



ACADEMIA COLOMBIANA
DE CIENCIAS EXACTAS,
FÍSICAS Y NATURALES

ISSN 0370-3908
eISSN 2382-4980

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

Vol. 44 • Número 173 • Págs. 905-1208 • Octubre - Diciembre de 2020 • Bogotá - Colombia

ALBERT CAMUS

LA PESTE

nrf

GALLIMARD



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 173 • Págs. 905-1208 • Octubre - Diciembre 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,
Medellín, 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

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

Ciencias Químicas

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

Ciencias Naturales

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

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

Ciencias de la tierra

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

Matemáticas

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

Comité científico internacional

- 10 Carlos Jiménez, Ph. D.
Universidad de La Coruña, España
- 10 Wolfgang Gieren, Ph. D.
Universidad de Concepción, Chile
- 10 Alfonso Castro, Ph. D.
Harvey Mudd College,
Claremont, CA, EEUU
- 10 Rodolfo Castillo, Ph. D.
Fort Lauderdale, Florida, EEUU
- 10 José Rubens Pirani Ph. D.
Universidade de São Paulo, Brazil
- 10 Federico Ardila, Ph. D.
San Francisco State University, San
Francisco, CA, EEUU
- Juan Alfredo Tirao, Ph. D.
Academia Nacional de Ciencias Córdoba,
Argentina
- 10 Pedro Romero, Ph. D.
Instituto Ludwig de la Universidad de
Lausana en Suiza
- 10 Ulrich Paessler, Ph. D.
Academia de Ciencias de Berlín-
Brandenburgo, RFA
- 10 Maria Sagrario Millán
Universidad Tecnológica de Tarrasa,
España
- 10 Zbigniew Jaroszewicz
Centro de Fotónica Aplicada, Instituto
Tele y Radiotécnico, Instituto Nacional
de Telecomunicaciones, Polonia
- 10 José Luis Moran López,
Doctor Rerum Naturalium
Academia Mexicana de Ciencias,
México
- 10 Jean-Pierre Galaup
Universidad de París Saclay, Francia
- 10 Helena Nader, Ph. D.
Academia Brasileira de Ciencias, Brasil
- 10 Roberto JJ Williams, Ph. D.
Academia Nacional de Ciencias Exactas,
Físicas y Naturales, Argentina
- 10 Walter Fernández Rojas, Ph. D.
Presidente Academia Nacional de
Ciencias, Costa Rica
- 10 Alex Held, Ph. D.
Commonwealth Scientific and Industrial
Research Organisation (CSIRO), Australia
- 10 Rafael Radi, M.D.
Academia de Ciencias de Uruguay

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

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 • **Correo electrónico:** revista@accefyn.org.co





ACADEMIA COLOMBIANA
DE CIENCIAS EXACTAS,
FÍSICAS Y NATURALES

ISSN 0370-3908
eISSN 2382-4980

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

Vol. 44 • Número 173 • Págs. 905-1208 • Octubre - Diciembre de 2020 • Bogotá - Colombia

Contenido - Contents

Editorial

De pestes y esperanzas

Of pestilences and hopes

Román Castañeda-Sepulveda Dr. rer. nat. 912

Ciencias Biomédicas

Biomedical Sciences

Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze: una nueva promesa para el tratamiento tópico de la leishmaniasis cutánea **AO**

Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze: a new promise for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis

Sara M. Robledo, Juliana Quintero, Jorge Higueta, Maritza Fernández, Javier Murillo, Adriana Restrepo, Natalia Arbeláez, Andrés Montoya, Victoria Ospina, Tatiana Pineda, Lina M. Yepes, Yulieth Upegui, Iván D. Vélez 915

Preparación y estudio de propiedades estructurales, morfológicas y ópticas de películas delgadas de sulfuro de zinc para aplicación fotovoltaica **AO**

Preparation and study of structural, morphological, and optical properties of zinc sulfide thin films for photovoltaic application

Johan Andrés Vargas-Rueda, Verónica García, Mónica Andrea Botero, Clara Lilia Calderón. 937

Influence of process parameters on the size, morphology, and structure of magnetic nanoparticles obtained by chemical methods **OA**

Influencia de los parámetros de proceso en el tamaño, morfología y estructura de nanopartículas magnéticas obtenidas mediante métodos químicos

Nicolás Ortiz-Godoy, Dayi Gilberto Agredo-Díaz, Jimmy Rene Junco, David Arsenio Landínez-Téllez, Jairo Roa-Rojas 951

Ciencias Físicas

Physical Sciences

Caracterización de parámetros del rayo en Colombia con base en sistemas de localización terrestres y satelitales, 20 años de análisis **AR**

Characterization of lightning parameters in Colombia based on terrestrial and satellite lightning locating systems, a 20 years analysis

Camilo Younes-Velosa 960

Mie scattering study of dielectric nanoparticles and nanoantennas applications **OA**

Estudio de la dispersión de Mie de nanopartículas dieléctricas y de las aplicaciones en nanoantenas

Oslen Dilayder Jaimés-Suárez, Heriberto Peña-Pedraza 974

Análisis de polaridades magnéticas en regiones activas para la predicción de fulguraciones solares **AO**

Analysis of magnetic polarities in active regions for the prediction of solar flares

Natalia Granados-Hernández, Santiago Vargas-Domínguez 984

<p>Poríferos asociados a rompeolas en el departamento de Sucre (Caribe colombiano) AO Sponges (Porifera) associated with breakwaters in the department of Sucre (Colombian Caribbean) <i>Jesús Daniel David-Colón, Dairo Humberto Marin-Casas</i> 996</p>	996
<p>Frecuencia cardíaca y frecuencia de muda a diferentes temperaturas en dos especies de lagartijas colombianas, <i>Anolis huilae</i> y <i>A. tolimensis</i> (Squamata: Dactyloidae) AO Heart rate and molting frequency at different temperatures in two species of Colombian lizards, <i>Anolis huilae</i> and <i>A. tolimensis</i> (Squamata: Dactyloidae) <i>Myriam Lorena Buitrago-Monroy, Jorge Luis Turriago-González, Manuel Hernando Bernal-Bautista</i> 1008</p>	1008
<p>Riqueza, composición y distribución de las plantas vasculares en sabanas y bosques ribereños de la cuenca baja del río Pauto (Casanare-Colombia) AO Richness, composition, and distribution of vascular plants in savannas and riparian forests of the Pauto River lower watershed (Casanare-Colombia) <i>Diego Mauricio Cabrera-Amaya, Laura Judith Giraldo-Kalil, Orlando Rivera-Díaz, Francisco Castro-Lima</i> 1018</p>	1018
<p>Composición florística y aspectos de la estructura de la vegetación en sistemas agroforestales con cacao (<i>Theobroma cacao</i> L. - Malvaceae) en el departamento del Huila, Colombia AO Floristic composition and aspects of the structure of the vegetation in agroforestry systems with cocoa (<i>Theobroma cacao</i> L. - Malvaceae) in the department of Huila, Colombia <i>Claudia Mercedes Ordoñez, J. Orlando Rangel-Ch</i> 1033</p>	1033
<p>Evaluación del estado de salud de la colección de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del Museo de La Salle, Bogotá MLS-mam AO Evaluation of the health status of the bat collection (Mammalia: Chiroptera) at Museo de La Salle, Bogotá MLS-mam <i>Nerieth Goretti Leuro-Robles, Julieth Stella Cárdenas-Hincapié, Cristian Alexander Cruz-Rodríguez</i> 1047</p>	1047
<p>Fitoperifiton asociado con macrófitas en una ciénaga tropical de la cuenca del río Atrato, Quibdó (Chocó), Colombia AO Phytoperiphyton associated with macrophytes in a tropical floodplain of the Atrato River basin, Quibdó, Chocó-Colombia <i>Zuleyma Mosquera-Murillo</i> 1060</p>	1060
<p>Monitoreo fotoacústico de plantas <i>Musa acuminata</i> (Musaceae) infectadas con el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> (Nectriaceae) AO Photoacoustic evaluation of <i>Musa acuminata</i> plants (Musaceae) infected with the fungus <i>Fusarium oxysporum</i> (Nectriaceae) <i>Fernando Gordillo-Delgado, Mariana Botero-Zuluaga</i> 1073</p>	1073
<p>Reproductive phenology of three species of <i>Pristimantis</i> in an Andean cloud forest OA Fenología reproductiva de tres especies de <i>Pristimantis</i> en un bosque de niebla andino <i>Yamile Granados-Pérez, Martha Patricia Ramírez-Pinilla</i> 1083</p>	1083
<p>Modelamiento por homología <i>in silico</i> de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa unida a membrana en <i>Pseudomonas fluorescens</i> AO <i>In silico</i> modeling by homology of membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase in <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Julia Rosa Chalaraca-Vélez, Duverney Gaviria</i> 1099</p>	1099

**Ciencias
Químicas**
Chemical Sciences

Prospective use of fruit byproducts in Colombia according to their antioxidant capacity OA	
Uso prospectivo de subproductos de frutas en Colombia según su capacidad antioxidante	
<i>Ciliana Flórez-Montes, Óscar Marino Mosquera-Martínez, Andrés Felipe Rojas-González</i>	1113

**Ciencias
de la Tierra**
Earth Sciences

Áreas para la observación astronómica a través del procesamiento digital de imágenes nocturnas en Python AO	
Areas for astronomic observation through the digital night image processing with Python	
<i>Mariluz Graterol-Ruiz</i>	1126

Nueva propuesta de edades para el registro sedimentario de las formaciones Bocas y Jordán y su relación con el desarrollo de la actividad magmática del Grupo Plutónico de Santander (Cordillera Oriental, Colombia) AO	
A new proposal on ages of the sedimentary record of Bocas and Jordan formations and their relationship with the development of the magmatic activity of the Santander Plutonic Group (Eastern Cordillera, Colombia)	
<i>Carlos M. Alarcón, Jairo Clavijo-Torres, Luis C. Mantilla-Figueroa, Juan Guillermo Rodríguez</i>	1137

Matemáticas
Mathematics

The arithmetic of Coxeter permutahedra RA	
La aritmética de los permutaedros de Coxeter	
<i>Federico Ardila, Matthias Beck, Jodi McWhirter</i>	1152

On the splitting rate of a tower of Artin-Schreier type OA	
Sobre la tasa de descomposición de una torre de tipo Artin-Schreier	
<i>Horacio Navarro</i>	1167

Cartas a Caldas E	
Letters to Caldas	
<i>Alberto Gómez-Gutiérrez</i>	1174

Vida de la Academia	1182
----------------------------------	------

Agradecimientos	
Acknowledgements	1185

Índice autores	
Authors Index	1186

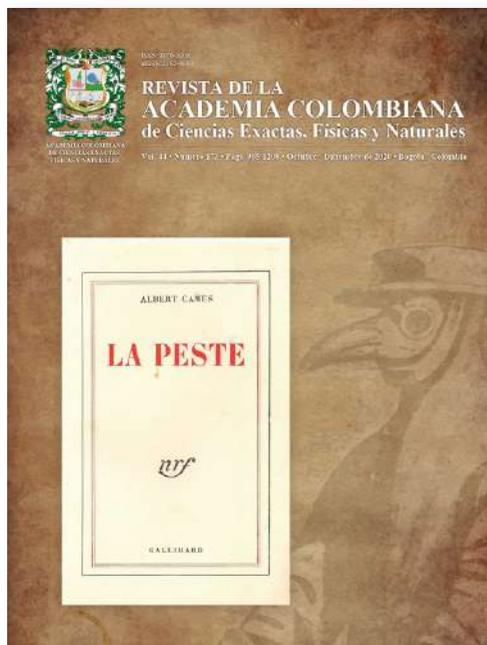
Índice de artículos	
Article Index	1188

Enfoque y alcance	
Focus and Scope	1196

Nuestra portada

Carátula de la versión original de *La peste* de Albert Camus. Editorial Gallimard, Francia, junio de 1947.

Vol. 44 • Número 173 • Octubre-Diciembre de 2020 • Bogotá - Colombia



La figura del “médico de la peste” surgió en el siglo XVII, con un dispositivo de protección particular para hacer frente a las epidemias que azotaban a Europa. La primera versión de este atuendo fue inventada en 1619 por Charles de l’Orme (1584-1678), médico personal de varios miembros de la Casa de los Medici, y médico en jefe de las cortes de Henri IV, Louis XIII y Louis XIV.

El traje de protección consistía en una túnica de tela gruesa encerada, una máscara con agujeros con lentes de vidrio y una nariz cónica con forma de pico de ave, que era rellena con sustancias aromáticas y paja que, se pensaba, servían de protección contra el mal aire miasmático. La paja servía como filtro para el “mal aire” y las sustancias aromáticas incluían ámbar gris (secreción biliar del cachalote, *Physeter macrocephalus*), hojas de menta (*Mentha* sp.), estoraque (*Styrax officinale*), mirra (*Commiphora myrrha*), láudano (tintura alcohólica de *Crocus sativus*, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum verum*, *Papaver somniferum*), pétalos de rosa (*Rosa* sp.), alcanfor (*Cinnamomum camphora*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).¹

¹ Modificado a partir de Wikipedia.

Editorial

De pestes y esperanzas

Aunque no dediquemos un número especial a la pandemia de la COVID-19, desatada por el virus SARS-CoV-2, una microscópica estructura bioquímica que existe, pero no vive y, aun así, causa muertes a gran escala, no nos podemos sustraer al escenario de crisis global que tal pandemia ha revelado a profundidad en lo corrido de este año. No es la primera vez que la humanidad sufre el embate de una enfermedad que puede ser mortal y que tiene amplia difusión: en diversos escenarios hemos venido recordando las muchas veces que ese tipo de amenaza ha pendido sobre nosotros, desde la plaga de Atenas del año 430 AC, pasando por la gran peste de Londres de 1665, la gripe española de 1918, hasta el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (Sida) la que al presente ya ha cobrado más de 30 millones de vidas. Todas estas pestes han sido devastadoras en la escala demográfica de sus épocas y, sin embargo, a todas ha sobrevivido la humanidad.

El escenario que contemplamos hoy parece vislumbrarse en la cita del príncipe Hamlet:

“Oh God, I could be bounded in a nutshell,
and count myself a king of infinite space, were
it not that I have bad dreams” [1]

[“Oh, Dios, podría estar encerrado en la cáscara de una nuez,
y sentirme rey del infinito espacio,
de no ser porque tengo malos sueños”]

Consideramos el inexorable aislamiento físico signado en la primera línea, así como la resiliencia emocional para gobernar la infinitud en la que pensamos, imaginamos e intuimos, puesta de manifiesto en la segunda línea, como estrategias idóneas para enfrentar esta crisis, agitada por las mareas de miedo e incertidumbre esbozadas en la tercera línea. Tres líneas de batalla ante un enemigo invisible para la mayoría.

El término *crisis* es, sin duda, el distintivo del momento que vivimos. La cultura japonesa da a este término un significado inspirador al representarlo mediante dos ideogramas: peligro y oportunidad, cuyo juego puede entenderse desde diferentes perspectivas. Una de ellas, de interés primordial para las comunidades científicas, muestra al conocimiento como elemento indispensable para lograr avances que permitan superar los peligros. A menudo, como ahora, el conocimiento mismo es la oportunidad de conjurar el peligro y neutralizar el sufrimiento. En la cultura grecolatina, *crisis* significa separar, decidir, y de ahí se derivan los términos *crítica*, que señala el análisis que lleva al juicio, y *criterio* que indica el razonamiento apropiado, dos términos ineludibles y cotidianos en el quehacer de los científicos. Las crisis, por lo tanto, parecen ser escenarios naturales para el desarrollo de la ciencia, una fuente inagotable de estímulo para la búsqueda de conocimiento, porque a los científicos parece animarlos la pregunta de José Martí en su poema “Amor de ciudad grande”:

“¿Qué es lo que falta
que la ventura falta?” [2]

La actual crisis provocada por la pandemia de la COVID-19 ha estimulado el desarrollo de conocimiento no sólo biomédico y farmacéutico, sino también social y humanista, quizá porque no hay experiencia humana tan contundente como la de enfrentar a la muerte. A pesar de esta complejidad, no podemos permitir que la pandemia de la COVID-19 acalle los reclamos de atención a otros escenarios de crisis que, a pesar de haber perdido protagonismo frente a esta pandemia, no han disminuido su impacto sobre la calidad y la

sostenibilidad de la vida: la malaria, el cambio climático, la contaminación ambiental, así como fenómenos socioeconómicos y políticos como la inequidad, la exclusión, la pobreza absoluta, los conflictos armados y el hambre. Justo antes de que se desatara la pandemia de la COVID-19, el mundo se había horrorizado con las catástrofes ambientales de los incendios en Australia y en la Amazonía, los que progresaron en la misma proporción de la ineptitud de los gobernantes de los países involucrados. La magnitud de sus consecuencias no ha sido aun establecida.

Una pandemia de dimensiones y complejidad aún mayores que la de la COVID-19 amenaza, en los últimos años y de manera mortal, al intelecto y al espíritu humanos. El *Diccionario Oxford* la registró con las dos expresiones inglesas más usadas en el mundo durante los años 2016 y 2017: *post-truth* y *fake news*. Quizá esta “infodemia”, como algunos la nombran, haya surgido en la política y en la economía, pero ha contagiado ya incluso al quehacer de los científicos: el paradigma de acercamiento a la verdad está mutando de *búsqueda e indagación a construcción*, al impactar de manera deletérea los procedimientos de verificación y validación, en función de marcadas debilidades de actitud en las comunidades a causa de una insuficiente apropiación y comprensión de la ética. Un ejemplo elocuente es el movimiento anti-vacunas, desatado por un falso estudio que adelantó un médico inglés afectado por intereses comerciales, para concluir que la vacuna triple viral causa autismo.

Aunque la infodemia amenaza de manera indirecta la sostenibilidad de la biosfera, lo cual se hace evidente en las decisiones de algunos líderes mundiales en torno a la COVID-19, el cambio climático y las crisis ambientales, su peligro inmediato, y para nada despreciable, apunta hacia la desinformación, la confusión a menudo mal intencionada, y el caos, ambientes que la ciencia y los científicos se han esforzado en erradicar a lo largo de la historia. El trabajo de muchos científicos que buscan saber más se ve desvirtuado por ciertos líderes políticos que intentan mandar más y envilecido también por muchos mercaderes que buscan ganar más. *Post-truth* y *fake news* parecen corresponder al significado de la palabra griega *διαβολοζ* (*diaboloζ*): lo que se lanza entre los hombres para separarlos, dividirlos o enfrentarlos. Sin duda un examinador profundo del significado de la palabra griega *συμβολον* (*simbolos*) que corresponde al rol fundamental de la ciencia: lo que se lanza entre los hombres para unirlos, las contraseñas o los fragmentos cuyos sentidos se ven cumplidos plenamente en la unión de todos.

El enfrentamiento entre el actual presidente de los Estados Unidos y el director del Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas de ese país sobre procedimientos, estrategias y actitudes para enfrentar la pandemia ejemplifica claramente esa desafortunada oposición *διαβολοζ/συμβολον* que, de ninguna manera, representa una percepción maniquea de la realidad de la pandemia. Esa oposición es también ilustrada por el uso indebido de conocimientos tecnológicos, en un pasado reciente, por multinacionales automotrices para favorecer el comercio de sus vehículos, dotándolos de dispositivos de engaño para los sistemas de control de su desempeño ambiental. En la misma dirección se reseñan los juicios contra farmacéuticas por el daño que sus productos basados en opiáceos causaron a la población, así como por el uso de material dañino para la salud en productos para bebés, hechos ocultados intencionalmente en la información respectiva a los usuarios.

La ciencia nos puede acercar al ideal de armonía entre el bienestar individual y el bienestar colectivo signado por el término zulú-xhosa *Ubuntu*, al conjurar la advertencia citada en nuestra portada de hoy, la de la primera edición de la insigne obra de Albert Camus, Premio Nobel de Literatura de 1957, si adoptamos estrategias paralelas a las del autocuidado basado en el distanciamiento social, el aseo escrupuloso y el tapabocas que aplicamos para neutralizar la pandemia de la COVID-19, un autocuidado basado en la resistencia a convertirnos en antenas replicadoras de mensajes no verificados, en la práctica escrupulosa de principios éticos y en la disciplina de nuestros pronunciamientos por la sensatez y la prudencia.

Fiel a estos criterios, la *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* les presenta hoy a sus lectores un número que contiene artículos científicos revisados por pares, sobre avances en múltiples campos del saber, al recordar en su portada la realidad que vivimos, pero también al convocar a las comunidades científicas con la célebre arenga que nuestro rapsoda, el maestro León de Greiff, consagrara en su *Relato de Guillaume de Lorges*

“¡Azores y neblías, gerifaltes, tagres, sacres, alcotanes,
halcones,
acudid a la voz del acontecista!”

