fitosanitarios no se consideraron debido a que en el momento de recuperación de la planta hubo un monitoreo constante para que no se presentara un ataque de algún otro patógeno controlando la presencia de bacterias, hongos o insectos que afectaran la calidad de las plantas.

## **Resultados**

### **Pérdida de IAF por el ataque de *Atta cephalotes***

Antes del ataque de *A. cephalotes* el IAF de las plantas era de 0,62 m<sup>2</sup>m<sup>-2</sup>. En el momento del ataque de la hormiga se observó el mismo patrón de reducción del IAF de la copa de los árboles: en promedio, a las 72 horas de iniciada la defoliación, el árbol perdió la totalidad de la cobertura vegetal de la copa (**Tabla 1**). El patrón de ataque del insecto consistió en la eliminación de las hojas maduras más cercanas, lo que determinó que a las 48 horas de iniciada la defoliación, la pérdida del IAF fuese de 67,21 %. A las 49 horas, la parte alta de la copa fue atacada por las hormigas y defoliada totalmente en las 72 horas posteriores al inicio del ataque.

**Tabla 1.** Pérdida del índice del área foliar (IAF), porcentaje de reducción y reducción acumulada en el tiempo en árboles juveniles de *G. arborea* por el ataque de *A. cephalotes* en condiciones controladas

Tiempo de afectación (horas)	IAF (m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup> )	Reducción del IAF (%)	Reducción acumulada del IAF (%)
0	0,61 (0,15)	0,00	0,00
24	0,45 (0,12)	26,23	26,23
48	0,21 (0,10)	40,98	67,21
72	0	32,79	100,00
Planta de control (durante 72 horas)	0,61 (0,19)	-	0,00

**Nota:** los datos entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

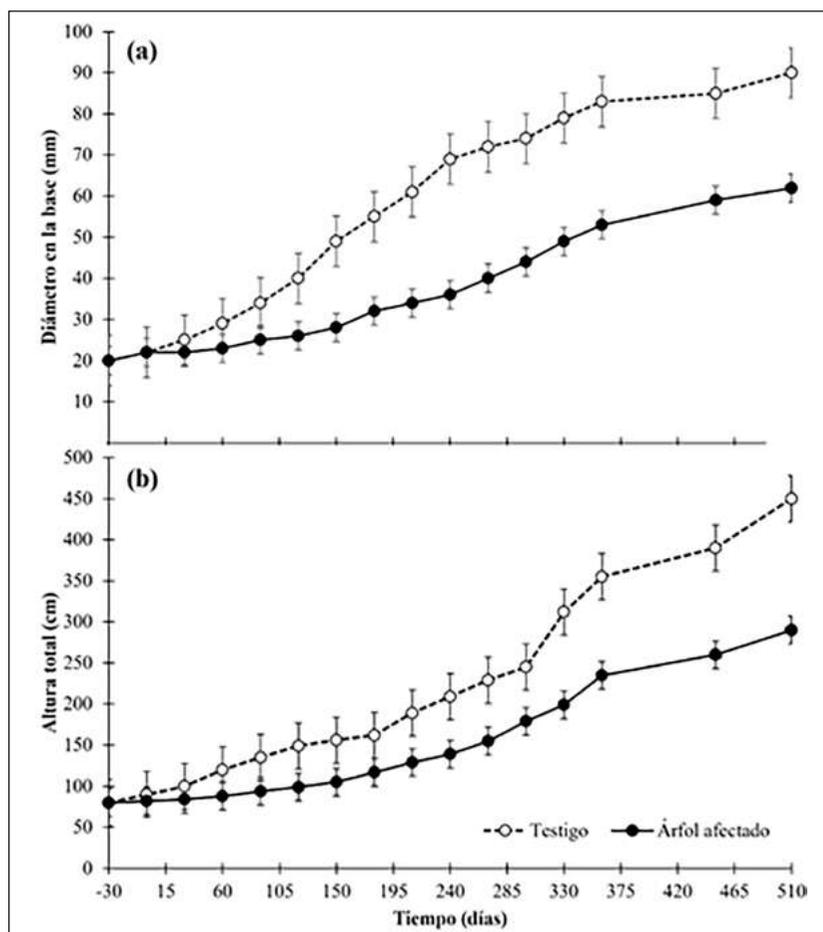
### *Efecto de la defoliación en el crecimiento*

En la **figura 1** se presenta el crecimiento diamétrico y en altura de las plantas de *G. arborea* antes, durante y después del ataque de *A. cephalotes*. Este se obtuvo a nivel diamétrico (**Figura 1a**), en el cual no se habían identificado diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en el diámetro de la base de los árboles antes del ataque de la hormiga, siendo, en promedio, de 21,61 mm. Después de la defoliación de los árboles no se encontraron diferencias ( $p < 0,05$ ) en el crecimiento hasta el día 60, en el cual las plantas de control presentaban un diámetro significativamente mayor ( $p < 0,05$ ), de 90,62 mm en promedio, con respecto a las plantas afectadas por *A. cephalotes*, 62,33 mm, en promedio. Se presentó un patrón de crecimiento menor que el de las plantas de control, el cual llegó a ser de 39 %. En el caso del crecimiento en altura total (**Figura 1b**), se presentó el mismo patrón: al inicio del experimento no había diferencias ( $p < 0,05$ ) entre las alturas, con un valor promedio de 82,11 cm, pero a los 60 días, comenzó un crecimiento significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en las plantas de control con respecto a las plantas atacadas por *A. cephalotes*, al punto que a los 360 días el retraso de estas fue del 66,1 %; al finalizar el experimento las plantas de control presentaban una altura de 452,2 cm, en comparación con las defoliadas, que fue de 290,6 cm.

### *Proceso de recuperación fisiológico*

La variación fisiológica de los árboles de control y de los afectados por *A. cephalotes* se presentan en la **figura 2**. En general, se determinó que: 1) no existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los datos del SPAD, la Gs y el IAF antes de la afectación por *A. cephalotes* entre las plantas de control y las afectadas; 2) después del ataque de *A. cephalotes* se debió esperar 60 días para disponer de hojas con la madurez fisiológica suficiente para la medición de SPAD y la Gs, por lo que en los primeros 60 días no se contó con información fisiológica; 3) la respuesta de reactivación fisiológica de la planta reflejada en el IAF de las plantas afectadas a los 30 días se debió a que *A. cephalotes* dejó los brotes de hojas nuevas en las plantas afectadas, lo que permitió que comenzaran a aparecer nuevas láminas foliares; 4) el IAF fue la única variable que no llegó a presentar significación estadística en las plantas de control ( $p < 0,05$ ) después de finalizado el experimento. El contenido relativo de clorofila en las hojas (SPAD) (**Figura 2a**) antes del ataque de *A. cephalotes* presentó un valor promedio de 30,11; después de la afectación se requirieron 120 días para que las nuevas láminas foliares presentaran contenidos de SPAD estadísticamente no significativos ( $p < 0,05$ ), en tanto que las hojas mostraron valores de 28 a 44 % menos SPAD. Después de su recuperación, no hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambos grupos.

En cuanto a la conductancia estomática (Gs) (**Figura 2b**), el comportamiento fue similar: antes de la defoliación las plantas registraban un valor promedio de 189,44  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ , después de la pérdida de la lámina foliar se requirieron 150 días para que la



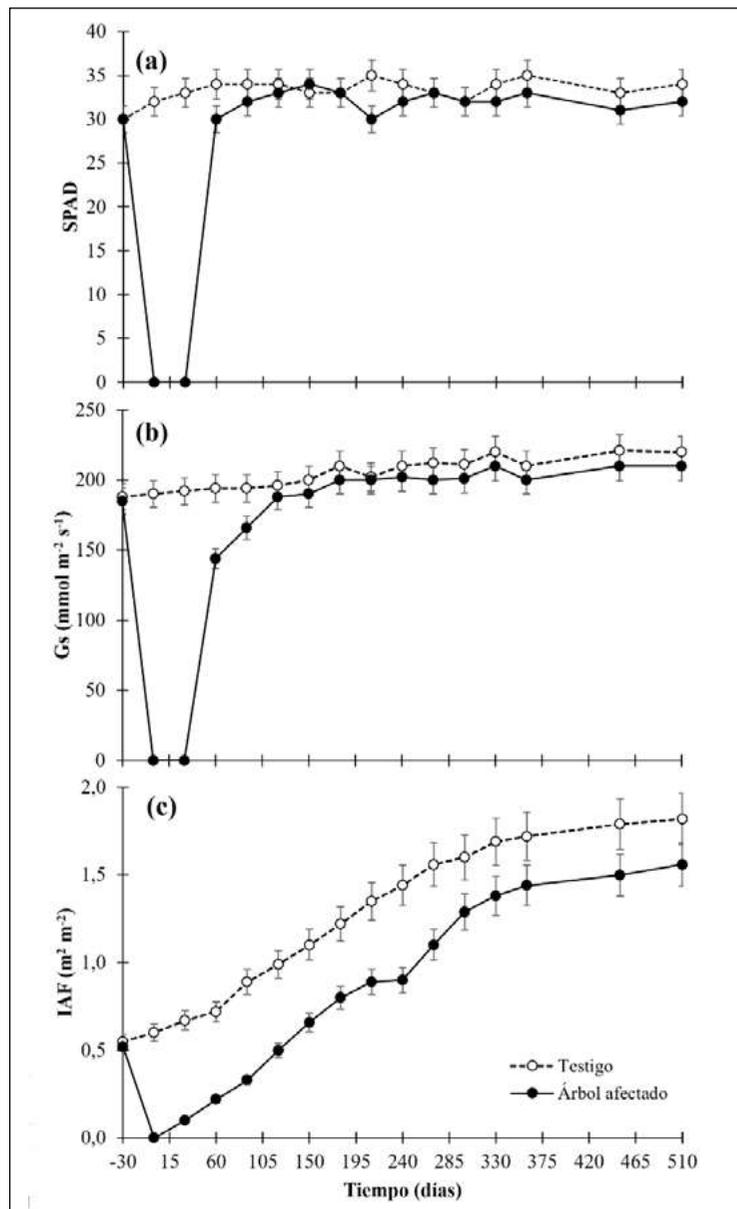
**Figura 1.** Crecimiento diamétrico (a) y de altura total (b) de los árboles de control de *G. arborea* y de los afectados por el ataque de *A. cephalotes* en condiciones controladas

cobertura foliar presentara datos significativos ( $p < 0,05$ ) en la planta de control y a partir de este momento ninguno de los tratamientos mostró una variación representativa ( $p < 0,05$ ). Por último, el IAF continuó sin mostrar variación con un valor promedio de  $0,61 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$  y después de que *A. cephalotes* eliminó toda la cobertura foliar, los árboles empezaron a recuperarse. A los 150 días se presentó un IAF inferior a 47,6 % con respecto a las plantas de control y después, las plantas afectadas continuaron incrementando el IAF, pero manteniendo valores significativamente menores ( $p < 0,05$ ), y al final del experimento el déficit era del 26,5 %.

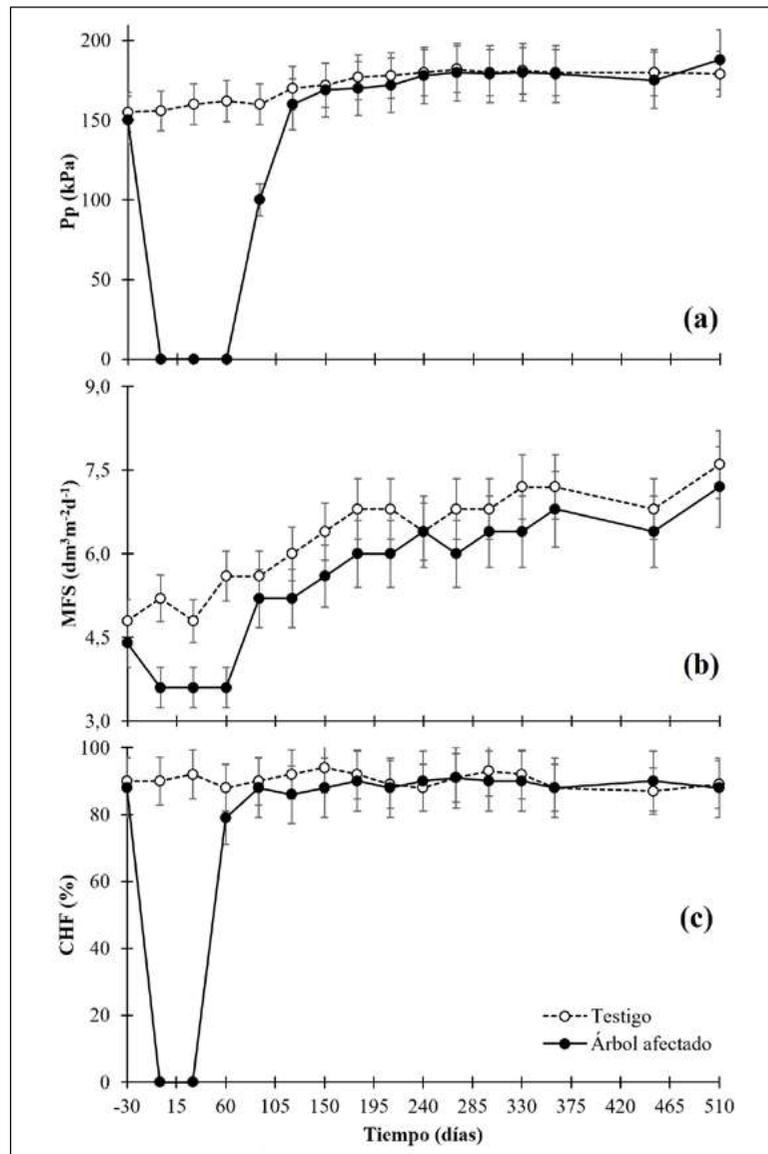
#### **Proceso de recuperación hidráulico**

El comportamiento de recuperación hidráulica de los árboles afectados por *A. cephalotes* (Figura 3) se caracterizó por: 1) una recuperación rápida, pues, en general, se requirieron 75 días para que las plantas afectadas mostraran el mismo comportamiento de las plantas de control; 2) la variable con menor variación fue el MFS debido a que esta se evalúa en el fuste de las plantas y permite determinar el transporte hidráulico en la xilema vascular; 3) la recuperación hidráulica foliar se incrementó con el tiempo y la madurez de la hoja, contrario a las variables fisiológicas. En cuanto a la turgencia foliar (Figura 3a), las plantas mostraron un valor promedio de 165 kPa en el momento del ataque de *A. cephalotes*; el Pp fue nulo debido a la pérdida de hojas, y a los 45 días de regeneración, las primeras hojas mostraron una recuperación del 56 %; en el día 60 mostraron valores estadísticamente iguales ( $p < 0,05$ ) a las plantas de control.

En el caso del MFS (**Figura 3b**), la tendencia de las plantas de control fue hacia el aumento a medida que crecían. En el inicio del experimento el movimiento hidráulico promedio fue de  $4,61 \text{ dm}^3\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y no hubo variación entre los dos tratamientos y su valor se incrementó a los 510 días a  $6,98 \text{ dm}^3\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Las plantas que presentaron pérdida de cobertura foliar tuvieron una reducción del MFS de 45,7 % en los 30 días posteriores al ataque, cuando los árboles comenzaron a aumentar el MFS, y en el día 60 mostraron valores estadísticamente iguales a las plantas de control ( $4,89 \text{ dm}^3\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ); a partir de este momento el MFS tendió a aumentar de la misma manera que en las plantas de control. Por último, el CHF (**Figura 3c**) tuvo un valor homogéneo durante todo el experimento, siendo en promedio de 89 %; las plantas atacadas por *A. cephalotes* requirieron de 45 días para presentar valores similares a las de control, periodo en el que los valores fueron nulos debido a la ausencia de hojas con algún grado de madurez.



**Figura 2.** Variación de los valores de SPAD (a), conductancia estomática (b) e IAF (c) en árboles juveniles de *G. arborea* de control y afectados por el ataque de *A. cephalotes* en condiciones controladas



**Figura 3.** Variación de la turgencia foliar (a), el movimiento de flujo de la savia (b) y el contenido de humedad foliar (c) en árboles juveniles de *G. arborea* de control y afectados por el ataque de *A. cephalotes* en condiciones controladas

## Discusión

El retardo en el crecimiento, específicamente en la altura, se debe a la pérdida de la cobertura foliar, ya que el árbol no puede desarrollar los procesos de transpiración y fotosíntesis necesarios para la generación de azúcares y enzimas que permiten el crecimiento del meristemo apical (Trager, *et al.*, 2013). A nivel diamétrico, por la reducción de azúcares y proteínas el árbol entra en un proceso de estrés fisiológico en el que desarrolla estrategias mecánicas de estancamiento del crecimiento en el lumen, ya que las reservas energéticas se distribuyen en el meristemo apical y en los meristemos secundarios, con el fin de generar nuevas láminas foliares y reactivar la fotosíntesis. Desde la perspectiva química, el árbol inicia la generación de ácido abscísico (ABA), cuya función es generar procesos de dormancia, acumulación de reservas nutritivas y tolerancia a la desecación (Dietrich & Kahmen, 2019), además de producción de proteínas básicas para el desarrollo radicular,

esto con el fin de obtener los nutrientes y compuestos necesarios para la supervivencia del árbol y la generación de nuevas hojas, lo cual requiere que el crecimiento se suspenda como medida de reducción energética y, por ende, del movimiento hidráulico, centrando los elementos móviles en los meristemos y produciendo un estrés positivo radicular para la captación de nutrientes (**Bhusal, et al., 2019**).

El estrés negativo generado por el ataque de *A. cephalotes* en las condiciones de estudio se puede clasificar de moderado, y si bien hubo un estancamiento en el crecimiento, el proceso de recuperación foliar fue corto, comportamiento similar al reportado por **Brunetti, et al. (2019)**, y las plantas tuvieron una rápida recuperación foliar debido a los movimientos nutricionales rápidos de la raíz a la parte superior del tallo para la activación de los meristemos laterales y apical, de ahí que la recuperación hidráulica se dé antes que la fisiológica. Por su parte **Pereyra, et al. (2019)** han señalado que en condiciones de estrés, el xilema tiene una función primordial en la reactivación metabólica del organismo, y en el movimiento constante de nutrientes (nitrógeno, potasio y fósforo), carbohidratos (glucosa, sacarosa y maltosa) y proteínas primarias.

La recuperación fisiológica lenta en comparación con la hidráulica se debe, según **Evans & Ortega (2019)**, **Fajstavr, et al. (2019)** e **Iwasaki, et al. (2014)**, a que la planta requiere movilización nutricional para la formación de nuevas hojas. Generalmente, las primeras hojas se caracterizan por tener un área de lámina menor debido a que el ABA limita el tamaño para evitar pérdida energética y se enfoca en generar cobertura que reactive la fotosíntesis. Después de una defoliación total la planta debe readecuarse y generar una recuperación que le evite entrar en el punto de marchitez permanente (**Heraldo, et al., 2019**). La regulación de elementos móviles como el nitrógeno, el fósforo y el potasio se debe a que son fundamentales para el proceso de fotosíntesis dentro del ciclo de Calvin; en especial en plantas C3, su reducción incide en la reducción del tamaño de las hojas, la disminución de la turgencia y una gran reactivación de meristemos secundarios en aras de la supervivencia. Estos aspectos provocan que la transpiración y los valores de SPAD sean menores a los de las hojas de control. A medida que el individuo empieza a tener un IAF mayor, las hojas empiezan a generar azúcares, proteínas y aminoácidos y a disminuir las concentraciones de ABA. **Trifilò, et al. (2019)** encontró en tres especies arbóreas de *Trichilia* spp. una disminución química de sacarosa del 20 % y de aminoácidos esenciales de 15 % producto del incremento de la concentración de ABA de 5 % como consecuencia del aumento de 2 °C en la temperatura, lo que inhibe directamente la capacidad estomática generando un aumento en el cierre de estomas. La reducción en la concentración del ABA en plantas recuperadas puede variar según las condiciones ambientales de temperatura, humedad relativa y precipitación.

La recuperación de los árboles afectados por el defoliador es vital desde las perspectivas hidráulica y fisiológica, pero su impacto en el crecimiento y la productividad es significativo. Dada la pérdida energética por la ausencia de procesos fotosintéticos, la recuperación gradual del árbol depende del aumento del IAF, aspecto que **Wang, et al. (2019)** consideraron fundamental para mejorar las condiciones de la planta, ya que cuanto mayor sea el aumento de láminas foliares, la estabilización fisiológica e hidráulica será mayor y, con ello, la reactivación de crecimiento será menor, de ahí que el uso de técnicas como la inyección nutricional en el fuste o la aplicación de nutrimentos en el suelo ricos en nitrógeno, fósforo y potasio puede mejorar la capacidad de recuperación de los árboles. **Munitz, et al. (2019)** determinaron en especies arbustivas una disminución del 33 % en el tiempo de recuperación de arbustos podados a los que se les aplicó fertilizante en el suelo, debido a que obtuvieron mayor cantidad de elementos nutricionales movilizados a la copa y con la capacidad de sintetizar carbohidratos y proteínas que permitieran la formación de nuevas hojas.

## Conclusiones

*Atta cephalotes* generó un retraso en el crecimiento de los árboles de 39,0 % en el diámetro y de 64,3 % en la altura. A nivel fisiológico, se requirieron 120 días para la recuperación de los SPAD y 150 días para que la conductancia estomática y el IAF fueran similares a los

de las plantas de control. Para las variables hidráulicas el periodo fue menor: la turgencia foliar se recuperó en 45 días y el MFS y el CHF en 60 días. Este comportamiento se debió a que, en respuesta al estrés de la defoliación, el árbol debe reiniciar la recomposición foliar, lo que requiere el movimiento de azúcares, nutrientes y agua; para ello el movimiento hidráulico es primordial en el proceso de recuperación y para incremento del IAF y la estabilización de crecimiento.

## Contribución de los autores

JCV: experimentos de campo y redacción del manuscrito; DM: redacción manuscrito; DA: análisis estadísticos. Todos los autores contribuyeron a la revisión del documento y estuvieron de acuerdo en su envío.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Referencias

- Amaral, M., Machado-Santelli, G.** (2008). Salivary system in leaf-cutting ants (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908) castes: A confocal study. *Micon*, **39**: 1222-1227.
- Arenas, A. & Roces, F.** (2016). Gardeners and midden workers in leaf-cutting ants learn to avoid plants unsuitable for the fungus at their worksites. *Animal Behaviour*, **115**: 167-174. Doi: 10.1016/j.anbehav.2016.03.016
- Ávila-Arias, C., Murillo-Cruz, R., Murillo-Gamboa, O.** (2015). Selección de clones superiores de dos conjuntos genéticos de *Gmelina arborea* en el Pacífico Sur de Costa Rica. *Revista de Ciencias Ambientales*. **49** (1): 17-35. Doi: 10.15359/rca.49-1.2
- Awotoye O., Ogunbanjo O., Jeminiwa S.M., Okanlawon F.B., Oyelami B.A.** (2016). Comparative Evaluation of Fodder Yield and Leaf Quality of Some Selected Tree Species. *Environment and Ecology Research*. **4** (3): 116-118.
- Bhusal, A., Han, S., Yoon, T.** (2019). Impact of drought stress on photosynthetic response, leaf water potential, and stem sap flow in two cultivars of bi-leader apple trees (*Malus × domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*. **246**: 535-543.
- Brunetti, C., Sebastiani, F., Tattini, M.** (2019). Review: ABA, flavonols, and the evolvability of land plants. *Plant Science*. **280**: 448-454.
- Bush, S., Hultine, K., Sperry, J., Ehleringer, J.** (2010). Calibration of thermal dissipation sap flow probes for ring and diffuse-porous trees. *Tree Physiology*. **14**: 1545-1554.
- Chianucci, F., Macfarlane, C., Pisek, J., Cutini, A., Casa, R.** (2014). Estimation of foliage clumping from the LAI-2000 Plant Canopy Analyzer: Effect of view caps. *Trees*, **29**: 355-366.
- Dietrich, L. & Kahmen, A.** (2019). Water relations of drought-stressed temperate trees benefit from short drought-intermittent rainfall events. *Agricultural and Forest Meteorology*. **265**: 70-77.
- Evans, L. & Ortega, H.** (2019). Xylem conductivities in grasses. *Flora*. **257**: 170. 188.
- Fajstavr, M., Bednářová, E., Nezval, O., Giagli, K., Urban, J.** (2019). How needle phenology indicates the changes of xylem cell formation during drought stress in *Pinus sylvestris* L. *Dendrochronologia*. **45**: 330-340.
- Gower, S.T., Kucharik, C.J., Norman, J.M.**, (1999). Direct and indirect estimation of leaf area index, fAPAR, and net primary production of terrestrial ecosystems. *RemoteSens. Environmental*. **70**: 29-51.
- Heraldo, V. & Cherrett, M.** (2009) Leaf-cutting ants and early forest regeneration in central Amazonia: Effects of herbivory on tree seedling establishment, *Journal of Tropical Ecology*. **13**: 357-370.
- Instituto Meteorológico Nacional (IMN).** (2018). Condiciones Meteorológicas Nacionales. Fecha de consulta: junio de 2018. Disponible en: <http://www.imn.ac.cr>
- Iwasaki, N., Hori, K., Ikuta, Y.** (2014). Xylem plays an important role in regulating the leaf water potential and fruit quality of Meiwa kumquat (*Fortunella crassifolia* Swingle) trees under drought conditions. *Agricultural Water Management*. **214**: 47-54.
- Maniklal, A. & Yogesh, P. K.** (2010). In vitro Antioxidant Activity of Different Extracts of *Gmelina arborea*. *Free Radical Biology and Medicine*. **49**: 193-202.
- Montoya J., Chacón de Ulloa P., Manzano M.** (2006). Caracterización de nidos de la hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) en Cali, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*. **32** (2): 151-8.

- Montoya-Lerma, J., Giraldo-Echeverri, C., Armbrecht, I., Farji-Brener, A., Calle, Z.** (2012). Leaf-cutting ants revisited: Towards rational management and control. *International Journal of Pest Management*. **58**: 225-247.
- Mougin, E., Demarez, V., Diawara, M., Hiernaux, P., Soumaguel, N., Berg, A.** (2014). Estimation of IAF, fAPAR and fCover of Sahel rangelands (Gourma, Mali). *Agricultural and Forest Meteorology*. **198-199**: 155-167.
- Munitz, S., Schwartz, A., Netzer, Y.** (2019). Water consumption, crop coefficient and leaf area relations of a *Vitis vinifera* cv. 'Cabernet Sauvignon' vineyard. *Agricultural Water Management*. **219**: 86-94.
- Murillo-Gamboa, O., Salas-Rodríguez, A., Murillo-Cruz, R., Ávila-Arias, C.** (2016). Tasa de avance de la pudrición del tronco en melina *Gmelina arborea* Roxb. y posibilidades de manejo. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*. **13** (32): 40-50. Doi:10.18845/rfmk.v0i0.2551
- Peres Filho O., Dorval A., Berti Filho E.** (2002) Preferência de saúva limão, *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, formicidae) a diferentes espécies florestais, em condições de laboratório. *Ciência Florestal, Santa Maria*. **12** (2): 1-7.
- Pereyra, M., García, P., Colabelli, M., Barassi, C., Creus, C.** (2019). A better water status in wheat seedlings induced by *Azospirillum* under osmotic stress is related to morphological changes in xylem vessels of the coleoptile. *Applied Soil Ecology*. **53**: 94-97.
- Ribeiro, G. T. & Woessner, R. A.** (1980). Effect of different levels of artificial defoliation for the assessment of the damage caused by leaf-cutting ants (*Atta cephalotes* p.), to trees of *Gmelina arborea* Linne and *Pinus caribaea* var. hondurensis Barr & Golf. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil*. **9** (2): 261-272.
- Santana-Vieira, S., Bueno, O., Camargo-Mathias, M.** (2010). The functional morphology of the metapleural gland of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini). *Micron*. **41**: 149-157.
- Santos Reis, B., Silva, A., Alvarez, M., Oliveira, T., Rodrigues, A.** (2019). Fungal communities in gardens of the leafcutter ant *Atta cephalotes* in forest and cabruca agrosystems of southern Bahia State (Brazil). *Fungal Biology*. **119**: 1170-1178.
- Silva-Junior, E., Paludo, C., Valadares, L., Lopes, N., Nascimento, F., Pupo, M.** (2017). Aflatoxins produced by *Aspergillus nomius* ASR3, a pathogen isolated from the leaf-cutter ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **27**: 329-535.
- Stuhrmann, M., Bergmann, M., Zech, W.** (1994). Mineral nutrition, soil factors and growth rates of *Gmelina arborea* plantations in the humid lowlands of northern Costa Rica. *Forest Ecology and Management*. **70**: 135-145. Doi. 10.1016/0378-1127(94)90081-7
- Sturgis, S. & Gordon, M.** (2012). Nestmate recognition in ants (Hymenoptera: Formicidae): A review. *Myrmecol. News*. **16**: 101-110.
- Swamy, S., Kushwaha, S., Puri, S.** (2004). Tree growth, biomass, allometry and nutrient distribution in *Gmelina arborea* stands grown in red lateritic soils of Central India. *Biomass and Bioenergy*. **26**: 305-317.
- Swamy, S., Puri, S., Singh, A.** (2003). Growth, biomass, carbon storage and nutrient distribution in *Gmelina arborea* Roxb. stands on red lateritic soils in central India. *Bioresource Technology*. **90**: 109-126. Doi. 10.1016/S0960-8524(03)00120-2
- Trager, M., Ristau, T., Stoleson, S., Davidson, R., y Acciavatti, R.** (2013). Carabid beetle responses to herbicide application, shelterwood seed cut and insect defoliator outbreaks. *Forest Ecology and Management*. **289**: 269-277.
- Trifilò, A., Kiorapostolou, N., Petruzzellis, F., Vitti, S., Casolo, V.** (2019). Hydraulic recovery from xylem embolism in excised branches of twelve woody species: Relationships with parenchyma cells and non-structural carbohydrates. *Plant Physiology and Biochemistry*. **139**: 513-520.
- Valadares, L. & do Nascimento, F.** (2016). Chemical cuticular signature of leafcutter ant *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae) worker subcastes. *Revista Brasileira de Entomologia*. **60** (4): 308-311. Doi: 10.1016/j.rbe.2016.06.008
- Valadares, L., Nascimento, D., y Nascimento, F.** (2015). Foliar substrate affects cuticular hydrocarbon profiles and intraspecific aggression in the leafcutter ant *Atta sexdens*. *Insects*. **15**: 141-151.
- Valverde, JC.** (2015). Caracterización fisiológica e hidráulica de *Eucaliptus tereticornis*, *Eucaliptus camedulensis* y *Gliricidia sepium* en plantaciones de alta densidad para la producción de biomasa en Costa Rica. Tesis de Maestría. 71 p.

- 
- Valverde, J.C., Guevara-Bonilla, M., Arias, D., Briceño, E., Esquivel, E.** (2017). Efectos de las actividades de labranza en el índice de área foliar en una plantación de *Tectona grandis* en la zona norte de Costa Rica. *Maderas y Bosque*. **23**: 7-19.
- Valverde, J.C. & Arias, D.** (2018). Variation of physiological parameters in juvenile treetops of *Eucalyptus tereticornis* from a three-dimensional perspective. *Espirales revista multidisciplinaria de investigación*. **2**: 112-122.
- Wang, W., Chen, J., Luo, X., Black, A., Arain, A.** (2019). Seasonality of leaf area index and photosynthetic capacity for better estimation of carbon and water fluxes in evergreen conifer forests. *Agricultural and Forest Meteorology*. **279**: 344-353.
- Weiss, M., Baret, F., Smith, G.J., Jonckheere, I., Coppin, P.** (2004). Review of methods for *in situ* leaf area index (IAF) determination. Part II. Estimation of IAF, errors and sampling. *Agric. For. Meteorol.* **121**: 37-53.
- Zimmermann, D., Westhoff, M., Zimmermann, G.** (2007). Foliar water supply of tall trees: Evidence for mucilage-facilitated moisture uptake from the atmosphere and the impact on pressure bomb measurements. *Protoplasma*. **232**: 11-34.

Artículo original

## Nuevos registros de Pucciniales sobre Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae en páramos de Antioquia, Colombia

### New records of Pucciniales on Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grosulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae in páramos of Antioquia, Colombia

● Katherin Maritza Vanegas-Berrouet<sup>1,\*</sup>, ● Mauricio Salazar-Yepes<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Valorar S.A, Avalúos de Especies Vegetales, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Museo Micológico-MMUNM, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

## Resumen

El estudio tuvo como objetivo presentar los nuevos registros de Pucciniales recolectados en el departamento de Antioquia en los páramos de Santa Inés, Serranía de las Baldías, Sonsón y del Sol sobre plantas de las familias Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae. Se destacan dos nuevos registros para Colombia (*Puccinia pseudoatra* y *Puccinia pygmaea*) y catorce nuevos huéspedes parasitados con roya en el país. Estos nuevos huéspedes evidencian cómo los páramos son refugios de royas de importancia económica tales como *Kweilingia divina*, *Puccinia coronata*, *Puccinia menthae*, *Puccinia recondita*, *Puccinia striiformis* y *Uredo anthurii*.

**Palabras clave:** Alta montaña; Biodiversidad; Fungi, Royas, Uredinales.

## Abstract

This paper aims to present the new Pucciniales records collected in the department of Antioquia at the páramos of Santa Inés, Serranía de las Baldías, Sonsón, and Sol on plants from the families Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae, and Poaceae. We report two new species for Colombia (*Puccinia pseudoatra* and *Puccinia pygmaea*) and fourteen new hosts parasitized with rust in the country. These new hosts show how the páramos are shelters for rusts of economic importance such as *Kweilingia divina*, *Puccinia coronata*, *Puccinia menthae*, *Puccinia recondita*, *Puccinia striiformis*, and *Uredo anthurii*.

**Key words:** High mountain; Biodiversity; Fungi; Rust; Uredinales.

## Introducción

Los páramos, ecosistemas de alta montaña presentes únicamente en la zona neoeccuatorial del planeta, son valorados por su gran diversidad biológica, cultural y paisajística. Hoy en día se sabe que son ecosistemas vitales para mantener la estabilidad de los ciclos climáticos e hidrológicos y que mantienen la provisión de servicios ecosistémicos de regulación, soporte y aprovisionamiento para la población (Sarmiento, *et al.*, 2013). En cuanto a su diversidad biológica, en los páramos colombianos se tienen registradas 327 comunidades vegetales, la mayoría de las cuales corresponde a bosques, matorrales, pajonales y frailejones, representadas, por lo general, por las familias Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Ericaceae, Orchideaceae, Poaceae y Scrophulariaceae (Rangel, 2000).

**Citación:** Vanegas-Berrouet KM, Salazar-Yepes M. Nuevos registros de Pucciniales sobre Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae en páramos de Antioquia, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):227-240, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.986>

**Editor:** Jairo Castaño Zapata

**\*Correspondencia:**

Katherin Maritza Vanegas-Berrouet;  
[kmvanega@unal.edu.co](mailto:kmvanega@unal.edu.co)

**Recibido:** 12 de septiembre de 2019

**Aceptado:** 16 de enero de 2020

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Los Pucciniales son parásitos obligados y constituyen uno de los grupos más numerosos de hongos fitopatógenos, con alrededor de 8.000 especies descritas (McTaggart, *et al.*, 2016) que se han encontrado parasitando una gran diversidad de especies vegetales, entre ellas, cultivos de importancia económica (Salazar & Buriticá, 2008). Sin embargo, son pocos los registros de estos hongos en las zonas de páramo del departamento de Antioquia debido al difícil acceso a estos lugares, por lo que se desconoce una buena parte de la riqueza de este grupo de hongos. El objetivo de este estudio es presentar los nuevos registros de royas que parasitan plantas de las familias Araceae, Bromeliaceae, Dryopteridaceae, Grossulariaceae, Juncaceae, Lamiaceae y Poaceae en páramos del departamento de Antioquia.

## Materiales y métodos

Se recolectaron plantas parasitadas por Pucciniales en los páramos más importantes del departamento de Antioquia (Colombia), en una franja altitudinal comprendida entre los 2.800 y los 4.050 m s.n.m. Las áreas de muestreo se localizaban en el páramo de Santa Inés (municipio de Belmira), con una altura máxima de 3.350 m s.n.m., el páramo Serranía de las Baldías (municipio de Bello), con una altura máxima de 3.175 m s.n.m., el páramo de Sonsón (municipio de Sonsón), con una altura máxima 3.350 m s.n.m., y el páramo del Sol (municipio de Urrao), con una altura máxima de 4.050 m s.n.m.

En cada páramo se observaron detalladamente las plantas que presentaban síntomas y signos asociados con las royas; se tomaron muestras de los órganos afectados (flores, hojas, frutos) y los sanos para la identificación botánica. Se registraron los datos correspondientes a la localidad, entre ellos, municipio y vereda, así como las respectivas coordenadas geográficas utilizando un GPS GARMIN Vista® HCx. El material vegetal se procesó en la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, siguiendo la metodología utilizada por Da Costa, *et al.* (2013); posteriormente, las muestras se llevaron al congelador por 48 horas para garantizar la eliminación de insectos.

Los materiales botánicos se determinaron en el herbario Gabriel Gutiérrez (MEDEL) y el estudio e identificación de los Pucciniales se hicieron en el Museo Micológico (MMUNM). Con un estereomicroscopio Boeco® se observaron los estados esporicos presentes y, posteriormente, se hicieron micopreparados en lactoglicerina mediante raspados o cortes a mano alzada; a continuación, se midieron las estructuras encontradas con un microscopio Carl Zeiss® Axiostar provisto de una cámara digital Canon® PowerShot G5 acoplada. Con los datos morfológicos se identificaron las diferentes especies de royas mediante las claves taxonómicas y con base en los estudios especializados en Pucciniales (Cummins, 1971; Hennen, *et al.*, 2005; Buriticá, *et al.*, 2014).

## Resultados

Entre los materiales botánicos recolectados parasitados por Pucciniales, se encontraron 47 en las familias Araceae (4 muestras), Bromeliaceae (1 muestra), Dryopteridaceae (1 muestra), Grossulariaceae (3 muestras), Juncaceae (3 muestras), Lamiaceae (1 muestra) y Poaceae (34 muestras) y se identificaron 14 especies de royas, entre las que se destacan dos nuevos registros para Colombia, *Puccinia pseudoatra* y *Puccinia pygmaea*, y 14 nuevos huéspedes parasitados en el país. Presentamos un listado de las especies de royas encontradas, citadas por la familia botánica en las que fueron recolectadas:

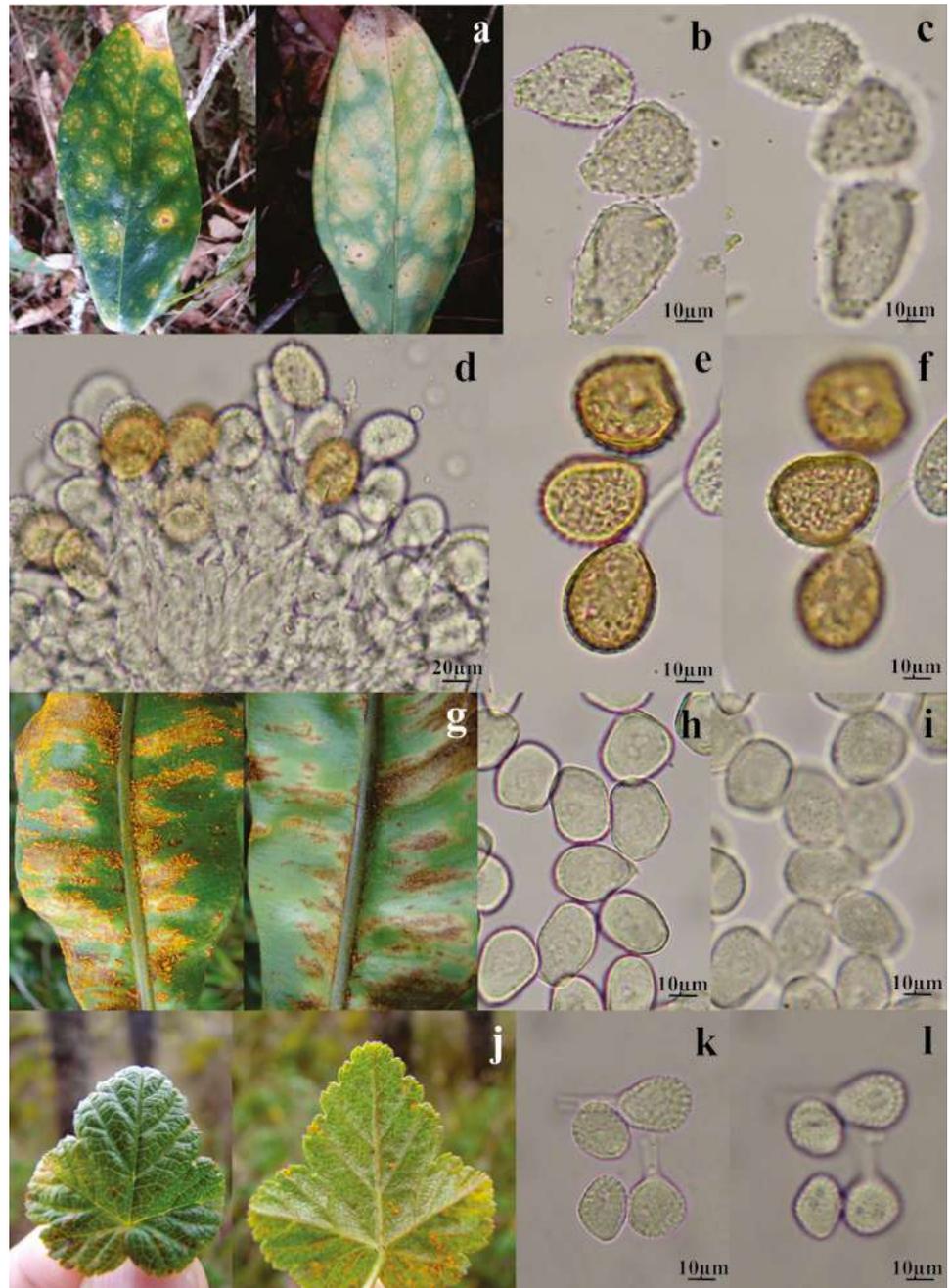
### ARACEAE

1. *Uredo anthurii* (Hariot) Saccardo, Syll. fung. 11: 229. 1895.

= *Caeoma anthurii* Hariot, J. Bot. 6: 458. 1895.

= *Uredo anthurii* Hariot, Encycl. Sci. Les Urédinées, p. 308. 1908. **Figura 1a-c**

Uredinio tipo *Uredo*, soros anfigenos, en su mayoría epífilos, solitarios o agrupados, circulares o alargados, de origen subepidermal, asociados con manchas cloróticas, pulverulentos, de color marrón oscuro; uredosporas ovoides a elipsoides de 27-38 x 22-25



**Figura 1. a-c. *Uredo anthurii*.** a. Síntomas en haz (izquierda) y síntomas en envés (derecha). b-c. Uredosporas. b. En vista mediana. c. En vista superficial. **d-f. *Uredo nidularii*.** d. Vista general de uredinio. e-f. Uredosporas. e. En vista mediana. f. En vista superficial. **g-i. *Uredo obovata*.** g. Síntomas en haz (izquierda) y síntomas en envés (derecha). h-i. Uredosporas. h. En vista mediana. i. En vista superficial. **j-l. *Goplana ribis-andicola*.** j. Síntomas en haz (izquierda) y síntomas en envés (derecha). k-l. Uredosporas. k. En vista mediana. l. En vista superficial.

$\mu\text{m}$ ; pared equinulada de  $2,5 \mu\text{m}$  de grosor uniforme, de color amarillo pálido; poros germinativos no observados.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** Colombia, República Dominicana, Puerto Rico y Brasil (Hennen, *et al.*, 2005).

**Materiales estudiados:** *Anthurium longegeniculatum* Engl.: municipio de Sonsón, vereda Nori, camino Cerro de las Papas, 05°48,545'N y 75°16,210'O, 2.875 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 8 de octubre de 2015, MMUNM-2978. *Anthurium* sp.: municipio de Belmira, camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,983'N y 75°39,400'O, 2.818 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-2811. Municipio de Sonsón, vereda Nori, camino Cerro de las Papas, 05°48,545'N y 75°16,210'O, 2.875 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 8 de octubre de 2015, MMUNM-2875. Municipio de Urrao, camino a Urrao, páramo del Sol, 06°25,766'N y 76°64,750'O, 3.254 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 24 de julio de 2015, MMUNM-2818.

**Observación:** en Colombia *Uredo anthurii* se ha reportado sobre *Anthurium flexuosum* Kunth (Buriticá, *et al.*, 2014); el huésped *A. longegeniculatum* es un nuevo registro para el país. Las plantas del género *Anthurium* son de especial interés, ya que se emplean mucho como ornamentales y la roya *U. anthurii* puede ser un problema para el cultivo.

### **BROMELIACEAE**

#### **2. *Uredo nidularii* Hennings, Hedwigia Beibl. 37: 206. 1898. Figura 1d-f**

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, solitarios, circulares, de origen subepidermal, pulverulentos, descubiertos, de color marrón canela a amarillo; uredosporas elipsoides, globosas, de 22-28 x 15-23 µm; pared equinulada menor de 2,5 µm de grosor, de color amarillo a marrón dorado; poros germinativos no observados.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** Jamaica, América Central, México (Hennen, *et al.*, 2005) y Colombia (Buriticá, *et al.*, 2014).

**Materiales estudiados:** *Guzmania mosquerae* (Wittm.) Mez.: municipio de Sonsón, entrada al Cerro Las Palomas, 05°43,551'N y 75°15,051'O, 3.244 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 7 de octubre de 2015, MMUNM-3019.

**Observación:** En Colombia *Uredo nidularii* ha sido reportado sobre *Bromelia* sp., *Guzmania musaica* (Linden & André) Mez y *Tillandsia* sp. en los departamentos de Boyacá y Cundinamarca (Buriticá, *et al.*, 2014); el huésped *G. mosquerae* es un nuevo registro para el país y el primer reporte de esta roya en el departamento de Antioquia. La roya *U. nidularii* reviste interés, ya que podría constituir un parásito importante en bromelias utilizadas a nivel comercial.

### **DRYOPTERIDACEAE**

#### **3. *Uredo obovata* (Arthur) Cummins, Mycologia 48(4): 608. 1956.**

= *Desmella obovata* Arthur, Mycologia 21: 78. 1929.

= *Hyalopsora obovata* (Arthur) Cummins, Annales Mycologia 38(2-4): 336. 1940.

#### **Figura 1g-i**

Uredinio tipo *Uredo*, soros anfigenos, pequeños, solitarios o agrupados, circulares, descubiertos, pulverulentos, de color amarillo a naranja; uredosporas obovadas, elipsoides, de 20-30 x 15-20 µm; pared con pequeñas equinulas, de menos de 2,5 µm de grosor, de color amarillo pálido a hialino; poros germinativos no observados.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** Jamaica (Arthur, 1929) y Colombia (Buriticá, *et al.*, 2014).

**Materiales estudiados:** *Elaphoglossum* cf. *glossophyllum* Hieron: municipio de Belmira, camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA en dirección a Belmira, 06°36,983'N y 75°39,400'O, 2.818 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-3020.

**Observación:** en Colombia se ha reportado a *Uredo obovata* parasitando a *Elaphoglossum andicola* (Fée) T. Moore, *E. cuspidatum* (Willd.) T. Moore y *E. leptophyllum* (Fée.) T. Moore (Buriticá, *et al.*, 2014); el huésped *E. cf. glossophyllum* es un nuevo registro para el país.

## GROSSULARIACEAE

### 4. *Goplana ribis-andicolae* Berndt, Mycologia 91(6): 1045. 1999.

Anamorfo: *Uredo ribesii-andicolae* Berndt, Mycologia 90: 523. 1998.

= *Uredo andina* Lagerh. In sched., ined [no *Uredo andina* (Fauil) Hirats. f. 1957.

#### Figura 1j-l

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, descubiertos, solitarios o agrupados, circulares; compactos, de color amarillo a naranja; uredosporas globosas a subglobosas, elipsoides, de 22-25 x 17-23  $\mu\text{m}$ ; pared equinulada de hasta 2,5  $\mu\text{m}$  de grosor, de color amarillo; poros germinativos no observados.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** Ecuador, Venezuela (Berndt, 1999) y Colombia (Buriticá, et al., 2014).

**Materiales estudiados:** *Ribes ecuadorensis* Jancz.: municipio de Urrao, páramo del Sol, Alto del Burro-camino a Urrao, 06°26,918'N y 76°05,156'O, 3.601 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 24 de julio de 2015, MMUNM-2977. *Ribes* sp.: municipio de Urrao, camino Piedra del Oso-Cerro Campanas, puente largo, 06°27,361'N y 76°05,642'O, 3.627 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-2837; páramo del Sol, camino Piedra del Oso-Cerro Campanas, puente largo, 06°27,361'N y 76°05,642'=", 3.627 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-2836.

**Observación:** en el país solo se contaba con el registro de *Goplana ribis-andicolae* parasitando a *Ribes andicola* Jancz. (Buriticá, et al., 2014); el huésped *R. ecuadorensis* es un nuevo registro para Colombia.

Telio no observado, según Berndt (1999), telio hipófilo, subepidermal, esparcido, ceroso; teliosporas de 58-72 x 14-18  $\mu\text{m}$ .

## JUNCACEAE

### 5. *Uromyces occultus* J.C. Lindquist, Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 3: 223. 1951. Figura 2a-c

Anamorfo: *Uredo macella* H. S. Jackson & Holway, Mycologia 18: 150. 1926.

Uredinio tipo *Uredo*, soros dispuestos alrededor del tallo, solitarios o agrupados, elongados, al madurar descubiertos por la epidermis, de color marrón canela; uredosporas elipsoides a obovoides, de 22-35 x 17-25  $\mu\text{m}$ ; pared con equinulas cortas, espaciadas, de hasta 2.5  $\mu\text{m}$  de grosor, de color marrón canela; 2 poros germinativos ecuatoriales, en ocasiones supraecuatoriales.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** Argentina, Brasil, Chile (Hennen, et al., 2005) y Colombia (Buriticá, et al., 2014).

**Materiales estudiados:** *Juncus echinocephalus* Baslev.: municipio de Belmira, camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,807'N y 75°39,216'O, 2.817 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-3024; municipio de Urrao, páramo del Sol, Piedra el Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'O, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-2861; páramo del Sol, Alto del Burro-camino a Urrao, 06°26,918'N y 76°05,156'O, 3.661 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 24 de julio de 2015, MMUNM-2862.

**Observación:** en Colombia se ha reportado *Uromyces occultus* sobre *Juncus densiflorus* Kunth en el departamento de Antioquia (Buriticá, et al., 2014); el huésped *J. echinocephalus* es un nuevo registro para el país.

## LAMIACEAE

### 6. *Puccinia menthae* Persoon, Synopsis methodica fungorum: 227. 1801.

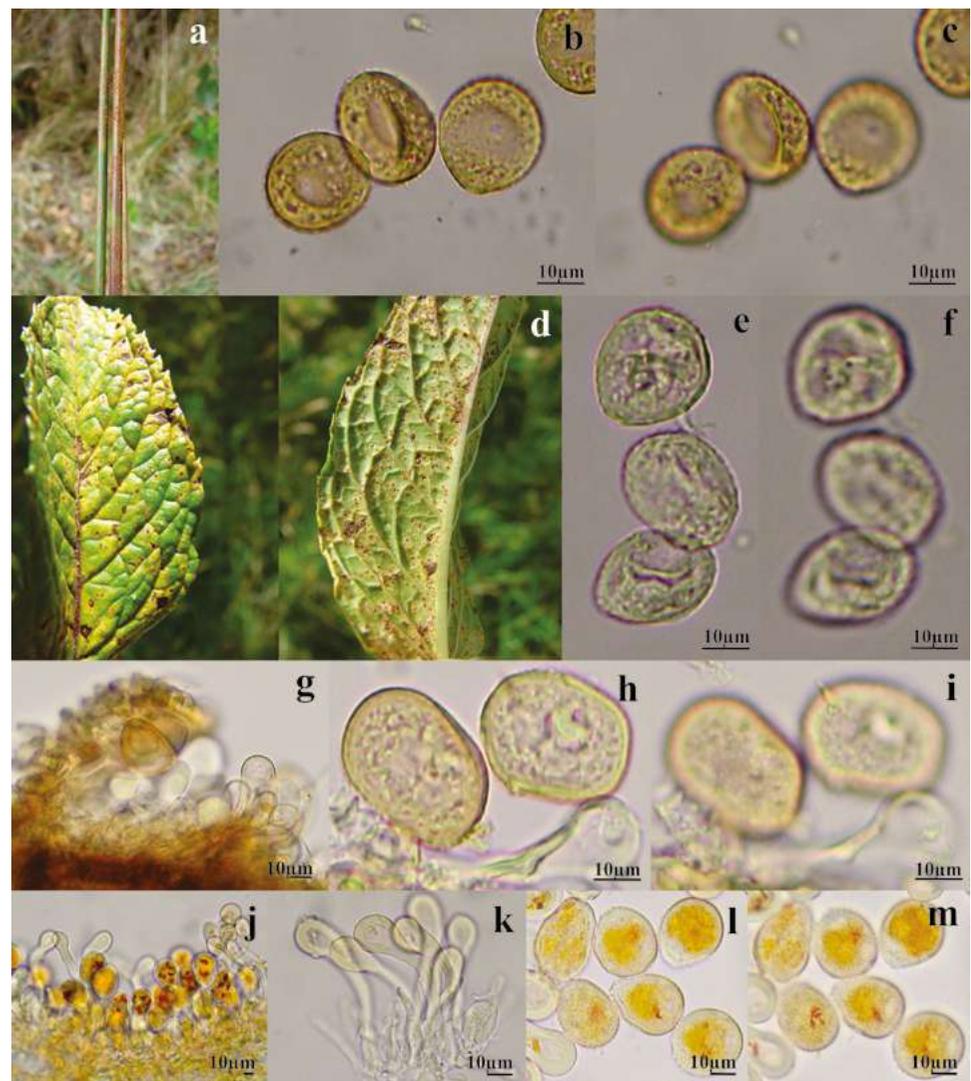
= *Aecidium menthae* DeCandolle, Fl. franç., Edn 3 (Paris) 5/6: 95. 1815.

= *Puccinia clinopodii* DeCandolle, Fl. franç., Edn 3 (Paris) 5/6: 57. 1815.

- = *Uredo labiatarum* DeCandolle, Fl. franç., Edn 3 (Paris) 6: 72. 1815.
- = *Dicaeoma menthae* (Persoon) Gray, Nat. Arr. Brit. Pl. (London) 1: 542. 1821.
- = *Puccinia labiatarum* Schltld., Flora Berolinensis, Pas secunda: Cryptogamia 133. 1824.
- = *Puccinia labiatarum* Schltld., Fl. berol. (Berlin) 2: 133. 1824.
- = *Caeoma labiatarum* (DeCandolle) Schltld., Fl. berol. (Berlin) 2: 128. 1824.
- = *Caeoma menthatum* Link, Sp. pl., Edn 4 6(2): 47. 1825.
- = *Trichobasis labiatarum* (DeCandolle) Lévillé, Dict. Univ. Hist. Nat. 12: 785 (19 extr.). 1849.
- = *Trichobasis clinopodii* Cooke, Microscopic fungi: 224. 1865.

Anamorfo: *Uredo menthae* Persoon, Syn. Meth. Fung. 1: 220. 1801. **Figura 2d-f**

Uredinio tipo *Uredo*, soros anfigenos, solitarios o agrupados, circulares, ruptura de la epidermis evidente, sobre manchas cloróticas, pulverulentos, de color amarillo a marrón



**Figura 2.** a-c. *Uromyces occultus*. a. Síntomas en tallos. b-c. Uredosporas. b. En vista mediana. c. En vista superficial. d-f. *Puccinia menthae*. d. Síntomas en haz (izquierda) y síntomas en envés (derecha). e-f. Uredosporas. e. En vista mediana. f. En vista superficial. g-i. *Kweilingia divina*. g. Vista general de uredinio. h-i. Uredosporas. h. En vista mediana. i. En vista superficial. j-m. *Puccinia brachypodii* var. *poae-nemoralis*. j. Vista general de uredinio. k. Paráfisis. l-m. Uredosporas. l. En vista mediana. m. En vista superficial.

castaño; uredosporas globosas a subglobosas, elíptico-globosas, de 20-25 x 15-20  $\mu\text{m}$ , de color amarillo pálido a hialino; pared con equinulas pequeñas, menor de 2.5  $\mu\text{m}$  de grosor uniforme, de color amarillo pálido; 2 poros germinativos ecuatoriales a supraecuatoriales. Telio hipófilo, similar al Uredinio, de color marrón oscuro; teliosporas elipsoides, de 25-28 x 15-18  $\mu\text{m}$ , células apical y basal redondeadas, poco contraídas en el septo, de color marrón; pared verrugosa, especialmente en la célula superior, de hasta 2,5  $\mu\text{m}$  de grosor, de color marrón castaño a marrón, umbo apical en la célula superior y en la inferior a un lado del septo; pedicelo frágil, cuando está presente, de 12,5  $\mu\text{m}$  de largo, en ocasiones con inserción lateral, de color hialino.

**Ciclo de vida:** macrocíclico

**Distribución geográfica:** Argentina (Lindquist, 1982) y Colombia (Umaña, 1978).

**Materiales estudiados:** *Mentha viridis* (L.) L.: municipio de Belmira, alrededor de la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,708'N y 75°39,161'O, 2.831 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-2817.

**Observación:** la roya *Puccinia menthae* se ha reportada en Colombia sobre *Hyptis mutabilis* var. *spicata* (Poit.) Briq., *Mentha aquatica* L. y *Origanum vulgare* L. (Buriticá, et al., 2014); el huésped *M. viridis* es un nuevo registro para Colombia. Esta roya reviste importancia económica y es ampliamente conocida, ya que parasita el orégano y la menta, plantas utilizadas en culinaria.

Espermogonio y ecio no observados, según Arthur (1934), espermogonio, principalmente hipófilo, asociado con los ecios. Ecio, principalmente con soros hipófilos, causando hipertrofias; eciosporas globosas, de 18-30 x 15-23  $\mu\text{m}$ ; pared finamente verrugosa de 1.5-2.5  $\mu\text{m}$ , de color amarillo pálido.

## POACEAE

7. *Kweilingia divina* (Sydow) Buriticá, Rev. Acad. Colombiana Cienc. 22: 330. 1998.

Anamorfos: *Aecidium thaungii* Carvalho, Hennen & Figueiredo, Summa Phytopato. 27(2): 261. 2001.

*Physopella inflexa* (Ito) Buriticá & Hennen, Rev. Acad. Colombiana Cienc. 19: 56. 1994.

= *Physopella ignava* (Arthur) Buriticá, Rev. Acad. Colombiana Cienc. 20(77): 204. 1996.

= *Uredo ignava* Arthur, Bull. Torrey Bot. Club 46: 121. 1888.

= *Puccinia ignava* Arthur, Bot. Gaz. 73(1): 64. 1922. **Figura 2g-i**

Uredinio tipo *Physopella*, soros anfigenos, en su mayoría hipófilos, elipsoides a ovoides, errumpentes, pulverulentos, de color marrón canela, siguiendo las nervaduras de las hojas; paráfisis curvadas, de 37-50 x 12-23  $\mu\text{m}$ ; pared en ocasiones engrosada en el ápice, de 2,5 x 5  $\mu\text{m}$ , de color hialino a amarillo pálido; uredosporas elipsoides a obovoides, de 22-30 x 17-25  $\mu\text{m}$ ; pared con equinulas cortas de hasta 2,5  $\mu\text{m}$  de grosor uniforme, de color marrón; poros germinativos 2 ecuatoriales.

**Ciclo de vida:** macrocíclico

**Distribución geográfica:** mundial (Hennen, et al., 2005).

**Materiales estudiados:** *Chusquea* sp.: municipio de Belmira, páramo de Belmira, camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,983'N y 75°39,400'O, 2.818 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-2999.

**Observación:** las royas *Puccinia phyllostachydis* Kusano y *Uredo chusquea* Pardo-Cardona han sido reportadas en Colombia sobre el huésped *Chusquea* sp. (Buriticá, et al., 2014); sin embargo, la roya encontrada concuerda perfectamente con *K. divina*, roya normalmente encontrada sobre otras bambusáceas presentes en Colombia. El huésped *Chusquea* sp. es un nuevo registro para la roya *K. divina* en el país.

Espermogonio, ecio y telio no observados. Según Buriticá (1998), espermogonio grupo VI. Ecio tipo *Aecidium*. Telio subepidermal, errumpente, pulvinado, coalescente, de 150-200  $\mu\text{m}$ , de color marrón oscuro; teliosporas cuboides u oblongas, de 13-18 x 10-16  $\mu\text{m}$ , en filas verticales de 2 a 6 esporas; pared de 1-1,5  $\mu\text{m}$  a los lados, de 3-12  $\mu\text{m}$  en el ápice, marrón castaño a marrón oscura.

8. *Puccinia brachypodii* var. *poae-nemoralis* (G.H. Otth) Cummins & H.C. Greene, Mycologia 58(5): 705. 1966.

≡ *Puccinia poae-nemoralis* G.H. Otth, Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Bern 1870: 113. 1871. **Figura 2j-m**

Uredinio tipo *Uredo*, soros anfigenos, en su mayoría hipófilos, elipsoides, siguiendo las nervaduras de las hojas, causando manchas cloróticas, cubiertos por la epidermis, de color marrón canela; paráfisis numerosas, capitadas, cilíndricas, de 50-75 x 12-15 µm; pared lisa de 2,5-3 µm de grosor lateral, y 2,5-7 µm de grosor apical, de color amarillo pálido a hialino; uredosporas elipsoides, ovoides, de 20-25 x 17-23 µm; pared densamente equinulada menor de 2,5 µm de grosor, de color hialino; poros germinativos 5 a 8 dispersos.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** climas templados y altas altitudes en los trópicos (Hennen, *et al.*, 2005).

**Materiales estudiados:** *Anthoxanthum odoratum* L.: municipio de Belmira, camino Belmira, páramo de Belmira, Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, vereda Río Arriba, 06°37,110'N y 75°39,545'O, 2.864 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-2822; alrededor de la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,708'N y 75°39,161'O, 2.831 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-2823; páramo de Belmira, camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,983'N y 75°39,400'O, 2.818 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-2895. Municipio de Bello, corregimiento de San Félix, páramo Serranía de las Baldías, alrededor de las antenas, 06°19,815'N y 75°3,887'O, 3.173 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Laura Carolina Álvarez, Lina Marcela López, Mauricio Salazar Yepes, 14 de febrero de 2015, MMUNM-2698; páramo Serranía de las Baldías, alrededor de las antenas, 06°19,819'N y 75°38,882'W, 3.181 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Robinson Rivas, 1 de noviembre de 2015, MMUNM-3005. Municipio de Urao, páramo del Sol, Piedra del Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'O, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-2827. *Poa infirma* Kunth: municipio de Urao, páramo del Sol, Piedra del Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'O, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-2998.

**Observación:** en Colombia se ha reportado *Puccinia brachypodii* var. *poae-nemoralis* parasitando los huéspedes *Alopecurus aequalis* Sobol., *Anthoxanthum odoratum* L., *Poa annua* L., *P. pratensis* L. y *Poidium juergensii* (Hack.) Matthei (Buriticá, *et al.*, 2014); el huésped *P. infirma* es un nuevo registro para Colombia.

Telio no observado, según Cummins (1966), hipófilo, de color negro, cubierto por la epidermis, con paráfisis color marrón; teliosporas variables, mayormente ovoides u oblongas, de (31)35-50(64) x (14)17-23(25) µm; pared de 1-1,5 µm de grosor lateral, (3) 4-6(7) µm de grosor apical, de color marrón castaño; pedicelo de 15 µm de largo o menos, de color marrón.

9. *Puccinia coronata* Corda, Icones fungorum hucusque cognitorum 1: 6. 1837.

(se citan 15 sinónimos ver Cummins, 1971).

Anamorfo: *Aecidium rhamni* J.F. Gmel., Syst. Nat.: 1472. 1792.

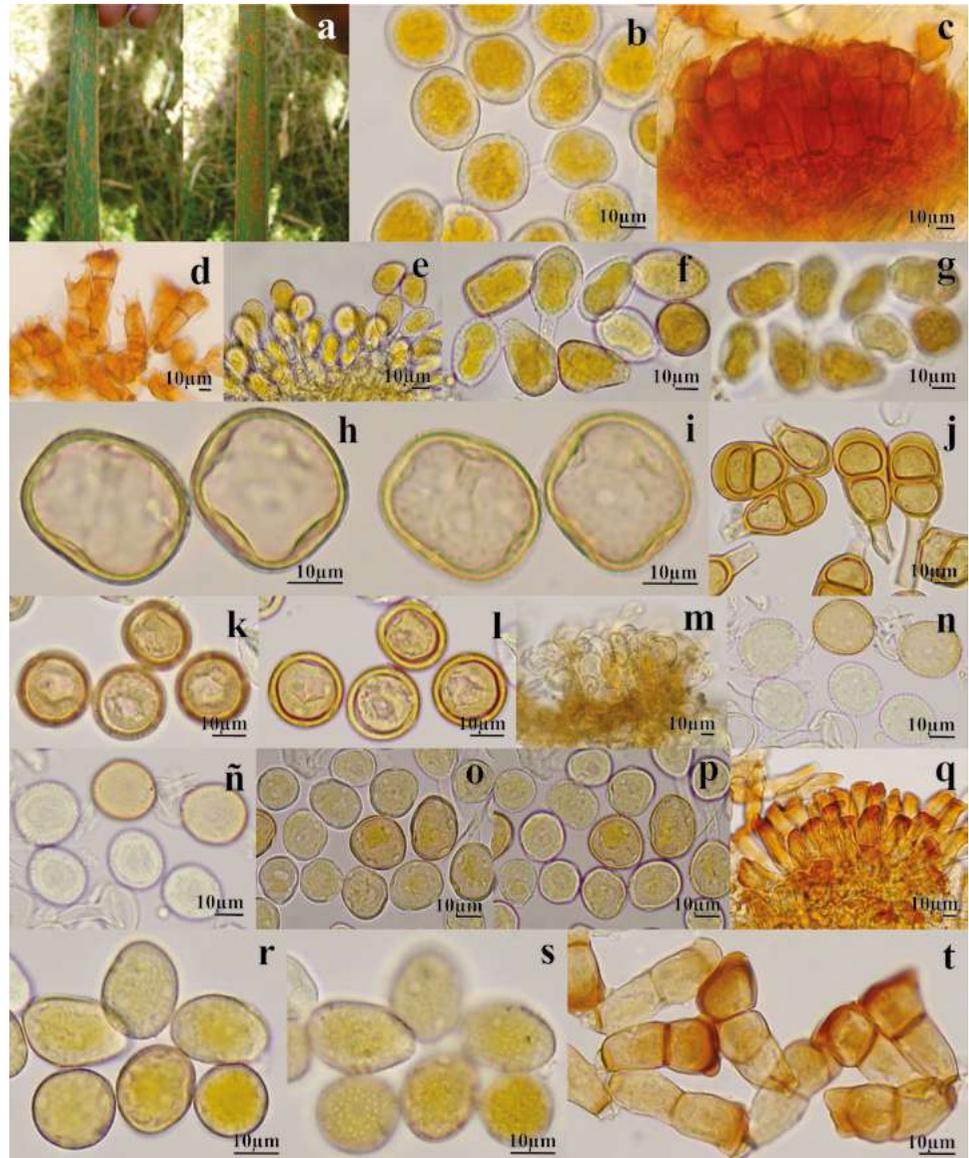
= *Aecidium crassum* Persoon, Syn. Meth. Fung. 1: 208. 1801. **Figura 3a-k**

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, alargados, asociados a manchas cloróticas, de color marrón canela, siguiendo las nervaduras de las hojas; paráfisis periferales, pocas; uredosporas elipsoides, de 22-28 x 17-23 µm; pared equinulada de hasta 2,5 µm de grosor uniforme, de color hialino a amarillo pálido; poros germinativos 5-9 dispersos. Telio anfigeno, solitario o agrupado, alargado, dispuesto longitudinalmente, de color negro; teliosporas clavado-oblongas, de 35-48 x 10-15 µm, célula apical aculeada, un poco más estrecha que la basal, poco contraída en el septo; pared lisa de menos de 2,5 µm de grosor lateral, de hasta 2.5 µm de grosor apical, con apéndices en el ápice de 5-13 x 2-5 µm, de color marrón dorado a rojo; pedicelo corto, deciduo, de color amarillo pálido.