Y enderecemos nuestras garras a la conquista
de las nubes, volubles como los corazones...
y —cual los corazones— inmutables.” [3]

Román Castañeda-Sepulveda, Dr. rer. nat.

Profesor Titular – Escuela de Física
Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín
Miembro de Número de la Academia Colombiana
de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Referencias

- [1] **Shakespeare, William.** *"The tragedy of Hamlet, Prince of Denmark"* (En Dowden, Edward. The works of Shakespeare. The tragedy of Hamlet. Methuen and Co.: London, 1899) pg. 75, líneas 262-264.
- [2] **Martí, José.** *Selección de poemas* (Intermedio Editores: Bogotá, 2003) pg. 176.
- [3] **de Greiff, León.** *Obra poética. Tomo II* (Universidad Nacional de Colombia: Bogotá, 2004) pg. 255.

Artículo original

***Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze: una nueva promesa para el tratamiento tópico de la leishmaniasis cutánea**

***Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze: a new promise for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis**

✉ Sara M. Robledo*, ✉ Juliana Quintero, ✉ Jorge Higueta, ✉ Maritza Fernández,
✉ Javier Murillo, ✉ Adriana Restrepo, ✉ Natalia Arbeláez, ✉ Andrés Montoya,
✉ Victoria Ospina, ✉ Tatiana Pineda, ✉ Lina M. Yepes, ✉ Yulieth Upegui, ✉ Iván D. Vélez

Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales- PECET, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Sara M. Robledo, artículo de posesión para admisión como miembro correspondiente a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Resumen

Ante la necesidad de desarrollar nuevos medicamentos para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea que sean efectivos, seguros, de mayor aceptación entre los pacientes, fáciles de administrar en los entornos rurales y más económicos, en el presente estudio se evaluó *in vitro* e *in vivo* el potencial terapéutico y el perfil de citotoxicidad de un extracto etanólico y un extracto glicólico de las ramas de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze y sus respectivas formulaciones: loción y emulsión. Asimismo, se validó la utilidad de las dos formulaciones como tratamiento tópico en diez pacientes con leishmaniasis cutánea no complicada. Ambos extractos fueron activos contra *Leishmania braziliensis* en concentraciones de menos de 22 µg/mL, tuvieron baja toxicidad en las células U-937 y HL60 cuando se administraron en forma pura y en las células Hep G2 y Detroit 551 cuando se administraron en concentraciones de menos de 20 %. Ni los extractos ni las formulaciones fueron irritantes o corrosivos y no causaron ningún otro tipo de toxicidad dérmica. La exposición de fibroblastos al extracto glicólico y a las formulaciones favoreció su migración y la reparación de la monocapa luego de 16 horas de contacto, permitiendo cierres de la brecha entre 33,9 y 70,9 %. Tanto los extractos como las formulaciones favorecieron la curación completa de los hámsteres con leishmaniasis cutánea en porcentajes mayores al 80 %. La loción y la emulsión se absorben y penetran en la piel después de su aplicación y, aunque se alcanzan a detectar en plasma hasta las 24 h (la loción) o las 6 h (la emulsión) de la aplicación, la mayor parte queda retenida en la piel. Por último, el tratamiento de los diez pacientes con la loción y la emulsión logró la curación completa de las lesiones con la reparación de la piel dañada y sin efectos adversos. En conclusión, los resultados demostraron las propiedades leishmanicidas y cicatrizantes de *C. spinosa*, lo que le permitiría ser una alternativa segura para el tratamiento local de la leishmaniasis cutánea. Es necesario validar estos resultados en ensayos clínicos controlados y determinar la eficacia y la seguridad del tratamiento con los productos fitoterapéuticos de *C. spinosa*.

Palabras clave: *Leishmania braziliensis*; *Mesocricetus auratus*; Desarrollo medicamentos; Toxicidad; Actividad leishmanicida; Tratamiento.

Abstract

Given the need to develop new drugs for the treatment of cutaneous leishmaniasis, not only effective and safe, but also more widely accepted by patients, easily administered in rural settings and cheaper, in the present study the *in vitro* and *in vivo* therapeutic potential and cytotoxicity profile of an ethanolic and a glycolic extracts obtained from the branches of *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze and their respective formulations (lotion and emulsion) were evaluated. Finally, the usefulness of the two formulations as topical treatment was validated in 10 patients with

Citación: Sara M. Robledo, Juliana Quintero, Jorge Higueta, *et al.* *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze: una nueva promesa para el tratamiento tópico de la leishmaniasis cutánea. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):915-936, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1247>

Editor: Gustavo Adolfo Vallejo

***Correspondencia:**

Sara M. Robledo;
sara.robledo@udea.edu.co

Recibido: 25 de junio de 2020

Aceptado: 27 de agosto de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

uncomplicated CL. Both extracts were active against *L. braziliensis* at concentrations <22 µg / mL, with low toxicity in U-937 and HL60 cells when administered pure and for Hep G2 and Detroit 551 cells when administered at concentrations <20%. Neither the extracts nor the formulations were irritating or did not cause any corrosive or any other sign of dermal toxicity. The exposure of fibroblasts to the glycolic extract and to the formulations favored the migration of fibroblasts and repair of the monolayer after 16 h of contact, allowing the closing of the gap between 33.9% and 70.9%. Both the extracts and the formulations favored the complete cure of the hamsters with cutaneous leishmaniasis in percentages greater than 80%. After being applied to the skin, lotion and emulsion are absorbed, penetrate, and although they can be detected in plasma up to 24 hours (the lotion) or 6 hours (the emulsion) after application, most of the products it is retained in the skin. Lastly, the treatment of 10 patients with the lotion and the emulsion showed the complete healing of the lesions with the repair of the damaged skin and without adverse effects. In conclusion, the results demonstrate leishmanicidal and healing properties for *C. spinosa* that give it the potential to become a safe alternative for the local treatment of cutaneous leishmaniasis. It is necessary to validate these results in controlled clinical trials and determine the efficacy and safety of treatment with *C. spinosa* phytotherapeutic products.

Keywords: *Leishmania braziliensis*; *Mesocricetus auratus*; Drug development; Toxicity; Leishmanicidal activity; Treatment.

Introducción

La leishmaniasis cutánea (LC) es una enfermedad infecciosa causada por varias especies de un protozoo perteneciente al género *Leishmania* que afecta las áreas de la piel expuestas a la picadura de insectos flebotómicos. La enfermedad es endémica en 98 países y dos territorios (**World Health Organization, 2010; Alvar, et al., 2012**) y se la considera una de las enfermedades tropicales más desatendidas por sus fuertes vínculos con la pobreza (**Alvar, et al., 2006**), lo que a su vez es la causa del poco interés que tiene la industria farmacéutica para trabajar en el desarrollo de nuevos y mejores tratamientos (**Trouiller, et al., 2002**).

La LC se manifiesta con lesiones en la piel, ya sea nódulos, pápulas, placas, o úlceras, que al curarse dejan cicatrices que permanecen por el resto de la vida. Las lesiones y las cicatrices alteran la apariencia física de los enfermos y afectan su aceptación personal y social, lo que produce estigmatización, y, con ello, trastornos psicológicos y sufrimiento (**Bennis, et al., 2017**). Dado el impacto de la LC en la carga real de la enfermedad en términos de años de vida vividos con discapacidad, el tratamiento adecuado y oportuno permite, no solo aliviar los signos y síntomas de la enfermedad, sino también mejorar la calidad de vida de los pacientes

Los tratamientos disponibles son insuficientes debido a las muchas desventajas que presentan: i) la eficacia, que varía en función de la especie de *Leishmania*; ii) la necesidad de usar altas dosis en esquemas de uso prolongado, lo que favorece el abandono del tratamiento y, por ende, la aparición de cepas de parásitos con sensibilidad disminuida o resistentes al medicamento; iii) la alta toxicidad evidenciada por los efectos adversos, que varían en frecuencia y gravedad dependiendo del medicamento, y iv) los costos indirectos de atención causados por la toxicidad y la eficacia cada vez más baja (**Hotez, et al., 2013, Cardona-Arias, et al., 2017a**). Estas limitaciones enfatizan la necesidad de desarrollar nuevos medicamentos que sean no solo efectivos y seguros, sino también de mayor aceptación por los pacientes, de fácil administración en los entornos rurales y más económicos.

La investigación fitoquímica basada en la información etnofarmacológica a partir de plantas superiores (angiospermas) es una estrategia eficaz en el descubrimiento de nuevos agentes antiinfecciosos. Colombia es uno de los países más biodiversos, pues cuenta con el 27 % de los géneros de flora y el 12 % de las especies y entre las 12 familias más diversificadas del planeta se encuentran las leguminosas, de las cuales el país cuenta con 173 géneros y 1.068 especies, muchas de ellas con usos maderables y medicinales (**Rangel, 2015**).

Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze (Caesalpinaceae) es una especie nativa del Perú, ampliamente distribuida en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y hasta el norte de Chile, que crece de manera silvestre o cultivada en varios de estos países. Se conoce

con el nombre común de “divi divi de tierra fría”, “guarango”, “cuica”, “serrano”, “tara” (Colombia), “vinillo”, “guarango” (Ecuador), “tara” (Bolivia, Chile, Venezuela) y “tara” o “taya” (Perú) (Narváez, *et al.*, 2009). En Colombia está presente en las cordilleras Oriental y Central, principalmente en climas medios y fríos entre los 1.500 y 2.900 m s.n.m. En forma natural se presenta en lugares semiáridos con un promedio de pluviosidad anual de 230 a 500 mm. También se le observa en cercos o linderos, como árbol de sombra para los animales, y dentro de cultivos de secano; además, se la usa como planta ornamental y no se la considera una especie amenazada. Los frutos (semillas y vainas), las ramas y las hojas son la fuente de compuestos polifenólicos (taninos), una goma espesa (polisacárido compuesto de cadenas lineales de (1-4) - β -D-mano-piranosas, ramificadas mediante enlaces (1-6) con unidades de α -D-galactopiranosas en una proporción de 3:1 (Rigano, *et al.*, 2019), que se utiliza en varios alimentos y en pinturas, así como en la industria cosmética, química y farmacéutica (De la Cruz-Lapa, 2004). Las ramas contienen compuestos del tipo de homoisoflavanos (4'-hidroxi-7-metoxi-3-bencil-2H-cromeno y 3,4-cis-di-O-3-hidroxi-7-metoxi-3-(4-hidroxibencil)-4-etoxicroman), de cumarina (7-metoxi-3-(4-hidroxibencil)cumarina) y de compuestos fenólicos (bonducelina, anemarcumarina A, (+)-sirin-garesinol, curuilligan D, escopoletina y p-hidroxibenzaldehído) (He, *et al.*, 2016).

En la medicina tradicional las semillas y las vainas se usan para tratar amigdalitis, úlceras gástricas e infecciones de la piel debido a su alto contenido de taninos (Horler & Nursten, 1961) y sus propiedades antibacteriales, antitumorales, astringentes, antiinflamatorias y cicatrizantes (De la Cruz, *et al.*, 2007). El extracto etanólico (EtOH) de las vainas tiene actividad contra bacterias Gram positivas (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Enterococcus faecalis*) y Gram negativas (*Bacteroides fragilis*) (Kloucek, *et al.*, 2005), pero también actividad antioxidante (Skowrya, *et al.*, 2013). Asimismo, una fracción enriquecida en polifenoles hidrolizables obtenida de las vainas ha demostrado actividad citotóxica contra células humanas K562 de leucemia eritrocítica (Castañeda, *et al.*, 2012) y actividad antitumoral en el modelo murino de cáncer de mama (Urueña, *et al.*, 2013). Además, se ha demostrado que el éster metílico del ácido 3,4,5-tri-O-galoilquinico obtenido a partir del extracto EtOH de las vainas tiene propiedades como intensificador de la sensibilidad a betalactámicos en cepas de *S. aureus* resistentes a la metilicina (Kondo, *et al.*, 2006) y que el galactomanano purificado de las vainas induce la maduración fenotípica de las células dendríticas aumentando la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70 y TNF- α (Santander, *et al.*, 2011). Hasta la fecha no hay información relacionada con el uso medicinal de las ramas ni de extractos diferentes al EtOH.

Dadas estas propiedades medicinales, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el potencial leishmanicida de extractos de las ramas de *C. spinosa* y validar la utilidad de productos formulados con dichos extractos en el tratamiento local de la LC.

Materiales y métodos

Material vegetal

Las ramas adultas de *C. spinosa* fueron suministradas por Bionest S.A.S (Duitama, Boyacá). El comprobante de identificación reposa en el Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia (No COL-514056). Las ramas se colocaron en una superficie limpia, separadas unas de otras y se mantuvieron a temperatura ambiente en un lugar aireado, cubierto y seco. El material seco se trituroó con la ayuda de un molino hasta obtener un polvo fino. El producto se almacenó en condiciones de temperatura y humedad controladas.

Preparación de los extractos

Los extractos fueron elaborados por Bioextractos Naturales (Bogotá, D.C, Colombia). Para la obtención del extracto EtOH, el material vegetal seco y molido se colocó en un recipiente color ámbar al que se le adicionó la misma cantidad (p/v) de una mezcla de alcohol al 70 % y agua desmineralizada (relación 3:1). Se agitó la mezcla y se dejó en

reposo durante 10 días, revolviendo ocasionalmente; cumplido este tiempo, se filtró la mezcla en un lienzo y se descartó el ripio. Para la obtención del extracto glicólico (G), al material vegetal seco y molido se le adicionó la misma cantidad (p/v) de una mezcla de polietilenglicol y agua desmineralizada (relación 3:1). Se calentó la mezcla a 60 °C durante 30 minutos y se dejó en reposo durante 10 días al cabo de los cuales se filtró para desechar los detritos. Ambos extractos se conservaron a una temperatura ambiente entre 15 y 20 °C.

Para las pruebas de actividad leishmanicida se concentró al vacío *in vitro* una muestra de 100 mL de cada extracto (SpeedVac® Concentrator Savant SPD111V, Thermo Scientific, USA) a una temperatura de 35 °C durante 3 h y después se preparó una solución con una concentración de 1,0 mg/mL en solución salina con tampón de fosfatos (PBS).

Cultivo de las células

La actividad citotóxica se evaluó en varios tipos de células: promonocitos humanos (U937, CRL-1593.2), células hepáticas humanas (Hep G2, HB-8065), promieloblastos de sangre periférica humana (HL60, CCL-240) y fibroblastos de piel humana (Detroit 551, CCL-110) (American Type Cell Collection-ATCC, Manassas, VA, USA). Las células se mantuvieron cultivadas en condiciones estándar en medio RPMI-1640 (U937) o en EMEM (Hep G2, Detroit 551) enriquecido con 10 % de suero bovino fetal (SBF) inactivado y 1 % de antibióticos (100 U/mL de penicilina y 0,1 mg/mL de estreptomycin), el cual se denomina medio “completo”. Todas las células se mantuvieron en incubación a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂.

Cultivo de los parásitos

Se empleó la cepa de *L. (V) braziliensis* transfectada con el gen de la proteína verde fluorescente (MHOM/CO/88/UA301-EGFP) (Pulido, *et al.*, 2012). Los parásitos se mantuvieron en el estadio de promastigotes cultivados en medio bifásico Novy-MacNeil-Nicolle (NNN) y PBS con glucosa, con un pH de 6,9 e incubación a 26 °C (Ladopoulos, *et al.*, 2015). Estos promastigotes se usaron en los ensayos de infección de células U937 y de los hámsteres.

Alojamiento de los animales

Los estudios de respuesta terapéutica se hicieron en hámsteres, en tanto que en los estudios de toxicidad se utilizaron ratas Wistar y ratones albinos suizos comprados en Charles River Laboratories International, Inc. (Wilmington, MA, USA) y criados en el bioterio libre de patógenos específicos (*spf*) de la Universidad de Antioquia. Los animales se mantuvieron en un ambiente de humedad relativa y fotoperiodo controlados y se alimentaron a voluntad con dieta estándar (LabDiet 5010®) y agua potable esterilizada en autoclave.

Ensayo de citotoxicidad *in vitro*

Se dispensaron células U937, HL60, Detroit y Hep-G2 en una densidad de 10,000 células en cada pozo de un plato de 96. A las 24 h de incubación, partiendo de una concentración inicial del 100 % se hicieron seis diluciones en relación de 1:2 de los extractos y el medio de cultivo correspondiente (DMEM o RPMI-1640) (50 - 25 - 12,5 - 6,25 - 3,125 - 1,56 %, v/v). La citotoxicidad se evaluó a las 72 horas usando el ensayo del bromuro 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) (Sigma-Aldrich) y siguiendo la metodología descrita por Upegui, *et al.* (2019). Se usaron células cultivadas bajo las mismas condiciones en ausencia de extractos como control es de viabilidad (no toxicidad), en tanto que las células expuestas a DMSO (Sigma-Aldrich) al 6 % se usaron como control de toxicidad.

La citotoxicidad se determinó según el porcentaje de mortalidad con cada concentración del extracto, según las densidades ópticas (DO) obtenidas en cada condición experimental y en comparación con las DO obtenidas de las células no expuestas a los extractos usando la ecuación 1: % de mortalidad = $1 - [\text{DO de células expuestas al compuesto} \div \text{DO de células no expuestas}] \times 100$. Se estableció la relación entre la concentración de extractos (x) y el porcentaje de inhibición (y) y se calcularon los valores de la concentración letal media (CL₅₀) usando el programa estadístico Prism 8 (GraphPad Software Inc., USA). La

citotoxicidad de cada extracto se clasificó según los valores de CL_{50} usando la siguiente escala: citotoxicidad alta para $CL_{50} < 50$ % (v/v) o < 100 $\mu\text{g/mL}$, moderada para $CL_{50} > 50$ % y < 80 % (v/v) o > 100 y < 200 $\mu\text{g/mL}$, y baja para $CL_{50} > 80$ % (v/v) o > 200 $\mu\text{g/mL}$.

Ensayo de actividad leishmanicida in vitro

Se infectaron células U937 (3×10^5 células/mL de medio RPMI-1640 enriquecido con SFB y antibióticos y 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de acetato miristato de forbol con promastigotes de *L. braziliensis* en fase estacionaria de crecimiento (día 5 del cultivo) en una concentración de 45×10^5 parásitos/mL de medio RPMI-1640 “completo”. A las 3 h de incubación a 34 °C y 5 % de CO_2 se retiraron los parásitos extracelulares mediante lavados con PBS. A cada pozo se le adicionó medio fresco y los platos se incubaron nuevamente a 34 °C y 5 % de CO_2 . A las 24 h se reemplazó el medio por medio fresco que contenía la correspondiente concentración del extracto a evaluar (50 - 12,5 - 3,1 o 0,8 $\mu\text{g/mL}$). Para aquellos extractos con valores de $CL_{50} < 50$ $\mu\text{g/mL}$, la máxima concentración evaluada fue el doble de la CL_{50} determinada previamente, con el fin de garantizar la viabilidad de las células durante el ensayo. A las 72 h de incubación a 34 °C y 5 % de CO_2 las células se leyeron en un citómetro de flujo (Cytomics FC 500MPL) siguiendo la metodología descrita por **Pulido, et al.** (2012). Se usaron células infectadas no expuestas a los extractos como control de la infección, en tanto que se usaron células infectadas expuestas a anfotericina B (Sigma-Aldrich) como control interno de la actividad leishmanicida. Se realizaron dos ensayos con tres réplicas por cada concentración evaluada.

La actividad leishmanicida se determinó a partir de la cantidad de parásitos en las células infectadas obtenidas para cada concentración de extracto o compuesto según el número de eventos positivos para la fluorescencia verde en un diagrama de puntos y la intensidad media de fluorescencia (IFM) en el histograma. La inhibición de la infección, es decir, la disminución de la cantidad de parásitos debido al efecto de los extractos, se calculó utilizando la ecuación 2: % de inhibición de la infección = $100 - [(IFM \text{ células infectadas y expuestas} / IFM \text{ células infectadas y no expuestas}) \times 100]$. Se calcularon los valores de la concentración efectiva media (CE_{50}) usando el programa estadístico Prisma 8 (GraphPad Software Inc., USA). Al igual que la citotoxicidad, la actividad leishmanicida se clasificó según los valores de CE_{50} así: actividad alta para $CE_{50} < 25$ $\mu\text{g/mL}$; actividad moderada para $CE_{50} > 25$ a < 50 $\mu\text{g/mL}$, y actividad baja para $CE_{50} > 50$ $\mu\text{g/mL}$. La actividad citotóxica se correlacionó con la actividad leishmanicida calculando el índice de selectividad (IS) con la ecuación $IS = CL_{50} \div CE_{50}$.

Preparación de las formulaciones

Con los extractos G y EtOH se preparó una formulación magistral en emulsión y en loción, respectivamente. Dichas formulaciones fueron elaboradas por Biohealthy SD S.A.S (Medellín, Colombia) ajustándose a la regulación colombiana en buenas prácticas de manufactura (BPM). La loción contiene extracto EtOH, carbopol y agua; por su parte, la emulsión contiene extracto G y excipientes (caprilato de coco, alcohol cetílico, ácido cítrico, EDTA, metoxi-cinamato de etilhexilo, glicerina, estearato de glicerilo, aceite mineral, aceite de ricino hidrogenado, fenoxietanol, etilhexilglicerina poliacrilato de sodio, acetato de tocoferilo y agua).

Caracterización de extractos y productos formulados por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

Para la extracción de los metabolitos se partió de 100 mg de cada tratamiento (extractos EtOH y G, loción y emulsión), a los cuales se les adicionaron 400 μL de acetonitrilo y 400 μL de metanol. Cada muestra se agitó vigorosamente en agitador vórtex durante 2 minutos y luego se sometió a sonicación en baño de ultrasonido (FB11201, Fisherbrand, EEUU) durante 10 minutos a una temperatura inferior a 35 °C. Las muestras se centrifugaron a 12.000 rpm durante 15 minutos (Megafuge40R, Thermo Scientific, USA), se separó el sobrenadante del sedimento y se llevó al evaporador rotativo (SpeedVac Concentrator Savant SPD111V, Thermo Scientific, USA) a una temperatura de 35 °C durante 3 h. Posteriormente cada muestra se resuspendió en 200 μL de metanol.

Para la extracción en fase sólida (*solid-phase extraction*, SPE), se utilizaron cartuchos SPE para fase normal (Strata® SI-1, Phenomenex®, USA) activados con 2 mL de metanol y agua al 30 % (v/v) y cartuchos SPE para fase reversa (Strata® C18-E, Phenomenex®, USA) activados con 2 mL de metanol. Para la elución a través de los cartuchos SPE se centrifugó a 1.200 rpm durante 10 minutos. Inicialmente las muestras resuspendidas en metanol se eluyeron a través del cartucho SPE para fase normal con 3 mL de metanol y, a continuación, los 3,2 mL de metanol recuperados se pasaron por cartuchos SPE para fase reversa y se eluyeron otros 3 mL de metanol mediante dichos cartuchos. Por último, los 6,2 mL recolectados se llevaron al evaporador rotativo y las muestras ya evaporadas se resuspendieron en 1 mL metanol y se filtraron en acrodiscos de 0,22 µm depositándolos en viales para la HPLC.

Las muestras se analizaron en un equipo Chromaster® (Hitachi, China) equipado con un detector PDA a una longitud de onda de 257 nm, una columna Synergi™ 4 µm Hydro-RP 80 Å (4,6 x 150 mm) con una precolumna KJ0-4282 (Phenomenex®, USA) y cartuchos de C18 (Phenomenex®, USA). Las fases móviles fueron: A (agua miliQ con 0,01 % de ácido trifluoroacético) y B (acetonitrilo) a 40°C.

El método de elución consistió en un flujo de 0,5 mL/min con 90 % de A y 10 % de B durante los primeros dos minutos y, posteriormente, su paso por un gradiente lineal en las fases de 90 a 10 % de A y de 80 a 20 % de B entre el minuto 2 y el 4; se continuó con el mismo flujo isocráticamente hasta el minuto 14. Del minuto 14 al 16 se utilizó un gradiente lineal pasando de 80 % de A y 20 % de B a 60 % de A y 40 % de B y se continuó isocráticamente hasta el minuto 25; entre el minuto 20 y el 25 se estableció un gradiente en el flujo pasando de 0,5 a 1 mL/min y se continuó isocráticamente hasta el minuto 30. Entre el minuto 25 y el 30 las fases pasaron de 60 a 40 % de A hasta 10 a 90 % de B y luego continuaron isocráticamente hasta el minuto 33, en tanto que el flujo cambió de 1,0 a 0,5 mL/min en el mismo tiempo. Del minuto 33 al 35 se retornó a la condición inicial hasta alcanzar un tiempo total de 37 minutos. Antes de cada inyección de las muestras se corrió un blanco con el cual se realizó la corrección de la línea base. Los cromatogramas se procesaron utilizando el programa Clarity VA y se corrieron tres veces.

Análisis organoléptico, fisicoquímico y microbiológico

La determinación organoléptica de las muestras EtOH y G de los extractos y de sus productos formulados se llevó a cabo analizando cualitativamente los siguientes parámetros sensoriales: i) aspecto, ii) consistencia (blanda, semidura o dura a temperaturas entre 0 y 20 °C); iii) olor; iv) color, v) impurezas visibles, y vi) textura; no se evaluó el parámetro de sabor. Una muestra de cada extracto, así como de la loción y la emulsión, se observaron bajo el microscopio convencional con objetivos de 40x y 100x. Los análisis fisicoquímico y el microbiológico se ajustaron a los métodos descritos en la *United States Pharmacopeia* (USP 39, 2016).

Ensayo de respuesta leishmanicida in vivo

Cuarenta hámsteres se infectaron experimentalmente con 1×10^8 promastigotes de *L. braziliensis* en fase estacionaria de crecimiento en 100 µL de PBS por vía intradérmica en la piel del dorso. Una vez aparecieron úlceras, los hámsteres se distribuyeron aleatoriamente en cinco grupos (n: 8 en cada grupo). Dos grupos de hámsteres se trataron con 40 µL/día de los extractos G y EtOH, otros dos grupos se trataron con 40 mg/día de emulsión o crema y un quinto grupo se trató con 40 mg/día de la loción en combinación con la emulsión. Cada uno de los tratamientos tuvo una duración de 30 días. Un sexto grupo de hámsteres fue tratado con antimonio de meglumina (AM) (200 µg) administrado por vía intralesional dos veces a la semana durante cuatro semanas. Una vez finalizado el tratamiento, se hizo seguimiento durante tres meses. El bienestar animal se supervisó diariamente durante el estudio para detectar cambios en el comportamiento, el consumo de agua y alimentos y la apariencia de la orina y las heces.

La efectividad de cada tratamiento se determinó comparando los tamaños de las lesiones antes y después de los tratamientos. El tamaño de la lesión se midió al final del tratamiento (TD30) y en los días 30, 60 y 90 (PTD30, PTD60 y PTD90, respectivamente)

contados a partir del último día de tratamiento (Robledo, *et al.*, 2012). Al final del estudio se consideraron los siguientes resultados del tratamiento: cura (curación del 100 % del área y desaparición completa de la lesión); mejoría (cualquier porcentaje de reducción en el área de la lesión), y falla (cualquier aumento en el tamaño de la lesión comparado con el tamaño inicial). La toxicidad de los extractos y las formulaciones en emulsión y loción en dosis repetida (30 días de tratamiento) se determinó con base en los cambios en el peso corporal durante y después del tratamiento y los niveles en suero de la alanina aminotransferasa (ALT), el nitrógeno ureico en sangre (BUN) y la creatinina antes del tratamiento (TD0) y en el día 8 después del tratamiento (PTD8).

Ensayo de cicatrización in vitro

Para determinar el efecto tanto de los extractos G y EtOH como de la emulsión y la loción en el cierre de una herida se utilizó el kit de cicatrización de heridas CytoSelect™ (Cell Biolabs, Inc.), siguiendo la metodología descrita por Montoya, *et al.* (2015). Brevemente, se sembraron fibroblastos Detroit 551 ($2,5 \times 10^5$ /mL) en medio DMEM “completo” en cada uno de los pozos que contenía los insertos para demarcar la brecha en la monocapa de las células. Tres pozos se dejaron sin inserto para permitir la formación de la monocapa (100 % de confluencia). Los platos se incubaron durante 24 h. Después de retirar los insertos de los pozos, las células se trataron con cada extracto al 5, 10 y 20 % o con la emulsión y la loción en concentraciones de 10 µg/mL, 20 µg/mL y 40 µg/mL. Los platos se incubaron nuevamente durante 24 h a 37 °C en 5 % de CO₂.

El efecto de los extractos en el cierre de la brecha se determinó según la migración de los fibroblastos en la zona de la brecha mediante fotografías con el microscopio a las 8, 16 y 24 h. Se calculó el porcentaje de cierre de la brecha para cada extracto o formulación y concentración evaluada en comparación con la migración observada en el pozo de control (células no tratadas). Como control positivo (control positivo) se utilizó medio DMEM con 20 % de FBS, y como control negativo (control negativo), medio DMEM con 10 % de SFB y 0,02 % de DMSO. Para cuantificar el efecto cicatrizante se calculó el porcentaje de cierre de la brecha usando la ecuación 3: Cierre de la brecha (%) = [(compuesto de prueba (%) - control no tratado (%)) / (área confluyente (%) - control no tratado (%))] × 100 (3).

Ensayo de irritación y corrosión in vitro

El potencial corrosivo e irritante para la piel se evaluó usando piel de hámster según las guías de la *Organisation for Economic Co-operation and Development-OECD 431* (OECD, 2019a) y *OECD 439* (OECD, 2019b), respectivamente. Los tejidos se transfirieron al medio RPMI-1640 “completo” durante una hora antes de hacer el ensayo. Luego, se aplicaron sobre cada pieza de tejido 40 µL de cada extracto o 40 mg de cada formulación.

En la prueba de corrosión cutánea se utilizó como control positivo una solución de KOH 8N y como control negativo se usó PBS. Los platos se incubaron a 37 °C con 5 % de CO₂ durante 3 y 60 minutos. Se determinó la viabilidad celular mediante el ensayo con solución MTT descrito previamente. Para la prueba de irritación cutánea se usó como control positivo una solución de SDS al 20 % y como control negativo, PBS. Los tejidos se incubaron a 37 °C con 5 % CO₂ durante 42 minutos, se lavaron y se les agregó medio fresco para ser incubados de nuevo a 37 °C con 5 % de CO₂ durante 42 h. La viabilidad celular se midió por reducción del compuesto MTT como se describió previamente. El potencial de irritación o corrosión de la sustancia en evaluación se determinó de acuerdo a la clasificación de la Unión Europea (EU, R38). Cada prueba se llevó a cabo por triplicado.

Estudio de toxicidad dérmica aguda

El estudio se hizo en 23 ratones de la cepa albino suizo distribuidos en cinco grupos: grupo de “extracto EtOH” (n=5), grupo de “extracto G” (n=5), grupo de “loción” (n=5), grupo de “emulsión” (n=5), y grupo de “control sin tratamiento” (n=3), siguiendo las recomendaciones establecidas en la guía 402 de la OCDE (OECD, 2017). En cada ratón se aplicaron 100 µL del extracto EtOH o del G o 40 mg de la loción o la emulsión, por una sola vez. Al grupo de control no se le aplicó ninguna sustancia. El producto se mantuvo en

contacto con la piel durante 24 h y se observó periódicamente en busca de cualquier reacción posterior a la aplicación de los productos. Los ratones permanecieron bajo observación durante 14 días. Antes de la aplicación de los productos (DT0) y luego de los días 7 y 15 del tratamiento (DPT7 y DPT15, respectivamente) se hizo un registro fotográfico de la zona de aplicación del producto y se obtuvo el peso corporal. Se supervisó la apariencia de la piel tratada y se registró la presencia de algún signo asociado con toxicidad, el momento de su aparición, su naturaleza, gravedad y duración, así como de la muerte de los ratones (en caso de que ocurriera). En el DPT15 se practicó la eutanasia a los ratones en cámara de CO₂ y se les hizo la necropsia y se tomaron muestras de la piel tratada, del hígado y el riñón para el estudio histológico.

Estudio de absorción y penetración cutánea in vivo

El estudio se hizo en 12 ratas machos de la cepa Wistar de 12 semanas de edad distribuidas en tres grupos: grupo de “emulsión” (n=4), grupo de “loción” (n=4) y grupo de “control no tratado” (n=4), siguiendo las recomendaciones establecidas en la guía 427 de la OCDE (OECD, 2004). Las ratas se trataron con 40 mg de cada producto. Al grupo de control se le aplicó agua. El producto se mantuvo en contacto con la piel durante 6 h y luego se retiraron las gasas y se depositaron en un vial con PBS. El producto que restaba sobre la piel se retiró con hisopos que se depositaron en PBS. Asimismo, la formulación restante del estrato córneo se recogió con piezas de cinta pegante y cada cinta se depositó luego en un vial con PBS. Se tomaron muestras de orina, heces y plasma antes de la aplicación del producto y a las 6, 24 y 48 h de la aplicación. En el día 5 se registró el peso corporal y se practicó la eutanasia en cámara de CO₂; se hizo la necropsia y se tomaron muestras de piel tratada, y de hígado y riñón para la histología. Otro trozo de cada uno de estos órganos se depositó en PBS y se procesaron para el posterior análisis por HPLC. Las muestras de plasma y piel, así como las gasas, los lavados y las cintas, se almacenaron a -80 °C para el análisis por HPLC del producto no absorbido. Se determinaron los dos picos de guía para cada uno de los tratamientos y las muestras (plasma, piel y lavados). Según la metodología ya descrita, para las muestras de piel se adicionaron 400 µL de acetato de etilo a la mezcla de extracción.

Respuesta terapéutica en pacientes con leishmaniasis cutánea no complicada

Los sujetos del estudio fueron hombres o mujeres no embarazadas y no lactantes y con tres o menos lesiones cutáneas no mayores a 4 cm de diámetro y sin evidencia clínica de compromiso de la mucosa. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. Se les hizo diagnóstico parasitológico de leishmaniasis cutánea mediante examen directo, cultivo o reacción en cadena de la polimerasa (PCR); siempre que fue posible, la especie infectante de *Leishmania* se determinó por PCR seguida del análisis del polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP) utilizando la proteína de choque térmico 70 (Sp70) (Montalvo, *et al.*, 2016). Una vez se estableció el diagnóstico de leishmaniasis cutánea, las lesiones de cada paciente se trataron por vía tópica aplicando 300 mg de producto tres veces al día (la loción) y dos veces al día (la emulsión) durante cuatro semanas. El tratamiento lo aplicaron los propios pacientes y fue supervisado mediante registro fotográfico con teléfonos inteligentes.

Se estableció como resultado principal de respuesta terapéutica la curación clínica final definida como la reepitelización del 100 % de la lesión en el día 90 después de finalizado el tratamiento, o más del 50 % de reepitelización de la lesión en el día 90, seguido por el 100 % en el día 180 del tratamiento. La seguridad de cada formulación magistral se evaluó verificando la aparición de efectos adversos, incluidas las reacciones en el sitio de aplicación (dolor, eritema, edema y vesículas) y la aparición de leishmaniasis mucosa. El examen de las mucosas nasal y oral se hizo al inicio del estudio y en los días 90 y 180.

Análisis de los datos

Los datos de los ensayos *in vitro* se expresaron como los valores promedio ± la desviación estándar (DS) y las comparaciones entre grupos de tratamiento se hicieron con un ANOVA

de una vía. Para determinar la eficacia *in vivo* de los extractos y las formulaciones, se verificó la respuesta terapéutica de cada uno de los diferentes tratamientos comparados con el AM según el tamaño de las lesiones en cada animal antes, durante y después del tratamiento y calculando los porcentajes de curación *Vs.* la mejoría o la falla. Para determinar la toxicidad asociada con la administración de los tratamientos según los pesos corporales y los niveles séricos de BUN, creatinina y ALT, se hicieron comparaciones entre los grupos (ANOVA de una vía). Los resultados se consideraron estadísticamente significativos con un $p < 0,05$ y con un nivel de confianza del 95 % usando el programa estadístico Prisma 8 (GraphPad Software Inc., USA).

Aspectos éticos

Todos los procedimientos en animales contaron con el aval del Comité de Ética para la Experimentación Animal de la Universidad de Antioquia (Acta No. 91 de septiembre 25, 2014). Los pacientes incluidos en el estudio habían sido diagnosticados con leishmaniasis cutánea no complicada. Se les ofreció una alternativa de tratamiento en el marco del Programa de Tratamientos de Uso Compasivo dadas sus dificultades para el seguimiento, y todos ellos firmaron el consentimiento informado.

Resultados

Análisis organoléptico, fisicoquímico y microbiológico

El extracto EtOH es una suspensión líquida translúcida, homogénea, libre de material extraño, de color café ámbar y olor característico del alcohol; su pH es de 5,87 y su densidad relativa de 0,9427 g/mL, en tanto que el extracto G es una suspensión translúcida, homogénea, libre de material extraño, de color vino tinto ámbar y con un olor característico; su pH es de 5,57 y su densidad relativa de 0,9542 g/mL.

La loción es una solución homogénea de color vino tinto, sin presencia de material extraño ni en partículas y con el olor característico del alcohol, su pH es de $5,02 \pm 0,02$, ideal para las características fisiológicas de la piel. Bajo el microscopio óptico se observó la homogeneidad en la solución, sin presencia de precipitados (**Figura 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2867>); la densidad relativa es de 0,9652 g/mL a 25,5 °C y el contenido de alcohol fue de 24,2 %, porcentaje de grado alcohólico que está dentro de los valores seguros establecidos por la *Federal Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos para formulaciones tópicas. Por su parte, la emulsión es un semisólido de agua en aceite (W/O) soluble en agua, con aspecto granuloso, color beige, sin presencia de material extraño ni material en partículas, y de olor característico; su pH es de $5,91 \pm 0,09$. Bajo el microscopio convencional se observaron glóbulos sin material en partículas ni material extraño y fue estable en la centrifugación de 30 min a 1.250 x g, sin separación en las fases de la formulación. El área de extensibilidad medida con placas de vidrio fue de $48,3 \pm 0,6 \text{ mm}^2$, lo cual proporciona una sensación menos grasosa al aplicar en la piel y demora poco en secarse. Los índices de acidez y saponificación estuvieron dentro del rango apropiado para estas formulaciones. La pérdida por secado fue de 4 % de la masa pesada (**Figura 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2867>).

Ambos extractos y formulaciones cumplieron con las especificaciones microbiológicas exigidas: recuento de mesófilos aerobios >10 UFC/mL y ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp.

Perfil cromatográfico (HPLC)

El perfil cromatográfico de los extractos EtOH y G obtenidos de las ramas de *C. spinosa* y del producto formulado como loción fue muy similar, con dos picos característicos que fueron seleccionados como señales referentes. Con el extracto G se observaron dos picos de gran intensidad; el primero, denominado GP1, con un tiempo de retención (*rt*) de 22,1 minutos y el segundo, GP2, con un *rt* de 28,3 minutos; también se detectaron dos picos de menor intensidad, el primero, denominado G1, con un *rt* de 10,4 minutos y el G2,

con un *rt* de 17,2 minutos. En el extracto EtOH se observaron también dos picos de gran intensidad; el primero, denominado EP1, con un *rt* de 22,1 minutos y el EP2, con un *rt* de 28,3 minutos, además de dos picos de menor intensidad denominados E1, con un *rt* de 13,7 minutos, y el E2, con un *rt* de 15,2 minutos (**Figura 2S-A**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2868> y **figura 2S-C**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2868>).

El método de detección fue comprobado con dos formulaciones (emulsión y loción). Después de la extracción, se detectaron las mismas señales establecidas como picos de referencia en los extractos. Hubo un efecto matriz mínimo en la emulsión al presentar otros picos que no se relacionaron con los metabolitos del extracto pero que no afectaron la detección de los picos de guía, pues tuvieron tiempos de retención diferentes (**Figura 2S-B**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2868> y **figura 2S-D**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2868>). La altura (mAU) y el área (mAU.s) para los picos identificados se resumen en la **tabla 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2881>.

Con el propósito de verificar que los picos seleccionados pudieran utilizarse como guías para la cuantificación, se analizaron concentraciones decrecientes de cada extracto por HPLC y en cada una de las áreas bajo la curva de cada pico se determinó y se estableció mediante una regresión lineal su posible cuantificación (**Figura 3S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2872>). Se obtuvo una señal de respuesta lineal entre la concentración de extracto y el área bajo la curva de cada uno de los picos. Se calculó el límite de detección (*limit of detection*, LOD) y el límite de cuantificación (*limit of quantification*, LOQ) según las ecuaciones 1 y 2, respectivamente, donde *Cstd* corresponde a la concentración inferior, *S* al área detectada y *N* a la señal de ruido (100 UA). Los parámetros del método se resumen en la **tabla 2S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2882>.