**Ciclo de vida:** macrocíclico

**Distribución geográfica:** cosmopolita (Hennen, *et al.*, 2005)

**Materiales estudiados:** *Bromus pitensis* Kunth: municipio de Belmira, páramo de Belmira, Casa Montañitas-CORANTIOQUIA hacia Belmira, 06°36,807'N y 75°39,216'O, 2.817 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-3021; Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,708'N y 75°39,161'O, 2.831 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-3022. *Holcus lanatus* L.: municipio de Belmira,



**Figura 3.** a-d. *Puccinia coronata*. a. Síntomas en haz (izquierda) y síntomas en envés (derecha). b. Uredosporas. c. Vista general del telio. d. Teliosporas. e-g. *Puccinia graminis*. e. Vista general del uredinio. f-g. Uredosporas. f. En vista mediana. g. En vista superficial. h-i. *Puccinia macra*. h-i. Uredosporas. h. En vista mediana. i. En vista superficial. j. Teliosporas. k-l. *Puccinia pseudoatra*. k-l. Uredosporas. k. En vista mediana. l. En vista superficial. m-ñ. *Puccinia pygmaea*. m. Vista general del Uredinio con paráfisis. n-ñ. Uredosporas. n. En vista mediana. ñ. En vista superficial. o-q. *Puccinia recondita*. o-p. Uredosporas. o. En vista mediana. p. En vista superficial. q. Vista general del telio. r-t. *Puccinia striiformis*. r-s. Uredosporas. r. En vista mediana. s. En vista superficial. t. Teliosporas.

camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, desde el páramo de Belmira, Laguna Sabana, 06°36,896'N y 75°38,976'O, 2.886 m s.n.m. Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 2 de julio de 2015, MMUNM-2824; páramo de Belmira, Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, vereda Río Arriba, 06°37,110'N y 75°39,545'O, 2.813 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-2825; páramo de Belmira, alrededor de la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,708'N y 75°39,161'W, 2.831 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-2859. Municipio de Bello, corregimiento de San Félix, páramo Serranía de las Baldías, alrededor de las antenas, 06°19,815'N y 75°3,887'O, 3.173 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Laura Carolina Álvarez, Lina Marcela López, Mauricio Salazar Yepes, 20 de febrero de 2015, MMUNM-2699.

**Observación:** el huésped *Bromus pitensis* es un nuevo registro para Colombia parasitado por *Puccinia coronata*. Esta roya es ampliamente conocida, ya que parasita el cultivo de la avena a nivel mundial e incide en su rendimiento y calidad; además, también afecta plantas forrajeras de los géneros *Festuca* y *Lolium* (Ray grass).

Espermogonio y ecio no observados, **Hennen, et al.** (2005) reportan el ecio en plantas del género *Berchemia*, *Rhamnus* y *Elaeagnus* en el hemisferio norte; **Corda** (1837) describe los espermogonios ovalados. Ecio con soros hipófilos, caulinares, cilíndricos o copulados, amarillo o amarillo-purpúreos; eciosporas globosas a globoso poligonales, de 17-25 x 13-20 µm; pared verrugosa de 1-1,5 µm de grosor.

10. ***Puccinia macra*** Arthur & Holway, Am. Bot. 5: 465. 1918. **Figura 3h-j**

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, solitarios o agrupados, longitudinales, siguiendo las nervaduras de las hojas, parcialmente cubiertos por la epidermis, pulverulentos, de color marrón dorado a amarillo; uredosporas elipsoides, de 25-28 x 22-25 µm; pared equinulada de 2,5 µm de grosor, de color amarillo pálido a marrón dorado; poros germinativos 5 a 9 dispersos. Telio con soros hipófilos, solitarios, longitudinales, siguiendo las nervaduras de las hojas, pulvinados, de color marrón a negro; teliosporas clavadas, de 32-38 x 20-25 µm, célula apical redondeada, célula basal estrecha, poco o nada contraídas en el septo; pared lisa de hasta 2,5 µm de grosor lateral, 2,5-7,5 µm de grosor apical, de color amarillo dorado a marrón dorado; mesosporas presentes, de 25-28 x 25 µm; pared lisa de menos de 2,5 µm de grosor lateral, hasta de 10 µm de grosor apical, de color marrón pálido a marrón dorado.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** América (**Cummins**, 1971).

**Materiales estudiados:** *Paspalum trianae* Pilg.: municipio de Belmira, vereda Río Arriba, páramo de Belmira, Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°37,010'N y 75°39,630'O, 2.864 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-3006.

**Observación:** en Colombia se ha reportado *Puccinia macra* parasitando a *Paspalum candidum* (Humb. & Bonpl. ex Flüggé) Kunth, *P. paniculatum* L. y *P. prostratum* Scribn. & Merr. (**Buriticá, et al.**, 2014); el huésped *P. trianae* es un nuevo registro para el país.

11. ***Puccinia pseudoatra*** Cummins, Mycologia 34(6): 688. 1942. **Figura 3k-l**

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, solitarios o agrupados, de origen subepidermal, pulverulentos, longitudinales siguiendo las nervaduras de las hojas, de color marrón a marrón canela; uredosporas globosas en ocasiones elipsoides, de 25-28 x 22-25 µm; pared finamente verrugosa de 2,5 µm de grosor, de color marrón dorado; poros germinativos 5 a 8 dispersos.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** Argentina, Bolivia, Ecuador, Perú (**Cummins**, 1971), Brasil (**Hennen, et al.**, 2005) y Colombia.

**Materiales estudiados:** *Paspalum trianae* Pilg.: municipio de Urrea, páramo del Sol, camino Piedra del Oso-cerro Campanas, puente largo, 06°27,361'N y 76°05,642'O, 3.627 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-3007.

**Observación:** En Colombia se han reportado dos especies de royas parasitando plantas del género *Paspalum*: *Puccinia chaetochloae* Arthur y *Phakopsora compressa* (Arthur & Holway) Buriticá & Hennen (**Buriticá, et al.**, 2014); sin embargo, los caracteres morfológicos encontrados en la muestra estudiada no concuerdan con las descripciones previas de estas especies. La morfología encontrada concuerda con la especie *Puccinia pseudoatra*, la cual es un nuevo registro para Colombia, y es la primera vez que se reporta *P. trianae* parasitado por una roya en el país.

Telio no observado; según **Cummins** (1942), telio similar al uredinio, de color marrón oscuro, pulvinado; teliosporas de 29-37 x 21-26  $\mu\text{m}$ ; pared de 2-3  $\mu\text{m}$ , delgada a los lados, 5 a 8  $\mu\text{m}$  apical, de color marrón castaño, lisa; pedicelo de alrededor de 90  $\mu\text{m}$  de largo, de color hialino, algunas veces delgado y conspicuo.

12. *Puccinia pygmaea* Erikss, Fungi paras. Scand.: no. 449. 1895.

= *Dicaeoma pygmaeum* (Erikss) Arthur & Fromme, North American Flora 7(4-5): 311. 1920.

= *Pleomeris pygmaea* (Erikss) Sydow, Annales Mycologici 19(3-4): 171. 1921.

#### **Figura 3m-ñ**

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, solitarios o agrupados, pequeños, circulares y ovalados, de origen subepidermal, cubiertos por la epidermis, pulverulentos, longitudinales, siguiendo las nervaduras de las hojas, de color amarillo a marrón dorado; paráfisis abundantes, capitadas, de 37-68 x 12-23  $\mu\text{m}$ ; pared lisa de menos de 2,5  $\mu\text{m}$  de grosor, de color hialino; uredosporas globosas, elipsoides, de 20-25  $\mu\text{m}$  de diámetro; pared equinulada de hasta 2,5  $\mu\text{m}$  de grosor, de color amarillo a marrón dorado; poros germinativos 5 a 9 dispersos.

**Ciclo de vida:** macrocíclico

**Distribución geográfica:** zonas altas (**Cummins**, 1971) y Colombia.

**Materiales estudiados:** *Agrostis* sp.: municipio de Belmira, páramo de Belmira, alrededores de la laguna Sabana, 06°37,312'N y 75°38,716'O, 3.128 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-3004. *Calamagrostis effusa* (Kunth) Steud.: municipio de Urao, camino Piedra del Oso, Cerro Campanas, puente largo, 06°27,361'N y 76°05,642'O, 3.627 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-3018.

**Observación:** en Colombia se han reportado sobre el género *Calamagrostis* las royas *Puccinia coronata*, *P. graminis* y *P. striiformis* y en el género *Agrostis*, las royas *Physopella agrostidis*, *P. coronata* y *P. graminis* (**Buriticá, et al.**, 2014); sin embargo, las descripciones previas de estas especies no concuerdan con lo observado en las muestras estudiadas, ya que presentan gran cantidad de paráfisis capitadas, mezcladas en el soro y uredosporas de un diámetro, ornamentación y número de poros germinativos similar a lo descrito en *Puccinia pygmaea*, constituyéndose en un nuevo registro para el país; asimismo, se reporta por primera vez el huésped *C. effusa* parasitado por roya.

Espermogonio, ecio y telio no observados; según **Arthur** (1934), el espermogonio y el ecio ocurren sobre plantas de la familia Berberidaceae; espermogonio epífilo, agrupado. Ecio hipófilo, agrupado, cupulado; eciosporas globosas o elipsoides, de 19-24 x 16-21  $\mu\text{m}$ ; pared finamente verrugosa de 1,5  $\mu\text{m}$  de grosor, de color hialino. Telio hipófilo, compacto, cubierto por la epidermis; teliosporas clavadas o cilíndricas, de 29-51 x 12-21  $\mu\text{m}$ , truncadas en el ápice y un poco contraídas en el septo; pared de 3-5  $\mu\text{m}$  de grosor en el ápice y 1  $\mu\text{m}$  de grosor lateral, de color marrón castaño; pedicelo corto, de color marrón castaño oscuro.

13. *Puccinia recondita* Roberge ex Desmazieres, Bull. Soc. Bot. Francia 4: 798. 1857. (Se citan más de 66 sinónimos ver **Cummins**, 1971).

Anamorfos: *Aecidium clematidis* DeCandolle. Fl. France. 2: 243. 1805.

*Uredo rubigo-vera* DC. Fl. France. 5: 83. 1815. **Figura 3o-q**

Uredinio tipo *Uredo*, soros anfigenos, en su mayoría hipófilos, alargados, siguiendo las nervaduras de las hojas, de origen subepidermal, causando manchas cloróticas, pulverulentos, de color marrón dorado; uredosporas elipsoides, obovoides, de 25-33 x 20-25

µm; pared equinulada de 2,5 µm de grosor, de color marrón dorado; poros germinativos 5 a 9 dispersos. Telio igual al uredinio, de color marrón a negro; paráfisis pocas, de color marrón dorado; teliosporas oblongas, clavadas, de 42-53 x 10-13 µm; pared lisa de menos de 2,5 µm de grosor lateral y 2,5-5 µm de grosor apical, de color marrón en la célula apical y en la basal de color amarillo pálido a hialino; pedicelo caduco, de color marrón pálido.

**Ciclo de vida:** macrocíclico

**Distribución geográfica:** mundial (Hennen, *et al.*, 2005).

**Materiales estudiados:** *Bromus pitensis* Kunth: municipio de Urao, páramo del Sol, Alto del Burro-camino a Urao, 06°26,918'N y 76°05,156'O, 3.361 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 24 de julio de 2015, MMUNM-3023. *Calamagrostis bogotensis* (Pilg.) Pilg.: municipio de Urao, páramo del Sol, Piedra del Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'O, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-3017; páramo del Sol, Piedra del Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'W, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-3016. *Calamagrostis* sp.: municipio de Urao, páramo del Sol, Piedra del Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'O, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-3011; camino Cerro Campanas-Pico de Águila, 06°27,685'N y 75°05,992'O, 3.763 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-3013.

**Observación:** en Colombia se ha reportado *Puccinia recondita* parasitando a *Bromus unioloides* Kunth, *Secale cereale* L. y *Triticum aestivum* L. (Buriticá, *et al.*, 2014); los huéspedes *B. pitensis* y *C. bogotensis* son nuevos registros para el país. Esta roya es conocida a nivel mundial por causar grandes pérdidas en la producción y rendimiento de la avena y el trigo.

Espermogonio y ecio no observados; según Hennen, *et al.* (2005) se pueden encontrar parasitando plantas de las familias Balsaminaceae, Boraginaceae, Hydrophyllaceae y Ranunculaceae; según Lindquist (1982), en hojas y peciolas provocado engrosamiento de estos últimos. Espermogonios globosos, subepidermales, con perífisis salientes, de 130-150 x 100-200 µm. Ecio con soros epífilos y peciolares, cupulados, de 300-350 µm de diámetro, células peridiales poliédricas, membrana interna verrugosa, externa lisa; eciosporas globosas a elipsoides, de 18-25 x 16-18 µm; pared verrugosa de 1-2 µm de grosor, de color hialino.

14. *Puccinia striiformis* Westend, Bull. Acad. R. Sci. Belg., Cl. Sci. 21(2): 235. 1854. (se citan 5 sinónimos ver Cummins, 1971).

Anamorfo: *Uredo glumarum* J.K. Schmidt, Allgem. Oekon-Tech. Fl. 1: 27. 1827.

#### Figura 3r-t

Uredinio tipo *Uredo*, soros hipófilos, solitarios o agrupados, longitudinales, siguiendo las nervaduras de las hojas, errumpentes, de color marrón a marrón castaño; paráfisis periferales; uredosporas elipsoides, globosas, oblongas, de 20-30 x 15-20 µm; pared equinulada de menos de 2,5 µm de grosor, de color hialino a amarillo pálido; poros germinativos 5 a 9 dispersos. Telio hipófilo, solitario o agrupado, pulvinado, longitudinal, siguiendo las nervaduras de las hojas, de color marrón a negro; paráfisis pocas; teliosporas oblongas a clavadas, de 32-45 x 12-18 µm, célula apical truncada, poco contraída en el septo; pared lisa de menos de 2,5 µm de grosor lateral y 2,5-5 µm de grosor apical, de color marrón castaño a marrón dorado.

**Ciclo de vida:** desconocido

**Distribución geográfica:** en climas fríos alrededor del mundo (Hennen, *et al.*, 2005).

**Materiales estudiados:** *Calamagrostis effusa* (Kunth) Steud.: municipio de Urao, páramo del Sol, Piedra del Oso, 06°27,389'N y 76°05,298'O, 3.571 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 22 de julio de 2015, MMUNM-3009. *Calamagrostis* cf. *viridiflavescens* (Poir.) Steud.: municipio de Belmira, páramo de Belmira, alrededores de la laguna Sabana, 06°37,312'N y 75°38,716'O, 3.128 m s.n.m., Katherin

Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 2 de julio de 2015, MMUNM-3014; páramo de Belmira, camino a la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA hacia Belmira, 06°36,807'N y 75°39,216'O, 2.817 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 3 de julio de 2015, MMUNM-3015. *Calamagrostis* sp.: municipio de Belmira, páramo de Belmira, alrededores de la Casa Montañitas-CORANTIOQUIA, 06°36,708'N y 75°39,161'O, 2.831 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 1 de julio de 2015, MMUNM-3008. Municipio de Urrao, páramo del Sol, camino Piedra del Oso-Cerro Campanas, puente largo, 06°27,361'N y 76°05,642'O, 3.627 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-3010; páramo del Sol, camino Cerro-Campanas Pico de Águila, 06°27,685'N y 75°05,992'O, 3.763 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Mauricio Salazar Yepes, 23 de julio de 2015, MMUNM-3012. *Holcus lanatus* L.: municipio de Bello, páramo Serranía de las Baldías, alrededor de las antenas, 06°19,819'N y 75°38,882'OW, 3.181 m s.n.m., Katherin Maritza Vanegas Berrouet, Robinson Rivas, 1 de noviembre de 2015, MMUNM-2860.

**Observación:** en Colombia se ha registrado la roya *Puccinia striiformis* parasitando los huéspedes *Calamagrostis pittieri* Hack., *Dactylis glomerata* L., *Hordeum vulgare* L. y *Triticum aestivum* L. (Buriticá, et al., 2014); los huéspedes *H. lanatus*, *C. effusa* y *C. viridiflavescens* son nuevos registros para el país. La roya *P. striiformis* es conocida a nivel mundial por parasitar plantas de importancia económica como la cebada y el trigo, causando pérdidas en su rendimiento.

## Discusión

Se identificaron 14 especies de royas que incluyen dos nuevos registros para la biota de Pucciniales de Colombia (*Puccinia pseudoatra* y *Puccinia pygmaea*), recolectadas sobre la familia *Poaceae*, para un total de 57 especies de royas reportadas sobre este importante grupo de plantas, lo que la convierte en segunda familia botánica con mayor número de registros de Pucciniales en Colombia. Entre los 14 nuevos huéspedes parasitados: *A. longegeniculatum*, *B. pitensis*, *C. effusa*, *C. viridiflavescens*, *C. bogotensis*, *Chusquea* sp., *E. cf. glossophyllum*, *G. mosquerae*, *H. lanatus*, *J. echinocephalus*, *M. viridis*, *P. trianae*, *P. infirma* y *R. ecuadorensis*, se destaca el huésped *B. pitensis*, el cual se encontró parasitado por dos royas de importancia económica, *P. coronata* y *P. recondita*; este registro, unido a la presencia de royas como *K. divina*, *P. menthae*, *P. striiformis* y *U. anthurii*, revelan que los páramos son refugios fitosanitarios de royas de importancia en la agricultura.

## Conclusiones

A pesar de que las recolecciones en los páramos son de exploración limitada debido a las dificultades de acceso y a las condiciones climáticas, entre otros, los ejemplares parasitados por royas constituyen en su mayoría una novedad para los páramos del país que, a pesar de haber sido ampliamente estudiados en cuanto a su diversidad biológica, todavía no lo son en cuanto a los Pucciniales presentes en el departamento de Antioquia.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del proyecto HERMES-27180, y al Museo Micológico de la Universidad Nacional de Colombia, sede de Medellín, (MMUNM) por permitir el uso de las instalaciones y la consulta del material bibliográfico especializado, así como a Jorge Mario Vélez, técnico del Herbario Gabriel Gutiérrez (MEDEL), por la identificación de los diferentes ejemplares botánicos.

## Contribución de los autores

Los dos autores participaron por igual en la concepción, diseño, toma de datos, análisis y escritura del documento.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

## Referencias

- Arthur, J.C.** (1929). Another fern rust of the genus *Desmella*. *Mycologia*. **21** (2): 77-78.
- Arthur, J.C.** (1934). *Manual of the rust in United States and Canada*. Purdue Research Foundation, Lafayette, Indiana. 438 p.
- Berndt, R.** (1999). Neotropical rust fungi: new species and observations. *Mycologia*. **91** (6): 1045-1059.
- Buriticá, P.** (1998). La familia *Phakopsoraceae* en el Neóotropico-II. Generos *Arthuria*, *Nothoravenelia*, *Uredopeltis*, *Kweilingia*, *Aplopsora* y *Pucciniostele*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*. **22**: 325-334.
- Buriticá, P., Salazar-Yepes, M., Pardo-Cardona, V.** (2014). Pucciniales (Fungi) Royas de Colombia. *Rev. Fac. Nac. Agron.* **67** (1): 1-93.
- Corda, A.** (1837). *Abbildungen der Pilze und Schwaemme*. Fecha de consulta: 7 octubre 2017. Disponible en <https://books.google.es/books?id=pMILAAAACAAJ&hl=es&pg=PR15#v=onepage&q&f=false>
- Cummins, G.B.** (1942). Revisionary studies in the tropical American rusts of *Panicum*, *Paspalum* and *Setaria*. *Mycologia*. **34** (6): 669-695.
- Cummins, G.B. & Greene, H.C.** (1966). A review of the grass rust fungi that have uredial paraphyses and aecia on *Berberis-Mahonia*. *Mycologia*. **58** (5): 702-721.
- Cummins, G.B.** (1971). *The rust fungi of cereals, grasses and bamboos*. Springer-Verlag New York Inc. 570 p.
- Da Costa, G.N., De Lima, P., De V. Barbosa, M., De Alencar, B.M., Menezes, M., Cavalcanti, K., Wartchow, F., Baptista, G.** (2013). *Manual de procedimientos para herbários*. Recife: Editorial Universitaria UFPE. Fecha de consulta: 7 abril de 2015. Disponible en: [http://inct.florabrasil.net/wp-content/uploads/2013/11/Manual\\_Herbario.pdf](http://inct.florabrasil.net/wp-content/uploads/2013/11/Manual_Herbario.pdf)
- Hennen, J.F., Figueiredo, M.B., De Carvalho, A.A., Hennen, P.G.** (2005). *Catalogue of the species of Plants rust fungi (Uredinales) of Brazil*. Instituto de Pesquisas, Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 490 p.
- Lindquist, C.** (1982). *Royas de la república Argentina y zonas limítrofes*. Instituto nacional de tecnología agropecuaria, Argentina. 574 p.
- McTaggart, A., Shivas, R., Van der Nest, M., Roux, J., Wingfield, B., Wingfield, M.** (2016). Host jumps shaped the diversity of extant rust fungi (Pucciniales). *New Phytol.* **209**: 1149-1158.
- Rangel-Ch., O.** (2000). *Colombia Diversidad Biótica III La región de vida paramuna*. Universidad Nacional de Colombia- Instituto de Ciencias Naturales. Fecha de consulta: septiembre de 2019. Disponible en: <https://www.http://www.uneditorial.net/pdf/TomoIII.pdf>
- Salazar-Yepes, M. & Buriticá, P.** (2008). Nuevas especies para la Uredobiota neotropical. *Rev. Fac. Nal. Agro.* **61** (1): 4291-4301.
- Sarmiento, C., Cadena, C., Sarmiento, M., Zapata J., León, O.** (2013). Aportes a la conservación estratégica de los páramos de Colombia: actualización de la cartografía de los complejos de páramo a escala 1:100.000. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Colombia.
- Umaña, M.** (1978). *Inventario parcial de Uredinales en el departamento de Cundinamarca*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Tesis. 421 pp.

Artículo original

## Impacto de los drenajes de mina sobre los microorganismos del suelo

### Impact of mine drainage on the microbial community of the soil

✉ María Fernanda Quiceno-Vallejo, ✉ María C. Escobar, ✉ Yaneth Vásquez\*

<sup>1</sup> Semillero de Bioingeniería y Nanotecnología, Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas, Universidad Central, Bogotá, D.C., Colombia

#### Resumen

Los drenajes de mina se consideran el principal contaminante proveniente de las actividades mineras debido al impacto que generan sobre los ecosistemas. En este trabajo se evaluó el efecto de los drenajes ácidos y neutros de minas de carbón sobre la actividad y la diversidad de las comunidades microbianas del suelo. En la primera se determinó mediante la cuantificación de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa, ureasa, fosfatasa ácida y alcalina, deshidrogenasa y celulolítica, y la diversidad mediante una librería de clones en la que se identificaron 45 géneros bacterianos. Los resultados se relacionaron con los parámetros fisicoquímicos de los suelos afectados mediante un análisis de correspondencia canónica y una red biológica de los ciclos biogeoquímicos. Se encontró que, en suelos afectados por drenajes ácidos y neutros de mina, la actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa, ureasa y fosfatasa ácida y alcalina disminuyó significativamente, en tanto que la actividad de las enzimas deshidrogenasas y celulolíticas aumentó. Por otra parte, los nutrientes (carbono y nitrógeno), al igual que los metales (Mn, Fe, Pb, Cd y Mg) y los sulfuros, fueron las variables fisicoquímicas con mayor impacto sobre las comunidades bacterianas del suelo. Los metales y los sulfuros tienen un papel importante en la adaptación de la población microbiana en ambientes mineros, sin embargo, cuando se utiliza enmienda orgánica, disminuye el impacto sobre la comunidad al conservarse el ciclo de nutrientes.

**Palabras clave:** Actividad enzimática; Ciclos biogeoquímicos; Drenajes ácidos y neutros; Diversidad microbiana del suelo.

#### Abstract

Mine drainage is an unwanted pollutant generated during mining activities, which produces negative impacts on ecosystems. To evaluate the effects of acid and neutral mine drainage on microbial communities in the soil, it was determined the enzymatic activity by quantifying  $\beta$ -glucosidase, urease, acid and alkaline phosphatase, dehydrogenase, and cellulolytic enzymes, while the diversity was evaluated using a clone library where we identified 45 genera. The results correlated to the biological and physiochemical parameters using canonical correspondence analysis and a biological network. The results showed that in soils affected with acid and neutral drainages, the activity of  $\beta$  glucosidase, urease, acid, and alkaline phosphatases enzymes decreased, while the dehydrogenases and cellulolytic activity increased. On the other hand, nutrients (carbon and nitrogen), metals (Mn, Fe, Pb, Cd, and Mg), and sulfates were the physicochemical variables with the greatest impact on bacterial diversity. Metals and sulfate play an important role in the adaptation of the microbial population in mining environments, however, some organic sources can reduce the impact on the community by conserving the biogeochemical cycles.

**Keywords:** Enzymatic activity; Biogeochemical cycles; Mine drainage; Shifts in microbial composition of soil.

**Citación:** Quiceno-Vallejo MF, Escobar MC, Vásquez Y. Impacto de los drenajes de mina sobre los microorganismos del suelo. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):241-256, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.940>

**Editor:** Sandra Baena

**\*Correspondencia:**

Yaneth Vásquez;  
ovasquezo@ucentral.edu.co

**Recibido:** 19 de junio de 2019

**Aceptado:** 16 de enero de 2020

**Publicado:** 31 de marzo de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

## Introducción

Durante la explotación minera los minerales sulfurados presentes en el suelo entran en contacto con el agua y el oxígeno del ambiente generando drenajes de mina que pueden ser corrosivos, tóxicos e, incluso, radioactivos. Se clasifican como drenajes ácidos de mina (DAM) si el pH es  $<4,5$  o como drenajes neutros de mina (DNM) cuando el pH se encuentra entre 4,5 y 7,5. Los DAM presentan un alto contenido de sulfatos y metales disueltos, como  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  y As (III/V), en tanto que los DNM contienen menor concentración de sulfatos disueltos pero pueden contener  $Cd^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  y  $Zn^{2+}$  (Nordstrom, *et al.*, 2015).

Las características fisicoquímicas de los drenajes de mina y la forma en que son disueltos sobre el suelo producen efectos negativos sobre la composición de las comunidades microbianas asociadas con los ciclos biogeoquímicos (Pereira, *et al.*, 2015). Los metales presentes en los DAM son bioacumulados a nivel celular generando toxicidad por la obstrucción del sitio activo de algunas enzimas, así como afectación en la síntesis del ADN y las proteínas (Jaishankar, *et al.*, 2014). Por otra parte, aun cuando los DNM contienen menor concentración de metales y sulfatos, estos ocasionan la precipitación de minerales que incrementan la salinidad del suelo y tienen un impacto en la diversidad y la abundancia de las comunidades microbianas (Pereira, *et al.*, 2014). También se ha encontrado que los drenajes de mina favorecen la presencia de géneros de bacterias acidófilas, oxidadoras y reductoras de hierro y azufre como las bacterias sulfato reductoras, que pueden subsistir en condiciones de alta concentración de metales, poca concentración de nutrientes, pH ácido y sulfatos (Méndez-García, *et al.*, 2015) cambiando la composición microbiana original.

En el primer trimestre del 2018 se reportó en Colombia la explotación de 19.000 millones de toneladas de carbón. El Distrito Minero de Zipa-Samacá es uno de los conglomerados mineros más importantes del país cuya producción estimada de drenaje de mina es de  $74.000\text{ m}^3$  al mes, con alta concentración de metales disueltos, como  $Fe^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$  y  $Mg^{+2}$  ( $164,4 \pm 92,6$ ;  $29,2 \pm 14,5$ ;  $14,3 \pm 11,0$ ;  $230,5 \pm 14,4$ , y  $130 \pm 63,2\text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente), de sulfato ( $2.345 \pm 208\text{ mg L}^{-1}$ ), y un pH entre 3,0 y 8,0 (Vásquez, *et al.*, 2016). Aunque el gremio minero y algunas universidades han desplegado esfuerzos para mitigar y remediar el impacto de los drenajes sobre las fuentes de agua, aún no hay reportes sobre el impacto de estos vertimientos en el suelo.

En estudios previos se ha logrado determinar el efecto de los drenajes de mina sobre las comunidades microbianas y cómo afectan los ciclos biogeoquímicos (Pereira, *et al.*, 2015; Méndez-García, *et al.*, 2015; Da Costa, *et al.*, 2016), por lo que dicho impacto puede determinarse a partir de la actividad enzimática de las  $\beta$  glucosidasas, ureasas y fosfatasa ácidas y alcalinas, las cuales están vinculadas con la descomposición de materia orgánica y los ciclos de nutrientes como el carbón, el nitrógeno y el fósforo (Vallejo, 2012). Las enzimas son bioindicadores de la calidad y la fertilidad del suelo, ya que se relacionan con la catálisis del ciclo de nutrientes, la composición microbiana y los nutrientes disponibles en el suelo. Asimismo, las enzimas están involucradas en la mitigación de los efectos de los componentes tóxicos en el suelo durante la remediación (Gunjal, *et al.*, 2019; Dotanilla, *et al.*, 2019).

Las enzimas deshidrogenasas y celulíticas son generalistas, ya que son indicadores del flujo energético, la respiración microbiana y la biomasa microbiana total en diversos sustratos (Brkljača, *et al.*, 2019). Además, son constituyentes de las rutas metabólicas de fosfatos como la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), del metabolismo del nitrógeno, como el glutamato deshidrogenasa, y del carbono, como el monóxido deshidrogenasa y la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa. Por lo tanto, cuantificar la actividad enzimática de los microorganismos del suelo permite evaluar las perturbaciones ocasionadas por un contaminante.

En estudios anteriores se ha concluido que la presencia de drenajes de mina en suelos disminuye la disponibilidad de compuestos orgánicos y aumenta la presencia de los grupos sulfato, lo cual afecta la actividad enzimática relacionada con el ciclo

de nutrientes y aumenta otros ciclos biogeoquímicos (Bott, *et al.*, 2012; Da costa, *et al.*, 2016), en tanto que los metales y el pH pueden inhibir una enzima o favorecer su actividad (Chen, *et al.*, 2018).

En este estudio se evaluó el efecto de los drenajes ácidos y neutros de mina de carbón sobre la actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa, ureasa, fosfatasa ácida y alcalina, deshidrogenasa y celulolítica en el suelo. Además, mediante una librería de clones, se identificaron los géneros bacterianos y se correlacionaron con los parámetros fisicoquímicos y los ciclos biogeoquímicos utilizando un suelo de bosque de roble como control.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

Las muestras se recolectaron en los canales excavados en el suelo por donde circulan los drenajes de la mina de carbón La Jabonosa, perteneciente al gremio Uniminás Ltda., del municipio de Guachetá (5° 22' N, y 73° 40' O), distrito minero de Zipa - Samacá. En la mina, el DNM es bombeado a la superficie cada ocho horas y se almacena en un tanque de sedimentación para luego ser liberado a través de un canal excavado en el suelo (~50 cm de ancho, 30 cm profundidad y 5 m de largo), que llega hasta una pastura donde el DNM se percola en el suelo. Por otro lado, en la misma área hay tres depósitos de residuos estériles de carbón expuestos a la intemperie que lentamente lixivian DAM, el cual sigue varios caminos a través del suelo llegando a una pastura donde se encuentra ganado vacuno, y allí se percola. Por último, como control se utilizó el suelo de la reserva forestal El Robledal (5° 27' N, y 73° 40' O) en cercanías del municipio de Guachetá, declarada área protegida por la CAR en 1981 dada su cercanía a la laguna de Fúquene y por los servicios ecosistémicos que presta (Rubio, 2016). En dicha reserva predominan robles y vegetación secundaria.

### Recolección de muestras

Para la recolección de las muestras se tuvo en cuenta la posición de la fuente de drenaje y las condiciones climáticas. Las muestras de suelo con vertimiento de drenaje neutro (sDNM) y de drenaje ácido de mina (sDAM) se tomaron con un barreno manual plástico de las paredes y el fondo de los canales por donde circula el drenaje; en cada uno se tomaron 10 muestras que se mezclaron en pesos iguales hasta obtener una sola muestra compuesta que fue dividida en tres partes: la primera para la caracterización fisicoquímica, la segunda para la actividad enzimática, y la tercera para los ensayos moleculares. Las muestras se preservaron en tubos y bolsas estériles mantenidas en hielo hasta la llegada al laboratorio; la primera y la segunda muestras se refrigeraron en nevera a 4 °C, y la tercera se preservó a -20 °C (Pereira, *et al.*, 2014).

La muestra de control se recolectó en un cuadrante de 10 × 10 m de bosque subdividido en cuatro áreas iguales y en cada una de ellas se tomaron cuatro muestras periféricas y una central de 8 cm de profundidad. Posteriormente, se tomó un peso igual (200 g) de cada muestra y las porciones se mezclaron para obtener una muestra compuesta de la cual se retiraron manualmente los objetos extraños (hojas, raíces, piedras). Todas las muestras se recolectaron por duplicado.

### Análisis fisicoquímicos de las muestras de suelo

Los parámetros fisicoquímicos se determinaron *in situ* a lo largo de los canales donde circulaba el DAM y el DNM; se sumergió una sonda multiparamétrica (HI 9828, Hanna® Instruments; Woonsocket, RI) para medir el pH, el potencial de óxido-reducción (ORP), el oxígeno disuelto (OD) y la salinidad; en el suelo de bosque no se tomaron estas medidas porque las muestras se tomaron lejos de fuentes de agua. Cada muestra de suelo se analizó por duplicado en los laboratorios de suelo de la Universidad Central y los resultados se corrigieron por contenido de humedad y se expresaron en peso seco. El pH se midió con un medidor de pH (Lab 870, Schott, Mainz, Germany) usando una relación de 1:1 de suelo y agua desionizada según el método 4972-0153 (American Society of Testing Materials-ASTM, 1995). La humedad se determinó por la diferencia de peso entre suelo húmedo y

suelo seco (ASTM, 1995), los sólidos totales volátiles (STV) se determinaron a 250 °C durante 2 h (American Public Health Association-APHA, 2005), el nitrógeno orgánico total (NOT) con el método 4500-Norg (APHA, 2005) y el carbono orgánico total (COT) según el método de titulación (Schumacher, 2002). Los metales totales presentes en el suelo se liberaron por digestión ácida y se cuantificaron por absorción atómica (Varian, 240 FS, Agilent Technologies, Santa Clara, CA), usando el método 7000B (United States Environmental Protection Agency-US EPA, 2001). El contenido de ceniza se determinó en mufla a 750 °C (método D2974) (ASTM, 1995), el sulfato soluble se extrajo con HCl (38 %, v/v) según el protocolo de Sobek, *et al.* (1978) y se cuantificó mediante el método turbidimétrico. Por último, los sulfuros ácidos volátiles (SAV) se liberaron con el método de purga y trampa descrito por Di Toro, *et al.* (2005) y se cuantificaron con el método de azul de metileno.