Para determinar la robustez del método, se dopó una matriz biológica (plasma de humano) adicionando diferentes concentraciones de cada uno de los extractos y nuevamente se detectaron los dos picos para cada una de las curvas propuestas, con lo que se determinó que no había efecto matriz.

Citotoxicidad y actividad leishmanicida in vitro

Tanto el extracto EtOH como el G mostraron una citotoxicidad baja para las células U937 y HL60, ya que al evaluarlos en estado puro no causaron su muerte. Los extractos, en cambio, tuvieron una citotoxicidad alta para las células Hep G2, con valores de CL_{50} de 18,9 % con el extracto EtOH y de 15,5 % con el G, así como para las células Detroit 551, cuyos valores de CL_{50} fueron de 17,1 % con el extracto EtOH y de 18,7 % con el G. La CL_{50} de los dos extractos liofilizados en células U937 y Detroit 551 fue mayor a 200 $\mu\text{g/mL}$.

Los extractos EtOH y G mostraron una actividad leishmanicida con valores de CE_{50} de 9,4 $\mu\text{g/mL}$ y 7,4 $\mu\text{g/mL}$ para los extractos EtOH y G, respectivamente, en tanto que la AMB arrojó una CE_{50} de $0,1 \pm 0$ $\mu\text{g/mL}$. El IS calculado considerando la CL_{50} para las células U937 y la CE_{50} para los amastigotes de *L. braziliensis* fue de 21,3 para el extracto EtOH y de 27,0 para el G.

Efecto en el proceso de cicatrización in vitro

Después de 8 h de exposición el extracto G de *C. spinosa* produjo un cierre de la brecha de $23,0 \pm 6,7$ %, $13,5 \pm 3,1$ % y $5,0 \pm 5,7$ % con las concentraciones de 20 %, 10 % y 5 %, respectivamente. Estos valores fueron similares, o incluso inferiores, al valor mostrado por el control negativo, que produjo un porcentaje de cierre de $19,7 \pm 5,8$. Por su parte, el control positivo produjo un porcentaje de cierre de $43,8 \pm 6,6$ %, es decir, 47,5, 70 y 89 % más que la emulsión en las concentraciones de 20, 10 y 5 %, respectivamente. Las diferencias entre el efecto del extracto G en las tres concentraciones evaluadas y el control positivo fueron estadísticamente significativas ($<0,0001$) (**Figura 1A**). Asimismo, el efecto mostrado por el extracto G en la concentración de 5 % mostró diferencias estadísticamente

significativas con respecto al control negativo ($p < 0,0001$). A las 16 h el efecto del extracto G en el cierre de la brecha fue mayor que el observado a las 8 h, y fue aumentando a medida que la concentración se redujo. Los porcentajes de cierre de la brecha fueron de $33,9 \pm 7,4 \%$, $41,1 \pm 3,4 \%$ y $70,3 \pm 11,9 \%$ cuando se evaluó en las concentraciones de 20 %, 10 % y 5 %, respectivamente (**Figura 1A**). El porcentaje de cierre de la brecha del control positivo fue de $55,0 \pm 4,0$ y el del control negativo, de $26,8 \pm 5,8 \%$. Las diferencias entre el efecto del control positivo y el extracto G al 20 y el 10 % y el control negativo fueron estadísticamente significativas, así como entre el control positivo y las tres concentraciones evaluadas del extracto G. Todas estas diferencias tuvieron un valor de $p < 0,0001$ (**Figura 1A**).

La emulsión tuvo un efecto muy similar en el cierre de la brecha al del control negativo (DMEM con 10 % de SFB y 0,2 % de DMSO), toda vez que la emulsión favoreció el cierre de la brecha en $21,1 \pm 7,6 \%$, $11,0 \pm 1,3 \%$ y $19,7 \pm 6,2 \%$ con 40, 20 y 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente, en tanto que el control negativo mostró un porcentaje de cierre del $19,7 \pm 5,8 \%$. El medio enriquecido con 20 % de SFB (control positivo) favoreció el

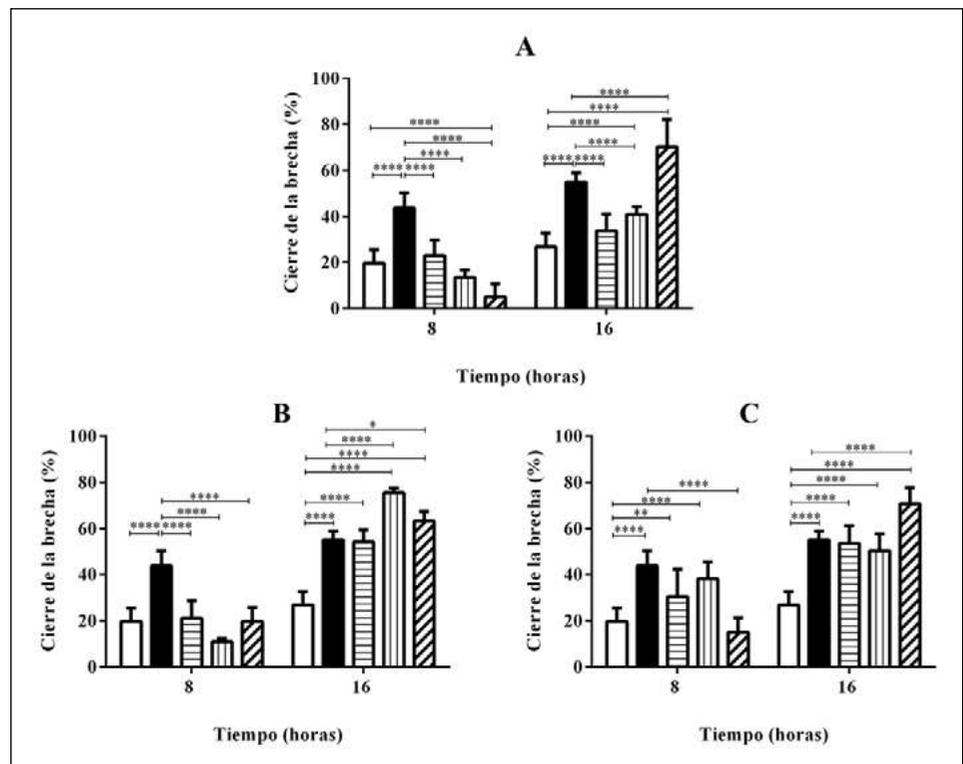


Figura 1. Efecto de los extractos y productos formulados de *C. spinosa* en el cierre de la brecha. Efecto de extracto glicólico-G (**A**), emulsión-E (**B**) y loción-L (**C**) sobre el cierre de la brecha en cultivos de fibroblastos Detroit 551 (250.000 células/pozo) expresadas en porcentaje: con 100 % de cierre de la brecha se estableció la densidad de células sin brecha. Las barras expresan los valores promedio \pm desviación estándar del porcentaje de cierre de la brecha a las 8 y 16 h comparados con la medición inicial (0 h). Cada concentración se evaluó por duplicado y en cada imagen aparecen cinco mediciones. Las barras blancas corresponden al control negativo (DMEM con 10 % de SFB y 0,2 % de DMSO); las barras negras corresponden al control positivo (medio DMEM enriquecido con 20 % de SFB); las barras con líneas horizontales corresponden a la concentración de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para E y L, 20 % para el extracto G y 5 % para el extracto EtOH; las barras con líneas verticales corresponden a la concentración de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para E y L, 10 % para el extracto G y 2,5 % para el extracto EtOH, y las barras con líneas diagonales corresponden a la concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para E y L, 5 % para el extracto G y 1,25 % para el extracto EtOH. **** $p < 0,0001$; ** $p = 0,0033$; * $p = 0,0449$

cierre de la brecha en $43,8 \pm 6,6$ %. Esta diferencia entre el control positivo y la emulsión en sus diferentes concentraciones, así como con el control negativo, fue estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) (**Figura 1B**). Al contrario, después de 16 h el efecto en el cierre de la brecha con la emulsión ($40 \mu\text{g/mL}$) fue similar al mostrado por el control positivo, con porcentajes de cierre de $54,1 \pm 5,4$ % Vs. $55,0 \pm 4,0$ %, respectivamente. Sin embargo, cuando se evaluó en menores concentraciones, esto es, 20 y $10 \mu\text{g/mL}$, el porcentaje de cierre aumentó a $75,7 \pm 2,1$ % y $63,3 \pm 4,3$ %, respectivamente, lo que corresponde a un aumento del $37,6$ y el $15,1$ % con respecto al porcentaje de cierre mostrado por el control positivo. Las diferencias observadas entre el control negativo y el control positivo y la emulsión en diferentes concentraciones fue estadísticamente significativa ($p < 0,0001$). Asimismo, las diferencias entre los porcentajes de cierre mostrados por el control positivo y la emulsión en una concentración de 20 y $10 \mu\text{g/mL}$ también fueron estadísticamente significativas, con valores de $p > 0,0001$ (para $20 \mu\text{g/mL}$) y $p = 0,0449$ (para $10 \mu\text{g/mL}$) (**Figura 1B**).

El efecto del extracto EtOH no se logró evaluar debido a que, al contacto de las células con el extracto, se alteró la monocapa formada por las células adheridas. Al contrario, con la loción el efecto en el cierre de la brecha con una concentración de $10 \mu\text{g/mL}$ y luego de 8 h de exposición fue muy similar a la del control negativo, toda vez que los porcentajes de cierre fueron de $15,0 \pm 6,2$ % y $19,7 \pm 5,8$ %, respectivamente (**Figura 1C**). En concentraciones mayores de 20 y $40 \mu\text{g/mL}$, los porcentajes de cierre observados fueron de $30,5 \pm 11,9$ % y $38,2 \pm 7,4$ %, respectivamente. Estos porcentajes fueron 30 y $12,8$ % menores con respecto al control positivo, cuyo porcentaje de cierre fue de $43,8 \pm 6,6$ %. Las diferencias en los porcentajes de cierre fueron estadísticamente significativas, con valores de $p < 0,0001$, entre la loción ($20 \mu\text{g/mL}$) y el control positivo con respecto al control negativo, y entre la loción ($40 \mu\text{g/mL}$) y el control positivo y la loción ($40 \mu\text{g/mL}$) y el control negativo, con un valor de $p = 0,0033$ (**Figura 1C**). A las 16 h el efecto de la loción en el cierre de la brecha aumentó en todas las concentraciones evaluadas, con porcentajes de cierre de $53,5 \pm 7,9$ %, $50,4 \pm 7,4$ % y $70,9 \pm 6,9$ % con las concentraciones de 40 , 20 y $10 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. El porcentaje de cierre obtenido con la loción en la menor concentración fue 1,3 veces más que el obtenido con el control positivo ($55,0 \pm 4,0$ %) y 2,64 veces más que lo obtenido con el control negativo ($26,8 \pm 5,8$ %). Las diferencias entre la loción de $10 \mu\text{g/mL}$ y el control positivo, y entre el control positivo y las tres concentraciones de la loción con respecto al control negativo fueron estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) (**Figura 1C**).

Potencial irritante y corrosivo

La exposición de los tejidos de piel al extracto EtOH y al G produjo porcentajes de viabilidad del 100 y el $88,5$ %, respectivamente, en tanto que la exposición al KOH 8N (control positivo) arrojó un porcentaje de viabilidad de tan solo $24,7$ %. Como se esperaba, el PBS usado como control negativo produjo una viabilidad del 100 % (**Figura 4S-A**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2873>). En los análisis histológicos de los tejidos expuestos a PBS (control negativo) y a los extractos, se encontraron capas de células correspondientes a las capas granulares y corneas típicas de un epitelio normal. En el caso del tejido expuesto a KOH 8N (control positivo) se encontró un estrato espinoso atrófico con ausencia de capa granular y dermis subepitelial. El diagnóstico en este tejido fue de atrofia.

De forma similar, la exposición de los tejidos de piel a los extractos EtOH y G produjo un porcentaje de viabilidad del 100 % a los 3 minutos y del $93,6$ % a los 60 minutos, en tanto que la viabilidad del control positivo (SDS al 20 %) a los 3 minutos fue del 48 % y a los 60 minutos del 38 %. La viabilidad producida por el PBS (control negativo) a los 3 y 60 minutos fue del 100 % (**Figura 4S-B**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2873>). En los análisis histológicos de los tejidos expuestos a los extractos EtOH y G y a PBS se encontraron capas de células correspondientes a un epitelio normal. En el caso del tejido expuesto a SDS al 20 % se encontraron grupos de células escamosas y capas

de queratina aisladas. La epidermis no presentaba todas sus capas. Según la clasificación R38 de la Unión Europea, tanto el extracto G como el EtOH de *C. spinosa* se clasifican como no irritantes y no corrosivos.

Respuesta terapéutica en hámsteres

El tratamiento con el extracto EtOH y con la loción produjo la cura en 4 de 6 hámsteres al final del estudio y los dos hámsteres restantes de cada grupo mostraron mejoría, con una reducción del tamaño de la lesión de 61,5 y 51,4 % en el grupo del extracto EtOH y de 21,7 y 31,8 % en el grupo tratado con la loción comparado con el inicio del estudio. En el grupo tratado con el extracto G y la emulsión, cinco de los animales se curaron al final del estudio y el hámster restante en cada grupo mostró una mejoría de la lesión del 16,2 y 32,4 %, respectivamente. Por su parte, el tratamiento combinado de loción y emulsión produjo la cura en todos los hámsteres de este grupo de tratamiento, en tanto que el tratamiento con el AM permitió la cura de 4 de 6 hámsteres, en 1 de 6 hámsteres la lesión se redujo en 94 % y en el hámster restante la lesión aumentó de tamaño en un 5,3 %; este aumento de tamaño se consideró una falla del tratamiento (**Figura 2**).

Al final del estudio la respuesta terapéutica de los diferentes tratamientos fue la siguiente: 67 % con el extracto EtOH y la loción, así como con el AM; 83 % con el extracto G y la emulsión y 100 % en el grupo tratado con la combinación de loción y emulsión. En la **figura 5S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2874> se presentan imágenes representativas de la apariencia clínica de las lesiones antes y después del tratamiento.

Ni el tratamiento con los extractos (EtOH o G) o las formulaciones (loción o emulsión), ni el tratamiento combinado, produjeron efectos perjudiciales para el peso corporal en los hámsteres. La evolución del peso corporal en cada grupo de tratamiento se muestra en la **figura 6S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2875>. Se encontró que en la mayoría de los grupos hubo aumento del peso corporal, excepto en el grupo tratado con el extracto EtOH. En promedio, el aumento de peso corporal fue de 18 % en el grupo tratado con el extracto G, y de 12,6 % y 26,7 % en los grupos tratados con la loción y la emulsión, respectivamente, en tanto que en el grupo tratado con la combinación de loción y emulsión el aumento fue de 21,3 %. El aumento de peso en los hámsteres tratados con AM fue de tan solo 5,6 %, y en el grupo tratado con el extracto se observó una disminución correspondiente al 8,2 % del peso corporal, aunque sin compromiso del bienestar de los hámsteres. Solo se observaron diferencias estadísticamente significativas en el peso al final del estudio (DPT90) entre los grupos tratados con los extractos EtOH y los tratados con emulsión, loción y AM ($p < 0,005$).

Los parámetros de la función renal y hepática, la ALT, la creatinina y el BUN, no evidenciaron ninguna alteración debida al tratamiento y todos los niveles estuvieron entre los valores normales (**Figura 7S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2876>). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos como tampoco entre el inicio y la finalización del tratamiento ($p > 0,05$).

Toxicidad dérmica aguda

Durante el estudio no se detectaron signos clínicos asociados con toxicidad ni cambios en el comportamiento normal de los animales; tampoco se registraron muertes. La condición corporal también fue óptima. No hubo disminución en la ingesta de agua y alimento y en todos los ratones se observó ganancia de peso, tanto en los controles como en los tratados con la loción y la emulsión (**Tabla 1**).

Ninguno de los ratones murió durante el ensayo ni fue necesario practicar la eutanasia debido a distrés o alteraciones en el bienestar que se pudieran relacionar con efectos tóxicos del compuesto. La piel tratada mantuvo su apariencia normal en todos los ratones durante todo el estudio, sin evidencia de eritema, edema, brotes u otras alteraciones (**Figura 8S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2877>). En la revisión macroscópica durante la necropsia no se evidenciaron signos patológicos en los órganos de los sistemas respiratorio, circulatorio, urinario, reproductivo y digestivo en ninguno de los ratones ni en ningún grupo. En el estudio histológico no se hallaron lesiones significativas de la piel.

Absorción y penetración

No se registraron pérdidas en el peso corporal de las ratas durante el estudio en ninguno de los grupos expuestos a la loción o a la emulsión. Por el contrario, se observó un aumento de peso de 1 % con respecto al del inicio durante los 15 días del estudio. El comportamiento y el estado general de las ratas fueron normales, sin evidencia de signos de enfermedad o alteraciones en la piel ni a nivel sistémico. En las muestras de las ratas tratadas con la

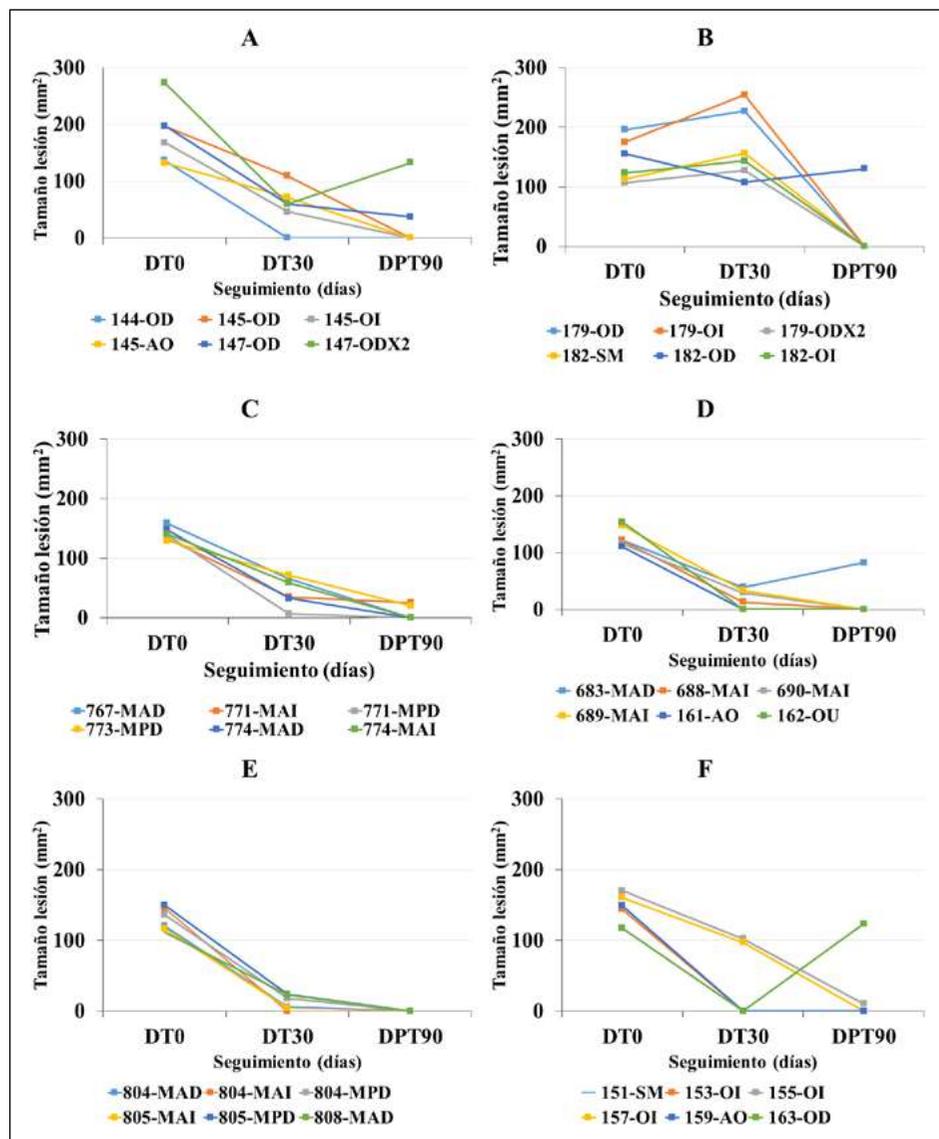


Figura 2. Efectividad de los extractos y formulaciones de *C. spinosa* y el antimoniato de meglumina en hámsteres con leishmaniasis cutánea experimental causada por *Leishmania braziliensis*. Los datos muestran la evolución de la lesión según el tamaño del área en mm² después del tratamiento con 40 mg de extracto EtOH (A) o G (B) o loción (C) o emulsión (D) y de manera combinada, administrada por vía tópica durante 30 días, o MA (200 µg administrados por vía intralesional dos veces a la semana durante cuatro semanas, MA-30). La efectividad de cada tratamiento se determinó comparando el tamaño de la lesión antes del tratamiento (DT0), al final del tratamiento (DT30) y al final del estudio (DPT90), donde un valor “0” correspondía a curación frente al tamaño de la lesión antes de iniciar el tratamiento. El resultado al final del estudio se registró en términos de “cura” (reparación de la epidermis y aparición de pelaje); “mejoría” (reducción del tamaño de la lesión), o falla (aumento del tamaño de la lesión).