### ***Determinación de la actividad enzimática***

Para evaluar cómo los drenajes de mina afectan la actividad enzimática de las comunidades microbianas, se utilizó suelo seco al aire por 24 horas y cada análisis se realizó por duplicado. La actividad de las enzimas deshidrogenasas y celulolíticas se cuantificaron utilizando 1 g de suelo según el protocolo descrito por Serra-Wittling, *et al.* (1995), que emplea como aceptores de electrones el cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio y la carboximetilcelulosa, respectivamente. La cuantificación de estas enzimas permite evaluar la respiración celular y la reducción de azúcares en el suelo. La actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasas, fosfatasa alcalina y fosfatasa ácida se determinó con 0,3 g de suelo, para las  $\beta$ -glucosidasas se utilizó como sustrato p-nitrofenil- $\beta$ -glucopiranosido, el cual genera la liberación enzimática de glucosidasa p-nitrofenol. Para las fosfatasas se utilizó como sustrato p-nitrofenil fosfato tetrahidratado, el cual participa en la catálisis del p-nitrofenol, lo que permitió la medición de la concentración enzimática. Para la actividad de la enzima ureasa se utilizaron 0,15 g de suelo siguiendo los métodos modificados por Vallejo (2012), en los cuales se utiliza la urea como sustrato para la liberación y cuantificación del amonio durante la actividad enzimática.

### ***Análisis moleculares***

Para la identificación de las comunidades bacterianas presentes en suelos afectados por los drenajes y en los de control, se construyó una librería de clones del gen 16SrRNA. El ADN metagenómico fue extraído con el estuche NucleoSpin® Soil (Macherey-Nagel). En la amplificación de 900 pb del gen 16S rRNA se utilizaron los iniciadores diseñados por Wang (1999) a una concentración final de 0,3  $\mu$ M, 1x de tampón KCl, 2mM de  $MgCl_2$ , 0,2mM de dNTPs, 0,5 U/ul de Taq polimerasa (Thermo Scientific), 2  $\mu$ l de ADN cuantificado por Nanodrop® y 3mg/L de BSA como estabilizador bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, 25 ciclos a 95 °C por 40 segundos, a 53 °C por 30 segundos y a 72 °C por 1 minuto, y una extensión final a 72 °C por 10 minutos. El producto de la PCR se purificó con el estuche UltraClean® PCR Clean-Up (MO BIO Laboratories, Inc.) siguiendo el protocolo del fabricante. Posteriormente, se hizo la clonación comenzando por la ligación de los productos de la PCR purificados al vector del estuche TOPO™ TA Cloning™ Kit (Invitrogen), y la transformación de las células competentes One Shot® Topo10 (Invitrogen). De las librerías genómicas de cada muestra de suelo se seleccionaron al azar 50 clones, a los cuales se les verificó la correcta inserción mediante PCR. Por último, se escogieron 32 clones para cada tipo de suelo, a los cuales se les extrajeron los plásmidos con el estuche Zyppy™ Plasmid Miniprep (Zymo Research), que luego fueron secuenciados con el método Sanger en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional.

La edición manual de las secuencias se realizó con el programa Geneious (Biomatters Limited) y la identificación con la herramienta BLAST del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). En el análisis se tuvo en cuenta un porcentaje de similitud de > 99 % y se logró identificar las secuencias hasta el nivel taxonómico

de género. Por último, con el fin de relacionar los géneros encontrados con los ciclos biogeoquímicos del suelo, se construyó una red biológica utilizando la aplicación Cytoscape (v 3; Cytoscape Consortium).

### **Análisis estadísticos**

Inicialmente, se hizo la normalización y homogenización de los datos fisicoquímicos y de actividad enzimática para llevar a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA), lo que permitió establecer las diferencias estadísticamente significativas entre las variables evaluadas. Posteriormente, se hicieron pruebas de comparaciones múltiples (Tukey) y correlaciones de Pearson para buscar las variables fisicoquímicas que se correlacionaban linealmente. Los análisis se procesaron mediante el programa SPSS Statistics 19. Para evaluar la correlación entre variables fisicoquímicas y la actividad enzimática con los géneros bacterianos identificados y las muestras, se hizo un diagrama de ordenación (triplet) con base en un análisis multivariado de correspondencia canónica (ACC; número de permutaciones = 999 y  $\alpha = 0,05$ ) usando el programa CANOCO (Braak & Smilauer, 1998), después de estandarizarlas con la ecuación  $((x+1)/DE)$ .

## **Resultados**

### **Caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo**

Las variables fisicoquímicas evaluadas *in situ* en los canales del suelo por donde circulaba el drenaje mostraron diferencias significativas (ANOVA,  $p \leq 0,05$ ). El DAM presentó un pH de  $3,28 \pm 0,70$  con una salinidad de  $4,30 \pm 0,60 \text{ mg L}^{-1}$ , un ORP de  $357,8 \pm 40 \text{ mV}$  y OD de  $1,15 \pm 0,23 \text{ mg L}^{-1}$ . Por otro lado, el DNM tenía un pH de  $7,20 \pm 0,80$ , con salinidad de  $2,50 \pm 0,30 \text{ mg L}^{-1}$ , ORP de  $-27,6 \pm 7,0 \text{ mV}$ , y no se registró OD.

En el laboratorio se analizaron las muestras de suelo (sDAM, sDNM y del bosque) y se encontraron diferencias significativas (ANOVA,  $p \leq 0,05$ ) en la mayoría de sus propiedades fisicoquímicas, con excepción de los STV, el Ca y la humedad (Tabla 1). El análisis de Pearson evidenció una correlación positiva de las cenizas con los metales (Zn 0,987; Pb 0,974; Mn 0,955; Fe 0,931, y Cd 0,972;  $p=0,01$ ) y negativa con el COT ( $-0,979$ ;  $p=0,01$ ), y, además, una correlación positiva de los metales Zn, Mn y Pb con los SAV (0,923, 0,894, 0,840;  $p < 0,05$  respectivamente), en tanto que el sulfato se correlacionó de manera negativa con el pH y el NOT ( $-0,740$  y  $-0,880$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente), el Fe mostró una correlación positiva con el Mn, el Pb y el Cd (0,982, 0,995, 0,832;  $p=0,01$ , respectivamente) y negativa con el Zn y el NOT ( $-0,951$  y  $-0,887$ ;  $p=0,01$ , respectivamente). Se observó, asimismo, una correlación positiva entre el COT y el NOT (0,984 y 0,835;  $p < 0,05$ ).

### **Determinación de la actividad enzimática**

La actividad enzimática ( $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina, DHS y celulolítica) registró diferencias estadísticamente significativas entre los tres tipos de suelo evaluados (ANOVA,  $p \leq 0,05$ ). La mayor actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina se observó en el suelo de bosque; en el caso de la enzima ureasa no se encontró actividad significativa en ninguno de los suelos evaluados. En el caso de las enzimas DHS y celulolítica, su actividad fue mayor en el sDAM. La actividad de la enzima DHS mostró una correlación positiva (Pearson) con los sulfatos (0,967;  $p=0,001$ ) y negativa con la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa y el NOT ( $-0,963$  y  $-0,921$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente). En el caso de sDNM, no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las enzimas (Figura 1).

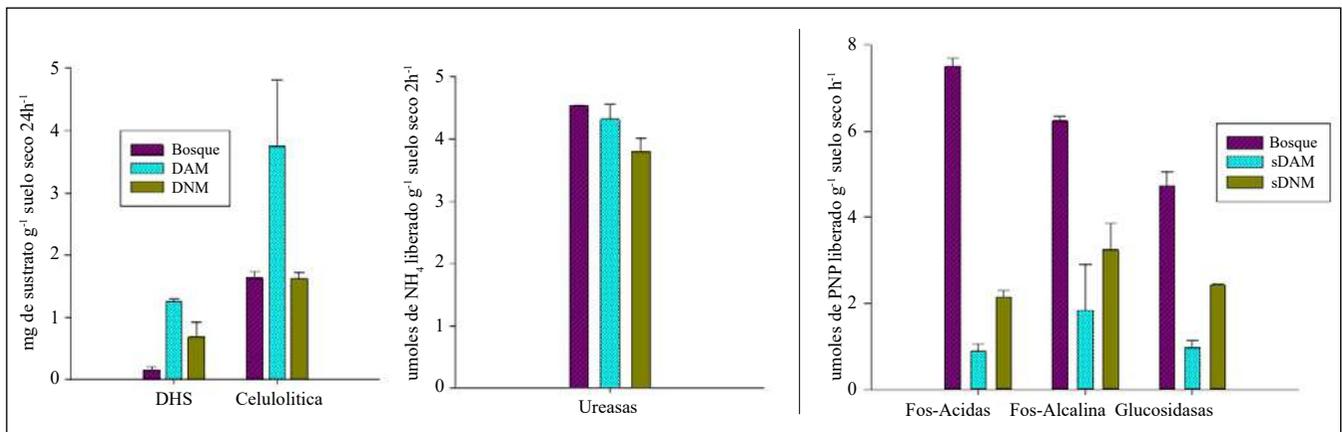
La actividad de la enzima celulolítica se correlacionó positivamente con el COT, el Mn y el Fe (0,936, 0,935 y 0,942;  $p < 0,05$ , respectivamente) y negativamente con el NOT ( $-0,928$ ;  $p < 0,05$ ), en tanto que la actividad de las enzimas fosfatasa ácida y alcalina presentó correlación negativa con la humedad ( $-0,935$ ;  $p < 0,05$ ). Por último, la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa presentó correlación positiva con la actividad de enzima ureasa y el NOT (0,902 y 0,973;  $p < 0,05$ ) y correlación negativa con la actividad del DHS, los sulfatos y el COT ( $-0,963$ ,  $-0,959$  y  $-0,938$ ;  $p=0,01$ ; respectivamente).

**Tabla 1.** Parámetros fisicoquímicos de los tres tipos de suelo evaluados en el estudio

Análisis	Unidad	Tipo de suelo			p
		Bosque	sDAM	sDNM	
pH		3,60 ± 0,10 a	3,55 ± 0,05 a	7,20 ± 0,10 b	*
Humedad	%	60,65 ± 0,15 a	63,25 ± 0,20 b	71,62 ± 0,05 c	
Cenizas		49,35 ± 6,45 a	23,10 ± 4,00 a	82,5 ± 4,50 b	*
STV		46,05 ± 4,65	22,50 ± 2,05	38,35 ± 9,45	
COT		29,85 ± 0,85 a	37,50 ± 0,35 b	31,15 ± 0,20 a	*
NOT		0,54 ± 0,00 a	0,35 ± 0,00 b	0,50 ± 0,00 c	*
Sulfatos		0,06 ± 0,00 a	5,22 ± 0,41 b	2,96 ± 0,14 c	**
SAV		10,25 ± 0,05 a	12,00 ± 0,40 b	4,45 ± 0,00 c	*
Zn		1,60 ± 0,10 a	0,70 ± 0,00 b	2,75 ± 0,25 c	*
Pb		2,23 ± 0,00 a	2,15 ± 0,00 b	1,50 ± 0,10 c	*
Mn		21,65 ± 1,40 a	112,40 ± 4,40 b	4,70 ± 0,75 c	**
Mg	25,65 ± 0,15 a	49,75 ± 0,25 b	28,35 ± 1,30 a	*	
Fe	819,00 ± 59,75 a	2.519,05 ± 42,70 b	462,80 ± 7,00 c	**	
Cd	0,35 ± 0,05 a	0,45 ± 0,05 b	0,20 ± 0,00 a	*	
Ca	14,30 ± 0,30	14,60 ± 0,10	14,80 ± 0,00		

Los resultados se expresaron como promedio ± desviación estándar. Las letras iguales en sentido horizontal indican que las medias no difieren significativamente para  $p \leq 0,05$  (\*) y para  $p \leq 0,01$  (\*\*).

sDAM: suelo impactado por drenaje ácido de mina; sDAM: suelo impactado por drenaje neutro de mina; STV: sólidos totales volátiles; COT: carbono orgánico total; NOT: nitrógeno orgánico total; SAV: sulfuros ácidos volátiles; (s-s): suelo seco



**Figura 1.** Actividad enzimática de microorganismos en los tres tipos de suelo evaluados. El sustrato para la actividad DHS corresponde a 1,3,5-cloruro de tetrazolio y para la actividad celulolítica se utilizó carboximetilcelulosa.

**Composición taxonómica y su relación con los parámetros fisicoquímicos**

Las secuencias obtenidas del inserto dieron como resultado la identificación de 47 géneros bacterianos; 18 géneros en suelo del bosque, 11 géneros en el sDAM y 18 géneros en el sDNM; algunos se hallaron en más de una copia: *Terriglobus*, *Gemmata*, *Paludibacum*, *Occallatibacter* y *Rhodoplanes* en el suelo de bosque, *Acidithiobacillus*, *Desulfosarcina*, *Romboutsia* e *Ignavibacterium* en sDNM y *Micromonospora*, *Parabacteroides* y *Povalibacter* en sDAM. Según la descripción fisiológica reportada en la literatura especializada, estos géneros están correlacionados funcionalmente con los ciclos biogeoquímicos,

lo que crea una red biológica en la que se observó que los ciclos del carbono y el nitrógeno predominan en el suelo de bosque y el sDAM, en tanto que en el sDNM prevalece el ciclo del hierro y el del azufre (Figura 2).

Con el fin de relacionar los géneros bacterianos identificados, la actividad de las enzimas y las variables fisicoquímicas con los tres tipos de suelos evaluados, se hizo un ACC (Figura 3). El análisis evidenció que las variables fisicoquímicas y su relación con los géneros bacterianos presentaron una varianza del 91 % (eje 1: 56,2 % y eje 2: 34,5 %), por lo tanto, el 9 % restante respondía a las variables no medidas. Además, el ACC reveló tres subgrupos correspondientes al tipo de suelo evaluado y correlacionado con las características fisicoquímicas y a la comunidad bacteriana.

El primer subgrupo que emergió del ACC fue el de bosque, en el que las muestras se correlacionaron positivamente (Pearson:  $p < 0,05$ ) con el NOT, el COT, los STV y una mayor actividad de las enzimas ureasa, fosfatasa ácida y alcalina, celulolítica y  $\beta$ -glucosidasa. En este subgrupo se incluyeron bacterias de los géneros *Paludibacter*, *Acidobacter*, *Pseudomonas*, *Acidocella*, *Mycobacter* y *Actinomadura*. El segundo subgrupo correspondió a las muestras de sDAM, en las que Mn, Fe, Pb, Cd, Mg y SAV fueron las variables ambientales que afectaban la variación de la comunidad bacteriana, siendo también los sulfatos encontrados en este tipo de suelo una variable significativa para algunos géneros bacterianos como *Desulfovibrio* y *Povalidacter*. Otros géneros identificados en este grupo fueron *Micromonospora*, *Parabacteroides*, *Zhishongheella*, *Luedemannella* y *Povalidacter*. Por último, el tercer grupo lo conformaron las muestras de sDNM, en las que se encontró que la humedad, el Zn y el Ca eran las variables ambientales que afectaban la comunidad bacteriana y la actividad de las enzimas DHS en mayor medida. Los géneros *Desulfosarcina*, *Actinomadura*, *Rhodoblastus* y *Desulfatirhabdium* se agruparon donde el Ca tiene mayor efecto, y los géneros *Romboutsia*, *Acidothiobacillus*, *Thermosporothrix* y *Saccharofermentans* se agruparon cerca a la humedad, el Zn y las cenizas.

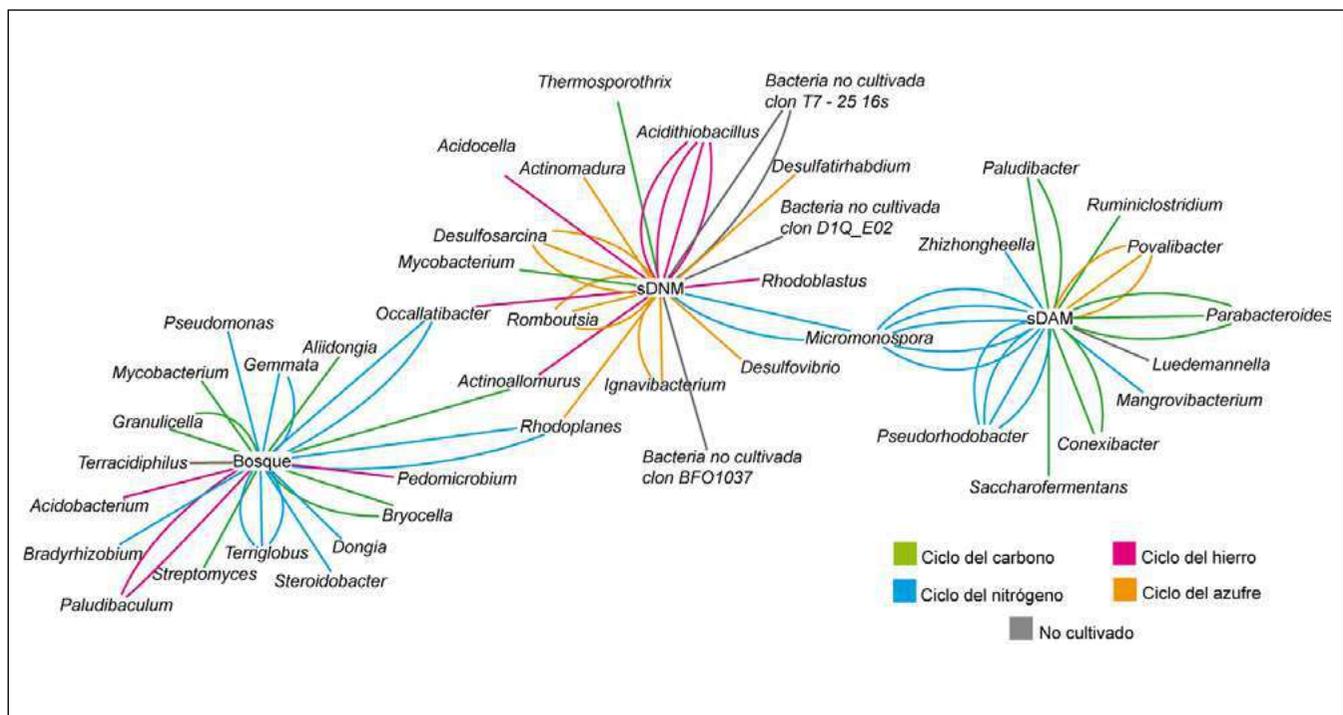


Figura 2. Red biológica de los ciclos biogeoquímicos entre los taxones encontrados y las actividades metabólicas de los microorganismos reportados en la literatura especializada. Las líneas de colores se repiten de acuerdo con el número de copias del clon encontrado.



facilidad debido a su baja constante de solubilidad ( $K_{ps}$ ) (Blais, *et al.*, 2008). También se encontró una correlación positiva entre el Fe, el Mn, el Pb y el Cd, la cual puede deberse a la formación de óxidos e hidróxidos de Fe y Mn que contribuyen con la coprecipitación de otros metales como el Pb y el Cd cuando hay oxígeno disponible (Li, *et al.*, 2003). Por último, se encontró una correlación negativa entre el pH y los sulfatos, lo que se debe a la liberación de ácido sulfúrico provocada por la oxidación de los sulfuros durante la formación de los drenajes de mina que ocasionan el descenso del pH. Estos resultados concuerdan con reportes anteriores en los que la concentración de los sulfatos fue mayor en el sDAM por la oxidación de pirita (Campaner, *et al.*, 2014).

Con el fin de evaluar el efecto de los DAM y los DNM sobre la actividad de las comunidades microbianas presentes en los suelos, se analizó la actividad de las enzimas ureasas,  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina, DHS y celulolíticas. La actividad enzimática se utiliza como indicador de la calidad del suelo, ya que los microorganismos controlan la mineralización de los compuestos naturales y xenobióticos (Irfan, *et al.*, 2014). Por lo tanto, era de esperarse que la actividad fuera superior en el suelo de bosque, como ocurrió con la  $\beta$ -glucosidasa y la fosfatasa ácida y alcalina, sin embargo, no se observó lo mismo para las DHS y las celulolíticas. Se concluyó, así, que la actividad de las enzimas relacionadas con el ciclo de nutrientes puede presentar una inhibición producida por los metales y sulfatos presentes en los drenajes de mina, en tanto que las enzimas generalistas indicadoras de biomasa, que pueden encontrarse en diferentes condiciones de sustrato, no presentaban disminución.

La actividad de las enzimas DHS fue mayor en los sDAM, probablemente por la presencia del estiércol de vaca en la pastura donde se formaban los canales de lixiviación de las escombreras. La presencia de una fuente de nutrientes como el estiércol favoreció la actividad de las DHS, como se ha reportado previamente (Serra-Wittling, *et al.*, 1995), debido a que la presencia de materia orgánica como el COT favorece el incremento de la biomasa microbiana (Adak, *et al.*, 2014), además, este se relacionó con la reducción y la oxidación de elementos fuentes de carbón (Cordas, *et al.*, 2019; Jeoung, *et al.*, 2018). Asimismo, se encontró una correlación positiva de la actividad del DHS con el sulfato, lo que se asociaría con la actividad de las enzimas formiato deshidrogenasas, las cuales están presentes en las bacterias sulfato reductoras que son abundantes en suelos mineros (Keller, *et al.*, 2014). Se ha encontrado que esta enzima realiza la reacción reversible de la producción de formiato según la disponibilidad de sulfato como aceptor de electrones (Pereira, *et al.*, 2011). Por lo tanto, la presencia de una fuente de carbón permitió mayor concentración del COT:  $37,50 \pm 0,35b$  (Tabla 1), lo cual pudo favorecer la actividad de DHS en el sDAM, a pesar de su toxicidad fisicoquímica, lo que da un indicio de su importancia como enmienda en la remediación.

La correlación positiva de la actividad celulolítica con el Fe encontrada en este estudio es opuesta a lo reportado por Wang, *et al.* (2013), quienes registran la inactivación y restricción de la actividad enzimática en presencia de metales. Sin embargo, la activación o reducción de la actividad celulolítica por la presencia de Mn y Fe puede variar dependiendo del microorganismo que produce la actividad, como lo registraron Azadian, *et al.* (2017), ya que algunos géneros de hongos productores de enzima celulolítica pueden verse favorecidos en la producción enzimática en presencia de metales, los cuales son precursores durante la actividad y favorecer así los resultados obtenidos en el sDAM. Por otro lado, se encontró una correlación negativa entre la actividad celulolítica y el NOT, lo que podría explicar la baja actividad de esta enzima en el suelo de bosque. En estudios previos se ha reportado que la presencia de carbón y nitrógeno mineralizados afectan la actividad enzimática celulolítica ralentizándola, ya que estos compuestos son difíciles de metabolizar (Chen, *et al.*, 2018). Además, se ha reportado que en algunos microorganismos las fuentes de nitrógeno orgánico, como la L-cistina, la L-cisteína y la L-tirosina, inhiben la producción de enzimas lignolíticas afectando su sitio activo debido a su configuración o concentración (Chauhan, 2019). Las enzimas lignolíticas, a su vez, se relacionan con la actividad celulolítica al ser las primeras descomponedoras que permiten fuentes más

asequibles de carbono, lo cual ralentiza la actividad enzimática cuando existe inhibición (Irfan, *et al.*, 2014; Prasher, *et al.*, 2015). La actividad celulolítica permitió evidenciar la capacidad adaptativa de algunas bacterias en condiciones de pH ácido, presencia de sulfato y disponibilidad de metales.

La actividad de las enzimas  $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa ácida y alcalina, las cuales utilizan el nitrógeno en su metabolismo, fue superior en el suelo de bosque, en donde la concentración de NOT fue mayor en comparación con las de los sDAM y sDNM. También se ha reportado en otros estudios la afectación de las fosfatasas por factores como la humedad, el pH y la salinidad (Bolaños, 2006), lo que explica la correlación negativa encontrada entre la actividad de las enzimas y estos parámetros fisicoquímicos. En estudios previos se ha descrito que el incremento de la humedad y su paso a través de la porosidad del suelo reduce la actividad enzimática por ser estas exoenzimas (Tapia-Torre & García-Oliva, 2013). Para concluir, las variables fisicoquímicas en suelos afectados por el drenaje disminuyen la actividad enzimática de los microorganismos que participan en los procesos del ciclo de nutrientes esenciales para la conservación y calidad del suelo.

Con el fin de evaluar el efecto de los drenajes de mina sobre la composición bacteriana del suelo, los géneros identificados se relacionaron con los ciclos biogeoquímicos a través de una red biológica, así como con las muestras y las variables fisicoquímicas mediante un ACC. En los suelos de bosque y los sDAM prevalecieron los taxones con actividad metabólica relacionada con ciclos de carbono y nitrógeno, mientras que en el sDNM prevalecieron los microorganismos afines a los ciclos de hierro y azufre. Esta observación se vio corroborada por los resultados del ACC, en el que las muestras y los parámetros fisicoquímicos se separaron en tres grupos según el tipo de suelo. En el suelo de bosque los parámetros de mayor impacto fueron los STV y el NOT, los cuales incrementan la actividad enzimática y favorecen la presencia de géneros que participan en el ciclo del nitrógeno como *Gemmata*, que oxida el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) hasta su forma de gas nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) (Sanabria, *et al.*, 2009), *Terriglobus*, que reducen el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) hasta nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), siendo, a su vez, transportadoras y metabolizadoras de carbohidratos (Kielak, *et al.*, 2016), *Aliidongia*, taxón cuya actividad fosfatasa y ureasa cataliza la hidrólisis de la urea ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) convirtiéndola en  $\text{NH}_3$  y **dióxido de carbono** ( $\text{CO}_2$ ) (Vallejo, 2012; Chen, *et al.*, 2017). Este género se considera parte fundamental del ciclo del nitrógeno en las fases de amonificación y nitrificación, siendo este último proceso el paso del amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y luego a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) biodisponible para la vegetación (Aristizábal & Cerón, 2012).

En el suelo de bosque también se encontraron géneros importantes del ciclo del carbono y el fósforo como *Granulicella* y *Occallatibacter*, los cuales presentan actividad de la  $\beta$ -glucosidasa y favorecen la hidrólisis de celulolíticas hasta monosacáridos, así como actividad de fosfatasas, las cuales están vinculadas con la catálisis de la mineralización de fósforo orgánico convirtiéndolo en ortofosfatos, además de la catálisis de la hidrólisis del ácido fosfórico para la producción de fosfato libre (Vallejo, 2012;). Otro taxón identificado fue *Bryocella*, el cual se ha vinculado con las enzimas glucosidasa y fosfatasa y con la oxidación del metano ( $\text{CH}_4$ ) a  $\text{CO}_2$  (Dedysh, *et al.*, 2012; Kielak, *et al.*, 2016). Por otra parte, también se encontraron taxones vinculados con los ciclos del azufre y el hierro, como es el caso del género *Pedomicrobium*, el cual puede bioacumular óxidos de hierro y manganeso, además de estar relacionado con el ciclo del nitrógeno. Otros de los géneros identificados fue el *Paludibaculum*, que se ha relacionado con el ciclo del hierro (Kulichevskaya, *et al.*, 2014), así como *Actinoallomurus* y *Rhodoplanes*, que se relacionan con el ciclo del azufre (Guo, *et al.*, 2015). Las características fisicoquímicas del suelo de bosque, así como los géneros identificados, evidencian la importancia de la actividad microbiana en los ciclos biogeoquímicos.

En suelo DAM prevaleció la presencia de SAV y de metales (Mn, Fe, Pb, Cd, Mg), variables que produjeron un mayor impacto sobre la comunidad bacteriana según el ACC. Esto explicaría la presencia de taxones relacionados con el ciclo del azufre como

*Povalibacter*, capaz de generar ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) a partir de tiosulfato ( $S_2O_3^{2-}$ ) (Nogi, *et al.*, 2014), y *Micromonospora*, involucrado en la actividad deshidrogenasa reductasa, además de la reducción del nitrato, la fijación del nitrógeno y la reducción del sulfato de amonio en condiciones de escasez de nitrógeno (Trujillo, *et al.*, 2010). Sin embargo, en los sDAM prevalecieron los taxones relacionados con el ciclo del carbono y el nitrógeno, como *Parabacteroides*, degradador y metabolizador de carbohidratos complejos, además de presentar actividad enzimática malato DHS y glutamato DHS (Sakamoto & Benno, 2006), *Paludibacter*, que participa en la fermentación de glucosa produciendo acetato, propionato y succinato, además de ser metanogénica (Ueki, *et al.*, 2006), *Zhinzhongheella*, vinculado con la reducción del nitrato a nitrito y la fermentación de la glucosa (Dong, *et al.*, 2014), *Saccharofermentans*, que fermenta glucosa produciendo ácido acético, lactato y fumarato (Chen, *et al.*, 2010), y *Mangrovibacterium*, vinculado con la fijación de nitrógeno y la fermentación de xilosas y ribosas (Huang, *et al.*, 2014).

También se ha reportado con anterioridad que géneros microbianos como *Conexibacter*, identificado en este estudio, presenta interacción con los metales durante la desasimilación del Fe (Bryan & Johnson, 2008). En resumen, las propiedades fisicoquímicas del DAM tienen impacto en las comunidades bacterianas favoreciendo la adaptación de géneros con resistencia a los metales y los sulfuros. Por otra parte, la presencia del estiércol de vaca en el suelo posiblemente permitió la disponibilidad de materia orgánica como carbono y nitrógeno, favoreciendo la prevalencia de taxones involucrados en estos ciclos biogeoquímicos, lo que evidencia la importancia de las fuentes orgánicas como enmiendas en suelos contaminados con drenaje ácido.

El último grupo revelado por el ACC estaba conformado por las muestras de sDNM en que la humedad y el Ca son las variables ambientales que afectan en mayor medida la comunidad bacteriana. En este grupo se identificaron géneros de bacterias sulfato reductoras y otras relacionadas con el ciclo del Fe. Algunos géneros identificados fueron *Acidithiobacillus*, el cual es oxidada por el hierro y el azufre utilizándolos como aceptores de electrones hasta generar ácido sulfúrico en condiciones aerobias (Pronk, *et al.*, 1991); *Romboutsia*, relacionado con la reducción del sulfato en sulfuro liberando acetato y formato (Gerritsen, *et al.*, 2014); *Desulfosarcina*, reductor de azufre utilizando el sulfito como aceptor de electrones (Gerritsen, *et al.*, 2014), e *Ignavibacterium*, relacionado con la actividad DHS piruvato y 2-oxoglutarato y la actividad de polisulfuro reductasas (Liu, *et al.*, 2012), además de géneros como *Desulfovibrio*, el cual es conocido por su capacidad para acumular metales y su actividad sulfato reductora (Da Silva, *et al.*, 2013); *Rhodoblastus*, que se relaciona con la asimilación del sulfato y el uso de  $H_2$  como donador de electrones (Kulichevskaya, *et al.*, 2006); *Acidocella*, relacionado con la capacidad desasimilatoria del  $Fe^{3+}$  y la resistencia a metales (Coupland & Johnson, 2008); *Desulfosarcina* y *Desulfatirhabdium*, que utilizan el acetato como donador de electrones (Balk, *et al.*, 2008). En los sDNM también se identificaron tres géneros bacterianos no cultivados hasta la fecha y registrados como BFO1037, vinculado con la fijación de carbono (Lynn, *et al.*, 2016), D1Q\_E02, afin con resistencia a disolventes orgánicos (Kysela, *et al.*, 2009) y T7-125 16S, relacionado con la resistencia de metales (Xie, *et al.*, 2009).

Los microorganismos identificados en este trabajo fueron similares a los encontrados por Pereira, *et al.* (2015) en suelos afectados por DNM utilizando técnicas de pirosecuenciación. Los géneros pertenecían al filo Proteobacteria con géneros como *Acidocella*, *Desulfosarcina*, *Acidithiobacillus*, *Desulfatirhabdium*, *Rhodoblastus*, y *Desulfovibrio*, al filo Firmicutes con géneros como *Romboutsia* y *Ignavibacterium*. Sin embargo, Da Costa, *et al.* (2016) encontraron que en suelos impactados por DAM prevalecen las bacterias sulfato reductoras. Fue posible encontrar bacterias relacionadas con el ciclo de carbón y nitrógeno por la enmienda de carbón en presencia de estiércol de vaca. Esto ratifica que los cambios fisicoquímicos de los drenajes de mina afectan directamente la estructura, composición y actividad de las comunidades microbianas del suelo y, consecuentemente, los ciclos biogeoquímicos.

## Conclusiones

Los drenajes ácidos y neutros de mina producen efectos negativos en el suelo reduciendo la concentración de nutrientes e incrementando la concentración de metales, sulfatos y sulfuros. Estos cambios afectan la actividad de las enzimas como las  $\beta$  glucosidasas, ureasas, fosfatasas ácidas y alcalinas, que están directamente relacionadas con los ciclos biogeoquímicos del carbono y el nitrógeno.

Por otra parte, los factores fisicoquímicos de los suelos afectados por los drenajes registraron mayor concentración de elementos tóxicos e inhibidores enzimáticos, condiciones a las que la composición bacteriana se adapta, registrándose en este caso bacterias involucradas en los ciclos del azufre y el hierro como las bacterias sulfato reductoras, las acidófilas y las oxidadoras de azufre, lo cual se evidenció en el suelo afectado por el drenaje minero neutro. Sin embargo, cuando hay materia orgánica disponible es posible la conservación de bacterias involucradas con el ciclo de nutrientes, lo que permite la eventual enmienda mediante el proceso de biorremediación. Por lo tanto, las propiedades fisicoquímicas de los drenajes producen un efecto directo sobre la estructura, composición y actividad de las comunidades bacterianas del suelo con los consecuentes efectos sobre la condición del ecosistema y su calidad.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas de la Universidad Central, en especial a la profesora Leonor Hernández, directora del Departamento de Ciencias Naturales.