Tabla 1. Efecto de *C. spinosa* en el peso de ratones luego de la aplicación tópica de una dosis única

Grupo	Días después del tratamiento		
	0	7	15
Emulsión	40,9 ± 2,1	41,1 ± 1.8	42,5 ± 2,4
Loción	42,3 ± 2,7	46,4 ± 1.8	48,1 ± 2,4
Control	51,3 ± 0,4	51,9 ± 0.8	52,3 ± 2,0

Los datos representan el valor promedio ± DE del peso en gramos de ratones después de la aplicación de una dosis única de 40 mg de la loción y la emulsión que contenían los extractos EtOH y G de *C. spinosa*.

loción fue posible detectar mediante HPLC trazas de los picos de interés a las 6 y 24 h, en tanto que en las muestras de las ratas tratadas con la emulsión se encontraron trazas únicamente a las 6 h (**Figura 9S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2878>). En los lavados de las ratas tratadas con la loción se detectaron ambos picos, EP1 y EP2, pero en los lavados de las ratas tratadas con la emulsión no se detectó ninguno de estos dos picos característicos (**Figura 10S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2879>). Asimismo, en la piel de los ratones tratados con la loción se logró detectar las dos señales, siendo mayor la de las 24 h que la de las 6 h, lo que sugiere que los metabolitos que generan las señales de interés se encuentran distribuidos en las capas de la piel y permean poco la circulación sistémica (**Figura 10S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2879>). En las muestras de piel tratadas con la emulsión se obtuvieron cromatogramas muy difusos, con líneas de base menores a cero, lo que sugiere que no ocurrió penetración en las capas profundas de la piel.

Respuesta terapéutica a las formulaciones magistrales a base de extractos de *C. spinosa* en pacientes con leishmaniasis cutánea no complicada

Entre el 2016 y el 2017 se trataron diez pacientes, de los cuales ocho tenían una sola lesión, uno dos lesiones y otro tres lesiones, es decir, se trataron 13 lesiones. Cinco lesiones estaban ubicadas en los miembros inferiores, cinco en los miembros superiores, dos en la cabeza y una en el cuello. Dos pacientes tenían 60 años o más y ocho tenían entre 13 y 59 años. Entre las muestras tomadas para la identificación de especies, cinco correspondieron a *L. panamensis* y otra a *L. braziliensis*. Los pacientes se trataron con la loción y la emulsión aplicadas tres y dos veces al día, respectivamente, durante 28 a 30 días (cuatro semanas). Todos los pacientes mostraron curación en los días 60 y 90 después de terminado el tratamiento. Hasta el momento, ninguno ha tenido recaídas. Tampoco ninguno presentó efectos sistémicos y solo uno tuvo eritema leve y dos salpullido alrededor de la lesión. La **figura 3** incluye fotografías de los pacientes con leishmaniasis cutánea y los tratados con la emulsión y la loción. Es notorio el proceso de cicatrización que ocurre con este tratamiento tópico, con formación de cicatrices planas, no deprimidas y, en algunos casos, poco notorias, como el caso del paciente #3, cuya lesión en la frente sanó sin dejar cicatrices.

Discusión

La LC afecta la piel en áreas expuestas y cuando las lesiones se curan por lo general quedan cicatrices para toda la vida. Tanto las lesiones como las cicatrices son causa de estigma y sufrimiento en los personas enfermas, pues pueden sentirse o ser rechazados por la comunidad y su propia familia. Por ello el tratamiento adecuado y oportuno es fundamental no solo para aliviar los signos y síntomas de la enfermedad, sino, sobre todo, para mejorar la calidad de vida de los pacientes al prevenir que se desarrollen desfiguraciones o discapacidades.

Hasta ahora los tratamientos se han basado en el uso de antimoniales pentavalentes, anfotericina B, paromomicina, miltefosina y anfotericina liposomal B. Sin embargo, los resultados de su uso son limitado debido a la baja eficacia, los efectos secundarios que



Figura 3. Apariencia clínica de la leishmaniasis cutánea antes y después del tratamiento con extractos formulados de *C. spinosa*. La figura muestra la apariencia de las lesiones antes y después del tratamiento (día 90 de finalizado) con la loción y la emulsión preparados con extractos EtOH y G de *C. spinosa*, respectivamente. Los productos se aplicaron diariamente tres y dos veces al día durante cuatro semanas.

amenazan la vida, la alta toxicidad, la inducción de resistencia a los parásitos, la duración del tratamiento y el alto costo de la atención (WHO, 2010). Además, persisten muchas barreras para acceder al tratamiento, lo que aumenta la vulnerabilidad y el riesgo de incumplirlo, especialmente por los costos indirectos adicionales que los pacientes deben cubrir, pero también, por los días de ausencia escolar o laboral, la pérdida de ingresos debido a la ausencia en el trabajo o el costo económico del tiempo de una persona, así como los costos y el tiempo de desplazamiento a los servicios de salud. Esta situación puede profundizar aun más la vulnerabilidad económica de los afectados y sus familias (Cardona-Arias, et al., 2017a, Cardona-Arias, et al., 2017b, Cardona-Arias, et al., 2018).

Dado que no se vislumbra en un futuro cercano la elaboración de una vacuna que prevenga la infección, es necesario seguir buscando mejores opciones terapéuticas. Los productos naturales, especialmente las plantas, ofrecen una fuente ilimitada de metabolitos con potencial terapéutico y son abundantes los estudios que han demostrado una potente actividad leishmanicida en los extractos, las fracciones y los metabolitos de las plantas (Oryan, 2015; Sen & Chatterjee, 2011). Por otro lado, los medicamentos de aplicación tópica, en lugar de los parenterales, ofrecen un tratamiento potencialmente más seguro y más fácil de administrar, además de limitar el riesgo de efectos adversos, reducir los costos y mejorar su cumplimiento por parte del paciente, preservando su eficacia. Y aunque persiste la preocupación por la posibilidad de desarrollar leishmaniasis mucosa, hasta el momento no hay evidencia concluyente de que el tratamiento sistémico sí lo evite.

En los últimos 10 años se ha intensificado el desarrollo de medicamentos para aplicación tópica y son numerosos los productos naturales propuestos como candidatos para convertirse en medicamentos. Sin embargo, son muy escasos los que se destacan por haber

avanzado hasta los ensayos clínicos controlados. Uno de estos productos tópicos es una crema con extracto hidroalcohólico de hojas de *Juniperus excelsa* M. Bieb (Cupressaceae) al 5 %. Un ensayo clínico controlado aleatorio triple ciego en el que se evaluó la eficacia de la crioterapia más la crema tópica de *J. excelsa* M. Bieb comparándola con el uso de crioterapia y placebo en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea del Viejo Mundo demostró que, en general, el 82 % de los pacientes en el grupo con crioterapia y crema experimentaron cura completa, el 9 % tuvo parcial y en el 9 % restante el tratamiento falló, en tanto que en el grupo de crioterapia y placebo solo el 34 % tuvo una cura completa, y en el 14 % de ellos fue parcial al final del estudio, con una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos ($p < 0,001$). Asimismo, la reducción del tiempo necesario hasta la cicatrización de las lesiones en pacientes que recibieron extracto de *J. excelsa* fue estadísticamente significativa comparada con el grupo placebo ($p = 0,04$). No se observaron efectos secundarios significativos en el grupo tratado con extracto de *J. excelsa*, excepto por la irritación local leve a moderada después de algunas semanas en un número reducido de pacientes. Los autores concluyeron que el extracto tópico de *J. excelsa* puede usarse como tratamiento adyuvante de la crioterapia para aumentar la tasa y acelerar el tiempo de la curación completa de la leishmaniasis cutánea del Viejo Mundo causada por *L. major* (Parvizi, et al., 2017).

Un segundo producto a base de plantas es una pasta denominada “Z-HE” preparada con una mezcla de hierbas que se evaluó en 14 pacientes con leishmaniasis cutánea erisipeloide en Irán. La pasta se aplicó una vez al día durante cinco días consecutivos y luego cada dos semanas según necesidad durante un período máximo de tres meses. En 11 (92 %) de los pacientes hubo curación completa entre uno y siete meses del tratamiento y sin recaídas ni efectos secundarios relacionados con el tratamiento después de 12 meses de seguimiento (Zerehsaz, et al., 2003). No se encontraron más estudios relacionados con este producto.

Otros productos que han llegado a la etapa de estudios clínicos en humanos para el tratamiento tópico de la LC incluye una formulación en crema con paromomicina al 15 %, sola o en combinación con gentamicina al 0,5 %, que ha sido denominado WR 279,396, así como una formulación de anfotericina B al 3 % denominada Anfoleish®, que cuenta con patente de invención en Estados Unidos (Vélez, et al., 2017) y en Colombia (Robledo, et al., 2018). En los estudios clínicos de fase 2 y 3 con el WR 279,396 en Tunisia y en Panamá contra *L. major* y *L. panamensis*, respectivamente, se ha evidenciado que es estadísticamente superior al vehículo, con tasas de curación clínica final que varían entre 78 y 82 %, y que los efectos adversos son leves a moderados, especialmente dermatitis, dolor y prurito (Ben Salah, et al., 2013; Sosa, et al., 2013; Sosa, et al., 2019). Asimismo, la formulación de paromomicina al 15 % en Aquaphilic®, evaluada en pacientes con leishmaniasis cutánea causada por *L. braziliensis* en Bolivia, mostró tasas de curación después de seis meses de seguimiento de 77,5 % para la combinación de paromomicina y Aquaphilic®, de 10 % para el vehículo (Aquaphilic®) y de 70 % para la pentamidina intralesional. Tanto la paromomicina-Aquaphilic® como el Aquaphilic® fueron muy bien tolerados, y solo hubo reacciones adversas de grado 1 en 5 a 10 % de los pacientes (Soto, et al., 2019). Por su parte, en un estudio observacional en pacientes tratados con tres aplicaciones diarias de la crema Anfoleish® durante 30 días, se encontró la cura inicial en el 90 % de los pacientes en el tercer mes de finalizado el tratamiento. A diferencia de lo encontrado en el estudio observacional, en un ensayo clínico abierto, aleatorizado y no comparativo, de fase Ib/II, llevado a cabo en pacientes con LC no complicada, se registró una cura inicial en el 46 % de los pacientes evaluados en el segundo mes de finalizado el tratamiento. Anfoleish® demostró ser segura, y los pocos efectos adversos informados fueron locales, alrededor del área de aplicación de la crema, y de intensidad leve (López, et al., 2018). Estas diferencias en el porcentaje de curación entre el estudio observacional y el ensayo clínico pudieron deberse a diferencias en el protocolo de seguimiento para definir la cura inicial (3 meses *Vs.* 2 meses, respectivamente).

En busca de un mayor acceso al tratamiento, una mayor aceptación por parte de los pacientes y una reducción en los costos de atención, en el presente trabajo se reportan los resultados obtenidos con los extractos EtOH y G puros y formulados como loción y emulsión, respectivamente, obtenidos de *C. spinosa* o “tara”, una leguminosa de la familia Caesalpiniaceae ampliamente utilizado en la medicina ancestral en la región andina latinoamericana, especialmente en el Perú, por sus propiedades astringentes, anti-inflamatorias y cicatrizantes (De la Cruz, *et al.*, 2007). Los extractos de *C. spinosa* mostraron ser altamente selectivos contra *L. braziliensis*, pues su citotoxicidad fue baja para los macrófagos U937, en tanto que su actividad contra los amastigotes de *L. braziliensis* fue alta. Este hallazgo es importante toda vez que *The Drug Neglected Disease Initiative* (DNDi) y la OMS señalan como prioridad el desarrollo de medicamentos contra la leishmaniasis cutánea causada por *L. braziliensis* en América, por ser esta la especie que produce más casos de leishmaniasis mucosa, y contra *L. tropica* en el Viejo Mundo, por ser la especie causante de la leishmaniasis *recidivans*, que es de muy difícil tratamiento. De ahí la importancia de este nuevo producto.

En estudios previos se ha demostrado la actividad biológica de extractos y fracciones obtenidos de los frutos (vainas y semillas) de *C. spinosa*, pero no de las ramas. Los resultados aquí obtenidos demostraron que los extractos de las ramas promueven la cicatrización de heridas y permiten la curación de la LC en hámsters. Los productos formulados para ambos extractos son seguros cuando se aplican por vía tópica en dosis única o dosis repetidas. Ambos productos se absorben, penetran y permean hasta el torrente sanguíneo donde se detectan pequeñas trazas, lo que significa que la mayor parte es retenida sin permear. Por último, el uso en pacientes evidenció la curación completa de las lesiones ubicadas en diferentes partes anatómicas y con diferentes tiempos de evolución permitiendo la epitelización adecuada de la piel dañada sin efectos adversos, o solo leves. La cicatriz, aunque con cambios en la pigmentación con respecto al tejido original, como sucede con las cicatrices que dejan los medicamentos convencionales, mejoró el aspecto estético de la piel dañada en algunos de los casos.

Conclusiones

Los resultados del presente estudio sugieren que los extractos EtOH y G obtenidos de las ramas de “tara” en las formulaciones de emulsión y loción tienen un gran potencial para ser considerados una alternativa al tratamiento tópico de la LC no complicada. Sin embargo, se requieren nuevos estudios para evaluar su eficacia y su seguridad en ensayos clínicos controlados. Asimismo, deben identificarse los componentes presentes en los extractos para evaluar los posibles modos de acción.

El tratamiento tópico con productos a base de extractos de *C. spinosa* se vislumbra como segura y efectiva para la LC y tiene muchas ventajas sobre los tratamientos sistémicos, pues puede usarse tanto en adultos como en niños o en entornos donde el tratamiento parenteral no es factible. La mejoría del aspecto estético de la cicatriz obtenida con el tratamiento tópico a base de extractos de *C. spinosa* permitirá disminuir las secuelas de la enfermedad y, por lo tanto, la consecuente estigmatización de los pacientes.

Por último, este estudio demuestra que en países en desarrollo como Colombia es posible avanzar en el desarrollo de medicamentos, labor que se creía de dominio exclusivo de las multinacionales farmacéuticas. Con una reorientación de la forma de hacer investigación en la universidad, no solo para formar estudiantes y publicar, sino también para desarrollar productos (medicamentos, vacunas, pruebas diagnósticas, medidas de prevención, entre otros), se puede avanzar y ayudar a cerrar la brecha para que las poblaciones olvidadas, aquejadas de enfermedades tropicales, tengan, por fin, una oportunidad.

Información suplementaria

Tabla 1S. Resumen de los cromatogramas obtenidos para cada tratamiento extracto y/o producto. Ver la tabla 1S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2881>

Tabla 2S. Parámetros estadísticos método de identificación en extracto etanólico y glicólico de *C. spinosa*. Ver la tabla 2S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2882>

Figura 1S. Apariencia macro y microscópica de los extractos y productos formulados de *C. spinosa*. Ver la figura 1S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2867>

Figura 2S. Perfil cromatográfico de extractos y productos formulados de *C. spinosa*. Ver la figura 2S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2868>

Figura 3S. Curvas de calibración. Ver la figura 3S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2872>

Figura 4S. Potencial irritante y corrosivo cutáneo de los extractos etanólico y glicólico de *C. spinosa*. Ver la figura 4S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2873>

Figura 5S. Respuesta al tratamiento con extractos y formulaciones de *Caesalpinia spinosa* en hámsteres con LC por *L. braziliensis*. Ver la figura 5S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2874>

Figura 6S. Efecto del tratamiento con extractos y formulaciones de *Caesalpinia spinosa* en el peso corporal. Ver la figura 6S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2875>

Figura 7S. Efecto de *Caesalpinia spinosa* en los niveles de ALT, BUN y creatinina en hámsteres con leishmaniasis cutánea causada por *L. braziliensis*. Ver la figura 7S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2876>

Figura 8S. Toxicidad dérmica de *C. spinosa*. Ver la figura 8S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2877>

Figura 9S. Perfil cromatográfico plasma de ratones tratados con loción y emulsión a base de extractos de *C. spinosa*. Ver la figura 9S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2878>

Figura 10S. Perfil cromatográfico en muestras de lavados de piel y en piel de ratones tratados con loción y emulsión a base de extractos de *C. spinosa*. Ver la figura 10S en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1247/2879>

Agradecimientos

A José Barrera y Yuly A. Barrera por sus aportes en el uso tradicional del material vegetal y el suministro de los extractos. Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación - Minciencias (CT 695-2914) y a la Universidad de Antioquia por la financiación recibida.

Contribución de los autores

Conceptualización: SMR e IDV; Metodología: JQ, JH, MF, JM, AR, NA, AM, VO, TP, LMY, YU; Análisis formal: SMR, JQ, JH, MF, JM, AR, NA, AM, VO, TP, LMY, YU; Escritura del borrador original: SMR; Escritura, revisión y edición: SMR e IDV; Consecución de financiación: SMR.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Referencias

- Alvar, J., Yactayo, S., Bern, C. (2006). Leishmaniasis and poverty. *Trends in Parasitol.* **22**: 552-556.
- Alvar, J., Vélez, I.D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., den Boer, M., WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One.* **7**: 35671
- Ben-Salah, A., Ben-Messaoud, N., Guedri, E., Zaatour, A., Ben-Alaya, N., Bettaieb, J., Gharbi, A., Belhadj-Hamida, N., Boukthir, A., Chlif, S., Abdelhamid K., El Ahmadi, Z., Louzir, H., Mokni, M., Morizot, G., Buffet, P., Smith, P.L., Kopydlowski, K.M., Kreishman-

- Deitrick, M., Smith, K.S., Nielsen, C.J., Ullman, D.R., Norwood, J.A., Thorne, G.D., McCarthy, W.F., Adams, R.C., Rice, R.M., Tang, D., Berman, J., Ransom, J., Magill, A.J., Grogl, M. (2013). Topical paromomycin with or without gentamicin for cutaneous leishmaniasis. *N Engl J Med.* **368**: 524-32. doi: 10.1056/NEJMoa1202657.
- Bennis, I., Thys, S., Filali, H., De Brouwere, V., Sahibi, H., Boelaert, M. (2017). Psychosocial impact of scars due to cutaneous leishmaniasis on high school students in Errachidia province, Morocco. *Infect Dis Poverty.* **6**: 146. Doi: 10.1186/s40249-017-0267-5
- Cardona-Arias, J.A., Patiño-Martínez, D.A., López-Carvajal, L. (2017a). Evaluaciones económicas en leishmaniasis cutánea: revisión sistemática de literatura 1980-2015. *Revista de Economía del Caribe.* **20**: 52-70.
- Cardona-Arias, J.A., López-Carvajal, L., Tamayo Plata, M.P., Vélez I.D. (2017b). Cost-effectiveness analysis of thermotherapy versus pentavalent antimonials for the treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Evid Based Med.* **10**: 81-90. Doi: 10.1111/jebm.12245.
- Cardona-Arias, J.A., López-Carvajal, L., Tamayo-Plata, M.P., Vélez, I.D. (2018). Comprehensive economic evaluation of thermotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Colombia. *BMC Public Health.* **18**: 185. Doi: 10.1186/s12889-018-5060-2
- Castañeda DM, Pombo LM, Urueña CP, Hernández JF, Fiorentino S. (2012). A gallotannin-rich fraction from *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze displays cytotoxic activity and raises sensitivity to doxorubicin in a leukemia cell line. *BMC Complement Altern Med.* **12**: 38. Doi: 10.1186/1472-6882-12-38
- De la Cruz-Lapa, P. (2004). Aprovechamiento integral y racional de la tara. *Revista del Instituto de Investigación FIGMMG.* **7**: 64-73.
- De la Cruz, H., Vilcapoma, G., Zevallos P.A. (2007). Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Perú. *J Ethnopharmacol.* **111**: 284-94.
- Hotez, P. (2013). *Forgotten People, Forgotten Diseases: The Neglected Tropical Diseases and Their Impact on Global Health and Development*, 2nd ed.; ASM Press: Washington, DC, USA. ¿p?
- Klouček, P., Polesny, Z., Svobodova, B., Vlkova, E., Kokoska, L. (2005). Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *J Ethnopharmacol.* **99**: 309-312. Doi: 10.1016/j.jep.2005.01.062
- Kondo, K., Takaishi, Y., Shibata, H., Higuti, T. (2006). ILSMRs (intensifier of beta-lactam-susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara [*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze]. *Phytomed.* **13**: 209-212. Doi: 10.1016/j.phymed.2004.08.001
- Ladopoulos, T., Ntais, P., Tsirigotakis, N., Dokianakis, E., Antoniou, M. (2015). The proliferation potential of promastigotes of the main *Leishmania* species of the old world in NNN culture medium prepared using blood of four different mammals. *Exp Parasitol.* **157**: 124-127. Doi:10.1016/j.exppara.2015.07.008
- López, L., Vélez, I., Asela, C., Cruz, C., Alves, F., Robledo, S., Arana, B. (2018). A phase II study to evaluate the safety and efficacy of topical 3% amphotericin B cream (Anfoleish) for the treatment of uncomplicated cutaneous leishmaniasis in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis.* **12**: e0006653. Doi: 10.1371/journal.pntd.0006653.
- Montalvo, A.M., Fraga, J., Montano, I., Monzote, L., Van der Auwera, G., Marín, M., Muskus, C. (2016). Molecular identification of *Leishmania* spp. clinical isolates from Colombia based on hsp70 gene. *Biomédica.* **36**: 37-44. Doi: 10.7705/biomedica.v36i2.2688.
- Montoya, A., Daza, A., Muñoz, D., Ríos, K., Taylor, V., Cedeño, D., Vélez, I.D., Echeverri, F., Robledo, S.M. (2015). Development of a novel formulation with hypericin to treat cutaneous leishmaniasis based on photodynamic therapy in vitro and in vivo studies. *Antimicrob Agents Chemother.* **59**: 5804-5813. Doi: 10.1128/AAC.00545-15
- Narváez, A., Calvo, A., Troya, A.M. (2009). Las poblaciones naturales de la tara (*Caesalpinia spinosa*) en el Ecuador: una aproximación al conocimiento de la diversidad genética y el contenido de taninos a través de estudios moleculares y bioquímicos. *Serie Investigación y Sistematización No. 7*. Programa Regional Ecobona-Intercooperation, Laboratorio de Biotecnología Vegetal Escuela de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica del Ecuador PUCE. Quito. 39 pp.
- OECD. (2004), Test No. 427: Skin Absorption: In Vivo Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264071063-en>
- OECD. (2017), Test No. 402: Acute Dermal Toxicity, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264070585-en>
- OECD. (2019a). Test No. 431: In vitro skin corrosion: Reconstructed human epidermis (RHE) test method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264264618-en>

- OECD.** (2019b). Test No. 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264242845-en>
- Oryan, A.** (2015). Plant-derived compounds in treatment of leishmaniasis. *Iran J Vet Res.* **16:** 1-19.
- Parvizi, M. M., Handjani, F., Moein, M., Hatam, G., Nimrouzi, M., Hassanzadeh, J., Hamidzadeh, N., Khorrami, H. R., Zarshenas, M. M.** (2017). Efficacy of cryotherapy plus topical *Juniperus excelsa* M. Bieb cream versus cryotherapy plus placebo in the treatment of Old World cutaneous leishmaniasis: A triple-blind randomized controlled clinical trial. *PLoS Negl Trop Dis.* **11:**e0005957. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005957>
- Pulido, S.A., Muñoz, D.L., Restrepo, A.M., Mesa, C.V, Alzate, J.F., Vélez, I.D., Robledo, S.M.** (2012). Improvement of the green fluorescent protein reporter system in *Leishmania* spp. for the in vitro and in vivo screening of antileishmanial drugs. *Acta Trop.* **122:** 36-45. Doi: 10.1016/j.actatropica.2011.11.015
- Rangel-Ch., J.O.** (2015). La biodiversidad de Colombia: significado y distribución regional. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **39:** 176-200. Doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.136>
- Rigano, L., Deola, M., Zaccariotto, F., Colleoni, T., Lionetti, N.** (2019). A New Gelling Agent and Rheology Modifier in Cosmetics: *Caesalpinia spinosa* Gum. *Cosmetics.* **6:** 34.
- Robledo S.M., Carrillo, L.M., Daza, A., Restrepo, A.M., Muñoz, D.L., Tobón, J., Murillo, J.D., López, A., Ríos, C., Mesa, C.V., Upegui, Y.A., Valencia-T., A., Mondragón-Sh, K., Rodríguez, B., Vélez, I.D.** (2012). Cutaneous leishmaniasis in the dorsal skin of hamsters: A useful model for the screening of antileishmanial drugs. *J Vis Exp.* pii: 3533. Doi: 10.3791/3533
- Robledo, M.B, Robledo, S.M., Ceballos, A.L., Vélez, I.D., Gómez, N., Zuluaga, J.J.** (2018). Formulación del producto crema aceite en agua útil para aplicación tópica en mucosas y piel contra enfermedades producidas por parásitos, hongos y bacterias. Resolución No. 32414 de mayo 11 de 2018.
- Santander, S. P., Aoki, M., Hernández, J. F., Pombo, M., Moins-Teisserenc, H., Mooney, N., Fiorentino, S.** (2011). Galactomannan from *Caesalpinia spinosa* induces phenotypic and functional maturation of human dendritic cells. *Int Immunopharmacol.* **11:** 652-660. Doi: 10.1016/j.intimp.2011.01.006
- Sen, R., Chatterjee, M.** (2011). Plant derived therapeutics for the treatment of leishmaniasis. *Phytomed.* **18:** 1056-69. Doi: 10.1016/j.phymed.2011.03.004
- Sosa, N., Capitán, Z., Nieto, J., Nieto, M., Calzada, J., Paz, H., Spadafora, C., Kreishman-Deitrick, M., Kopydlowski, K., Ullman, D., McCarthy, W.F., Ransom, J., Berman, J., Scott, C., Grogl, M.** (2013). Randomized, double-blinded, phase 2 trial of WR 279,396 (paromomycin and gentamicin) for cutaneous leishmaniasis in Panama. *Am J Trop Med Hyg.* **89:** 557-563. Doi: 10.4269/ajtmh.12-0736
- Sosa, N., Pascale, J.M., Jiménez, A.I., Norwood, J.A., Kreishman-Detrick, M., Weina, P.J., Lawrence, K., McCarthy, W.F., Adams, R.C., Scott, C., Ransom, J., Tang, D., Grogl, M.** (2019). Topical paromomycin for New World cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* **13** (5): e0007253. Doi: 10.1371/journal.pntd.0007253
- Soto, J., Soto, P., Ajata, A., Luque, C., Tintaya, C., Paz D, Rivero D., Berman, J.** (2019). Topical 15% Paromomycin-Aquaphilic for Bolivian *Leishmania braziliensis* Cutaneous Leishmaniasis: A Randomized, Placebo-controlled Trial. *Clin Infect Dis.* **68:** 844-849. Doi: 10.1093/cid/ciy619
- Skowrya, M. Falguera, V., Gallego, G., Peiró, S., Almajano, M. del P.** (2014). Antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts of tara (*Caesalpinia spinosa*) pods *in vitro* and in model food emulsions. *J Sci Food Agric.* **94:** 911-918.
- Trouiller, P., Olliaro, P., Torreele, E., Orbinski, J., Laing, R., Ford, N.** (2002). Drug development for neglected diseases: A deficient market and a publiccontrol negativohealth policy failure. *Lancet.* **359:** 2188-2194.
- Upegui, Y., Ríos, K., Quiñones, W., Echeverri, F., Archbold, R., Murillo, J.D., Torres, F., Escobar, G., Vélez, I.D., Robledo, S.M.** (2019). Chroman-4-one hydrazones derivatives: Synthesis, characterization, and in vitro and in vivo antileishmanial effects. *Med Chem Res.* **28:** 2184-2199 (2019). Doi: 10.1007/s00044-019-02446-x
- Urueña, C., Mancipe, J., Hernández, J., Castañeda, D., Pombo, L., Gómez, A., Asea, A., Fiorentino, S.** (2013). Gallotannin-rich *Caesalpinia spinosa* fraction decreases the primary tumor and factors associated with poor prognosis in a murine breast cancer model. *BMC Complement Altern Med.* **13:** 74. Doi.org/10.1186/1472-6882-13-74

- The United States Pharmacopeia; the national formulary.** (2016). 39a. rev. (USP39) 34a. ed. (NF34). Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, c2016.
- Vélez, I.D., Robledo, S.M., Robledo, M.B., Ceballos, A.L., Giraldo, N.A., Gómez, A., Zuluaga, J.J.** (2017). Cream formulation with amphotericin B and oil in water useful for topical application to mucous tissue and skin against diseases produced by leishmaniasis. US9801895B1.
- World Health Organization.** (2010). Control of the leishmaniasis: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. WHO Technical Report Series 949.
- Zerehsaz, F., Beheshti, S., Reza Rezaian, G., Joubeh, S.** (2003). Erysipeloid cutaneous leishmaniasis: Treatment with a new, topical, pure herbal extract. *Eur J Dermatol.* **13**: 145-148.

Artículo original

Preparación y estudio de propiedades estructurales, morfológicas y ópticas de películas delgadas de sulfuro de zinc para aplicación fotovoltaica

Preparation and study of structural, morphological, and optical properties of zinc sulfide thin films for photovoltaic application

● Johan Andrés Vargas-Rueda^{1,*}, Verónica García², ● Mónica Andrea Botero³,
● Clara Lilia Calderón⁴

¹ Universidad Autónoma Metropolitana, Sede Azcapotzalco, Ciudad de México, México

² Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

³ Escuela de Ingenierías Eléctrica, Electrónica y de Telecomunicaciones, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

⁴ Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Resumen

Actualmente se realizan investigaciones a nivel mundial para desarrollar nuevos materiales con propiedades adecuadas para la fabricación de dispositivos fotovoltaicos, con el fin de obtener energía de fuentes renovables y reemplazar las convencionales. Por motivos ambientales los materiales deben ser abundantes y no ser contaminantes, requisitos que el sulfuro de zinc (ZnS) cumple. En este estudio se sintetizaron películas delgadas de ZnS por el método sol-gel para evaluar el efecto de algunos precursores de zinc y azufre, de los agentes complejantes, así como del tratamiento térmico a 500 °C en la obtención del ZnS. Los sólidos obtenidos y tratados en atmósfera oxidante se caracterizaron mediante difracción de rayos-X (XRD), lo que permitió establecer el protocolo de reacción más adecuado para la preparación del ZnS y depositar recubrimientos de ZnS sobre sustratos de vidrio-cuarzo usando la técnica de recubrimiento por centrifugación (*spin coating*). Las películas también se sometieron a un tratamiento térmico basado en nitrógeno gaseoso y azufre elemental. Los recubrimientos de ZnS se caracterizaron con XRD, microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía dispersiva de rayos X (EDS) y espectroscopía UV-Vis. Los resultados evidenciaron que las películas depositadas presentan propiedades adecuadas para ser empleadas como capa amortiguadora en celdas solares.

Palabras claves: Sol-gel; Recubrimiento por centrifugación; Películas delgadas; ZnS.

Abstract

Currently, global research is being carried out to develop new materials with suitable properties for manufacturing photovoltaic devices to obtain energy from renewable sources and replace conventional ones. For environmental reasons, the materials should be non-polluting and abundant, and zinc sulfide (ZnS) meets these requirements. In this context, we synthesized ZnS thin films using the sol-gel method aiming at evaluating the effect of some zinc and sulfur precursors, complexing agents, and thermal treatment on ZnS obtention. The resulting solids were treated in an oxidizing atmosphere and characterized by X-ray diffraction (XRD) to establish the most suitable reaction protocol for ZnS preparation. Based on these results we were able to deposit ZnS coatings on glass-quartz substrates using the spin-coating technique. The films were also subjected to heat treatment based on gaseous nitrogen and elemental sulfur. ZnS coatings were characterized through XRD, scanning electron microscopy (SEM), X-Ray dispersive spectroscopy (EDS), and UV-Vis spectroscopy. Our results showed that the films deposited had suitable properties to be used as a buffer layer in solar cells.

Keywords: Sol-gel; Spin-coating; Thin films; ZnS.

Citación: Johan Andrés Vargas-Rueda, Verónica García, Mónica Andrea Botero, *et al.* Preparación y estudio de propiedades estructurales, morfológicas y ópticas de películas delgadas de sulfuro de zinc para aplicación fotovoltaica. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):937-950, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1032>

Editor: Román Eduardo Castañeda

***Correspondencia:**

Johan Andrés Vargas Rueda;
andhy312@gmail.com

Recibido: 7 de octubre de 2019

Aceptado: 9 de junio de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

A nivel mundial hoy las energías renovables constituyen una alternativa esencial para satisfacer las crecientes necesidades de electricidad. En este sentido, se considera que el uso de sistemas alimentados con energía renovable podría mitigar muchos de los problemas ambientales, como el cambio climático, la generación de residuos radioactivos y la lluvia ácida, entre otros. Dichas alternativas energéticas incluyen las pequeñas centrales hidroeléctricas, los biocombustibles, la energía eólica, la geotérmica y la solar (**Kabir, et al., 2018**).

La energía solar es una de las principales formas de generar electricidad a partir de la conversión fotovoltaica de la radiación electromagnética (**Husain, et al., 2018**). El objetivo principal del desarrollo tecnológico solar es reducir el precio de fabricación de los dispositivos fotovoltaicos, desarrollar nuevos materiales abundantes y de bajo nivel de toxicidad que tengan, además, las propiedades ópticas y eléctricas necesarias para la obtención de celdas solares de alto rendimiento y competitivas frente a las fuentes convencionales (**Lee & Ebong, 2017**).

Los sistemas fotovoltaicos se han desarrollado mediante la aplicación de tres tecnologías diferentes: las denominadas de primera generación, basadas en silicio (Si) mono y policristalino; las de segunda generación, o de película delgada, y las de tercera generación, que emplean materiales novedosos de mayor eficiencia o aplican sustratos de menor costo para superar los límites de los dispositivos de una sola juntura (**Vasconcelos & Aguirre, 2017**). El mejor desempeño con respecto a los módulos fotovoltaicos de primera generación se ha alcanzado con el silicio monocristalino, el cual ha permitido fabricar celdas solares con eficiencias de 25,8 % (**Green, et al., 2019**), aunque el alto costo de fabricación de dichos módulos es una limitación, lo que eleva el precio de generación fotovoltaica comparado con el de los métodos tradicionales. En cuanto a las tecnologías de celda solar de película delgada, se han logrado grandes avances en la fabricación de dispositivos de bajo costo y gran estabilidad, con una eficiencia de conversión máxima del 22 %, aproximadamente (**Powalla, et al., 2018**).

El desarrollo de celdas solares de película delgada con estructura heterojuntura CIGS/CdS y CdTe/CdS es importante debido a su gran eficiencia, pero usan materiales tóxicos como el cadmio y el selenio, entre otros, por lo que muchos centros de investigación en el mundo están haciendo esfuerzos para encontrar nuevos materiales que no afecten el ambiente y sustituyan el CdS empleado como capa amortiguadora sin deteriorar significativamente la eficiencia del dispositivo fotovoltaico. Entre los materiales de interés se encuentra el ZnS, pues ha demostrado tener propiedades ópticas y estructurales similares al CdS, lo que lo convierte en un potencial candidato para su uso como capa buffer en la fabricación de celdas solares (**Botero, et al., 2013; Hurma, 2018**). En el presente estudio se prepararon recubrimientos de ZnS sobre sustratos de vidrio-cuarzo mediante la técnica de recubrimiento por centrifugación y un tratamiento térmico basado en nitrógeno gaseoso y azufre elemental. La caracterización de los recubrimientos con diferentes técnicas confirmó la obtención del ZnS.

Materiales y métodos

Síntesis del ZnS

Se llevó a cabo la síntesis del ZnS mediante el método sol-gel; en este material se evaluó el efecto del precursor metálico, la fuente de azufre y los agentes complejantes en su composición y estructura cristalina. El protocolo de síntesis de los polvos consistió en la solubilización de los precursores de zinc: sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 99,99 %, Merck) o cloruro de zinc (ZnCl_2 ; 99,99 %, Merck) en agua desionizada bajo agitación magnética a temperatura ambiente. Luego, se agregó el agente complejante glicina (Gly) ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$; 99,70 %, Merck) o la etanolamina (ETA) ($\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}$; 99,00 %, Merck) en una relación molar del zinc y agente complejante igual a 1:3. La adición del agente complejante en solución provee un mecanismo de control en la concentración del metal como especie libre inhibiendo la formación de otros compuestos coordinados a

partir de las especies presentes en solución, como los complejos de los contraiones Cl^- o SO_4^{2-} y los complejos hidroxilados solubles de zinc, los cuales son potenciales precursores en la formación del ZnO. De esta manera, el exceso del agente complejante Gly o ETA estabiliza el catión metálico y promueve el predominio exclusivo de las especies solubles Zn-ETA o Zn-Gly en solución. Una vez adicionado el ligando orgánico, se incorporó el precursor de azufre tiourea (T) ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$; 99,00 %, Merck) o el sulfuro de amonio (NS) ($(\text{NH}_4)_2\text{S}$; 20,00 %, Merck) en una relación molar de 1:2 con respecto a la fuente de zinc. Se garantizó un pH constante de 7 durante la reacción mediante la adición de amoníaco en solución (NH_4OH ; 20,00 %, Merck) o ácido nítrico (HNO_3 ; 99,50 %, Merck). Asimismo, las soluciones permanecieron a una temperatura constante de 60 °C bajo agitación magnética a 200 rpm durante una hora. Por último, los soles fueron envejecidos a temperatura ambiente hasta obtener un gel homogéneo para después ser calcinados a 250 °C (2 °C/min, 2 horas) y 500 °C (2 °C/min, 2 horas). El objetivo en esta etapa era establecer un protocolo de síntesis para la obtención del ZnS antes de la conformación de los recubrimientos.

La caracterización estructural de los polvos obtenidos se hizo por XRD empleando un difractómetro de polvo BRUKER modelo D8 ADVANCE DAVINCI, con una radiación $\text{CuK}\alpha_1$ ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$), muestreo igual a $0,02035^\circ$ 2-teta, tipo de barrido a pasos y tiempo de muestreo equivalente a 0,3 segundos; el programa utilizado para la caracterización de las fases cristalinas fue el Search-match.

Obtención de los recubrimientos de ZnS

Antes de la deposición, se limpiaron los sustratos de vidrio-cuarzo por inmersión en una mezcla sulfocrómica [solución al 30 % v/v de ácido sulfúrico (H_2SO_4 ; 97 %) y 10 % p/v de dicromato de potasio (K_2CrO_2 ; 99,9%)] durante 24 horas. Posteriormente, los sustratos se limpiaron con agua, etanol y acetona en un baño ultrasónico durante una hora, y se dejaron secar a temperatura ambiente. Para la obtención de los recubrimientos de ZnS sobre los sustratos de vidrio-cuarzo, se mezcló el cloruro de zinc, el Gly o el ETA y los precursores de azufre T y NS en agua desionizada hasta obtener una disolución homogénea. Las relaciones molares empleadas fueron iguales a las descritas en la sección “Síntesis del ZnS”. Dicha disolución se mantuvo a una temperatura constante de 80 °C bajo agitación magnética de 200 rpm durante una hora hasta alcanzar la formación del sol. Ese aumento de la temperatura a 80 °C en la preparación de la solución precursora conllevaría a la evaporación de una porción del solvente. Posteriormente se procedió a la deposición mediante la técnica de recubrimiento por centrifugación empleando un equipo Laurell® WS-650Sz-6NPP-LITE bajo atmósfera de nitrógeno a una velocidad de rotación de 3.000 rpm durante 10 segundos (1 espín). El tratamiento térmico se llevó a cabo en un horno horizontal a una temperatura de 500 °C durante 24 horas (velocidad de calentamiento 2 °C/min) bajo un flujo constante de nitrógeno gaseoso (50 mL/min) en presencia de azufre elemental. La caracterización de los recubrimientos de ZnS de tipo película se hizo mediante las técnicas XRD, SEM, EDS y de transmitancia espectral.

Resultados y discusión

Síntesis del ZnS

El efecto de los precursores sobre la composición y la textura del material final se relaciona con la química de los precursores en solución, así como con el control de las cinéticas de nucleación y crecimiento de las partículas durante la síntesis. En la **tabla 1** se presentan los parámetros evaluados en el presente trabajo: fuente de zinc, azufre, y agente complejante.