## Contribución de los autores

Los autores declaran que la contribución a este trabajo se realizó en partes iguales.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses respecto a la publicación de este trabajo.

## Referencias

- Adak, T., Singha, A., Kumar, K., Shukla, S.K., Singh, A., Kumar-Singh, V. (2014). Soil organic carbon, dehydrogenase activity, nutrient availability and leaf nutrient content as affected by organic and inorganic source of nutrient in mango orchard soil. *J Soil Sci Plant Nutr*, **14** (2): 394-406. Doi: 10.4067/S0718-95162014005000031
- Aristizábal, F.A. & Cerón, L.E. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Rev Colomb Biotecnol*, **14** (1): 285-295. Doi: 10.15446/rev.colomb.biote
- American Society of Testing Materials - ASTM. (1995). Standard test method for laboratory determination of water (moisture) content of soil and rock. En *Annual book of ASTM standards*, Section D2216-92, ASTM International, 178-181.
- ASTM. (1987). Standard test method for Moisture, Ash, and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils. En *Annual book of ASTM standards*, Section D 2974, ASTM International, 9-42.
- Azadian, F., Badoei-dalfard, A., Namaki-Shoushtari, A., Karami, Z., Hassanshahian, M. (2017). Production and characterization of an acid-thermophilic, organic solvent stable cellulase from *Bacillus sonorensis* HSC7 by conversion of lignocellulosic wastes. *Genet Eng Biotechnol J*, **15** (1): 187-196. Doi: 10.1016/j.jgeb.2016.12.005
- Balk, M., Altınbaş, M., Rijpstra, W.I.C., Damsté, J.S.S., Stams, A.J.M. (2008). Desulfatirhabdium butyrativorans gen. nov., sp. nov., a butyrate-oxidizing, sulfate-reducing bacterium isolated from an anaerobic bioreactor. *Int J Syst Evol Microbiol*, **58** (1): 110-115. Doi: 10.1099/ij.s.0.65396-0
- Blais, J.F., Djedidi, Z., Cheikh, R.B., Tyagi, R.D., Mercier, G. (2008). Metals precipitation from effluents: Review. *J Hazard Toxic Radioact Waste*, **12** (3). Doi: 10.1061/(ASCE)1090-025X(2008)12:3(135)

- Bolaños, M.** (2006). Evaluación de actividad enzimática (deshidrogenasa, proteasa, fosfatasa y arilsulfatasa) en la rizosfera de plátano Musa AAB: relación con propiedades de un andisol (Tesis doctoral). Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Palmira, 230 p.
- Bott, T., Jackson, J., McTammany, J., Newbold, D., Rier, S., Sweeney, B., Battle, J.** (2012). Abandoned coal mine drainage and its remediation: Impacts on stream ecosystem structure and function. *Ecological applications*. **22** (8): 2144-63. Doi: 10.2307/41723008
- Braak, C.J. & Smilauer, P.** (1998). CANOCO reference manual and user's guide to Canoco for Windows: Software for canonical community ordination (version 4). Fecha de consulta: 9 de mayo de 2019. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=NL2012032100>
- Brkljača, M., Kulišić, K., Andersen, B.** (2019). Soil dehydrogenase activity and organic carbon as affected by management system. *Agric. conspec. sci.* **84** (2): 135-142.
- Bryan, C.G. & Johnson, D.B.** (2008). Dissimilatory ferrous iron oxidation at a low pH: A novel trait identified in the bacterial subclass Rubrobacteridae. *FEMS Microbiol Lett.* **288** (2): 149-155. Doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01347.x
- Campaner, V.P., Luiz-Silva, W., Machado, W.** (2014). Geochemistry of Acid Mine Drainage from A Coal Mining Area and Processes Controlling Metal Attenuation In Stream Waters, Southern Brazil. *An Acad Bras Cienc.* **86** (2): 539-554. Printed version ISSN 0001-3765.
- Chauhan, R.** (2019). Nitrogen sources and trace elements influence Laccase and peroxidase enzymes activity of *Grammothele fuligo*. *Vegetos.* **32**: 316-323. Doi: 10.1007/s42535-019-00049-w
- Chen, M.H., Zhou, X.Y., Ou, F.H., Xia, F., Lv, Y.Y., Qiu, L.H.** (2017). *Aliidongia dinghuensis* gen. nov., sp. nov., a poly- $\beta$ -hydroxybutyrate-producing bacterium isolated from *Pinus massoniana* forest soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* **67** (2): 212-217. Doi: 10.1099/ijsem.0.001588
- Chen, S., Niu, L., Zhang, Y.** (2010). *Saccharofermentans acetigenes* gen. nov., sp. nov., an anaerobic bacterium isolated from sludge treating brewery wastewater. *Int J Syst Evol Microbiol.* **60** (12): 2735-2738. Doi: 10.1099/ijms.0.017590-0
- Chen, X., Hu, Y., Feng, S., Rui, Y., Zhang, Z., He, H., et al.** (2018). Lignin and cellulose dynamics with straw incorporation in two contrasting cropping soils. Web press: Scientific Reports. 1633. Doi: 10.1038/s41598-018-20134-5
- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., Ea, A.D.** (2005). APHA AWWA, WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, twenty-first ed. American Public Health Association Washington, D.C, 21.
- Cordas, C. M., Campaniço, M., Baptista, R., Maia, L.B., Moura, I., Moura, J.J.G.** (2019). Direct electrochemical reduction of carbon dioxide by a molybdenum-containing formate dehydrogenase. *Journal of Inorganic Biochemistry.* **196**: 110694. Doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.110694
- Coupland, K., Johnson, D.B.** (2008). Evidence that the potential for dissimilatory ferric iron reduction is widespread among acidophilic heterotrophic bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* **279** (1): 30-35. Doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00998.x
- Da Costa, B.Z., Rodrigues, V.D., de Oliveira, V.M., Mariscal-Ottoboni, L.M., Marsaioli, A.J.** (2016). Enzymatic potential of heterotrophic bacteria from a neutral copper mine drainage. *Braz J Microbiol.* **47** (4): 846-852. Doi: 10.1016/j.bjm.2016.07.004
- Da Silva, S.M., Voordouw, J., Leitão, C., Martins, M., Voordouw, G., Pereira, I.A.** (2013). Function of formate dehydrogenases in *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough energy metabolism. *Microbiology.* **159** (8): 1760-1769. Doi: 10.1099/mic.0.067868-0
- Dedysh, S.N., Kulichevskaya, I.S., Serkebaeva, Y.M., Mityaeva, M.A., Sorokin, V.V., Suzina, N.E., et al.** (2012). *Bryocella elongata* gen. nov., sp. nov., a member of subdivision 1 of the Acidobacteria isolated from a methanotrophic enrichment culture, and emended description of *Edaphobacter aggregans* Koch et al., 2008. *Int J Syst Evol Microbiol.* **62** (3): 654-664. Doi: 10.1099/ijms.0.031898-0
- Di Toro, D., McGrath, J., Hansen, D., Berry, W., Paquin, P., Mathew, R., et al.** (2005). Predicting sediment metal toxicity using a sediment biotic ligand model: Methodology and initial application. *Environ Toxicol Chem.* **24** (10): 2410-2427.
- Dong, L., Ming, H., Liu, L., Zhou, E.M., Yin, Y.R., Duan, Y.Y., et al.** (2014). *Zhizhongheella caldifontis* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Comamonadaceae. *Antonie van Leeuwenhoek.* **105** (4): 755-761. Doi: 10.1007/s10482-014-0131-6
- Dotaniya, M.L., Aparna, K., Dotaniya C.K., Singh, M., Regar, K.L.** (2019). Chapter 33: Role of Soil Enzymes in Sustainable Crop Production. *Enzymes in Food Biotechnology.* 569- 589 p. Doi: 10.1016/B978-0-12-813280-7.00033-5

- FENALCARBON.** (2006). Acuerdo de concertación para la producción más limpia de la minería de carbón subterráneo. Federación Nacional de Carboneros (UPME). Fecha de consulta: 25 de octubre, 2014. Disponible en: <http://www.sigob.gov.co/met/meta.hist.aspx?m=217>
- Gerritsen, J., Fuentes, S., Grievink, W., Niftrik, L.V., Tindall, B.J., Timmerman, H.M., et al.** (2014). Characterization of *Romboutsia ilealis* gen. nov., sp. nov., isolated from the gastrointestinal tract of a rat, and proposal for the reclassification of five closely related members of the genus *Clostridium* into the genera *Romboutsia* gen. nov., *Intestinibacter* gen. nov., *Terrisporobacter* gen. nov., and *Asaccharospora* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* **64** (5): 1600-1616. Doi: 10.1099/ijs.0.059543-0
- Gunjal, A.B., Waghmode, M.S., Patil, P.P., Nawani, P.P.** (2019). Chapter 9: Significance of soil enzymes in agriculture. *Smart bioremediation technologies.* 159-166 p. ISBN: 978-0-12-818307-6.
- Guo, X., Liu, N., Li, X., Ding, Y., Shang, F., Gao, Y., et al.** (2015). Red Soils Harbor Diverse Culturable Actinomycetes That Are Promising Sources of Novel Secondary Metabolites. *Appl Environ Microbiol.* **81** (9): 9086-3103. Doi: 10.1128/AEM.03859-14
- Huang, X.F., Liu, Y.J., Dong, J.D., Qu, L.Y., Zhang, Y.Y., Wang, F.Z., et al.** (2014). *Mangroviobacterium diazotrophicum* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a mangrove sediment, and proposal of Prolixibacteraceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* **64** (3): 875-881. Doi: 10.1099/ijs.0.052779-0
- Irfan, M., Ahmad, A., Hayat, S.** (2014). Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. *Saudi J Biol Sci.* **21** (2): 125-131. Doi: 10.1016/j.sjbs.2013.08.001
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., Beeregowda, K.N.** (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.* **7** (2): 60-72. Doi: 10.2478/intox-2014-0009
- Jeoung, J.-H., Martins, B.M., Dobbek, H.** (2018). Carbon Monoxide Dehydrogenases. *Metalloproteins.* **1876**: 37-54. Doi: 10.1007/978-1-4939-8864-8\_3
- Keller, K.L., Rapp-Giles, B.J., Semkiw, E.S., Porat, I., Brown, S.D., Wall, J.D.** (2014). New Model for Electron Flow for Sulfate Reduction in *Desulfovibrio alaskensis* G20. *Appl Environ Microbiol.* **80** (3): 855-868.
- Kielak, A.M., Barreto, C.C., Kowalchuk, G.A., van Veen, J.A., Kuramae, E.E.** (2016). The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. Web press: *Front Microbiol.* Doi: 10.3389/fmicb.2016.00744
- Kulichevskaya, I.S., Guzev, V.S., Gorlenko, V.M., Liesack, W., Dedysh, S.N.** (2006). *Rhodoblastus sphagnicola* sp. nov., a novel acidophilic purple non-sulfur bacterium from *Sphagnum* peat bog. *Int J Syst Evol Microbiol.* **56** (6): 1397-1402. Doi: 10.1099/ijs.0.63962-0
- Kulichevskaya, I.S., Suzina, N.E., Rijpstra, W.E., Sinnighe, J.S., Dedysh, S.N.** (2014). *Paludibaculum fermentans* gen. nov., sp. nov., a facultative anaerobe capable of dissimilatory iron reduction from subdivision 3 of the acidobacteria. *Int J Syst Evol Microbiol.* **64** (8): 2857-2864. Doi: 10.1099/ijs.0.066175-0
- Kysela, R.F., Cleveland, C.C., Townsend, A.R., Wieder, W.R., Nemergut, D.R.** (2009). Soil Bacterial Community Responses to Species-Specific Leaf Litter Dissolved Organic Matter Additions. (Doctoral dissertation, University of Colorado at Boulder).
- Li, Y., Zhang, B.Y., Huang, G.H., Dong, D., Hua, X.** (2003). Relationship between Pb/Cd adsorption and metal oxides on surface coatings at different depths in Lake Jingyuetan. *Hydrobiologia.* **494** (31): 31-35. Doi: 10.1023/A:1025421005891
- Liu, Z., Frigaard, N.U., Vogl, K., Lino, T., Ohkuma, M., Overmann, J., et al.** (2012). Complete genome of *Ignavibacterium album*, a metabolically versatile, flagellated, facultative anaerobe from the phylum Chlorobi. *Frontiers in microbiology* **3**: 185. Doi: 10.3389/fmicb.2012.00185
- Lynn, T. M., Ge, T., Yuan, H., Wei, X., Wu, X., Xiao, K., ... & Whiteley, A. S.** (2017). Soil carbon-fixation rates and associated bacterial diversity and abundance in three natural ecosystems. *Microbial ecology.* **73** (3): 645-657.
- Méndez-García, C., Peláez, A.I., Mesa, V., Sánchez, J., Golyshina, O.V., Ferrer, M.** (2015). Microbial diversity and metabolic networks in acid mine drainage habitats. Web press: *Front Microbiol.* **6**: Article number: 475. Doi: 10.3389/fmicb.2015.00475
- Ministerio de Minas de Colombia.** (2016). Política Minera de Colombia. Bases para la minería del futuro. Colombia. Fecha de consulta: 9 de mayo de 2019. Disponible en: <https://www.minminas.gov.co/documents/10180/698204/Política+Minera+de+Colombia+final.pdf/c7b3fcad-76da-41ca-8b11-2b82c0671320>

- Nogi, Y., Yoshizumi, M., Hamana, K., Miyazaki, M., Horikoshi, K.** (2014). *Povalibacter uvarum* gen. nov., sp. nov., a polyvinylalcohol-degrading bacterium isolated from grapes. *Int J Syst Evol Microbiol.* **64**: 2712-2717. Doi: 10.1099/ijs.0.062620-0
- Nordstrom, D.K., Blowes, D.W., Ptacek, C.J.** (2015). Hydrogeochemistry and microbiology of mine drainage: An update. *Appl Geochem.* **57**: 3-16. Doi: 10.1016/j.apgeochem.2015.02.008
- Pereira, I.A., Ramos, A.R., Grein, F., Marques, M.C., Da Silva, S.M., Venceslau, S.S.** (2011). A comparative genomic analysis of energy metabolism in sulfate reducing bacteria and archaea. Web press: *Front Microbiol.* **2**: 69. Doi: 10.3389/fmicb.2011.00069.
- Pereira, L.B., Vicentini, R., Ottoboni, L.M.M.** (2014). Changes in the Bacterial Community of Soil from a Neutral Mine Drainage Channel. Moustafa A, Ed *PLoS ONE.* **9** (5): e96605. Doi: 10.1371/journal.pone.0096605
- Pereira, L.B., Vicentini, R., Ottoboni, L.M.M.** (2015). Characterization of the core microbiota of the drainage and surrounding soil of a Brazilian copper mine. *Genetics and Molecular Biology.* **38** (4): 484-489. Doi: 10.1590/S1415-475738420150025
- Prasher, I.B. & Chauhan, R.** (2015). Effect of Carbon and Nitrogen Sources on the Growth, Reproduction and Ligninolytic Enzymes Activity of *Dictyoarthrinium Synnematicum somrith*. *Advances in Zoology and Botany.* **3** (2): 24-30. Doi: 10.13189/azb.2015.030203
- Pronk, J.T., Liem, K., Bos, P., Kuenen, J.G.** (1991). Energy Transduction by Anaerobic Ferric Iron Respiration in *Thiobacillus ferrooxidans*. *J Appl Environ Microbiol.* **57** (7): 2063-2068. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC183522/>
- Rubio, F. Reserva Forestal Protectora El Robledal (Cuchilla El Chaute).** (2012). Herencia MIA centro de arqueología, historia y patrimonio. Fecha de consulta: 31 de mayo, 2018. Disponible en: <http://herenciamia.org/ricaurte/items/show/73>
- Sakamoto, M. & Benno, Y.** (2006). Reclassification of *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides goldsteinii* and *Bacteroides merdae* as *Parabacteroides distasonis* gen. nov., comb. nov., *Parabacteroides goldsteinii* comb. nov. and *Parabacteroides merdae* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* **16** (7): 1599-1605. Doi: 10.1099/ijs.0.64192-0
- Sanabria, J., Bedoya, L., Sánchez, J.** (2009). Proceso Anammox, una aplicación en ingeniería: revisión general de los aspectos microbianos. *Revista virtual Univalle (Colombia).* **8**. Fecha de consulta: 9 de mayo de 2019. Disponible en: <http://revistaaidenar.univalle.edu.co/revista/ejemplares/8/k.htm>
- Serra-Wittling, C., Houot, S., Barriuso, E.** (1995). Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost. *Biol Fertil Soils.* **20**: 226-236.
- Schumacher, B.** (2002). Methods for the Determination of Total Organic Carbon (TOC) In Soils and Sediments. Ecological Risk Assessment Support Center Office of Research and Development. Fecha de consulta: 9 de mayo de 2029. Disponible en: <https://static1.squarespace.com/static/57452a30f850829c62ccff4c/t/5762254c6b8f5b9b1973e08c/1466049869677/toc+comparison.pdf>
- Sobek, A., Schuller, W.A., Freeman, J.R., Smith, R.M.** (1978). Field and laboratory methods applicable to overburdens and minesoils. EPA-600/2-78-054. Industrial Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.
- Tangthirasunun, N., Navarro, D., Garajova, S., Chevret, D., Tong, L.C., Gautier, V., et al.** (2017). Inactivation of Cellobiose Dehydrogenases Modifies the Cellulose Degradation Mechanism of *Podospira anserina*. *Appl Environ Microbiol.* **83** (2): e02716-16. Doi: 10.1128/AEM.02716-16
- Tapia-Torres, Y. & García-Oliva, F.** (2013). La disponibilidad del fósforo es producto de la actividad bacteriana en el suelo en ecosistemas oligotróficos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana.* **31** (3): 231-242. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57328903007>
- Trujillo, M.E., Alonso-Vega, P., Rodríguez, P., Carro, L., Cerda, E., Alonso, P., et al.** (2010). The genus *Micromonospora* is widespread in legume root nodules: The example of *Lupinus angustifolius*. *ISME J.* **4**: 1265-1281. Doi: 10.1038/ismej.2010.55
- Ueki, A., Akasaka, H., Suzuki, D., Ueki, K.** (2006). *Paludibacter propionicigenes* gen. nov., sp. nov., a novel strictly anaerobic, Gram-negative, propionate-producing bacterium isolated from plant residue in irrigated rice-field soil in Japan. *Int J Syst Evol Microbiol.* **56** (1): 39-44. Doi: 10.1099/ijs.0.63896-0
- United States Environmental Protection Agency (USEPA).** (2001). Flame atomic absorption spectrophotometry. US Environmental Protection Agency, Washington, D.C. Method 7000b.

- 
- Vallejo, V.** (2012). Efecto del establecimiento de sistemas silvopastoriles sobre la comunidad microbiana edáfica (total y de bacterias oxidadoras de amonio) en la Reserva Natural El Hatico-Valle (Tesis doctoral). Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana de Colombia.
- Vásquez, Y., Escobar, M.C., Neculita, C.M., Arbeli, Z., Roldán, F.** (2016). Selection of reactive mixture for biochemical passive treatment of acid mine drainage. *Environ Earth Sci.* **75** (7): 575-576. Doi: 10.1007/s12665-016-5374-2
- Wang, M., Mu, Z., Wang, J., Hou, S., Han, L., Dong, Y., et al.** (2013). The identification of and relief from Fe<sup>3+</sup> inhibition for both cellulose and cellulase in cellulose saccharification catalyzed by cellulases from *Penicillium decumbens*. *Bioresour Technol.* **133**: 507-512. Doi: 10.1016/j.biortech.2013.01.172
- Wang, Y., Zhang, Z.S., Ruan, J.S., Wang, Y.M., Ali, S.M.** (1999). Investigation of actinomycete diversity in the tropical rainforests of Singapore. *J Ind Microbiol Biotechnol.* **23**: 178-187. Doi: 10.1038/sj.jim.2900723
- Xie, X., Xiao, S., Liu, J.** (2009). Microbial communities in heavy metal polluted soil. College of Environmental Science & Engineering (Submitted). Available sequence from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GQ487942.1>

Original article

## Electrode cleaning and reproducibility of electrical impedance measurements of HeLa cells on aqueous solution

### Limpieza de electrodos y reproducibilidad de medidas de impedancia eléctrica en células HeLa en solución acuosa

✉ Sandra M. Pinto<sup>1</sup>, ✉ Edgar F. Pinzón<sup>2</sup>, ✉ Ángel M. Meléndez<sup>3</sup>, ✉ Stelia Méndez-Sánchez<sup>1</sup>,  
✉ David A. Miranda<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>2</sup> Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>3</sup> Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

#### Abstract

Electrical impedance spectroscopy (EIS) is used to study the electrical properties of cells in suspension. Two (bipolar electrode system), three (tripolar) and four (tetrapolar) electrodes are used to measure the electrical properties of materials with tetrapolar measurements being the best option to minimize electrode polarization effects. When EIS measurements are repeated for the same sample, almost identical spectra can be expected. However, in some situations, significant differences associated with low reproducibility and repeatability are found. Herein we used HeLa cells dispersed in an aqueous solution to evaluate the effect of cleaning on the performance of gold electrodes. The surface cleaning of gold electrodes was conducted by cyclic voltammetry. We found that the impedance measuring reproducibility and repeatability are enhanced when the electrodes are cleaned. These results show that surface cleaning minimizes the contribution of electrode polarization in measurements. Additionally, a circuitual model is proposed to describe the effect of untreated surfaces on electrical measurement. The circuitual model confirms that the observed effect is not due to a typical polarization impedance. Rather, it is an active polarization (interfacial polarization), which occurs at low frequencies, and is independent of the frequency of the excitation signal.

**Keywords:** Reproducibility; Electrical impedance spectroscopy; HeLa cells; Surface phenomena; Circuitual model.

#### Resumen

La espectroscopia de impedancia eléctrica (EIS) se emplea en el estudio de las propiedades eléctricas de células en suspensión. Para medir las propiedades eléctricas de materiales se utilizan dos (sistema de electrodo bipolar), tres (tripolares) y cuatro (tetrapolares) electrodos, siendo las medidas tetrapolares la mejor opción para minimizar los efectos de polarización de electrodo. Cuando se repiten las medidas de EIS en una misma muestra, se espera obtener espectros similares, sin embargo, en algunas situaciones se encuentran diferencias significativas asociadas con la baja reproducibilidad y repetibilidad. Aquí se utilizaron células HeLa dispersas en solución acuosa para evaluar también el efecto de la limpieza en el funcionamiento de los electrodos de oro. La limpieza de las superficies de los electrodos de oro se hizo por voltamperometría cíclica. Se encontró que la reproducibilidad y la repetibilidad de las medidas de impedancia aumentaba al limpiar los electrodos. Estos resultados evidenciaron que la limpieza de la superficie de los electrodos minimizó las contribuciones de la polarización de los electrodos en las mediciones. Además, se propone un modelo de circuito para describir el efecto de las superficies sin limpiar en las medidas eléctricas. Dicho modelo confirma que el efecto observado no se debió a una impedancia de polarización convencional. Más bien se trató de una polarización activa (como un potencial), la cual se presenta a bajas frecuencias y es independiente de la frecuencia de la señal de excitación.

**Palabras clave:** Reproducibilidad; Espectroscopia de impedancia eléctrica; Células HeLa; Fenómenos de superficie; Modelo circuitual.

**Citation:** Pinto SM, Pinzón EF, Meléndez AM, *et al.* Electrode cleaning and reproducibility of electrical impedance measurements of HeLa cells on aqueous solution. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):257-268, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.919>

**Editor:** Fernando Martínez O.

**\*Corresponding autor:**

David A. Miranda;  
[dalemir@uis.edu.co](mailto:dalemir@uis.edu.co)

**Received:** June 18, 2019

**Accepted:** December 13, 2019

**Published:** March 31, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

## Introduction

Electrical impedance spectroscopy (EIS) in biological materials has allowed for the differentiation between normal and carcinogenic tissues and cells in various organs (**Brown, et al.**, 2005). This technique is based on the characterization of the electrical properties of materials at different frequencies (**Dean, et al.**, 2008). According to **Schwan** (1994), the electrical properties of tissues and cells are characterized by three major dielectric dispersions named  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  in the frequency ranges of mHz–kHz, 10 kHz–10 MHz, and 10MHz–100 GHz, respectively. Each dispersion provides information about different mechanisms of physiological states. In biological cells, the  $\alpha$  dispersion provides information about the extracellular medium and the diffusion processes through the membrane (**Schwan**, 1994). It is noteworthy that cancer cells undergo degeneration of the membrane in the initial phase of carcinogenesis, which causes changes in normal ionic concentrations between extracellular and intracellular media (**Yúfera, et al.**, 2010).

Cervical cancer has one of the highest mortality rates of any of the major cancers. Luckily, early detection of this disease increases life expectancy in women who have been diagnosed (**Minion & Tewari**, 2018). Currently, cervical cancer screening is based on exfoliative cytology. However, the result depends on the interpretation of the morphological cellular changes, which can lead to false negative cytology (**Cuzick, et al.**, 2006). EIS is a non-invasive technique that allows for the monitoring of the cellular state without altering the natural condition (**Prodan, et al.**, 2008).

HeLa human cervical carcinoma cells have been used as a biological model to differentiate normal and carcinogenic cells (**Das, et al.**, 2012). Among the reported EIS methods for HeLa measurements are the two and three electrodes biosensors to measure cells in suspension (**Das, et al.**, 2015). The four-point Van der Pauw method created for solid state measurements can also be applied in the measurement of electrical properties of electrolytic solutions. Thus, HeLa cells suspended in phosphate buffer solution (PBS medium) can be studied with this method. One of the advantages of this type of measurement is the diminution of the polarization effects because the excitation is supplied by two electrodes while the voltage is measured by the other two (**Chaparro, et al.**, 2016). However, the electric field produced by the excitation signal generates a rearrangement of charges at the electrode/electrolyte interface. This is known as the induced polarization phenomenon (IP). The effects of this phenomenon are more evident at low frequencies, and it also depends on the surface condition of the measurement electrodes (**Schwan, et al.**, 1966; **Schwan, et al.**, 1968; **Schwan, et al.**, 2002).

Gold is conventionally used as an electrode material because it is considered inert and has high thermodynamic stability (**Lim, et al.**, 2007). Different gold cleaning processes have been reported in preexisting literature including chemical cleaning and electrochemical cleaning. In chemical cleaning, an oxidizing agent is used (a combination of hydrogen peroxide and sulfuric acid) to remove environmental contaminants from the gold surface (**Chen, et al.**, 2015). On the other hand, electrochemical cleaning consists of the application of several oxidation/reduction cycles by voltammetry in an acid medium (**Carvalho, et al.**, 2005). In electrochemical measurements, the surface state of the electrode influences the process of charge transfer at the interface. On the contrary, in EIS measurements, the properties of bulk are evaluated instead of the interface (**Chaparro, et al.**, 2016).

Usually, in the interpretation of the EIS data, a Cole-Cole or circuitual model is used. The Cole-Cole model allows for the modeling of the electrical properties of heterogeneous media by four parameters: The low-frequency resistivity, the high-frequency resistivity, the medium relaxation time, and the heterogeneity parameter. With the Cole-Cole model, we can describe heterogeneous media with a statistical distribution of the relaxation time. Another possible way to analyze EIS data is by a circuitual model that fits with the experimental data.

In this work, we focused on the electrode-media interface effect instead of the electrical properties of the material. As a result, the use of the Cole-Cole model is not appropriate because the target effect occurs at the interface rather than the material. As we have shown before, the ideal effect of the electrode-media interface is null, but experimental data obtained with four electrodes suggest an unexpected induced polarization effect.

No passive behavior can explain the experimental data presented in this work. Therefore, a model with an active component is proposed to explain the experimental observations. Hence, herein we studied the effect of the surface conditions of the measurement electrodes (cleaned or uncleaned) on the electrical impedance spectra of HeLa cells in suspension using an active model.

**The effect of polarization impedance in a tetrapolar electrical impedance measurement**

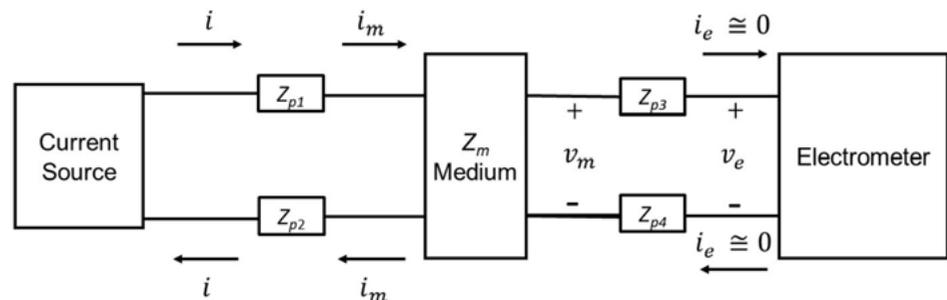
We showed that the impedance measurement using four electrodes prevented the polarization impedance effect as follows: Polarization impedance means, in this context, a passive impedance that can be represented by circuitual passive elements, such as resistance, capacitance, inductance, constant phase elements, or a combination of these.

To understand the importance of a tetrapolar setup, the circuitual model is described as follows: **Figure 1** shows a linear time-invariant (LTI) medium with electrical impedance  $Z_m$ , which is described by a four-terminal box with two input and two output terminals. The four-terminal box represents the medium satisfied by the equation (1), where  $V_m$  is the amplitude of the potential difference between the two output terminals,  $I_m$ , the amplitude of electrical current, and  $\phi$  is the phase between output potential and input current.

$$V_m = Z_m I_m e^{j\phi} \quad (1)$$

A current source introduced a sinusoidal current to the medium  $i = I \sin(2\pi ft)$  and an electrometer measured the potential difference,  $v_e = V_e \sin(2\pi ft + \phi)$ . Four polarization impedances ( $Z_{p1}, Z_{p2}, Z_{p3}, Z_{p4}$ ) represent the polarization induction effect established by the contact between measurement instruments and the medium. Kirchoff laws imply that  $i_m = i = I_m \sin(2\pi ft)$  and given that the current flow through the electrometer is negligible, ( $i_e \approx 0$ ), then  $v_m = v_e = V_m \sin(2\pi ft + \phi)$ . The measured impedance is the quotient between the amplitude of voltage in the electrometer  $V_e$  and the amplitude of current introduced by the current source  $I$  plus the phase of current and voltage,  $e^{j\phi}$ , i.e.,  $Z = \frac{V_e}{I} e^{j\phi}$ .

Note that  $V_e = V_m$  and  $I = I_m$ , then, using equation (1) we have shown that the measured impedance is equal to the medium impedance no matter the polarization impedances. This means that no effects in tetrapolar measurements are due to polarization impedances.



**Figure 1.** Circuitual model of a tetrapolar electrical impedance experiment. A linear medium with impedance  $Z_m$  (central box) is represented by a box with four terminals: two input and two output. The medium is perturbed by an alternating current source ( $I_m$ ) through the two input terminals. The potential difference ( $V_m$ ) between the two output terminals is measured by a high impedance electrometer ( $i_e \approx 0$ ). Four polarization impedances ( $Z_{p1}, Z_{p2}, Z_{p3}, Z_{p4}$ ) represent the polarization induction effect due to the contact between measurement instruments and the medium.

## Materials, methods and experimental setups

### *Chemicals and solutions*

All chemical reagents used were analytical grade.  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , and  $\text{H}_2\text{O}_2$  were purchased from Merck.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  were purchased from Sigma-Aldrich. Aqueous solutions were prepared in deionized water from a Milli-Q ultra-pure water system (18.2 M $\Omega$ ). The standard medium was a PBS solution containing (mM):  $\text{NaCl}$  (138.0),  $\text{KCl}$  (3.0),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (8.1) and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1.5) adjusted to pH 7.4 with NaOH.

### *Cell preparation*

HeLa cells were cultured in Essential Minimal Eagle medium (EMEM) supplemented with 7% fetal bovine serum and gentamicin (50 mg/L). The cells were grown in an atmosphere containing 5%  $\text{CO}_2$  at 37°C until cellular confluence. The release of cells was performed by treatment with trypsin (0.5 %) and 1mM EDTA. Cells were centrifuged at 3000xg for 5 minutes and a population size of  $1.2 \times 10^6$  was suspended in 1 mL of PBS (pH 7.4). The impedance spectrum measurements of cells were performed at room temperature.

### *Elaboration of the four-electrode cell*

The four-electrode cell was fabricated with two parts: a cylindrical Teflon container and the gold electrodes. The gold electrodes were made by welding four gold wires (18 carats, 1 mm in diameter and 15 mm long), each one welded to a silver wire with the same dimensions at an angle of 90°.

### *Electrode cleaning process*

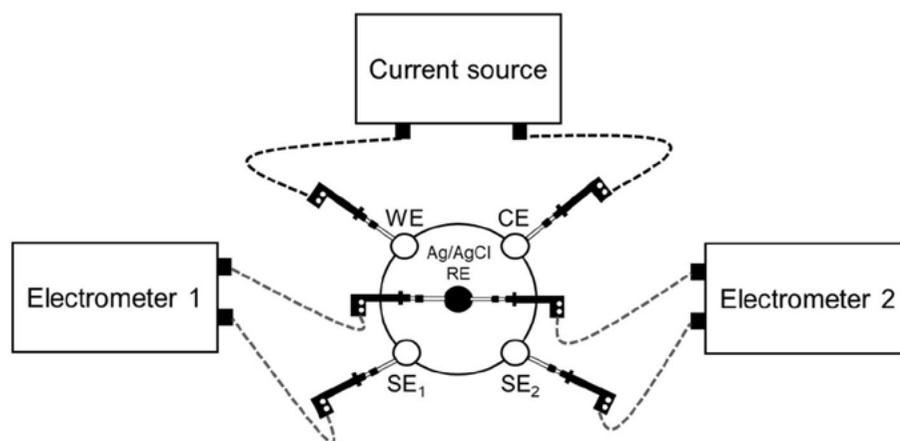
The gold electrodes were chemically cleaned by immersion in a 1:3 v/v  $\text{H}_2\text{O}_2$  (9,8 M)/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  (11,8M) solution for 1 minute to remove the organic compounds present on their surface. Then, the electrodes were electrochemically cleaned by cyclic voltammetry and rinsed with deionized water. Cyclic voltammetry measurements were performed in a conventional three-electrode cell at room temperature. The oxidation-reduction cycling in 0.5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  was completed for each electrode by scanning the potential between **-0.1** and **1.6 V** at a scan rate of **0.1 Vs<sup>-1</sup>** and it ceased when the characteristic electrochemical behavior of the gold was obtained. The dissolved oxygen was removed from all solutions by bubbling nitrogen for 15 min. The working electrode was one of the prepared gold electrodes. The counter electrode was a high purity graphite rod (99.9995%, 5 mm in diameter) and an Ag/AgCl/3.0M KCl electrode was used as reference. All electrochemical measurements were performed with a potentiostat/galvanostat Autolab PGSTAT302N and the Nova 1.10.4 software.

### *Electrical measurement setups*

We performed three types of electrical measurements: Cyclic voltammetry (CV), direct current (DC), and alternating current (AC). The DC and AC electrical measurements were carried out with two Autolab PGSTAT204 potentiostat/galvanostats with an impedance analyzer, a four-electrode cell with gold electrodes, an Ag/AgCl (3.0M KCl) reference electrode, and PBS as aqueous electrolyte medium. Electrometers from two potentiostats were used.

In the DC and AC experiments, a current source and two electrometers (impedance analyzers) were used as shown in **figure 2**. The current was supplied through the working electrode (WE) and the counter electrode (CE). The Ag/AgCl electrode was placed in the center of the cell and the electrical potential difference between it and a sensor electrode (SE) was recorded using a high impedance electrometer.

In both the DC and AC setups, a sinusoidal current excitation with an amplitude of 10  $\mu\text{A}$  and frequencies between 10 mHz and 100 kHz was selected; 500  $\mu\text{L}$  of PBS both with and without cells were used in each measurement. The contact time of the cells with the electrode during the electrical characterization was 3 minutes.



**Figure 2.** Experimental setup for the DC and AC electrical measurements using three potentiostats. Abbreviations: WE (working electrode), CE (counter electrode),  $SE_1$  and  $SE_2$  (sensor electrodes).

We carried out each electrical impedance measurement of the PBS solution with and without cells in triplicate and we determined the standard deviation for each of them.

In both the DC and AC experiments, we used a sinusoidal current excitation instead of DC excitation. However, we performed DC measurements on electrodes to study the offset effect and AC measurements to explore the alternating current effects.

#### **DC electrical measurement**

The DC effect of induced polarization, i.e., the offset contribution of the electrical potential difference due to the sinusoidal current excitation, was recorded with electrometers by  $SE_1$  and  $SE_2$  electrodes from the potentiostat as shown in **figure 2**.

#### **AC electrical measurements**

We performed two types of AC electrical measurements: First, a traditional four-electrode electrical impedance and second, a potential difference with sinusoidal excitation to study the AC effect of induced polarization.

The first setup is well reported in the literature (**Chaparro, et al., 2016**). The second setup was proposed for studying the AC effect of induced polarization due to the excitation signal. Electrical impedance measurements were performed simultaneously in PBS medium using two impedance analyzers as shown in **figure 2**. The amplitudes of the sinusoidal potential differences were recorded by two electrometers using SE and RE electrodes.

In the second setup, it is important to note that each impedance analyzer had a current source and an electrometer. Thus, to perform the AC measurements, we used both electrometers of the two impedance analyzers but only one current source (from the first impedance analyzer). To avoid damaging the second impedance analyzer and taking into account that the current injected by this impedance analyzer has no effect in the measurements recorded, we used a second cell with PBS to connect the current source of this impedance analyzer (this second cell is not shown in **figure 2**).

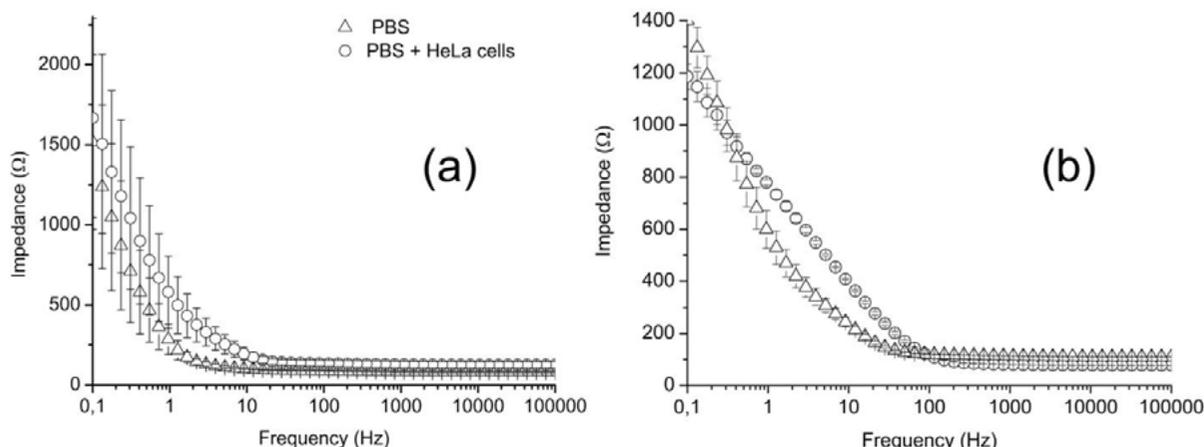
## **Results and discussion**

To study the effect of the surface condition of the gold electrodes on four-points electrical measurements, we measured impedance spectra either in PBS medium with or without HeLa cells before and after electrochemical cleaning of the electrodes as shown in **figure 3**. Owing to the electrical nature of impedance measurements and the low current used, oxidation-reduction processes did not occur. The main effect of the electrochemical pretreatment is the decrease of standard deviation values at frequencies lower than 10 Hz with respect to untreated electrodes. This behavior is more evident at frequencies below 1 Hz.

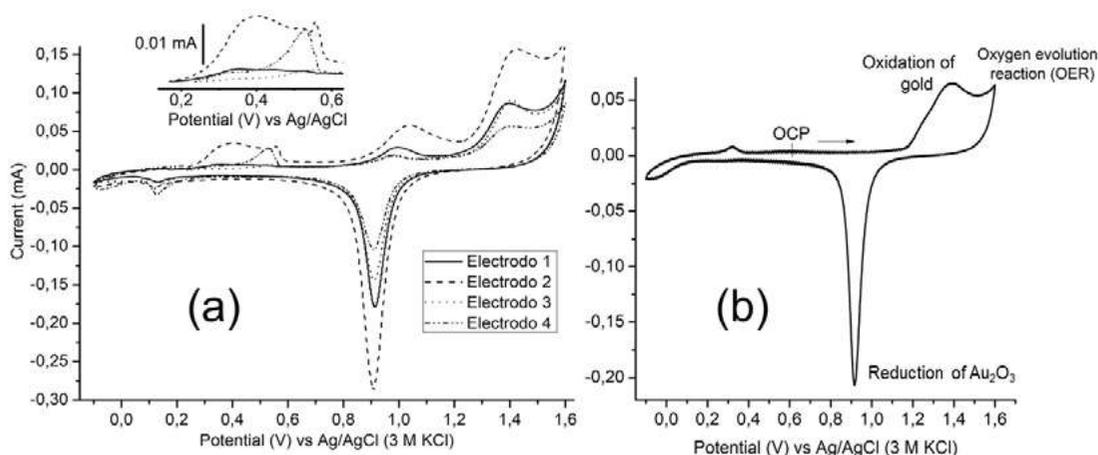
The accuracy of the impedance magnitude can be associated with the induced polarization phenomenon (IP) of the electrodes caused by the excitation current (Ragheb & Geddes, 1991). Although the IP depends on the excitation frequency and the surface conditions of the electrodes (Tarasov & Titov, 2013), we observed nonsignificant variations at frequencies below 1 Hz as discussed below. The following sections present an experimental study of the effect of the IP phenomenon on the EIS measurements.

#### *Electrochemical cleaning process and surface conditions of gold electrodes*

Cyclic voltammetry experiments were performed to clean and study the surface of gold electrodes. Figure 4 shows the typical voltammograms of fouled gold electrodes. Since the geometric area of each electrode submerged in the solution was the same, variations in peak currents indicate the variation in either roughness or oxidation degree. It is noteworthy that after initiating the scan in the positive direction, at least two oxidation peaks were observed (inset of figure 4). Voltammetric peaks in this region are not characteristic of gold surfaces, which indicates different surface chemistry among them. This can be related to the fouling of the electrode ascribed to the nonspecific protein adsorption and cell adhesion. In analytical electrochemistry, cell biofouling is a well-known phenomenon



**Figure 3.** Electrical impedance spectra of PBS medium (triangles) and HeLa cells in PBS (circles): (a) without electrochemical pretreatment of electrodes and (b) after electrochemical treatment of the gold electrodes. The error bars indicate the standard deviation of three or more independent experiments.



**Figure 4.** Cyclic voltammograms ( $v = 100 \text{ mV/s}^{-1}$ ) obtained on (a) different gold electrodes in  $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ , as indicated in the figure legends and (b) after the cleaning process.

that has a harmful effect on the functioning of the electrochemical sensing interface when exposed to a biofluid (Liu, *et al.*, 2019). Different open-circuit values were obtained for each electrode mentioned above. Thus, it is possible to relate the accuracy in impedance to the different surface conditions of the electrodes.

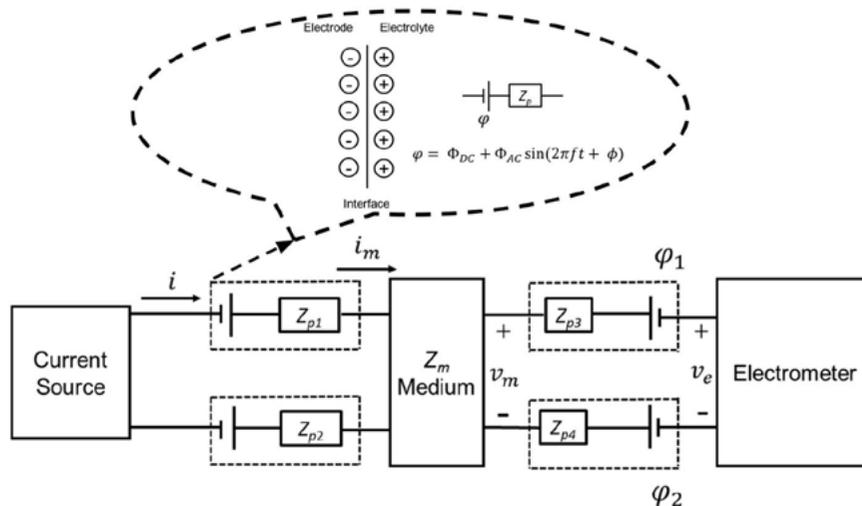
To guarantee a similar superficial condition of the gold electrodes (electrochemical pretreatment), several oxidation/reduction cycles were applied on the gold electrodes by voltammetry in an acid medium. This process was carried out until the characteristic electrochemical behavior of the gold for each electrode could be observed (Figure 4b). The above guaranteed similar superficial conditions of the gold electrodes (Fischer, *et al.*, 2009).

**Polarization induction effects**

The polarization induction effects occur by an external excitation (current source in figure 2) in a medium where interfaces exist. In tetrapolar EIS experiments, four interfaces appear, one for each electrode. In typical electrical measurements, the polarization induction effects can be modeled by polarization impedances as described above. However, when solid electrodes are in contact with an electrolyte solution, an electrical double layer is formed near the surface of the electrode. The double layer is represented in the dashed line box of figure 5 by two oppositely charged layers at the interface. Due to the rearrangement of electric charges caused by the excitation current, an accumulation of charge occurs at low frequencies, which contributes to the electric potential. At higher frequencies, the rapid change of the electric field direction produces a very fast charge and discharge of the double layer, thus preventing charge accumulation and generating displacement currents (Qu & Shi, 1998). The effect of introducing the electrode in the electrolyte solution can be modeled by an electrical potential difference  $\varphi$  in series with a passive polarization impedance  $Z_p$  (Figure 5) where the potential difference has two contributions (DC and AC) as follows:

$$\varphi = \varphi(t) = \varphi_{DC} + \varphi_{AC} \sin(2\pi ft + \phi) \tag{2}$$

The proposed model suggests that when a tetrapolar EIS experiment is carried out in an electrolyte solution, a potential  $\varphi$  appears due to the impedance polarization as shown in figure 5. Based on the arguments described above, the input currents are equal, i.e.,  $i = i_m$ .



**Figure 5.** Circuitual model of a tetrapolar electrical impedance experiment performed in a liquid electrolyte media, where the central box represents a linear medium with impedance  $Z_m$ . The dashed lines box illustrate the Helmholtz double layer model and the corresponding circuitual model, where  $\varphi$  is the potential difference,  $\Phi_{DC}$  and  $\Phi_{AC}$ , DC and AC potential difference contributions,  $f$ , frequency,  $t$ , time,  $\phi$ , phase, and  $Z_p$  the polarization impedance.

Indeed, the voltage in the electrometer  $v_e$  must be different from the voltage in the medium  $v_m$ . Both the current through the electrometer and the effect of polarization impedances  $Z_{p3}$  and  $Z_{p4}$  are negligible. Assuming the above, the relation of voltages is given by equation (3).

$$v_e = v_m + (\varphi_2 - \varphi_1) \tag{3}$$

Combining equations (2) and (3) and simplifying the expression, we obtained the equation (4) where  $\Delta\Phi_{DC} = \Phi_{DC2} - \Phi_{DC1}$ ,  $\Delta\phi_{AC} = \Delta\Phi_{AC} \sin(2\pi ft + \phi)$  and  $\Delta\Phi_{AC} = \Delta\Phi_{AC2} - \Delta\Phi_{AC1}$ :

$$v_e = v_m + \Delta\Phi_{DC} + \Delta\phi_{AC} \tag{4}$$

This implies that the impedance measured is given by equation (5):

$$Z_e = \frac{\sqrt{(V_m + \Delta\Phi_{AC})^2 + 2(V_m + \Delta\Phi_{AC})\Delta\Phi_{DC}\cos\phi + \Delta\Phi_{DC}^2}}{I} e^{j\phi} \tag{5}$$

If the  $\Delta\phi_{DC}$  contribution is negligible, then the measured impedance is given by

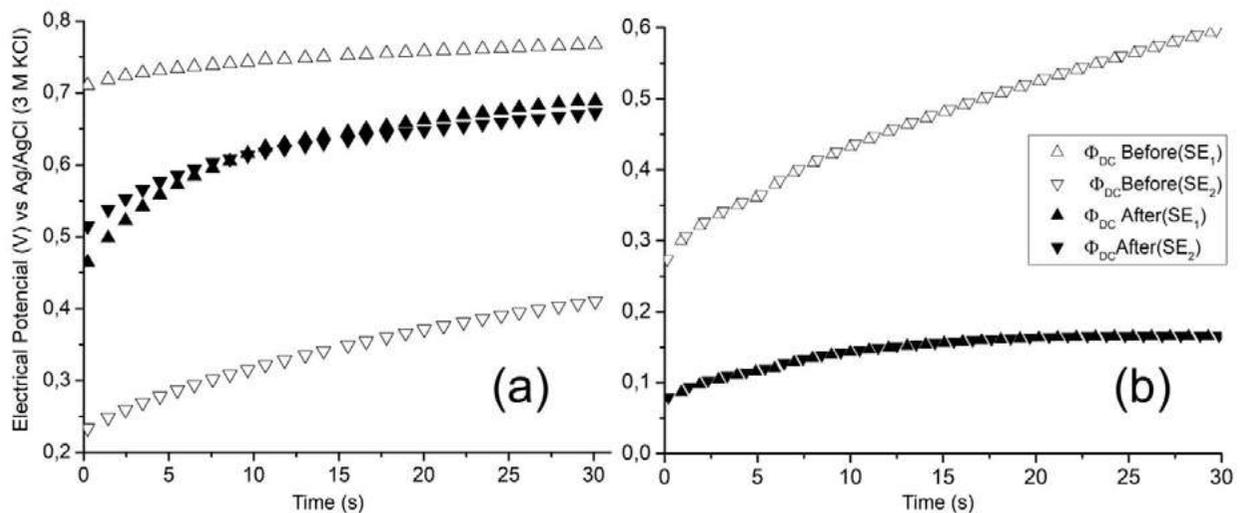
$$Z_e \approx Z_m + \frac{\Delta\Phi_{AC}}{I} e^{j\phi} \tag{6}$$

We conducted two types of experiments to study the effect of induced polarization: DC and AC electrical potential of the gold electrode with respect to a nonpolarizable electrode as described in the following section.

**DC electrical potential of the gold electrode with respect to a nonpolarizable electrode**

To verify the effect of the surface condition of gold electrodes during EIS measurements at four points, the DC electrical potential  $\Phi_{DC}$  of the two gold electrodes ( $SE_1$  and  $SE_2$  in **figure 2**) was measured simultaneously with respect to the Ag/AgCl reference electrode (3.0 M KCl). For that measurement, we used the electrometer with the low-pass filter setup that measures only the DC contribution. The DC contribution of the electrical potential difference of each SE before and after (cleaning) the electrochemical cleaning (**Figure 6**) showed differences that can be associated with the IP phenomenon. The excitation current produced a progressive reorganization of the electrical charges at the interface until reaching a steady-state potential value in the range of seconds (**Shi, et al., 2016**). It is worth noting that the potential values closed when they were clean.

The cleaning process carried out on the electrodes guaranteed similar surface conditions, which caused the electrical dynamics to be the same in the process of polarization of the electrode. Thus, the accuracy in the EIS measurements was achieved as shown in **figure 4**.



**Figure 6.** Comparison between the direct current (DC) electrical potential difference  $\Phi_{DC}$  of gold electrodes ( $SE_1$  and  $SE_2$ ) with respect to a reference electrode of Ag/AgCl (3.0 M KCl) measured for **(a)** an electrode and after for the other (not simultaneously), and **(b)** performed simultaneously for both electrodes.

Additionally, it is important to consider the effect of the ions at the electrode interface. Both  $SE_1$  and  $SE_2$  electrodes are polarized by attracting opposite-charge and different-sized ions around them during ESI measurements. Therefore, the electrical dynamic is different around each electrode as a consequence of the effect of the size of the ions (Largeot, *et al.*, 2008). This phenomenon generates different contributions of potential in each electrode. When the electrical measurements are performed separately for each electrode as in **figure 6** (a), experimental conditions are not identical. However, if the measurements are performed simultaneously as in **figure 6** (b), it is possible to compare the condition of both electrodes. **Figure 6** (b) shows the DC contribution of the electric potential difference of the  $SE_1$  and  $SE_2$  electrodes with respect to the Ag/AgCl reference electrode obtained simultaneously during EIS measurements (**Figure 2**). In these results, we observed the superposition of the electrical potential curves of the two electrodes for both surface conditions. Note that the potential at both electrodes is equal ( $\Phi_{DC1} = \Phi_{DC2}$ ), therefore, the contribution  $\Delta\Phi_{DC} = \Phi_{DC2} - \Phi_{DC1}$  due to the net effect of induced polarization was not observed in DC measurements performed simultaneously. This suggests that differences observed in the EIS (**Figure 3**) were not due to a DC contribution and that an AC contribution could explain such differences.

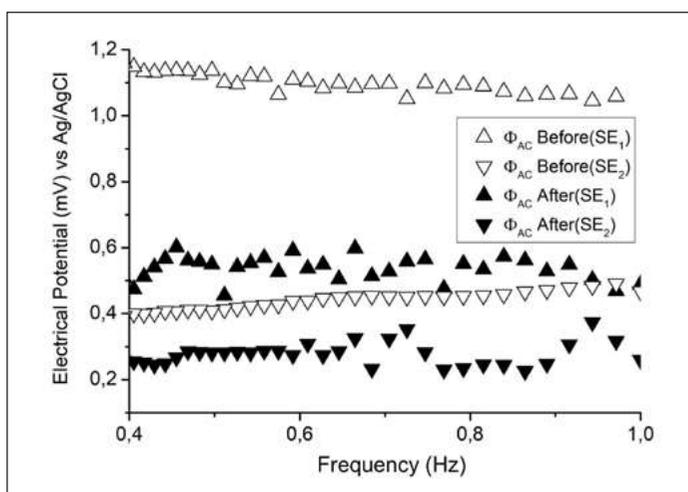
**AC electrical potential of the gold electrode with respect to a nonpolarizable electrode**

Considering that the IP phenomenon is not observed in direct current measurements, we performed indirect measurements of the amplitude  $\Phi_{AC}$  of the AC electrical potential  $\phi_{AC} = \Phi_{AC} \sin(2\pi ft)$ . In these measurements, we observed different contributions of electric potential in each measuring electrode for both surface conditions (**Figure 7**).

The experimental EIS results shown in **figure 7** demonstrate that the AC contribution  $\Delta\Phi_{AC}$  was different from zero and, given that the DC contribution was negligible, equation (6) could be used to describe the experimental EIS results.

We found that performing the electrochemical cleaning decreased the value of the contribution of electrical potential in each electrode and  $\Delta\Phi_{AC}$  was smaller than in the case of an unclean surface, which agrees with the EIS experiments (**figure 3**).

Since the conditions of the medium and the dimensions of the electrodes and cell were the same, the observed decrease of potentials can be associated with a similar surface state at the measurement electrodes. Thus, the contribution of potential due to the induced polarization of the interface ( $\phi_2 - \phi_1$ ) decreased because it mainly depended on a single factor: The electrical dynamics around each electrode.



**Figure 7.** Indirect measurement of AC electric potential amplitude  $\Phi_{AC}$  in two gold electrodes ( $SE_1$  and  $SE_2$ ) using two cells and an Ag/AgCl reference electrode (3.0 M KCl).

### ***The effect of gold electrodes surface states in the measurement of electrical properties of HeLa cells in aqueous suspension***

EIS allows relating the electrical properties of HeLa cells in aqueous suspension to their physiological states (Mondal & Roychaudhuri, 2013; Dean, *et al.*, 2008; Das, *et al.*, 2012; Das, *et al.*, 2015). According to Schwan (1983), the frequency range between 100 Hz- 1 MHz ( $\beta$  zone) provides information about the Maxwell-Wagner effects and allows for the study of the protein molecule response (Thu, *et al.*, 2017). The impedance spectrum of cells in suspension in this frequency range has been well studied including its use to detect cancer cells (Das, *et al.*, 2012). In the study by Das, *et al.* (2012) on cells in a solution with a two-electrode setup a passive behavior of electrode media interface was observed. However, in our work, we observed an active (not passive) behavior in the measurements performed with four electrodes in a frequency range that includes the  $\beta$  zone and a part of the  $\alpha$  zone.

The Das, *et al.* (2012) study with cancer cells showed the effects of the cell membrane on the electrical impedance measurement. Hence, it is possible to obtain information about ionic diffusion processes across the cellular membrane allowing for the analysis of membrane potential changes (Clarence, 1970). Cancer cells have altered membrane potential while depolarization of membrane is necessary for their maintenance and proliferation (Yang & Brackenbury, 2013; Berzingi, *et al.*, 2016), therefore, measuring precise changes in membrane potential can contribute to cancer detection.

With two and three-electrode measurements, the electrode media interface effect appears to be passive (Das, *et al.*, 2012) instead of the active effect we observed in the four electrode experiments. The interface effect can negatively affect the capability to detect anomalies of cells or tissue, especially at lower frequencies. Therefore, improving the reproducibility of measurements in this frequency range could provide useful information for the detection of cervical cancer. Because the induced polarization phenomena are more evident at lower frequencies, it is necessary to guarantee similar surface conditions in the electrodes measured to obtain more accuracy.

## **Conclusions**

We studied the effect of the surface condition of gold electrodes on electrical properties of HeLa cells in suspension using electrical measurements and a circuitual model, which led us to the following conclusions: First, the phenomena of induced polarization at the electrode/electrolyte interface at low frequencies generated contributions of electric potential which were not expected in the tetrapolar EIS measurements; second, this effect was due to an AC induced polarization contribution instead of a DC contribution. Thus, voltammetry treatment of gold electrodes minimized undesirable polarization effects, which enhanced the accuracy of EIS measurements.

## **Acknowledgements**

This study was developed with the financial support of the *Vicerrectoría de Investigación y Extensión* at *Universidad Industrial de Santander*, grant number 1907. We thank Eloise Kowal for the proofreading of the paper.

## **Author's contribution**

SMP: HeLa cell preparation, experiments with HeLa cells, data tabulation, graphing (schematics); EFP, ÁMM: electrochemical electrode cleaning, experiments, figure making; SMS: experiment design with HeLa cells; DAM: problem statement, design of electrical impedance experiments, circuitual model. All authors contributed to the drafting of the manuscript.

## **Conflicts of interest**

There are no conflicts of interest to declare.

## References

- Berzinger, S., Newman, M., Yu H. G.** (2016). Altering bioelectricity on inhibition of human breast cancer cells. *Cancer Cell Int.* **16** (72): 1-9.
- Brown, B. H., Milnes, P., Abdul, S., Tidy, J. A.** (2005). Detection of cervical intraepithelial neoplasia using impedance spectroscopy: A prospective study. *Journal of Obstetrics and Gynecology.* **112** (6): 802-806.
- Carvalho, R. F., Freire, S., Kubota, T.** (2005). Polycrystalline gold electrodes: A comparative study of pretreatment procedures used for cleaning and thiol self-assembly monolayer formation. *Electroanalysis.* **4**: 1251-1259.
- Chaparro, C. V., Herrera, L. V., Meléndez, A. M., Miranda, D. A.** (2016). Considerations on electrical impedance measurements of electrolyte solutions in a four-electrode cell. *Journal of Physics: Conference Series.* **687** (6): 1-4.
- Chen, Y., Wang, L., Pradel, A., Merlen, A., Ribes, M.** (2015). Underpotential deposition of selenium and antimony on gold. *Journal of Solid-State Electrochemistry.* **19** (8): 2399-2411.
- Clarence, D. C.** (1970). Variation of the transmembrane potential level as a basic mechanism of mitosis control. *Oncology.* **24**: 438-470.
- Cuzick, J., Clavel, C., Petry, K.-U., Meijer, C. J., Hoyer, H.** (2006). Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *J. Cancer.* **119**: 1095-1101.
- Das, D., Kamil, F. A., Biswas, K., Das, S.** (2012). Electrical characterization of suspended HeLa cells using ECIS based biosensor. Sixth International Conference on Sensing Technology (ICST), Kolkata, 2012: 734-737. DOI: 10.1109/ICSensT.2012.6461775.
- Das, L., Das, S., Chatterjee, J.** (2015). Electrical bioimpedance analysis: A new method in cervical cancer screening. *Journal of Medical Engineering.* **2015** (1): 1-5.
- Dean, D. A., Ramanathan, T., Machado, D., Sundararajan R.** (2008). Electrical impedance spectroscopy study of biological tissues. *Journal of Electrostatics.* **66** (1): 165-177.
- Fischer, L. M., Tenje, M., Heiskanen, A. R.** (2009). Gold cleaning methods for electrochemical detection applications. *Microelectronic Engineering.* **86** (11): 1282-1285.
- I-Im S. Lim, Derrick Mott, H., Jin Luo, R. S., Chuan-Jian, Z.** (2007). Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles. *The Journal of physical chemistry.* **111**: 14664-14669.
- Liu N., Xu Z., Morrinh A., Luo X.** (2019). Low fouling strategies in electrochemical biosensors targeting disease biomarkers. *Analytic Methods.* **11**: 702-711.
- Largeot, C., Portet, C., Chmiola, J., Louis Taberna, P., Gogotsi, Y., Simon, P.** (2008). Relation between the ion size and pore size for an electric double-layer capacitor. *Journal American Chemical Society.* **130**: 2730-2731.
- Minion, L. E. & Tewari, K. S.** (2018). Cervical cancer – State of the science: From angiogenesis blockade to checkpoint inhibition. *Gynecologic Oncology.* **148** (3): 609-621.
- Mondal, D. & Roychaudhuri, C.** (2013). Extended Electrical Model for Impedance Characterization of Cultured HeLa Cells in Non-Confluent State Using ECIS Electrodes. *IEEE transactions on nanobioscience.* **12** (3): 239-246.
- Prodan, E., Prodan, C., Miller, J. H.** (2008). The Dielectric Response of Spherical Live Cells in Suspension: An Analytic Solution. *Biophysical Journal.* **95** (9): 4174-4182.
- Qu, D. & Shi, H.** (1998). Studies of activated carbons used in double-layer capacitors. *Journal of Power Sources.* **74** (1): 99-107.
- Ragheb, T. & Geddes, L. A.** (1991). The polarization impedance of common electrode metals operated at low current density. *Annals of Biomedical Engineering.* **19**: 151-163.
- Schwan, H. P.** (1966). Alternating current electrode polarization, *Biphsik.* **3**: 181-201.
- Schwan, H. P.** (1968). Electrode polarization impedance and measurements in biological materials, *Ann N Y Acad Sci.* **148** (1): 191-209.
- Schwan, H. P.** (1983). Electrical properties of blood and its constituents alternating current spectroscopy. *Blut: Zeitschrift für die Gesamte Blutforschung.* **46** (4): 185-197.
- Schwan, H. P.** (1994). Electrical properties of tissues and cell suspensions: Mechanisms and models. *Proceedings of 16th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society.* **112** (6): 70a-A7a.
- Schwan, H. P., Grimnes, S., Martinsen, O. G.** (2002). Interface phenomena and dielectric properties of Biological Tissue. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science.* **7**: 2643-2652.

- 
- Shi, B., Agnihotri, M. V., han Chen, S., Black, R., Singer, S. J., Shi, B., Agnihotri, M. V., han Chen, S., Black, R., Singer, J.** (2016). Polarization charge: Theory and applications to aqueous interfaces. *Journal of Chemical Physics*. **144**: 1-15.
- Tarasov, A. & Titov, K.** (2013). On the use of the Cole – Cole equations in spectral induced polarization. *Geophysical Journal International*. **195**: 352-356.
- Thu, T., Vu, N., Teyssedre, G., Roy, L., Laurent, C.** (2017). Maxwell – Wagner effect in multi-layered dielectrics: Interfacial charge measurement and modelling. *Technologies*. **5** (27): 1-15.
- Yang, M. & Brackenbury, W. J.** (2013). Membrane potential and cancer progression. *Frontiers in Physiology*. **4** (185): 1-10.
- Yúfera, A., Olmo, A., Daza, P., Cañete, D.** (2010). Cell biometrics based on bio-impedance measurements. In Chetty G. (Ed.) and Yang J. (Ed.), *Advanced Biometrics Technologies* (pp. 343-366). Rijeka, Croatia: IntechOpen.

Review article

## Towards a density functional theory of molecular fragments. What is the shape of atoms in molecules?

### Hacia una teoría de funcionales de la densidad de fragmentos moleculares. ¿Cuál es la forma de los átomos en las moléculas?

✉ Victor H. Chávez<sup>1</sup>, ✉ Adam Wasserman<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Purdue University, West Lafayette, USA

<sup>2</sup> Department of Physics and Astronomy, Purdue University, West Lafayette, USA

Adam Wasserman, Inaugural article for admission as a Corresponding Member to the Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

#### Abstract

In some sense, quantum mechanics solves all the problems in chemistry: The only thing one has to do is solve the Schrödinger equation for the molecules of interest. Unfortunately, the computational cost of solving this equation grows exponentially with the number of electrons and for more than  $\sim 100$  electrons, it is impossible to solve it with chemical accuracy ( $\sim 2$  kcal/mol). The Kohn-Sham (KS) equations of density functional theory (DFT) allow us to reformulate the Schrödinger equation using the electronic probability density as the central variable without having to calculate the Schrödinger wave functions. The cost of solving the Kohn-Sham equations grows only as  $N^3$ , where  $N$  is the number of electrons, which has led to the immense popularity of DFT in chemistry. Despite this popularity, even the most sophisticated approximations in KS-DFT result in errors that limit the use of methods based exclusively on the electronic density. By using fragment densities (as opposed to total densities) as the main variables, we discuss here how new methods can be developed that scale linearly with  $N$  while providing an appealing answer to the subtitle of the article: What is the shape of atoms in molecules?

**Keywords:** Density functionals; Electronic structure; Chemical reactivity.

#### Resumen

En cierta forma, la mecánica cuántica da solución a todos los problemas de la química, lo único que hay que hacer es resolver las ecuaciones de Schrödinger para las moléculas de interés. Desafortunadamente, el costo computacional de resolver estas ecuaciones crece exponencialmente con el número de electrones y para más de  $\sim 100$  electrones resulta imposible resolverlas con precisión química ( $\sim 2$  kcal/mol). Las ecuaciones de Kohn-Sham (KS) de la teoría del funcional de la densidad (*density functional theory*, DFT) permiten reformular las ecuaciones de Schrödinger usando la densidad de probabilidad electrónica como la variable central sin necesidad de calcular las funciones de onda de Schrödinger. El costo de resolver las ecuaciones de Kohn-Sham solo crece como  $N^3$ , donde  $N$  es el número de electrones, lo que ha llevado a la inmensa popularidad de la DFT en química. A pesar de esta popularidad, incluso las aproximaciones más sofisticadas de las KS-DFT llevan a errores que limitan el uso de métodos basados exclusivamente en la densidad electrónica. En este artículo se discute cómo pueden desarrollarse nuevos métodos que escalen linealmente con  $N$  usando densidades de fragmentos como las variables principales en lugar de densidades totales, así como la forma en que estos métodos proveen una respuesta atractiva a la pregunta del subtítulo: ¿cuál es la forma de los átomos en las moléculas?