El efecto del precursor metálico, el sulfato de zinc y el cloruro de zinc en la estructura cristalina de los polvos calcinados en aire estático se analizó mediante difracción de rayos X. En las **figuras 1 y 2** se muestran los difractogramas obtenidos para las muestras agrupadas según la sal precursora de zinc.

En la **figura 1** se aprecia la presencia de ZnO, ZnS y de compuestos como el $\text{Zn}_3\text{O}(\text{SO}_4)_2$ (PDF 16-821) y el $(\text{Zn}(\text{OH})_2)_3(\text{ZnSO}_4)(\text{H}_2\text{O})_5$ (PDF 78-246) y, en una proporción menor a 1 %, el $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (PDF 78-246) para las muestras ZS1-ZS6 preparadas a partir del

Tabla 1. Parámetros de síntesis evaluados en el estudio

Muestra	Fuente de cinc	Agente complejante	Fuente de azufre
ZS1	ZnSO ₄	Gly	T
ZS2	ZnSO ₄	Gly	NS
ZS3	ZnSO ₄	Gly	T+NS
ZS4	ZnSO ₄	ETA	T
ZS5	ZnSO ₄	ETA	NS
ZS6	ZnSO ₄	ETA	T+NS
ZS7	ZnCl ₂	Gly	T
ZS8	ZnCl ₂	Gly	NS
ZS9	ZnCl ₂	Gly	T+NS
ZS10	ZnCl ₂	ETA	T
ZS11	ZnCl ₂	ETA	NS
ZS12	ZnCl ₂	ETA	T+NS

Gly: glicina, ETA: etanolamina, T: tiourea, NS: sulfuro de amonio

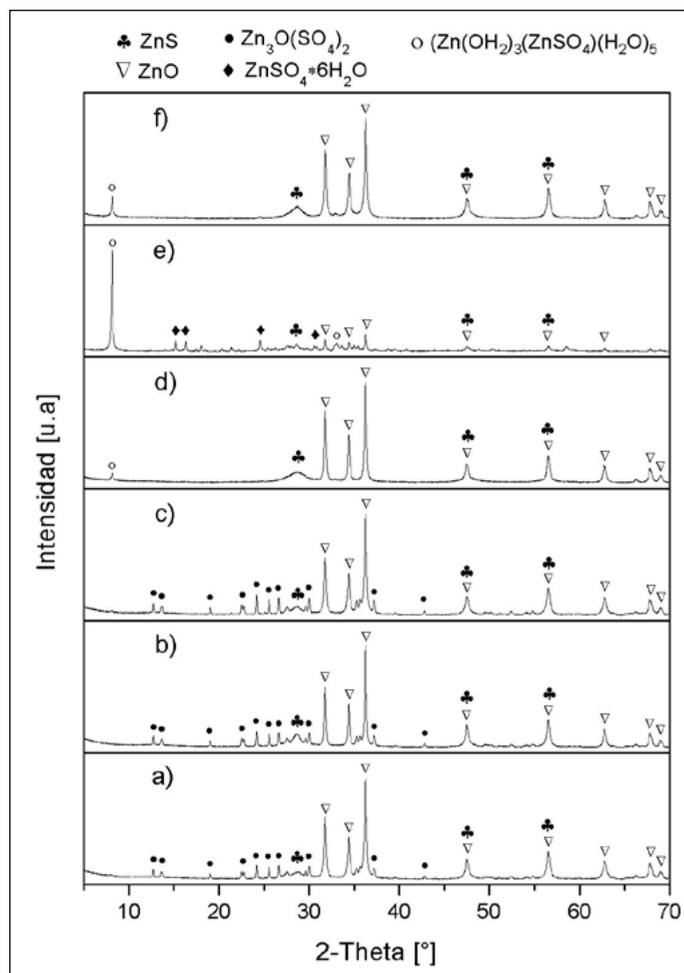


Figura 1. Perfil XRD de las muestras preparadas a partir de ZnSO₄: a) ZS1, b) ZS2, c) ZS3, d) ZS4, e) ZS5 y f) ZS6

precursor sulfato de zinc heptahidratado. Para corroborar las fases encontradas se hizo un análisis semicuantitativo de los compuestos presentes en las muestras mediante el programa HighScore, el cual hace un refinamiento por el método de Rietveld a partir de los difractogramas obtenidos experimentalmente. Los resultados se muestran en la **tabla 2**.

A partir de los resultados puede deducirse que los difractogramas evidenciaron la obtención de una mezcla de compuestos y de algunas impurezas indeseables como sulfatos hidratados y, en menor proporción, ZnS, siendo el ZnO la fase mayoritaria para algunas de las muestras (ZS4 y ZS6).

En cuanto a las síntesis basadas en el cloruro de zinc, en la **figura 2** se observa el ZnO como fase predominante en todas las muestras; en las muestras ZS7, ZS8 y ZS9 se obtuvo, además del ZnO, la fase ZnS en menor cantidad. Las muestras ZS10, ZS11 y ZS12 (**Figuras 2d, 2e y 2f**) presentaron el ZnO como única fase. En la muestra ZS8 (**Figura 2b**) se detectó la formación de la simonkolleita, de fórmula $Zn_5(OH)_8Cl_2 \cdot H_2O$ (PDF 76-922). Estos hallazgos se corroboraron con el análisis de los compuestos obtenidos mediante el programa HighScore, cuyos resultados se presentan en la **tabla 3**. Además, en los difractogramas de las muestras ZS7 y ZS8 (**Figuras 2a y 2b**) se aprecia un pico en un ángulo 2 teta cercano a 8, el cual no fue posible asignar. En las **figuras 2 a-c** se observa un incremento en la línea de base a partir de valores menores a un 2 teta de 20°, inherente a efectos instrumentales debidos a la humedad relativa durante las mediciones de XRD.

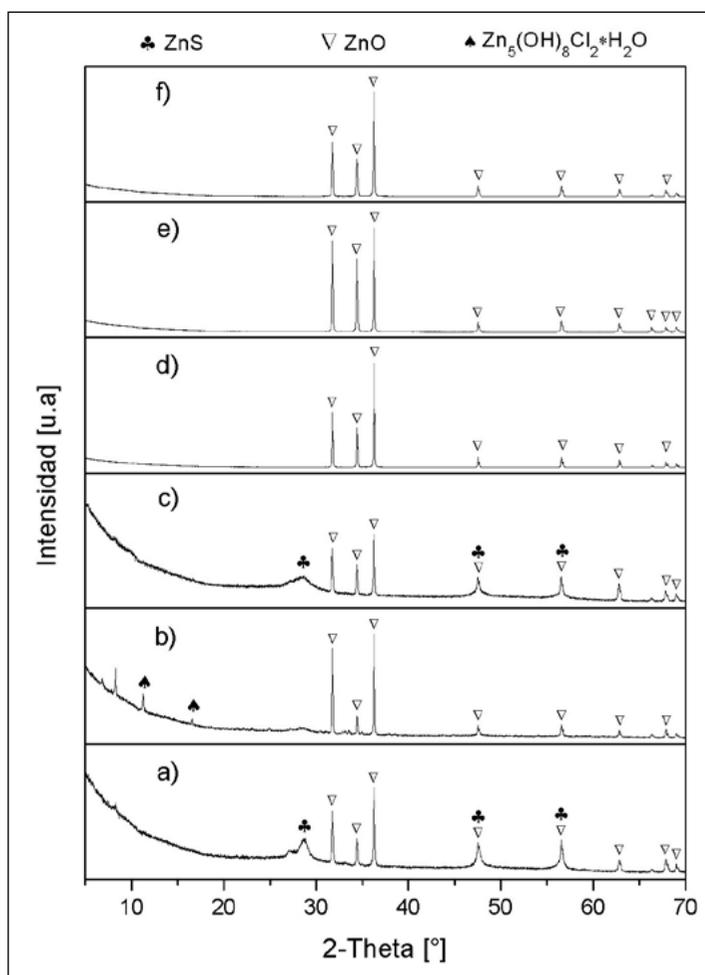


Figura 2. Perfil XRD de las muestras preparadas a partir de $ZnCl_2$: a) ZS7, b) ZS8, c) ZS9, d) ZS10, e) ZS11 y f) ZS12

Tabla 2. Análisis semicuantitativo de las fases presentes en las muestras ZS1 a ZS6

Muestra	Fases presentes	%
ZS1	$Zn_3O(SO_4)_2$	54
	ZnO	39
	ZnS	7
ZS2	$Zn_3O(SO_4)_2$	53
	ZnO	38
	ZnS	9
ZS3	$Zn_3O(SO_4)_2$	58
	ZnO	35
	ZnS	7
ZS4	$(Zn(OH)_2)_3(ZnSO_4)(H_2O)_5$	3
	ZnO	79
	ZnS	18
ZS5	$(Zn(OH)_2)_3(ZnSO_4)(H_2O)_5$	72
	ZnO	27
	ZnS	1
ZS6	$(Zn(OH)_2)_3(ZnSO_4)(H_2O)_5$	9
	ZnO	87
	ZnS	4

Tabla 3. Análisis semicuantitativo de las fases presentes en las muestras ZS7 a ZS12

Muestra	Fases presentes	%
ZS7	ZnO	74
	ZnS	26
ZS8	$Zn_5(OH)_8Cl_2H_2O$	35
	ZnO	51
	ZnS	14
ZS9	ZnO	87
	ZnS	13
ZS10	ZnO	100
ZS11	ZnO	100
ZS12	ZnO	100

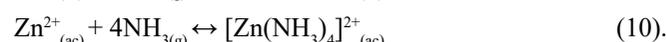
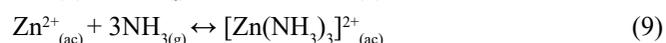
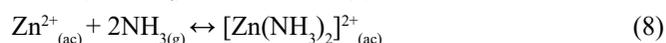
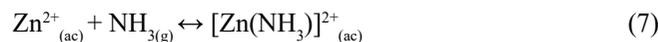
Estos resultados permiten concluir que el cloruro de zinc como precursor metálico resulta favorable para la obtención del ZnS o ZnO, debido a que con el sulfato se observó la formación de sales sulfatadas hidratadas. El principio de ácidos y bases blandos y duros, permite entender de forma empírica este resultado, ya que el ion cloruro es una base de Lewis más polarizable que el sulfato y, por ende, más dura, en tanto que el ion zinc, considerado un ácido medio, exhibe una mayor afinidad por el sulfato otorgándole estabilidad a estos compuestos sulfatados.

Durante la disolución de la sal, la solvatación del catión metálico por las moléculas de agua evita que los cationes se combinen con los aniones, en tanto que la formación de complejos entre las especies metálicas y los compuestos orgánicos permite una mayor

Por su parte el amonio en presencia del ion hidróxido se convierte en amoniaco, según la ecuación (6) (**Rayner-Canham, 2000**):



En consecuencia, el sulfuro de amonio empleado como fuente de azufre previene la formación y precipitación del hidróxido de zinc y contribuye a la formación de complejos amoniacales (**Reinisch, et al., 2016**) que compiten con la glicina y la etanolamina, como se describe en las ecuaciones (7) a (10):



En consecuencia, aunque la composición del material final depende fundamentalmente de la naturaleza del metal y los ligandos presentes, en términos de las reacciones de complejación, y dada la gran cantidad de especies químicas involucradas y los múltiples equilibrios implicados, la comprensión completa de los efectos de los precursores está por fuera del alcance de este trabajo. Por ello se utilizaron ambos agentes complejantes para garantizar la obtención de las películas de ZnS empleando como precursores de azufre la mezcla de tiourea y el sulfuro de amonio (muestras ZS9 y ZS12).

Caracterización de los recubrimientos de ZnS

Los recubrimientos de ZnS se depositaron mediante la técnica de recubrimiento por centrifugación y se caracterizaron con XRD para estudiar las fases presentes. El objetivo de la esta etapa era estudiar el efecto de la atmósfera de reacción en la obtención de recubrimientos de ZnS en el sistema ZS12, dado que presentó como única fase el ZnO cristalino bajo las condiciones de reacción estudiadas (**Figura 1**). En la **figura 3** se muestran los difractogramas correspondientes a los recubrimientos del sistema ZS12 (a partir de cloruro de zinc, ETA y una mezcla de tiourea y sulfuro de amonio) calcinados en aire (B0), aire y después N₂ (B1), aire y después N₂ más azufre elemental (M1) y, por último, aire y en seguida N₂ en presencia de azufre elemental (M2).

A partir de los resultados de la **figura 3**, se considera que la muestra denominada B0 presentó como única fase el ZnO, en tanto que las muestras B1, M1 y M2 exhibieron una mezcla de ZnO (PDF 89-7102) y ZnS del tipo de wurtzita (PDF 5-492). Se deduce, entonces,

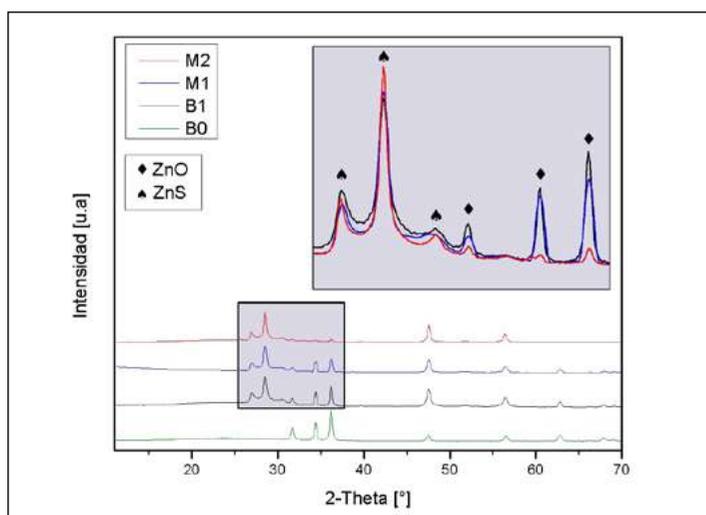


Figura 3. Perfil de XRD de las películas después del tratamiento de sulfuración

que en la muestra B1 el tratamiento en atmósfera inerte favoreció la incorporación de azufre en la estructura. Asimismo, el tratamiento en atmósfera inerte y azufrada (sulfuración) indujo la conversión de los recubrimientos de ZnO a ZnS. En el análisis comparativo de los difractogramas correspondientes a las muestras M1 y M2, la intensidad de la fase ZnO disminuyó con relación al aumento de la cantidad de azufre empleado en el tratamiento térmico. En otros trabajos se ha reportado la preparación exitosa de recubrimientos de ZnS a partir de películas delgadas de ZnO mediante pulverización catódica y en presencia de H₂S, H₂ y N₂, lo que indica que el producto principal de la sulfuración es la wurtzita (Zhang, *et al.*, 2005; Phatak, *et al.*, 2016). En suma, el estudio del efecto de la atmósfera de reacción permitió determinar condiciones adecuadas para el tratamiento térmico y la conformación de las películas de ZnS del tipo de la wurtzita a través de una calcinación en aire durante 2 horas y un calentamiento bajo atmósfera de nitrógeno y azufre a 500 °C durante 4 horas.

La fabricación de los recubrimientos se hizo con base en las muestras ZS9 y ZS12 del estudio inicial sobre la síntesis y caracterización de los polvos tratados en atmósfera oxidante, en el cual se concluyó de manera parcial que en el sistema ZS9 [Gly+(T+NS)] se promovió la formación del ZnS incluso bajo las condiciones del tratamiento térmico de este depósito. También se consideró en el estudio el efecto de la sulfuración de los recubrimientos calcinados en aire y la influencia del tiempo de tratamiento térmico en el nitrógeno a 500 °C durante 18 horas (18H) y 24 horas (24H) para el sistema ZS12, en el que se obtuvo la fase ZnO a partir del estudio preliminar. Ello permitió establecer las condiciones de tratamiento térmico en la formación del ZnS para la muestra ZS12, condiciones tomadas como referencia para tratar térmicamente la muestra ZS9, el efecto de la sulfuración de los recubrimientos calcinados en aire y la influencia del tiempo de tratamiento térmico en nitrógeno a 500 °C durante 18 horas (18H) y 24 horas (24H).

La síntesis de los recubrimientos se hizo a 1 espín (1S) debido al efecto del espesor en la conformación de los recubrimientos por la técnica de recubrimiento por centrifugación. En la **figura 4** se observa el difractograma de la muestra ZS9-1S, la cual exhibió los polimorfos blenda (PDF 65-9585) y wurtzita (PDF 5-492) del ZnS, en tanto que la muestra ZS12-1S presentó como única fase el ZnS-blenda (PDF 65-9585); las dos fases exhibieron un alto grado de cristalinidad. Esto evidenció que la mezcla de polimorfos de los recubrimientos de ZnS se relaciona con la naturaleza del agente complejante (Gly *Vs.* ETA) y la atmósfera de reacción (aire *Vs.* N₂). En este sentido, en la síntesis en la que se utilizó Gly como ligando orgánico, se observó la formación de las fases blenda y wurtzita.

En la **figura suplementaria 1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1032/2883> y la **figura suplementaria 2**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1032/2884> se presentan las micrografías SEM de las muestras ZS12-18H y ZS12-24H, las cuales corresponden a los recubrimientos utilizados en el estudio del efecto del tiempo de reacción a 500 °C bajo atmósfera inerte. En general, se observó que las películas presentaban agrietamientos, probablemente debidos a las contracciones que sufre el material durante el tratamiento térmico, la heterogeneidad de los sustratos empleados y las limitaciones inherentes al proceso de deposición de recubrimiento por centrifugación. Asimismo, es posible que las condiciones reológicas de la suspensión y la funcionalización de la superficie puedan favorecer las condiciones de deposición en cuanto a uniformidad de los depósitos. Debido a la complejidad del método de síntesis sol-gel y de la técnica de recubrimiento por centrifugación, un estudio detallado de cada una de estas variables demandaría una revisión sistemática de la obtención del ZnS, lo cual representa una oportunidad para trabajos futuros en el marco del desarrollo de materiales emergentes fotovoltaicos para la conformación de películas delgadas. No obstante, en las secciones fraccionadas del recubrimiento, es decir, los defectos de conformado, se logran apreciar superficies lisas. El análisis elemental semicuantitativo mediante la técnica EDS de estos recubrimientos se presenta en la **figura suplementaria 3**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1032/2885>. Los resultados confirman la ausencia de impurezas

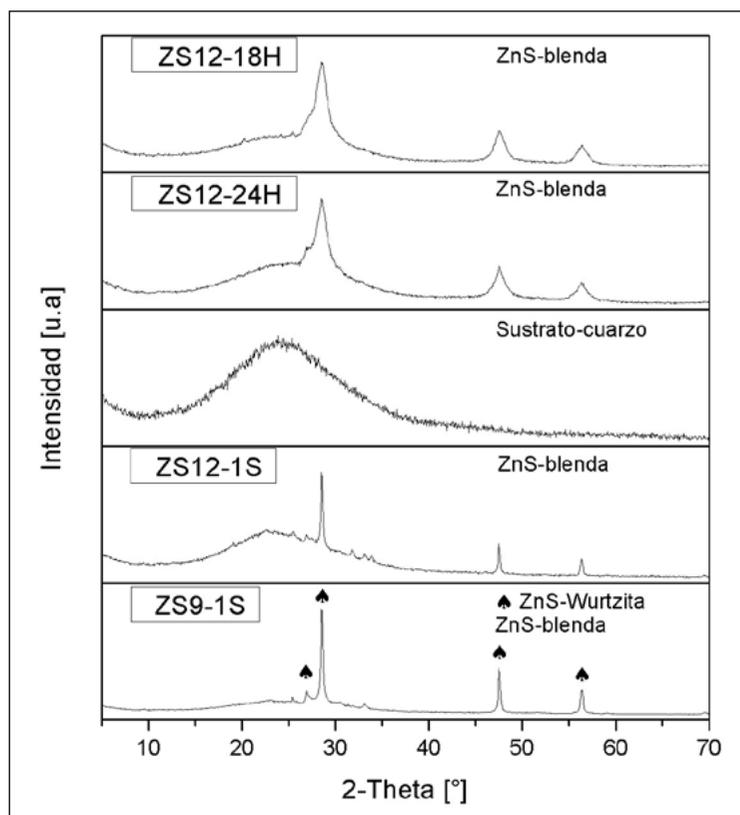


Figura 4. Perfil de XRD de las muestras ZS12-18H, ZS12-24H, sustrato-cuarzo, ZS12-1S y ZS9-1S

en las películas de ZnS, ya que en los espectros EDS se observaron únicamente señales correspondientes al Zn, S, Si, O, K, Al y Ti, siendo estos últimos cinco elementos trazas propias del sustrato de vidrio-cuarzo empleado para las deposiciones.