**Palabras clave:** Funcionales de la densidad; Estructura electrónica; Reactividad química.

**Citation:** Chávez VH, Wasserman A. Density functional theory of molecular fragments. What is the shape of atoms in molecules?. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(170):269-279, enero-marzo de 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.960>

**Editor:** Luis Fernando Echeverri

**\*Corresponding autor:**

Adam Wasserman;  
[awasser@purdue.edu](mailto:awasser@purdue.edu)

**Received:** August 5, 2019

**Accepted:** February 12, 2020

**Published:** March 31, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

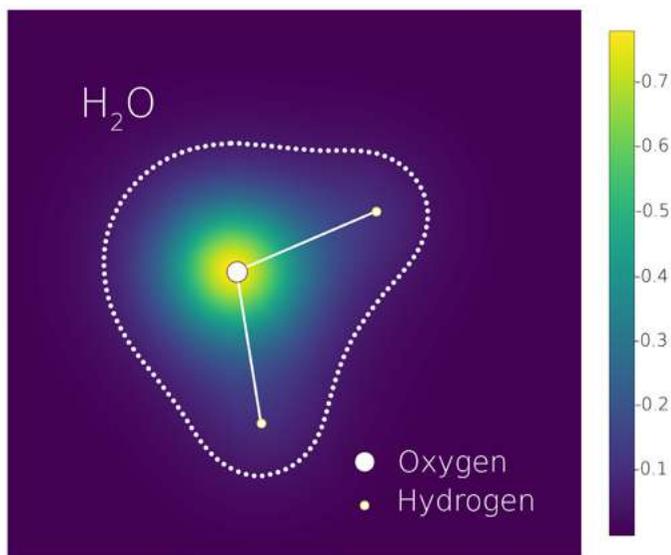
#### Introduction

“What is the shape of atoms in molecules?” is a question without an answer. Atoms in molecules do not have a real, independent existence. When we say that a water molecule has two hydrogen atoms and one oxygen atom, what we mean is that an appropriate supply

of energy can split the molecule into these three atoms. Each of these atoms, when isolated, is spherical, but the ground-state electronic density of the water molecule is not simply the sum of three spheres. However, it is approximately equal to the sum of three spheres (**Figure 1**) and can be written exactly as the sum of three distorted spheres. Thus, the question of the title may be vague, but it is not meaningless. All molecular information (i.e., what makes a molecule different from the simple sum of its isolated constituents) is coded into a set of atomic density distortions.

There is no unique way of defining these atomic density distortions. In fact, there are infinitely many ways in which one can decompose a given molecular density  $n(\mathbf{r})$  into the sum of atomic-like functions  $n_\alpha(\mathbf{r})$  (here we use the subscript  $\alpha$  to label atoms). For example, Bader's partitioning (**Bader, 1990**) based on the topology of the electron density is a popular choice with merits and limitations that have been amply discussed (**Nalewajski, et al., 2000**). In spite of the many possible definitions of atomic densities, there is a unique set of densities  $\{n_\alpha(\mathbf{r})\}$  that sum up to  $n(\mathbf{r})$  while minimizing the sum of the atomic energies. It is this special set of densities to which we turn our attention in this article.

The density functional theory (DFT) (**Hohenberg & Kohn, 1964; Kohn & Sham, 1965**) establishes that any electronic property  $P$  of a molecule is a functional of its ground-state electronic density  $P = P[n]$ . The uniqueness of the set  $\{n_\alpha(\mathbf{r})\}$  for a given density allows one to understand molecular properties, in principle, as functionals  $P = P[\{n_\alpha(\mathbf{r})\}]$  of that set. Decades of research in DFT have taught us how the total density  $n(\mathbf{r})$  can be used as the main variable in molecular calculations, as explained briefly in Section II. Our group is investigating how the atomic densities, as opposed to the total molecular density, may be used as the main variables, which we discuss in Section III. This change of perspective has advantages and disadvantages. The most obvious advantage is a significant lowering of the computational cost of the calculations because instead of having to solve the  $N$ -electron Schrödinger equation (a second-order differential equation on  $3N$  coupled variables), only a small number of independent equations has to be solved, each for less than  $N$  electrons. A second advantage will be explained and illustrated in Section IV: By focusing on atomic densities rather than on total molecular densities, one can fix pervasive errors of density functional approximations and significantly improve the accuracy of certain calculations. A third advantage will be discussed in Section V: The chemical reactivity between two



**Figure 1.** Ground state density of a water molecule on the plane of the three atoms. Calculated using Psi4 (**Smith, et al., 2018**) (**Parrish, et al., 2017**) with CCSD(T)/UGBS. The dotted line indicates a density iso-contour.

atoms or molecular fragments that approach each other is best described in a theory that employs atomic (or fragment) densities as the main variables. On the downside, many of the theorems and techniques that have been explored over the last six decades to describe molecular systems are not directly applicable to the new set of variables, so entirely new methods and approximations need to be developed. A growing community of researchers working under the umbrella of embedding methods (**Jacob & Neugebauer, 2014; Lee, et al., 2019; Sun & Chan, 2015; Nafziger & Wasserman, 2015; Niffenegger, et al., 2019**) are pursuing this direction. We highlight here some of the recent developments.

## The molecular density as the main variable

In the world of quantum chemistry, one is normally concerned with electronic hamiltonians given within the Born-Oppenheimer approximation by:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \int d\mathbf{r} v(\mathbf{r})\hat{n}(\mathbf{r}) \quad (1),$$

where  $\hat{T}$  is the kinetic energy operator for  $N$  electrons,  $\hat{V}_{ee}$  the electron-electron repulsion operator,  $v(\mathbf{r})$  the attractive potential generated by the nuclei, and  $\hat{n}(\mathbf{r})$  the density operator. The expectation value of the latter in the  $N$ -electron ground state  $\psi$  is the density  $n(\mathbf{r}) = \langle \psi | \hat{n}(\mathbf{r}) | \psi \rangle$ , but an accurate, explicit representation of  $\psi$  is unachievable for all but the smallest systems. Ground-breaking work by Kohn, *et al.* (**Hohenberg & Kohn, 1964; Kohn & Sham, 1965**) showed that it is possible to construct a theory that completely circumvents the calculation of  $\psi$  so that any property, such as the ground-state energy  $E = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle$ , can be calculated as a functional of the density. The functional  $E[n]$  is normally split into the contribution from the nuclear potential  $\int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) v(\mathbf{r})$ , and a universal functional  $F[n]$  independent of  $v(\mathbf{r})$ . In Kohn-Sham-DFT (KS-DFT), the most common formulation of DFT, the functional  $F[n]$ , is decomposed as:

$$F[n] = T_s[n] + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \int d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} + E_{xc}[n] \quad (2),$$

where  $T_s[n]$  is the kinetic energy for an auxiliary system of non-interacting electrons with density  $n(\mathbf{r})$ , the second term is the Hartree energy, and  $E_{xc}[n]$  is the exchange-correlation (XC) energy functional, the only quantity that needs to be approximated in practical calculations. We sometimes combine the Hartree and the XC-contributions into one functional,  $E_{HXC}[n]$ , whose derivative with respect to the density is a potential,  $v_{HXC}(\mathbf{r}) = \delta E_{HXC}[n] / \delta n(\mathbf{r})$ . What one solves in practice are the KS equations:

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_s(\mathbf{r})\right) \phi_i(\mathbf{r}) = \epsilon_i \phi_i(\mathbf{r}) \quad (3),$$

with  $v_s(\mathbf{r}) = v(\mathbf{r}) + v_{HXC}(\mathbf{r})$  leading to  $\sum_i |\phi_i(\mathbf{r})|^2 = n(\mathbf{r})$  where the sum goes over the occupied orbitals  $\phi_i(\mathbf{r})$ . An ample literature exists documenting the successes and failures of different approximations to  $E_{xc}[n]$ . We point the reader to recent reviews (**Pribram-Jones, et al., 2015; Wasserman, et al., 2017; Yang, 2012**) and stress that some of the most pervasive failures of approximate KS-DFT appear when stretching chemical bonds (**Dutoi, et al., 2016; Makmal, et al., 2011; Komsa & Staroverov, et al., 2016**). The large errors observed in these cases encompass both fractional-charge (or delocalization) and fractional-spin (or static correlation) errors (**Cohen, et al., 2008a; Cohen, et al., 2008b; Mori-Sánchez, et al., 2008**), which are ultimately due to the inability of the approximate XC-functionals to reduce the molecular density to the correct atomic densities (or spin-densities) when bonds are stretched. We illustrate both types of errors below for the local density approximation (LDA), the simplest and earliest approximation for  $E_{xc}[n]$  on which the modern ladder of approximations is built (**Perdew, et al., 2001**).

### Fractional-charge error

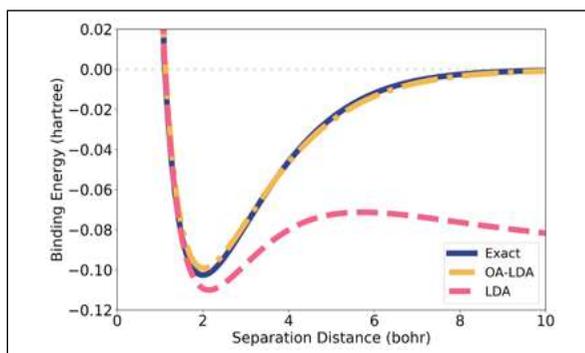
Consider stretching  $H_2^+$ . The true ground-state density has left-right symmetry, with  $1/2$  electron on the left atom and  $1/2$  electron on the right atom. The physical state at infinite separation must break this symmetry and produce a neutral hydrogen atom on one side and a bare proton on the other. Both solutions (broken-symmetry and symmetric) should, therefore, have the same energy at infinite separation, but this feature is not achieved by

the LDA or other approximations built upon it. The LDA energy of an H atom with half an electron is much lower than what it should be (half the energy of infinitely stretched  $H_2^+$ ), which leads to the incorrect binding shown in dashed pink in **figure 2**.

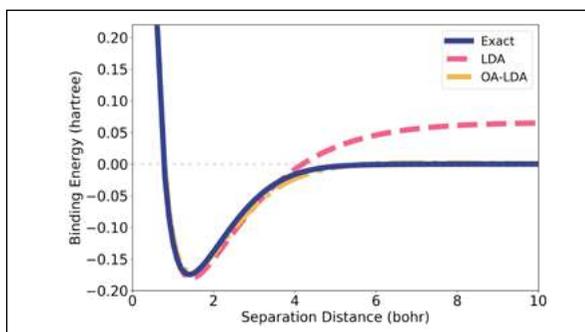
### *Fractional-spin error*

Now consider stretching neutral  $H_2$ . The issues of the previous paragraph are no longer a problem because each atom has exactly one electron at infinite separation. However, an analogous problem arises for fractional spins. The true-ground state of  $H_2$  is spin unpolarized and must remain so at very large separations in the absence of environmental perturbations. Yet, an isolated H atom is spin-polarized so the energy of two spin-polarized H atoms should be identical to that of two spin-unpolarized H atoms (each having half-spin up, half-spin down). This condition is again violated by the LDA leading to the significant overestimation of the binding as shown in dashed pink in **figure 3**.

These errors, illustrated here for the two simplest open-shell and closed-shell molecules, are ubiquitous in quantum chemistry. Every time a bond is stretched, as in transition states along chemical reactions, a combination of these errors can creep into and contaminate the DFT calculations. Cancellation between the two errors can occur sometimes (note they have opposite signs) and lead to accidentally accurate results for complex systems, but predicting such cancellations is generally extremely difficult and not something DFT users want to or should rely on. Results from approximate KS-DFT calculations are thus often suspect. A theory that uses atomic densities as the main variables, as opposed to the total molecular density, has the potential to fix such errors. Furthermore, it has the potential to provide information about individual atomic density distortions along with a chemical insight into the reactivity of individual fragments.



**Figure 2.** Electronic binding energy of  $H_2^+$ . Exact (solid, blue), KS-LDA (dashed, pink), and OA-LDA (dash-dotted, yellow) from (Nafziger, 2015), as explained in Sec.IV.



**Figure 3.** Electronic binding energy of  $H_2$ . Exact (solid, blue), KS-LDA (dashed, pink), and OA-LDA (dash-dotted, yellow) from (Nafziger&Wasserman, 2015), as explained in Sec.IV.

## Atomic densities as the main variables

As mentioned in the Introduction, there is a unique set of atomic densities  $\{n_\alpha(\mathbf{r})\}$  that minimizes  $E_f \equiv \sum_\alpha E_\alpha[n_\alpha]$  while satisfying the density constraint:

$$\sum_\alpha n_\alpha(\mathbf{r}) = n(\mathbf{r}) \quad (4)$$

The atomic energies  $E_\alpha[n_\alpha]$  in the above definition of  $E_f$  are not true ground-state energies but rather given by  $E_\alpha[n_\alpha] = F[n_\alpha] + \int d\mathbf{r} v_\alpha(\mathbf{r}) n_\alpha(\mathbf{r})$ , where  $v_\alpha(\mathbf{r})$  is the  $\alpha$ -atomic potential. The constraint of Equation (4) prevents  $n_\alpha(\mathbf{r})$  from being the ground-state density of the corresponding  $v_\alpha(\mathbf{r})$ . However, each of the  $n_\alpha(\mathbf{r})$  can be shown to be the ensemble ground-state density of  $v_\alpha(\mathbf{r}) + v_p(\mathbf{r})$ , where  $v_p(\mathbf{r})$  is a unique  $\alpha$ -independent potential. More specifically, the partition potential theorem (PPT) (Cohen & Wasserman, 2006) establishes the following: If a molecular potential  $v(\mathbf{r})$  is decomposed into atomic potentials  $\{v_\alpha(\mathbf{r})\}$ , i.e.  $v(\mathbf{r}) = \sum_\alpha v_\alpha(\mathbf{r})$ , then, for a set of fragment occupations  $\{n_\alpha\}$  there is a unique local potential  $v_p(\mathbf{r})$  such that, when added to the individual  $v_\alpha(\mathbf{r})$ 's, leads to ensemble ground-state densities  $\{n_\alpha\}$  summing up to the correct total density  $n(\mathbf{r})$ .

### Simple Illustration of the PPT

Figure 4 provides the simplest illustration of this theorem. Consider first one electron moving in the 1D-potential  $v_1(x)$  (dotted grey line in the middle panel). Its ground-state density, when isolated, is  $n_1^{(0)}(x)$  (dotted orange line in the upper panel). Similarly, one electron in  $v_2(x)$  has density  $n_2^{(0)}(x)$ . Now consider two non-interacting electrons in the double-well potential  $v(x) = v_1(x) + v_2(x)$  (dashed yellow line in the middle panel). The density of this system,  $n(x)$ , is not equal to  $n^{(0)}(x) = n_1^{(0)}(x) + n_2^{(0)}(x)$ , but it is close to it:  $n(x) \approx n^{(0)}(x)$ , especially if  $v_1(x)$  overlaps weakly with  $v_2(x)$ . The PPT establishes that there is only one potential  $v_p(x)$  (purple line in the middle panel) such that, when added separately to  $v_1(x)$  (blue line in the lower panel) and  $v_2(x)$ , leads to ground-state densities  $n_1(x)$  (blue line in the upper panel) and  $n_2(x)$  that differ from  $n_1^{(0)}(x)$  and  $n_2^{(0)}(x)$  in just the right way, so that  $n_1(x) + n_2(x) = n(x)$ . The theorem applies to any number of interacting electrons in 3D and to any number of fragments (Cohen & Wasserman, 2006).

### The algorithm to calculate $v_p(\mathbf{r})$

Several algorithms have been developed to solve the constrained optimization problem involved in calculating  $v_p(\mathbf{r})$  (i.e., minimizing  $E_f[n_\alpha]$  under the constraint of Equation (4)). The algorithm described here is perhaps conceptually the simplest:

1. Choose an approximation for  $E_{XC}[n]$ , solve the KS equations in Equation (3) for the isolated atoms, and find their self-consistent densities  $\{n_\alpha^{(0)}(\mathbf{r})\}$  and corresponding KS-potentials  $\{v_{s,\alpha}^{(0)}(\mathbf{r})\}$ .
2. Build an approximate molecular density as  $n^{(0)}(\mathbf{r}) \approx \sum_\alpha n_\alpha^{(0)}(\mathbf{r})$ .
3. Invert the KS equations to find the effective KS-potential  $v_s^{(0)}(\mathbf{r})$  corresponding to  $n^{(0)}(\mathbf{r})$ . For the exact density, this potential would be identical to  $v(\mathbf{r}) + v_{HXC}(\mathbf{r})$ , but for the approximate density it is not. The difference between the two, therefore, can be used as a correction to generate an improved atomic KS potential  $v_{s,\alpha}^{(1)}(\mathbf{r}) = v_{s,\alpha}^{(0)}(\mathbf{r}) + v(\mathbf{r}) + v_{HXC}[n^{(0)}](\mathbf{r}) - v_s^{(0)}(\mathbf{r})$ .
4. Solve the KS equations for the atoms again with the improved atomic KS potential and repeat until self-consistency is achieved. If convergence is achieved after iterating  $k$  times, then the atomic KS potentials  $v_{s,\alpha}^{(k)}(\mathbf{r})$  are given by  $v_\alpha(\mathbf{r}) + v_p(\mathbf{r}) + v_{HXC}[n_\alpha^{(k-1)}](\mathbf{r})$ . The partition potential emerges as an  $\alpha$ -independent piece to be added to the  $\alpha$ -nuclear potential.

Just as for the model system of figure 4, the main feature of  $v_p(\mathbf{r})$  in real diatomic molecules is an attractive well in between the nuclei. The presence of this well distorts the density of each isolated atom by pulling it toward the bonding region. There are generally also positive plateaus in  $v_p(\mathbf{r})$  due to kinetic effects (Nafziger & Wasserman, 2014) (contributions from the functional derivatives of  $T_s[n_\alpha]$ ) and a singularity at the nuclei whose strength is proportional to the value of the density of one atom at the location of the

other (Nafziger & Wasserman, 2014), modifying the isolated-atom density of the nuclei according to Kato's cusp condition. This is our partial response to the question without an answer: "The shape of atoms in molecules is determined by  $v_p(\mathbf{r})$ ."

Although we exemplify the use of Partition-DFT with systems composed of two atoms, it must be noted that the framework is not limited to atomic densities. Any meaningful fragmentation can be applied, such as individual molecules in dimers or functional groups. This selective fragmentation not only has conceptual benefits but also computational because it allows regions to be treated with different levels of theory so that the most reactive regions are calculated using higher-level methods, as is the common practice in WFT-in-DFT embedding (Lee, *et al.*, 2019). This is consistent with the goal of the theory to lower the computational cost while still accurately describing the relevant properties of a larger system.

### Fixing errors of approximate XC-functionals

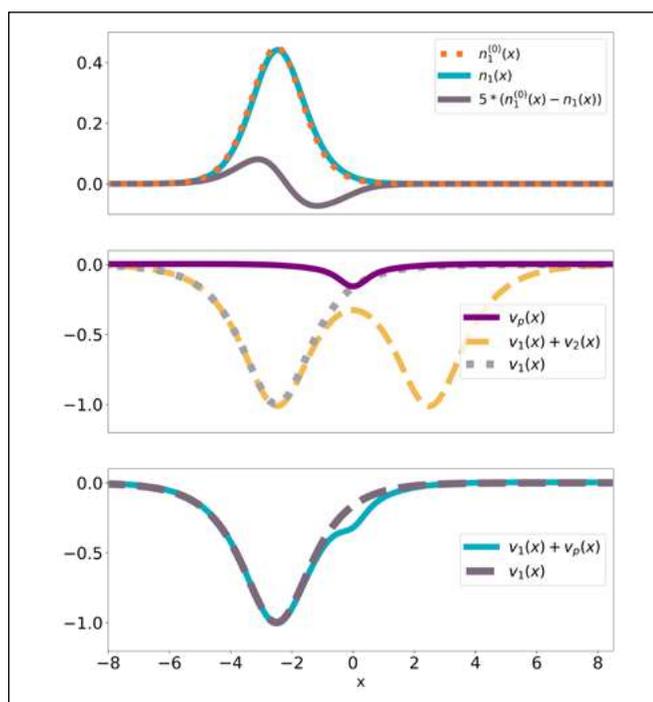
Now define the partition energy  $E_p$  as the difference between the total energy  $E$  and the sum of atomic energies  $E_f$ . Using a bold  $\mathbf{n}(\mathbf{r})$  to denote the set of atomic densities,  $\mathbf{n}(\mathbf{r}) \equiv \{n_\alpha(\mathbf{r})\}$ ,

$$E_p[\mathbf{n}] = E[n] - E_f[\mathbf{n}] \quad (5)$$

with the KS energy-decomposition of Equation (2), the partition energy is given by:

$$E_p[\mathbf{n}] = T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}] + E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] + V_{\text{ext}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] \quad (6),$$

where the "nad" superscript is used to indicate nonadditive quantities, i.e., the difference between the total and the sum of the fragments. Thus,  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}] = T_s[n] - \sum_\alpha T_s[n_\alpha]$ ,  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] = E_{\text{HXC}}[n] - \sum_\alpha E_{\text{HXC}}[n_\alpha]$ , and the last term stands for the non-additive external



**Figure 4.** Graphic example of simplest PPT case for 2 non-interacting electrons in 1D potentials of the form  $v_{1,2}(x) = \cosh^{-2}(x \pm a)$ , with  $a = 2.5$ . *Upper panel:* The gray line magnifies the atomic-density distortion  $n_1(x) - n_1^{(0)}$  by a factor of 5 to highlight what occurs upon formation of the chemical bond: The density of the isolated atom is pulled towards the bonding region. *Middle panel:* Left atomic potential  $v_1(x)$  (dotted), total 'molecular potential' (dashed), and partition potential (solid, purple). *Bottom panel:* Comparison of the isolated atomic potential  $v_1(x)$  and the effective potential  $v_1(x) + v_p(x)$  for which the polarized density  $n_1(x)$  is a ground-state density.

(nuclear) energy given by  $V_{\text{ext}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] = \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r})v(\mathbf{r}) - \sum_{\alpha} \int d\mathbf{r} n_{\alpha}(\mathbf{r})v_{\alpha}(\mathbf{r})$ . We have again combined the non-additive exchange-correlation and Hartree terms of Equation (2) into  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}$ . For a given approximation to  $E_{\text{XC}}[n]$ , the algorithm described in the previous section exactly reproduces the results of the corresponding KS calculation including all of its errors. It can be seen (Elliot, *et al.*, 2010) that the partition potential is the functional derivative of the partition energy with respect to any of the atomic densities at the minimum. Since  $V_{\text{ext}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  is known exactly, the key to improving over Kohn-Sham is to propose adequate approximations for the other two components of Equation (6),  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  and  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$ . We discuss each of these separately.

### Approximating $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$

The origin of common errors of approximate XC functionals is well understood especially for homonuclear diatomic molecules (Cohen, *et al.*, 2008b) (see discussion above for  $\text{H}_2$  and  $\text{H}_2^+$ ). For these and other molecules composed of two fragments,  $A$  and  $B$ , we have shown how a simple overlap approximation (OA) to  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  can fix both errors simultaneously (Nafziger & Wasserman, 2015), a result that no approximate XC functional can achieve with comparable accuracy within KS-DFT. The OA is defined by:

$$E_{\text{HXC}}^{\text{nad,OA}}[\mathbf{n}] = E_{\text{H}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] + S[\mathbf{n}]E_{\text{XC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] + (1 - S[\mathbf{n}])\Delta E_{\text{H}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}] \quad (7),$$

where  $S[\mathbf{n}]$  is a measure of the overlap between the two atomic densities:

$$S[\mathbf{n}] = \text{erf}(2 \int d\mathbf{r} \sqrt{n_A(\mathbf{r})n_B(\mathbf{r})}) \quad (8).$$

The term  $\Delta E_{\text{H}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  in Eq.(7) is a correction to the non-additive Hartree contribution, so that both fractional-charge and fractional-spin errors are suppressed as the molecule is stretched (Nafziger & Wasserman, 2015). The results shown in yellow in **figure 2** and labeled “OA-LDA” go a step further (Nafziger, 2015) and replace  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  in Equation (7) by the non-additive exact-exchange functional canceling completely the self-interaction error and leading to the exact  $E_p[\mathbf{n}]$  in this case. The only deviation from the exact binding here is due to the effect that the slightly incorrect LDA fragment densities have on  $E_p[\mathbf{n}]$ . We stress that the correct energy is obtained here as the molecule is stretched without symmetry breaking: The ground state of  $\text{H}_2^+$  retains left-right symmetry and the ground-state of  $\text{H}_2$  remains a spin-singlet throughout the entire range of separations. This is a proof-of-principle demonstration that it is possible to use a simple functional of the density for the atoms (not for the molecule) while approximating  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  to fix the underlying errors due to fragmentation. The route is complementary to the efforts of many others to develop sophisticated XC-functionals of the total density (Hedge, 2017; Mardirossian & Head-Gordon, 2017; Sun, *et al.*, 2015; Yu, *et al.*, 2016; Zhang, 2018).

### Approximating $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$

Even with a robust and accurate functional for  $E_{\text{HXC}}^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  (based perhaps on future generalizations of the OA), an explicit approximation for  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  is needed if one wants to reach the goal of linear-scaling calculations. Step 3 of the algorithm described in Section III relies on iterative inversions that make the method computationally impractical (at least, not more efficient than regular KS-DFT). The most obvious way to avoid such inversions is by resorting to orbital-free DFT (OF-DFT) (Chen, *et al.*, 2016) and approximate  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  as an explicit functional of the set of atomic densities. Kinetic-energy functionals are famously difficult to approximate and state-of-the-art functionals are still far from reaching chemical accuracy, but we are looking for approximations to the non-additive part of  $T_s[\mathbf{n}]$ , which is altogether a different challenge. The non-interacting kinetic energies for the atoms are still calculated exactly via orbitals and we wish to approximate the much smaller  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$ . Recent work shows that this approach is promising. For example, writing  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}] = \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r})t_s^{\text{nad}}(\mathbf{r})$ , an expression for the non-additive kinetic energy density  $t_s^{\text{nad}}(\mathbf{r})$  of the type

$$t_s^{\text{nad}}(\mathbf{r}) = Q[\mathbf{n}]t_s^{\text{nad,vW}}(\mathbf{r}) + (1 - Q[\mathbf{n}])t_s^{\text{nad,TF}}(\mathbf{r}) \quad (9)$$

has been shown (Jiang, *et al.*, 2018) to provide an excellent approximation to the exact  $T_s^{\text{nad}}$  in covalent  $\sigma$ -bonds. In Equation (9),  $t_s^{\text{nad},\text{Vw}}(\mathbf{r})$  is the von Weizsäcker kinetic-energy density (Weizsäcker, 1935), which is exact for one-orbital systems,  $t_s^{\text{nad},\text{TF}}(\mathbf{r})$  is the Thomas-Fermi kinetic-energy density (Fermi, 1927; Thomas, 1927), exact for uniform-density systems, and  $Q[\mathbf{n}]$  is a switching functional whose role is analogous to that of  $S[\mathbf{n}]$  in Equation (7), as described in detail in Jiang, *et al.*, 2018. It determines the spatial regions where a one-orbital description should dominate.

Embedding methods provide the most promising route to truly calculate *ab-initio* electronic structures of large, complex, molecular systems (Yao, *et al.*, 2019; Lee, *et al.*, 2019; Mi&Pavanello, 2020). Although Partition-DFT has been applied so far only to model systems (Elliot, *et al.*, 2010), diatomic molecules (Nafziger & Wasserman, 2014) and small hydrogen-bonded clusters (Gómez, *et al.*, 2017; Gómez, *et al.*, 2019), an ongoing implementation into the Psi4 package (Chávez, *et al.*, 2020) will allow more for more widespread application. An accurate and explicit functional of the fragment densities for  $T_s^{\text{nad}}[\mathbf{n}]$  will make Partition-DFT amenable to linear scaling implementations and, thus, applicable to systems of ever-larger complexity.

## Towards a quantum theory of chemical reactivity

We glossed over one key feature of the PPT of Section III. The minimization of  $E_f[\mathbf{n}]$  is performed under the constraint that the  $n_a(\mathbf{r})$  add to  $n(\mathbf{r})$  without individual normalization constraints for the atomic densities. The  $n_a(\mathbf{r})$  can integrate to fractional numbers of electrons  $N_a$  as long as the total density integrates to the correct number of electrons, i.e.,  $\sum_a N_a = N$ . A sensible interpretation of fractional number densities is provided by an ensemble description where the fractional number arises as an ensemble average over integer-number components. One result of the extension of DFT for fractional electron numbers (Perdew, *et al.*, 1982) is that for  $N_a$  between the integers  $p_a$  and  $p_{a+1}$ , the minimizing density (for the exact  $E_{\text{XC}}$ ) is given by  $n_a(\mathbf{r}) = (1 - \omega_a) n_{p_a}(\mathbf{r}) + \omega_a n_{p_{a+1}}(\mathbf{r})$ , where  $0 \leq \omega_a \leq 1$ . The minimization of  $E_f[\mathbf{n}]$  is to be performed over the set of the  $\{\omega_a\}$  leading to possibly fractional-number densities. One immediate advantage of such fractional densities is that chemical reactivity indices involving derivatives of various properties with respect to the electron number become sharply defined for the atoms (Geerlings, *et al.*, 2003; Geerlings, *et al.*, 2014). For example, Fukui functions are given directly by

$$f_{\alpha}^{+}(\mathbf{r}) = \left. \frac{\partial n_{\alpha}(\mathbf{r})}{\partial N_{\alpha}^{+}} \right|_{v_{\alpha}} = n_{p_{\alpha+1}}(\mathbf{r}) - n_{p_{\alpha}}(\mathbf{r}) \quad (10)$$

as normally defined (Parr & Yang, 1984), but here the bordering-integer densities include the polarizing effect of the partition potential which accounts for the detailed environment of the atom in the molecule. Similarly, the  $\{\omega_a\}$  are those that lead to electronegativity equalization (Cohen & Wasserman, 2006; Parr, *et al.*, 1978).

## Perspective

The approximations of Equations (7) and (9) need to be extended to be applicable to realistic, complex chemical systems. The roads to robust approximations of general applicability and to efficient and accurate linear-scaling algorithms will be long and winding. Therefore, one might wonder whether these roads are worth taking in the first place, especially given that: (a) As computers get more powerful and machine-learning conquers the quantum-chemistry landscape, KS-DFT calculations with sophisticated approximations to  $E_{\text{XC}}$  will become applicable to an ever-expanding frontier of chemical complexity; (b) several other fragment-based (Gordon, *et al.*, 2012) and embedding methods (Jacob & Neugebauer, 2014; Lee, *et al.*, 2019; Sun & Chan, 2016) are enabling multi-million atom and multi-scale calculations where individual fragment densities are of little use, and (c) quantum computing, when finally here, will allow for the direct calculation of many-electron wave functions rendering DFT-based methods obsolete.

Our current take on these three valid concerns is the following: (a) Further improvements of approximate XC functionals will continue via two directions: A non-empirical approach in which more exact constraints will be incorporated, especially perhaps in the framework of Generalized-Kohn-Sham (Kummel & Kronik, 2008; Seidl, *et al.*, 1996), and an empirical approach exploiting large data sets of chemical information through machine-learning tools (Seino, *et al.*, 2018; Snyder, *et al.*, 2012). All of these positive developments can be readily incorporated into the framework described in Section III. Furthermore, as mentioned toward the end of Section III, the fragments do not need to be atoms but could be monomers, functional groups, protein backbones, etc., and calculations will greatly benefit from improved approximations to  $E_{XC}$ ; (b) there is plenty of room in quantum chemistry for more than one type of embedding method. When minimizing the total energy is the only goal, our approach is admittedly not essential. When, however, besides minimizing the energy one is interested in examining the individual fragment density distortions or understanding the reactivity of one fragment in a specific chemical environment, then our approach offers a unique, useful perspective; (c) yes, someday quantum computers will be ready to solve the many-electron Schrödinger equation for large molecules. However, one will always want to understand the results, which involves determining how individual atoms or fragments in the molecule are distorted due to the interactions with neighboring atoms or fragments. The tools described here allow us to accomplish precisely this, regardless of the type of computers employed.

## Acknowledgements

This paper is based upon work supported by the National Science Foundation under Grant No. CHE-1900301. We also acknowledge the support from the Camille Dreyfus Teacher-Scholar Awards Program.

## Authors' contribution

AW has supervised the writing of the manuscript. VHC was in charge of producing the calculations for the figures and illustrations. All the authors provided critical feedback and helped shape the research and the manuscript.

## Conflict of interest

None to declare

## References

- Bader, R. F. W. (1990). International Series of Monographs on Chemistry. Atoms in Molecules, A Quantum Theory, 22.
- Chen, M., Jiang, X. W., Zhuang, H. L., Wang, L. W., Carter, E. A. (2016). Peta-scale orbital-free density functional theory enabled by small-box algorithms. *J. Chem. Theory Comput.* **12**: 2950-2963.
- Cohen, A. J., Mori-Sánchez, P., Yang, W. (2008a). Fractional spins and static correlation error in density functional theory. *J. Chem. Phys.* **129**: 121104.
- Cohen, A. J., Mori-Sánchez, P., Yang, W. (2008b). Insights into current limitations of density functional theory. *Science*. **321**: 792-794.
- Cohen, M. H. & Wasserman, A. (2006). On Hardness and Electronegativity Equalization in Chemical Reactivity Theory. *J. Stat. Phys.* **125**: 1121-1139.
- Dutoi, A. D. & Head-Gordon, M. (2006). Self-interaction error of local density functionals for alkali-halide dissociation. *Chem. Phys. Lett.* **422** (1-3): 230-233.
- Elliott, P., Burke, K., Cohen, M. H., Wasserman, A. (2010). Partition density-functional theory. *Phys. Rev. A*. **82**: 024501.
- Fermi, E. (1927). Statistical method to determine some properties of atoms. *Rend. Accad. Naz. Lincei*. **6**: 5.
- Geerlings, P., De Proft, F., Langenaeker, W. (2003). Conceptual density functional theory. *Chem. Rev.* **103** (5): 1793-1874.

- Geerlings, P., Fias, S., Boisdenghien, Z., De Proft, F. (2014). Conceptual DFT: Chemistry from the linear response function. *Chem. Soc. Rev.* **43** (14): 4989-5008.
- Gómez, S., Nafziger, J., Restrepo, A., Wasserman, A. (2017). Partition-DFT on the water dimer. *J. Chem. Phys.* **146** (7): 074106.
- Gómez, S., Oueis, Y., Restrepo, A., Wasserman, A. (2019). Partition potential for hydrogen bonding in formic acid dimers. *Int. J. Quantum Chem.* **119** (4): e25814.
- Gordon, M. S., Fedorov, D. G., Pruitt, S. R., Slipchenko, L. V. (2012). Fragmentation Methods: A Route to Accurate Calculations on Large Systems. *Chem. Rev.* **112**: 632-672.
- Hegde, G. & Bowen, R. C. (2017). Machine-learned approximations to density functional theory hamiltonians. *Sci. Rep.* **7**: 42669.
- Hohenberg, P. & Kohn, W. (1964). Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev.* **136**: B864-B871.
- Jacob, C. R. & Neugebauer, J. (2014). Subsystem density-functional theory. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science.* **4**: 325-362.
- Jiang, K., Nafziger, J., Wasserman, A. (2018). Constructing a non-additive noninteracting kinetic energy functional approximation for covalent bonds from exact conditions. *The Journal of chemical physics.* **149**: 164112.
- Kohn, W. & Sham, L. J. (1965). Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.* **140**: A1133.
- Komsa, D. N. & Staroverov, V. N. (2016). Elimination of spurious fractional charges in dissociating molecules by correcting the shape of approximate Kohn-Sham potentials. *J. Chem. Theory Comput.* **12** (11): 5361-5366.
- Kummel, S. & Kronik, L. (2008). Orbital-dependent density functionals: Theory and applications. *Rev. Mod. Phys.* **80**: 3-60.
- Lee, S. J., Welborn, M., Manby, F. R., Miller III, T. F. (2019). Projection-based wave function-in-DFT embedding. *Accounts of Chemical Research.* **52**: 1359-1368.
- Makmal, A., Kummel, S., Kronik, L. (2011). Dissociation of diatomic molecules and the exact-exchange Kohn-Sham potential: The case of LiF. *Phys. Rev. A.* **83** (6): 062512.
- Mardirossian, N. & Head-Gordon, M. (2017). Thirty years of density functional theory in computational chemistry: An overview and extensive assessment of 200 density functionals. *Mol. Phys.* **115**: 2315-2372.
- Mi, W. & Pavanello, M. (2019). Nonlocal Subsystem Density Functional Theory. *J. Phys. Chem. Lett.* **11** (1): 272-279.
- Mori-Sánchez, P., Cohen, A. J., Yang, W. (2008). Localization and delocalization errors in density functional theory and implications for band-gap prediction. *Phys. Rev. Lett.* **100**: 146401.
- Nafziger, J. (2015). Partition density functional theory. Ph.D thesis, Purdue University.
- Nafziger, J. & Wasserman, A. (2014). Density-Based Partitioning Methods for Ground-State Molecular Calculations. *J. Phys. Chem. A.* **118**: 7623-7639.
- Nafziger, J. & Wasserman, A. (2015). Fragment-based treatment of delocalization and static correlation errors in density-functional theory. *J. Chem. Phys.* **143**: 234105.
- Nalewajski, R. F. & Parr, R. G. (2000). Information theory, atoms in molecules, and molecular similarity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97** (16): 8879-8882.
- Niffenegger, K., Oueis, Y., Nafziger, J., Wasserman, A. (2019). Density embedding with constrained chemical potential. *Mol. Phys.* **117** (15-16): 2188-2194.
- Parr, R. G., Donnelly, R. A., Levy, M., Palke, W. E. (1978). Electronegativity - density functional viewpoint. *J. Chem. Phys.* **68**: 3801-3807.
- Parr, R. G. & Yang, W. T. (1984). Density functional-approach to the frontier-electron theory of chemical-reactivity. *J. Am. Chem. Soc.* **106**: 4049-4050.
- Parrish, R. M., Burns, L. A., Smith, D. G. A., Simmonett, A. C., DePrince III, A. E., Hohenstein, E. G., Bozkaya U., Sokilov A. Y., Di Remigio R., Richard R. M., Gonthier J. F., James A. M., McAlexander H. R., Kumar A., Saitow M., Wang X., Pritchard B. P., Verma P., Shafer H. F., Patkowski K., King R. A., Valeev E. F., Evangelista F. A., Turney J. M., Crawford T. D., Sherrill C. D. (2017). Psi4 1.1: An open-source electronic structure program emphasizing automation, advanced libraries, and interoperability. *J. Chem. Theory Comput.* **13** (7): 3185-3197.
- Perdew, J. P., Parr, R. G., Levy, M., Balduz Jr, J. L. (1982). Density-functional theory for fractional particle number: Derivative discontinuities of the energy. *Phys. Rev. Lett.* **49**: 1691-1694.
- Perdew, J. P. & Schmidt, K. (2001). Jacob's ladder of density functional approximations for the exchange-correlation energy. *AIP Conf. Proc.* **577**: 1-20.

- Pribram-Jones, A., Gross, D. A., Burke, K.** (2015). DFT: A Theory Full of Holes? *Annu. Rev. Phys. Chem.* **66**: 283-304.
- Seidl, A., Gorling, A., Vogl, P., Majewski, J. A., Levy, M.** (1996). Generalized Kohn-Sham schemes and the band-gap problem. *Phys. Rev. B.* **53**: 3764-3774.
- Seino, J., Kageyama, R., Fujinami, M., Ikabata, Y., Nakai, H.** (2018). Semi-local machine-learned kinetic energy density functional with third-order gradients of electron density. *J. Chem. Phys.* **148**: 241705.
- Smith, D.G., Burns, L.A., Sirianni, D.A., Nascimento, D.R., Kumar, A., James, A.M., Schriber, J.B., Zhang, T., Zhang, B., Abbott, A.S., Berquist, E.J.** (2018). Psi4numpy: An interactive quantum chemistry programming environment for reference implementations and rapid development. *Journal of chemical theory and computation.* **14**: 3504-3511.
- Snyder, J. C., Rupp, M., Hansen, K., Muller, K. R., Burke, K.** (2012). Finding density functionals with machine learning. *Phys. Rev. Lett.* **108**: 253002.
- Sun, J., Ruzsinszky, A., Perdew, J. P.** (2015). Strongly constrained and appropriately normed semi-local density functional. *Phys. Rev. Lett.* **115**: 036402.
- Sun, Q. N. & Chan, G. K. L.** (2016). Quantum embedding theories. *Acc. Chem. Res.* **49**: 2705-2712.
- Thomas, L. H.** (1927). The calculation of atomic fields. *P. Camb. Philos. Soc.* **23**: 542-548.
- Chávez V.H., Shi Y., Oueis Y., Wasserman, A.** (2020). Basis set implementation of partition density functional theory. In progress.
- Wasserman, A., Nafziger, J., Jiang, K. L., Kim, M. C., Sim, E., Burke, K.** (2017). The importance of being inconsistent. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **68**: 555-581.
- Weizsäcker, C. F. von.** (1935). Zur theorie der kernmassen. *Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei.* **96**: 431-458.
- Yang, W., Cohen, A. J., Mori-Sánchez, P.** (2012). Derivative discontinuity, bandgap and lowest unoccupied molecular orbital in density functional theory. *J. Chem. Phys.* **136**: 204111.
- Yao, Y., Shushkov, P., Miller, T. F., Giapis, K. P.** (2019). Direct dioxygen evolution in collisions of carbon dioxide with surfaces. *Nat. Commun.* **10** (1): 2294.
- Yu, H. Y. S., Li, S. H. L., Truhlar, D. G.** (2016). Perspective: Kohn-sham density functional theory descending a staircase. *J. Chem. Phys.* **145**: 130901.
- Zhang, Y., Kitchaev, D.A., Yang, J., Chen, T., Dacek, S.T., Sarmiento-Pérez, R.A., Márques, M.A., Peng, H., Ceder, G., Perdew, J.P., Sun, J.** (2018). Efficient first-principles prediction of solid stability: Towards chemical accuracy. *NPJ Comput. Mater.* **4**: 9.

## A nuestros lectores y autores

### Enfoque y alcance

La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 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 biomédicas, ciencias del comportamiento (filosofía, psicología, antropología, sociología), ciencias físicas, ciencias naturales (biología, microbiología, botánica, zoología, ecología) ciencias químicas, ciencias de la tierra (geología, medio ambiente) y matemáticas.

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 Colombia, Online Computer Library Center – OCLC, *Zentralblatt für Mathematik*, *Zoological Record*. Nacionalmente se encuentra reseñada en la base de datos Publindex de Colciencias.

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 41 volúmenes.

### Proceso de evaluación por pares

Se recibirán solo los manuscritos que cumplan con todos los requisitos que se mencionan en las indicaciones a los autores. Los manuscritos serán evaluados en primera instancia por el editor y los editores asociados de la disciplina correspondiente.

Cada manuscrito será enviado a dos especialistas en el tema, quienes evaluarán y enviarán sus recomendaciones. Este proceso de revisión tendrá una duración aproximada de 90 días.

Los pares académicos pueden adoptar alguna de las siguientes 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 un tercer evaluador.

En cualquiera de los casos, el autor será informado y deberá realizar las modificaciones correspondientes en el manuscrito y enviarlo dentro de las cuatro semanas siguientes. Además, deberá enviar un documento en el que responderá, una a una, todas las observaciones señaladas por los evaluadores.

Cuando el autor demore más de 30 días en responder a las sugerencias de los evaluadores, se entenderá que los autores han retirado el manuscrito en su forma actual y, si se remitiera de nuevo, el Comité Editorial de la Revista lo considerará como un nuevo trabajo.

Los trabajos que sean aceptados se considerarán como propiedad de la **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales** 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.

### Ética de la publicación

La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (RACCEFYN), acoge la normatividad internacional definida por el *Committee on Publication Ethics* (COPE). Algunas normas se pueden consultar en:

COPE guidelines on good publication practice: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1753164/>

COPE code of conduct: <https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

Ver documento pdf (anexo)

### Política de acceso abierto

La página web de la Revista ([www.raccefyn.co](http://www.raccefyn.co)) permite el acceso libre y abierto a los artículos con el fin de contribuir a la visibilidad, el acceso y la difusión de la producción científica.

## Directrices para autores

### Tipología de los artículos publicados en la Revista

**Artículos originales o artículos de investigación científica y tecnológica:** documento que presenta, de manera detallada, los resultados originales de proyectos de investigación. La estructura generalmente utilizada contiene los siguientes apartes importantes: introducción, metodología, resultados, discusión, conclusiones y referencias.

**Artículos cortos:** documentos breves que presenta resultados originales preliminares o parciales de una investigación científica o tecnológica y, que, por lo general, requieren de una pronta difusión.

**Artículos de posesión o artículos de revisión de tema:** documentos resultantes de una investigación donde se analizan crítica y sistemáticamente, a la par que se integran los resultados de investigaciones publicadas o no publicadas, centradas en un campo de la ciencia o la tecnología, con el fin de dar cuenta de sus avances y sus tendencias de desarrollo. Presentar un artículo de revisión constituye un requisito para que un Académico pueda posesionarse como miembro correspondiente o de número.

**Cartas al editor:** posiciones críticas, analíticas o interpretativas sobre los documentos publicados en la revista que, a juicio del Comité Editorial, constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia.

**Comentarios bibliográficos:** son escritos críticos breves sobre libros recientes publicados en las disciplinas de interés de la Revista.

### Corrección de los autores

#### Fe de erratas

## Indicaciones a los autores

Los autores deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Los trabajos presentados deberán ser originales y de alto nivel, escritos en inglés o español, y que traten sobre aspectos relacionadas con las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Todos los trabajos aceptados quedarán 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 la internet. (Ver transferencia derechos de autor).
2. El autor de la correspondencia aceptará mediante comunicación escrita firmada que el manuscrito es un trabajo original, que no ha sido publicado por ningún medio, ni está siendo evaluado para aparecer en otra publicación impresa o electrónica y que, además, ha sido aceptado por todos los autores para su publicación en la Revista. Igualmente, que los derechos de autor no han sido cedidos a nadie con anterioridad. (Ver formatos 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 deberá ser suficiente como para aceptar públicamente la responsabilidad por los aportes de cada cual. El orden de los autores en la publicación deberá ser una decisión compartida de los coautores, quienes deberán ser capaces de explicar el orden en el que aparecen sus nombres. Finalmente, el manuscrito debe contener un párrafo en el que se detallará la contribución de cada uno de los autores.
4. De acuerdo con el ICMJE, todos los colaboradores que no cumplan con los criterios de autoría o hayan realizado contribuciones menores deberán aparecer en la sección de *Agradecimientos*, pero no serán citados como autores. Las ayudas económicas y materiales deberán aparecer en los *Agradecimientos*.
5. La terminología debe regirse por el Código Internacional de Nomenclatura Botánica. La terminología física, química o bioquímica, deberá seguir las normas del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (IUPAC). Deberán usarse las abreviaturas internacionales convencionales y las unidades del Sistema Internacional (SI). Los nombres científicos deberán ser escritos en la forma recomendada por el *Internacional Code of Botanical Nomenclature* y por el *International Committee on Systematics of Prokaryotes* o ICSP.

## Envío y presentación del manuscrito

Los artículos deberán ser enviados a través de <http://www.raccefyn.co>

El manuscrito incluirá además de la página correspondiente al título, el resumen, las referencias, las tablas y sus títulos, las leyendas de las figuras, todos los cuales deberán estar escritos en procesador de palabras Word a doble espacio, usando la fuente Arial de tamaño 12, sin justificar el texto. No debe olvidarse el usar la numeración en todo el manuscrito. Extensión máxima de 30 páginas, entre 5.000 a 8.000 palabras.

Los manuscritos deben incluir la siguiente información:

1. Una hoja de presentación, página en Word con los nombres y apellidos (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. Agregar aquí un párrafo en el que los autores declaren su aporte personal al manuscrito bajo consideración.
2. Título completo del manuscrito en español e inglés (máximo 30 palabras, 165 caracteres)
3. Título corto (máximo 10 palabras, 50 caracteres)
4. Resumen en español e inglés que no supere 250 palabras.
5. Palabras clave en español y en inglés que no superen en número a seis, separadas por punto y coma.
6. Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico, dirección electrónica y código ORCID. *Open Researcher and Contributor ID* (Identificación del Investigador y del colaborador abierto)
7. Direcciones electrónicas de todos los coautores y códigos ORCID *Open Researcher and Contributor ID*.
8. Texto, referencias y tablas en un mismo archivo en conjunto con las leyendas de las figuras en formato jpg o tiff en archivos individuales y con una resolución mayor a 300 dpi (*dots per inch*).
9. El número máximo de tablas y figuras es de 7. Para enviar información adicional se puede emplear la sección de *Información suplementaria* debidamente referenciada en el texto: tabla 1S, 2S, etc.; figura 1S, 2S, etc.

### 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 metodologías empleadas en el estudio. La descripción de la metodología debe tener referencias de los métodos usados.

**Análisis estadístico:** señalar los métodos estadísticos utilizados y la manera de analizar los datos.

**Resultados:** deben presentarse en secuencia lógica, con las tablas y las 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 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:** deberán responder al objetivo de la investigación reportada e incluir el planteamiento de objetivos futuros a seguir en la línea de investigación.

**Referencias:** todas las referencias bibliográficas se insertarán en el texto y deberán llevar siempre entre paréntesis el apellido del primer autor y el año de publicación. 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 no forma parte de la estructura formal del texto, por ejemplo: ... como indica Barbudo (2003). Si son solo dos autores se pondrán los dos apellidos, si son más de dos sólo se pondrá el apellido del primero añadiendo “*et al.*”

La Revista ACCEFYN utiliza las normas del Manual APA, estas emplean un sistema de citación de autor-fecha.

**Lista de referencias.** Se organizan alfabéticamente y se citan de la siguiente manera:

#### *Artículo de revista*

**Apellido, A. A., Apellido, B. B., Apellido, C. C.** (Año). Título del artículo. Nombre de la revista, volumen: pp-pp.

Ejemplo

**Kay, M.A., Glorioso, J.C., Naldini, L.** (2001). Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nat Med.*, 7: 33-40.

### **Libro**

**Apellido, A. A.** (Año). Título. Ciudad, País: Editorial

Ejemplo

**Salisbury, F. B., Ross, C. M.** (1994). Fisiología Vegetal. Guadalajara, México: Grupo editorial Iberoamérica.

### **Capítulo de libro**

**Apellido, A. A., Apellido, B. B.** (Año). Título del capítulo o la entrada. En A. A. Apellido. (Ed.), Título del libro (pp. xx-xx). Ciudad, País: Editorial.

Ejemplo

**Guba, E.G.** (1983). Criterios de credibilidad en la investigación naturalista. En J. Jimeno Sacristán y A. Pérez Gómez. La enseñanza: Su teoría y su práctica (148-165). Madrid, España: Akal.

### **Revista en línea**

**Apellido, A. A.** (Año). Título del artículo. Nombre de la revista, **volumen** (número): pp-pp. Disponible en: <http://www...>

Ejemplo

**Cintrón, G., Lugo, A. E., Pool, D. J., Morris, G.** (1978). Mangroves of arid environments in Puerto Rico and adjacent islands. *Biotropica*, **10** (2): 110-121. Disponible en: <http://www.jstor.org/pss/2388013>.

**Gutiérrez-Vargas, J.A., Moreno, H., Cardona-Gómez, G.P.** (2016). Targeting CDK5 post-stroke provides long-term neuroprotection and rescues synaptic plasticity. *J Cereb Blood Flow Metab.* doi: 10.1177/0271678X16662476

### **Citas páginas web**

Anotar la fecha de la consulta

Ejemplo

**Guiry, M.D., Guiry, G.M.** (2015). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponible en <http://www.algaebase.org>., accedida entre enero y junio de 2015.

**Tablas y figuras:** las tablas y cuadros se denominarán tablas y llevarán 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, utilizar 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 todos como Figuras, las cuales se enumeran según el orden de aparición y sus leyendas se describen 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 pero 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 en 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 apoyó económicamente.

## **Consideraciones**

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**

Una vez aceptados los artículos, éstos se enviarán a corrección orto-tipográfica. Se usará la herramienta de control de cambios de Word, en la cual quedará el registro de cada una de las sugerencias llevadas a cabo y los comentarios o dudas para que el autor o los autores aprueben y contesten apropiadamente.

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 aproximada y el número del volumen en el que el trabajo 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 orto-tipográficos, de manejo visual de la información o de imprecisiones involuntarias, el o los autores podrán comunicarse al correo de la Revista para que puedan efectuarse en las versiones electrónicas de la Revista.

### **Falsificación 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 intereses que pueda de alguna manera influir en la transparencia u objetividad en el proceso de revisión por pares y publicación, tal conflicto 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, entre otros.

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, entre otros).

### **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 correspondiente 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 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 con los manuscritos.
- e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de ACCEFYN.

### **Aviso de derechos de autor**

Los autores certifican que son los creadores originales del trabajo y declaran que:

- a) Los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal y,

en los casos que así lo requieran, se cuenta con las debidas autorizaciones de quienes poseen los derechos patrimoniales.

- b) Todos los materiales que se presentan están totalmente libres de derecho de autor y, por lo tanto, el autor de la correspondencia se hace responsable de cualquier litigio o reclamación relacionada con derechos de propiedad intelectual, exonerando de responsabilidad a la **Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**.
- c) El trabajo es inédito y no será enviado a otras revistas mientras se espera la decisión de los editores de tal revista. El primer autor declara que no existe un posible conflicto de intereses en este manuscrito.
- d) En caso de ser publicado, los autores del artículo transfieren todos los derechos de autor a la Revista ACCEFYN, sin cuyo permiso expreso no podrá reproducirse ninguno de los materiales publicados en la misma.
- e) A través de este documento, y si el trabajo es aceptado para su publicación, la Revista ACCEFYN asume los derechos para editar y publicar los artículos en índices nacionales, e internacionales o bases de datos con fines académicos y científicos no comerciales en medios impresos, electrónicos, Internet en texto completo o cualquier otro medio conocido o por conocer con respeto de los derechos de autoría.

### 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 se pueden publicar el título del trabajo, el resumen, las tablas y las figuras del trabajo en los correspondientes sitios web de autores o de sus empleadores, dando también 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 de los coautores del trabajo 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 con los manuscritos.
- e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de ACCEFYN.

### Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico incluidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros ni serán usados con otros fines.

### Lista de comprobación para la preparación de envíos

Como parte del proceso de envíos, los autores están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

#### 1. Carta de sometimiento del artículo, donde informa que todos los autores han leído, aprueban y declaran que:

- Están de acuerdo con el manuscrito remitido, en su contenido, organización y presentación.
- El trabajo es original, el cual no ha sido publicado previamente y, de igual forma, no se someterá a otra revista hasta conocer la respuesta del Comité Editorial.
- En caso de ser aceptado el manuscrito, se autoriza su publicación bajo las normas establecidas por la revista.

- El documento no cuenta con texto o figuras que tengan reserva de derechos y si los tuviere se cuenta con la autorización escrita para su reproducción.
- El documento no contiene citas o transcripciones de obras que carezcan de referencias bibliográficas debidamente citadas.
- Se incluye un párrafo donde los autores declaran cuál fue el aporte de cada uno de ellos al documento.
- Esta carta firmada debe ser adjuntada en el paso 4 del presente proceso de envío en formato PDF.

## **2. Presentación**

- Una página en Word con los nombres y apellidos (nombre completo, apellido y segundo apellido separado por un guion) de todos los autores (sin cargos, ni grados académicos), filiaciones y correos electrónicos.
- Título completo del manuscrito en español e inglés y título corto.
- Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico y dirección electrónica.
- Direcciones electrónicas de todos los coautores.
- Texto, referencias y tablas en un mismo archivo junto con las leyendas de las figuras. Figuras en formato jpg o tiff en archivos individuales.

## **3. Estructura del artículo.** Se incluyen

- El resumen en español e inglés (Abstract).
- Las palabras clave (máximo 6) en español e inglés (Keywords).
- Introducción.
- Materiales y métodos.
- Resultados y Discusión para comunicaciones cortas.
- Discusión.
- Agradecimientos a colaboradores y/o instituciones u organizaciones que financiaron la investigación.
- Referencias.
- Declaración de conflicto de interés.

## **4 Información adicional: figuras**

- Se incluyen como archivo independiente, cada figura en página aparte.
- Se incluyen las leyendas correspondientes al final del original. Estas figuras deberán ser cargadas en el paso 4 del presente proceso de envío en formato JPG o TIF.

## **5. Información adicional: tablas**

- Se incluyen al final del original, elaborados en el modelo más sencillo de tablas del programa Word.
- Se ordenan secuencialmente.
- Se incluye el título correspondiente.

## **6. Referencias**

- Se han seguido las normas de la revista de ACCEFYN en las instrucciones a los autores.

## **7. Abreviaturas:**

- Se introducen entre paréntesis la primera vez que se usan.

## **8. Nomenclatura:**

- Los nombres de género y especie están en letra cursiva.
- Los nombres de microorganismos, plantas y animales se escriben completos la primera vez que se citan, en el título y en el resumen.

## **9. Ética**

- Todos los autores conocen y aprueban la presentación del manuscrito, su contenido, la autoría y el orden de la autoría.
- El manuscrito ha sido postulado solo a la Revista ACCEFYN y no se encuentra postulado ni ha sido publicado en otra revista.
- Si el artículo incluye la investigación en humanos o con animales se han seguido las directrices de la Declaración de Helsinki y el uso de primates no humanos en la investigación.
- Se incluye los agradecimientos a las instituciones u organizaciones que financiaron la investigación.

## **10. Revisores**

Se suministran indicaciones sobre tres o cuatro posibles revisores con sus nombres completos, formación académica y direcciones de correos electrónicos.

## To our readers and authors

### Focus and Scope

The Journal of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences (ACCEFYN) is a multidisciplinary quarterly journal that publishes high quality original research articles.

The journal publishes scientific articles in the disciplines of Biomedical Sciences, Behavioral Sciences (philosophy, psychology, anthropology, and sociology), Natural Sciences (Biology, Botany, Microbiology, Zoology, Ecology), Physical Sciences, Chemical Sciences, Earth Sciences (Geology, Environmental Sciences) and Mathematics. It is included in several national and international directories and indexing services like 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 Colombia, On-line Computer Library Center – OCLC, Zentralblatt für Mathematik, Zoological Record, RLG. Within the Colombian citation system, the journal is register in Publindex (The Journal index Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias).

The journal's website ([www.racefyn.co](http://www.racefyn.co)) allows free and open access to full-text articles with the purpose of contributing to the visibility, access and dissemination of Colombian scientific production.

The first issue was published in December 1936, year of the official creation of the National Academy, led by Jorge Álvarez Lleras. The journal has been edited 41 volumes since then.

### Peer Review Process

Manuscripts that meet the author guidelines are welcomed. Manuscripts will be assessed by the editor in chief and associate editors' expert in the topic of the manuscript.

If the editors see fit, the manuscript will be sent to, at least, two peers knowledgeable in the topic of the manuscript. It is estimated the peer reviewing process will take around 90 days.

The reviewers can decide to a) accept the article without any modification, b) accept it if some recommendations are addressed, or c) reject the manuscript. If peers exhibit contradicting assessments, an extra reviewer will be approached to settle disparities and reach a final decision.

The corresponding author will be notified of the results of the peer review process. The author should return an amended version, along with a documenting reporting the response to the reviewers, four weeks after receiving the results of the reviewers.

If the author does not send these documents past the suggested time, the journal will assume the manuscript has been withdrawn. If the author send these documents past the suggested time, the journal takes the manuscript as a new submission and the reviewing process starts anew.

Accepted manuscripts are considered property of the journal. Thus, the journal is free to reproduce an entire manuscript or parts of it.

The journal is not responsible of the contents of the published manuscripts and related legal implications.

### Publication Ethics and Publication Malpractice Statement

The journal abides by the *Committee on Publication Ethics* (COPE) standards. These guidelines can be consulted in the following links:

COPE guidelines on good publication practice: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1753164/>

COPE code of conduct: <https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

See document pdf (annex)

### Open access policy

The journal enables open access to published articles via its website ([www.racefyn.co](http://www.racefyn.co)) to contribute to the dissemination, accessibility, and visibility of scientific work.

### Author Guidelines

**Research articles.** A manuscript documenting the results of at least one experiment/study by following the following structure: introductions, methodology, results, discussion, conclusions, and references. Extra material can be reported as an appendix.

**Brief articles.** Manuscripts reporting the results of novel experiments/study in a succinct manner and that require prompt diffusion.

**Inaugural articles or Review articles.** Manuscripts reporting literature reviews on a topic. It is one requirement for the Academics to be admitted to the Academy

**Letters to the editor.** Manuscripts proposing critical comments, novel analysis or re-interpretations of published work.

**Book reviews.** Short manuscripts reporting a review of a book recently published within an area of interest to the journal.

**Authors correction**

**Errata**

## Information for Authors

Authors should bear in mind the following

1. Submitted manuscripts must be original and of outstanding quality. They can be written in Spanish or English in an area related to the **Exact, Physical or Natural Sciences**. All works accepted will remain permanent property of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences so that such work can be published in hard copy or in electronic format, including web posting. (See transference of authors' rights).
2. The corresponding author will be required to state that the work is original, has not been published elsewhere, is not under review elsewhere and that co-authors agree as to the version submitted. Equally important, the corresponding author will be asked to state whether copyrights have been passed on to other parties. (See form for declaration of originality, conflicts of interest, and authors' rights).
3. It is assumed all listed authors have contributed substantially to the manuscript. Their order in the manuscript should be reached by agreement. Finally, each author's contribution should be explicitly stated. Collaborators whose contribution was not substantial (see above) should be mentioned in the 'acknowledgments' section (see <http://www.icmje.org/> for a reference). Financial supports and grants should also be mentioned in this section.
4. The terminology used in the manuscript should follow that used in specific areas (we therefore recommend authors to consult specialised references in this regards as to their own fields of research). Scientific names should follow recommendations such as those stated, for example, by the International Code of Botanical Nomenclature and the International Committee on Systematics of Prokaryotes.

## Submission and Presentation of manuscript

The manuscripts should be submitted using the website of the Academy: <http://www.acefyn.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 Arial font size 12 without justification. Do not forget to number the entire manuscript. Maximum extension 30 pages, 5,000 to 8,000 words.

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 TIF 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.

**Conclusions:** an up to date survey of the investigation. Mention can be made here of future objectives of the same line of investigation.

**References:** these citations must be verifiable. When a citation is made, indicate in the text the author, the year and page in the following way: last name of the first author and year of publication Pérez (1996). If there are only two authors use both last names Perez and Ribas (1996). If there are more than two authors use only the first last name followed by *et al.*

**Reference list:** alphabetically and following the examples

### Journal article

**Last name, A. A., Last name, B. B., Last name, C. C.** (Year). Title. Journal name, **volume:** pp-pp.

Example

**Kay, M.A., Glorioso, J.C., Naldini, L.** (2001). Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nat Med.*, **7:** 33-40.

### Book

**Last name, A. A.** (year). Title, City, Country: Publisher

Example

**Salisbury, F. B., Ross, C. M.** (1994). *Fisiología Vegetal*. Guadalajara, México: Grupo editorial Iberoamérica.

### Book chapter

**Last name, A. A., Last name, B. B.** (Year). Chapter title. In A. A. Last name. (Ed.), Book title (pp. xx-xx). City, Country: Publisher.

Example

**Guba, E.G.** (1983). Criterios de credibilidad en la investigación naturalista. En J. Jimeno Sacristán y A. Pérez Gómez. *La enseñanza: Su teoría y su práctica* (148-165). Madrid, España: Akal.

### Journal on line

**Last name, A. A.** (Year). Article title. Journal, **volume** (issue): pp-pp. Available in <http://www...or DOI>

Examples

**Cintrón, G., Lugo, A. E., Pool, D. J., Morris, G.** (1978). Mangroves of arid environments in Puerto Rico and adjacent islands. *Biotropica*, **10** (2): 110-121. Available in: <http://www.jstor.org/pss/2388013>

**Gutiérrez-Vargas, J.A., Moreno, H., Cardona-Gómez, G.P.** (2016). Targeting CDK5 post-stroke provides long-term neuroprotection and rescues synaptic plasticity. *J Cereb Blood Flow Metab.* doi: 10.1177/0271678X16662476

### References web pages

Date of the access

Example

**Guiry, M.D., Guiry, G.M.** (2015). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available in <http://www.algaebase.org>., accessed in June 2015.

**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.

### Considerations

They will be published in the following issue to the announcement of the correction. They are responsibility of the authors. Errata are responsibility of the Journal.

Fabrication of evidence, data omission, duplicity of data or plagiarism will be penalized. The authors and their institutions, research center or university and sponsors will be notified.

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.

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.).

### Copyright Notice

#### Declaration of originality and transfer author's rights

The authors declare:

The published data and reference materials have been duly identified with their respective credits and have been included in the bibliographic notes and citations that have been so identified and that should it be required, I have all releases and permissions from any copyrighted material.

All material presented is free from any copyright and that I accept full legal responsibility for any legal claims relating to copyrighted intellectual property, fully exonerating from responsibility the **Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**.

This work is unpublished and will not be sent to any other journal while waiting for the editorial decision of this journal. I declare that there is no conflict of interest in this manuscript.

In case of publication of this article, all author's rights are transferred to the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, and so cannot be reproduced in any form without the express permission of it.

By means of this document, if the article is accepted for publication by the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, the Revista assumes the right to edit and publish the articles in national and international indices or data bases for academic and scientific use in paper, electronic, CD-ROM, internet form either of the complete text or any other known form known or to be known and non-commercial, respecting the rights of the authors.

### 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**, except in the following cases:

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, if the corresponding credit is given to the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**. 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.

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.

If the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales** were approached for permission by a third party for using, printing, or publishing specifically articles already published, the Revista must obtain the express permission of the author and co-authors of the work or of the employer except for use in classrooms, libraries, or reprinted in a collective work. The **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales** reserves the possible use in its front cover of figures submitted with the manuscripts.

No other right, other than the author's right, can be claimed by the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**.

### Privacy Statement

The names and e-mail addresses appearing in the journal will be used solely for the purposes explicitly therein expressed and by no means will they be supplied to third parties.

---

### Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

#### 1. Letter of submission, where it is stated that all authors have read and approved that:

- The submitted manuscript conforms in content, organization and presentation with established norms.
- The original article has not been previously published in any form nor has it been submitted to another journal nor will it be until an answer is received from the Editorial Committee.
- In the case the manuscript is accepted, it is then authorized to be published under the journal's norms.
- The document may not be published without authorization of all copyrighted texts and figures.
- The document is fully cited in a list of references.

#### 2. Appearance

- The first page written in Word with names and surnames (complete name, first and second surnames separated by a hyphen) of all authors (without job titles or academic titles), affiliations and e-mail address.
- Complete title of the manuscript in Spanish and English. Short title.
- Name of person responsible for correspondence with their complete address, telephone number and electronic address.
- E-mail of all coauthors.
- Text, references and tables in the same file together with legends of the figures. Figures in jpg or TIF format.

#### 3. Structure of the article

The following sections are to be included:

- An abstract should be included in both Spanish and English.
- Key words (no more than 6) should be included in both Spanish and English.
- Introduction.
- Materials and methods.

- Results and Discussion for short communications.
- Discussion.
- Acknowledgments to collaborators and institutions and organizations which financed the research.
- Declaration of conflict of interest.

#### **4. Additional information: Figures**

- Each figure is included in a separate page in jpg or TIF format
- Corresponding legends are included in a separate page
- Figures should be charged in JPG o TIF format

#### **5. Additional information: Tables**

- Tables are included on a separate page and are presented in a simple manner as a Word table
- Tables are ordered sequentially

#### **6. References**

Citations must follow the journal ACCEFYN's norms found in the authors' instructions

#### **7. Abbreviations**

The first use is introduced in parentheses

#### **8. Nomenclature**

- The generic and specific names are written in italics
- Names of micro-organisms, plants and animals are written out completely the first time that they are cited in the title and in the abstract.

#### **9. Ethics and malpractice considerations**

- All authors must know and approve of the form, content, authors, and the order of the authors
- An article that has been submitted to the journal ACCEFYN has not be submitted or published in any other journal.
- If the article includes research on human or animals have all authors read and followed the guiding principles of the Declaration of Helsinki and the use of non-human primates in the research?

#### **10. Reviewers**

List 3 or 4 possible reviewers with their complete names, academic background and e-mails.



Ocurrencias relativas al clima de Bogotá.

La ciudad de Bogotá se halla situada a  $4^{\circ} 55' 58''$  de latitud, oeste y a  $76^{\circ} 5' 37''$  de longitud, Oeste del meridiano de París. Está colocada en el borde oriental de la gran altiplanicie que lleva el nombre de Sabana de Bogotá a unos 40 metros de altura sobre el nivel del mar. La Sabana se halla rodeada por un cordillón de la cordillera de los Andes y halla rodeada de cerros en su contorno.

La longitud de Bogotá, en el interior de la sierra, es de  $12^{\circ} 96'$ ; su presión media es de 5601, su altura relativa media es de 8000 su grado de nebulosidad durante las horas trascorridas de los 8 a.m. a los 8 p.m. es la velocidad media del viento es de 1.100. La cantidad de lluvia anual es de 1.100. La temperatura del aire oscila durante el día

La presión barométrica tiene su oscila-



• 100 AÑOS •