En las **figuras 5 y 6** se presentan las micrografías SEM y los espectros EDS de los recubrimientos ZS9-1S y ZS12-1S empleados en el estudio del efecto del agente complejante tratado en atmósfera inerte y azufrada. La topografía de la superficie de la muestra con glicina (**Figura 5**) evidenció una mayor uniformidad en comparación al recubrimiento con etanolamina (**Figura 6**). En cuanto a la película ZS9-1S, ésta presentó una superficie lisa, a diferencia de la muestra ZS12-1S, en la cual se evidenció mayor rugosidad. El análisis EDS reveló las señales espectrales características del ZnS y del sustrato de vidrio-cuarzo, lo que indicó la ausencia de impurezas en los recubrimientos.

Las muestras también se caracterizaron ópticamente. En la **figura 7** se presentan los espectros de transmitancia de los recubrimientos de ZnS obtenidos variando el agente complejante.

Los espectros muestran que en un rango de longitud de onda (λ) menor a 331 nm hay valores muy bajos de transmitancia ($<20\%$), lo que contribuye a la absorción de fotones para valores cercanos al ultravioleta. En las muestras ZS9-1S y ZS12-1S, con espesores de 1.200 nm y 1.100 nm, la transmitancia presentó valores para $331\text{ nm} \leq \lambda < 700\text{ nm}$ en un rango mayor al 50 y 70 %, respectivamente. Los bajos valores de transmitancia están asociados con el espesor del recubrimiento; en este sentido, se ha reportado un decrecimiento en los valores de transmitancia en relación con el aumento del espesor de las películas delgadas atribuido a la interferencia de la luz transmitida a través de la película delgada y el sustrato (**Goktas, et al., 2012**), las cuales aumentan con el espesor de la película. Los resultados también muestran que los mayores valores de transmitancia ($>80\%$) se obtienen en un rango igual o mayor a 600 nm (próximo al infrarrojo cercano).

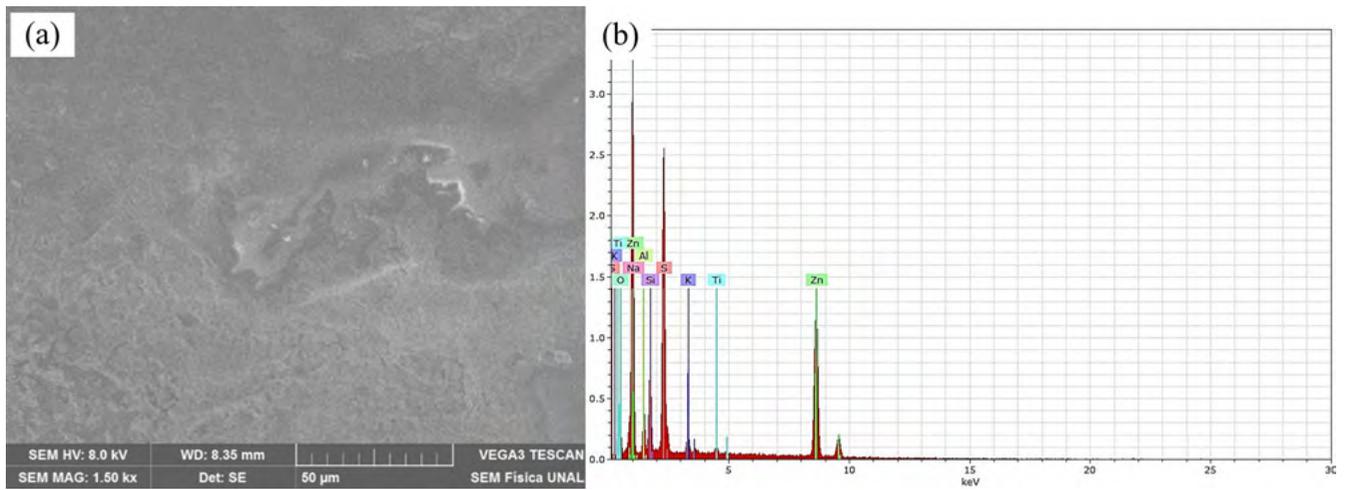


Figura 5. Micrografía SEM tomada a 1.500X y espectro EDS de la muestra ZS9-1S

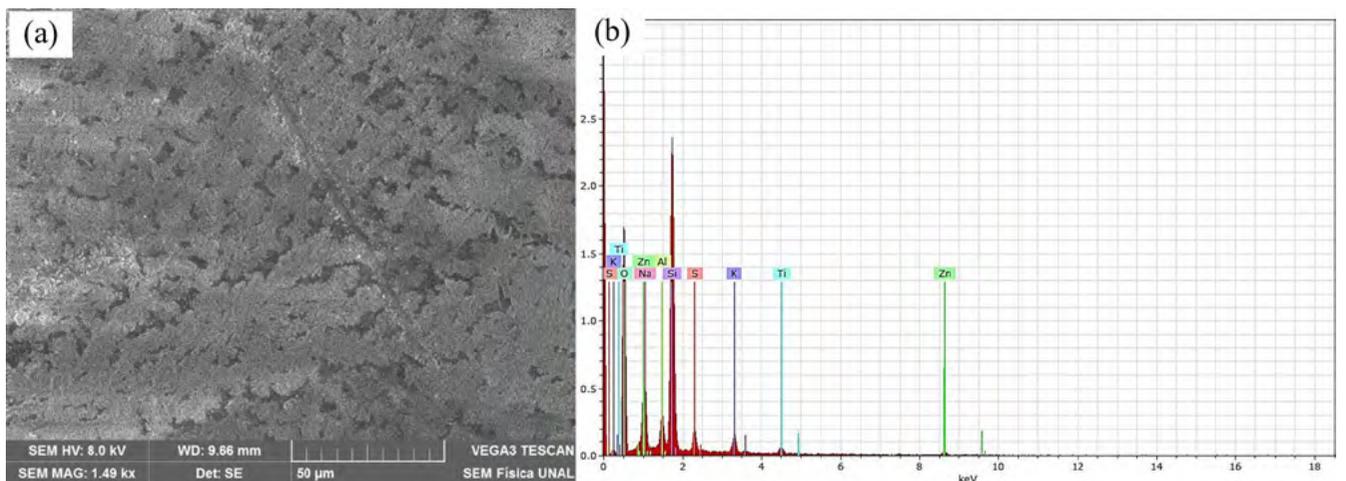


Figura 6. Micrografía SEM tomada a 1500X y espectro EDS de la muestra ZS12-1S, respectivamente.

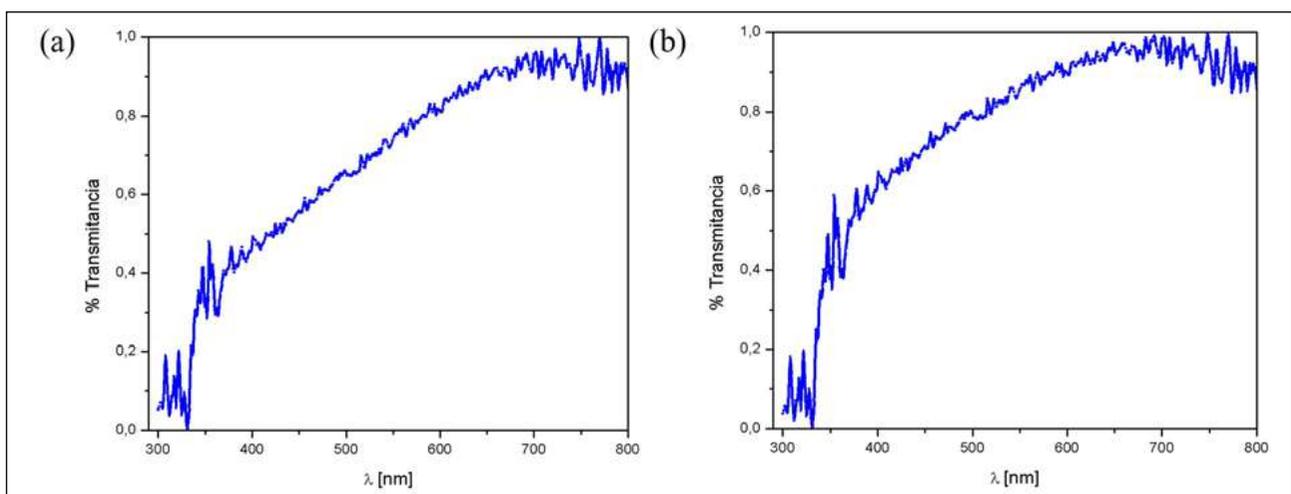


Figura 7. Espectros de transmitancia de las películas delgadas de ZnS: a) ZS9-1S y b) ZS12-1S

En el procedimiento para calcular el espesor del recubrimiento, el coeficiente de absorción y la brecha de energía prohibida (*gap*) de las muestras se utilizó el programa C.O.P.S. (Vargas-Perea, *et al.*, 2018) basado en el método de Swanepoel (Swanepoel, *et al.*, 1983). A partir de los espectros de transmitancia se obtuvo la curva que relaciona el coeficiente de absorción $(\alpha hv)^2$ en función de la energía de luz incidente (hv) por intercepto del eje (hv) de la línea que resulta de extrapolar el segmento lineal en determinada región del espectro. De este modo, a partir de los resultados del C.O.P.S. se estimó un valor de banda prohibida igual a 3,7 eV para transiciones directas permitidas, sin que se presentara variación con respecto al agente complejante empleado en la síntesis del material. En estudios previos sobre el efecto de la variación del espesor de películas delgadas de ZnS en las constantes ópticas usando el método de Swanepoel, se evidenció que al aumentar el espesor entre 300 y 1.300 nm aumenta el valor de la brecha debido a que la cristalinidad de la película aumenta al mejorar la homogeneidad de la red minimizando, así, la cantidad de defectos y estados localizados (Márquez, *et al.*, 2014; Vishwakarma, 2017). El valor de la brecha obtenido coincide con el de otros trabajos sobre la fabricación de películas delgadas de ZnS para celdas solares (Hurma, 2018; Hyun, *et al.*, 2012). Los altos valores en la brecha son adecuados para el uso de las películas obtenidas en este trabajo como capa amortiguadora en celdas solares, pues permiten el paso de fotones de alta energía a la capa absorbente donde se generan los portadores de carga eléctrica.

Conclusiones

Se estudió la síntesis sol-gel del ZnS en términos del efecto de los precursores del zinc, el azufre y los agentes complejantes. En cuanto al efecto de la fuente metálica, el cloruro de zinc favoreció la obtención de las fases deseadas, producto de una efectiva solvatación del catión metálico y la estabilización de los complejos formados en solución. El análisis XRD evidenció la formación del ZnS-ZnO en las muestras obtenidas empleando el agente complejante glicina y la de ZnO únicamente con el ligando orgánico etanolamina. Además, se demostró que los soles obtenidos a partir del cloruro de zinc, los agentes complejantes glicina o etanolamina, y la mezcla de tiourea+sulfuro de amonio como fuentes de azufre son estables con respecto a la formación del gel.

El estudio evidenció que la elaboración de recubrimientos de ZnS mediante el método sol-gel (a partir de cloruro de zinc, ETA y T+NS) y la técnica de recubrimiento por centrifugación son eficientes bajo un tratamiento en aire y sulfuración a 500 °C durante 6 horas y favorecen la obtención de la fase de wurtzita, en tanto que el tratamiento a 500 °C bajo N₂ durante más de 12 horas permitió la preparación de la fase de tipo blenda. En cuanto al agente complejante, el análisis estructural con XRD confirmó la presencia de los polimorfos del ZnS, blenda y wurtzita, en la muestra preparada con cloruro de zinc, glicina y la mezcla de los precursores de azufre, tiourea y sulfuro de amonio (ZS9-1S), en tanto que el difractograma para el recubrimiento obtenido a partir de cloruro de zinc, etanolamina como ligando orgánico y la mezcla de tiourea con sulfuro de amonio (ZS12-1S) sólo evidenció la fase de tipo blenda. Las películas preparadas a partir de glicina exhibieron mayor cristalinidad frente a las que se sintetizaron con etanolamina; en ese sentido, puede decirse que la cristalinidad de las muestras y la presencia de los polimorfos está relacionada con el efecto del agente complejante y la atmósfera de reacción. El análisis morfológico con SEM de las películas tratadas en nitrógeno gaseoso evidenció la presencia de grietas debido, probablemente, a las contracciones generadas durante el proceso térmico. En cuanto al efecto del agente complejante, se resalta que los recubrimientos obtenidos con glicina fueron más homogéneos que los de etanolamina, ya que sus fragmentos presentaron una textura lisa. La caracterización elemental semicuantitativa por EDS permitió comprobar la pureza de las muestras. Las medidas de transmitancia presentaron valores superiores al 50 %, siendo la muestra que empleó etanolamina como agente complejante (ZS12-1S) la que presentó mayor transmisión en comparación con la que utilizó glicina (ZS9-1S) como ligando orgánico. El valor de la brecha calculado mediante el programa C.O.P.S. con base

en el procedimiento de Swanepoel fue de 3,7 eV. Los resultados obtenidos confirman que las películas de ZnS depositadas se podrían emplear como capa amortiguadora en celdas solares del tipo de película delgada.

Información suplementaria

Figura suplementaria 1. Micrografías SEM de la muestra ZS12-18H. Aumentos de 200X y 1500X. Ver la figura suplementaria 1 en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1032/2883>

Figura Suplementaria 2. Micrografías SEM de la muestra ZS12-24H. Aumentos de 200X y 1500X. Ver la figura suplementaria 2 en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1032/2884>

Figura Suplementaria 3. Espectros EDS de las muestras: a) ZS12-18H y b) ZS12-24H. Ver la figura suplementaria 3 en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1032/2885>

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander (UIS) por su apoyo a la formación de profesionales integrales. A los laboratorios de rayos x, microscopía e instrumental de la UIS por su colaboración en la medición de las muestras obtenidas en el marco de este proyecto. A la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por los servicios prestados en el laboratorio de microscopía.

Contribución de los autores

JAVR: experimentación, caracterización y análisis de resultados; VG y MAB: asesoría del proyecto global titulado “Síntesis y caracterización de películas delgadas de ZnS” desarrollado en el laboratorio de síntesis de materiales fotovoltaicos bajo la dirección de MAB; CLC: discusión de resultados, revisión y corrección del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Botero, M., Gordillo, G., Calderón, C.** (2013). Preparación y estudio de películas delgadas de ZnS y ZnS: In. *Revista Colombiana de Física*. **45** (2):168-171.
- Goktas, A., Aslan, F., Yasar, E., Mutlu, I. H.** (2012). Preparation and characterization of thickness dependent nano-structured ZnS thin films by sol-gel technique. *Mater. Electron.* **23**: 1361-1366.
- Gómez-Barojas, E., Sánchez-Mora, E., Castillo-Abriz, C., Flores-Rodríguez, E., Silva-González, R.** (2013). Synthesis and Study of Optical and Photocatalytic Properties of Mn and Sm Doped ZnS Grown by Sol-Gel. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*. **26**: 2337-2340.
- Green, M. A., Dunlop, E. D., Levi, D. H., Hohl-Ebinger, J., Yoshita, M., Ho-Baillie, A. W. Y.** (2019). Solar cell efficiency tables (version 55). *Progress in Photovoltaics: Research and Applications*. **27**: 565-575.
- Hurma, T.** (2018). Structural and optical properties of nanocrystalline ZnS and ZnS:Al films. *Journal of Molecular Structure*. **1161**: 279-284.
- Husain, A. A. F., Hasan, W. Z. W., Hamidon, M. N., Pandey, S. S.** (2018). A review of transparent solar photovoltaic technologies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **94**: 779-791.
- Hyun, D., Hoon, J., Nam, K., San, K., Guk, Y.** (2012). Structural and optical properties of ZnS thin films deposited by RF magnetron sputtering. *Nanoscale Res Lett*. **7** (1): 26-32.
- Kabir, E., Kumar, P., Kumar, S., Adelodun, A., Kim, K.** (2018). Solar Energy: Potential and future prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **82**: 894-900.
- Lee, T. D., Ebong, A. U.** (2017). A review of thin film solar cell technologies and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **70**: 1286-1297.
- Liu, W., Yang, C., Hsieh, S., Chen, W., Fern, C.** (2013). Effect of deposition variables on properties of CBD ZnS thin films prepared in chemical bath of $ZnSO_4/SC(NH_2)_2/Na_3C_3H_5O_7/NH_4OH$. *Applied Surface Science*. **264**: 213-218.

- Liu, T., Ke, H., Zhang, H., Duo, S., Sun, Q., Fei, X., Zhou, G., Liu, H., Fan, L.** (2014). Effect of four different zinc salts and annealing treatment on growth, structural, mechanical, and optical properties of nanocrystalline ZnS thin films by chemical bath deposition. *Materials Science in Semiconductor Processing*. **26**: 301-311.
- Márquez, E., Shaaban, E. R., Abousehly, A. M.** (2014). Structural and optical properties of ZnS thin films. *Int. J. New. Hor. Phys.* **1**: 17-24.
- Pathak, T., Kumar, V., Purohit, L. P., Swart, H. C., Kroon, R. E.** (2016). Substrate dependent structural, optical and electrical properties of ZnS thin films grown by RF sputtering. *Physica E*. **84**: 530-536.
- Powalla, M., Paetel, S., Ahlswede, E., Wuerz, R., Wessendorf, C. D., Friedlmeier, T. M.** (2018). Thin-film solar cells exceeding 22% solar cell efficiency: An overview on CdTe-, Cu(In,Ga)Se₂-, and perovskite-based materials. *Applied Physics Reviews*. **5** (4): 1-30.
- Reinisch, M., Perkins, C. L., Steirer, K. X.** (2016). Quantitative Study on the Chemical Solution Deposition of Zinc Oxysulfide. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*. **5** (2): 58-66.
- Rodgers, G. E.** (1996). *Química inorgánica: Introducción a la Química de coordinación, del estado sólido y descriptiva* (pp. 663-664). Madrid, España: Editorial Mc Graw Hill.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R.** (2005). *Fundamentos de química analítica* (pp. 1090-1091). Ciudad de México, México: Editorial Cengage Learning.
- Swanepoel, R.** (1983). Determination of the thickness and optical constants of amorphous silicon. *Journal of Physics. E: Scientific Instruments*. **16**: 1214-1223.
- Vargas-Perea, H. A., Rocha-González, R., Botero-Londoño, M. A., Sepúlveda-Sepúlveda, A., Calderón, C. L.** (2018). Herramienta de software para determinar constantes ópticas en celdas solares tipo película delgada. *DYNA*. **85** (206): 321-328.
- Vasconcelos, P. G., Aguirre, M. O.** (2017). Photovoltaic solar energy: Conceptual framework. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **74**: 590-601.
- Vishwakarma, R.** (2017). Thickness-dependent structural, electrical, and optical properties of ZnS thin films deposited by thermal evaporation. *Ukrainian Journal of Physics*. **62**: 422-431.
- Zhang, R., Wang, B., Zhang, H., Wei, L.** (2005). The structure and optical properties of the nanocrystalline ZnS films prepared by sulfurizing the as-deposited ZnO films. *Applied Surface Science*. **241**: 435-441.

Physical Sciences

Original article

Influence of process parameters on the size, morphology, and structure of magnetic nanoparticles obtained by chemical methods

Influencia de los parámetros de proceso en el tamaño, morfología y estructura de nanopartículas magnéticas obtenidas mediante métodos químicos

✉ Nicolás Ortiz-Godoy^{1,*}, ✉ Dayi Gilberto Agredo-Díaz¹, ✉ Jimmy Rene Junco¹,
✉ David Arsenio Landínez-Téllez², ✉ Jairo Roa-Rojas²

¹ Departamento de Ingeniería Mecánica y Mecatrónica, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

² Grupo de Física de Nuevos Materiales, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Abstract

In the last decade, magnetic nanomaterials have been widely used in the fields of chemistry, physics, engineering, and medicine due to their optical, magnetic, and conductive properties, and as contrast agents in magnetic resonance. Their influence in the treatment of cancerous tumors has been evaluated and has sparked great interest in its use in environmental repair systems such as magnetic absorbers that trap metal particles and some contaminants. Here we analyze the influence of process parameters to obtain magnetic nanoparticles under three chemical synthesis methods. Its morphological characterization was performed by scanning electron microscopy (SEM), its elemental composition by energy dispersive spectroscopy (EDS), and its structure by x-ray diffraction (XRD). Our results showed that the obtention method had a great influence as evidenced by the variability in nanoparticle sizes. It is worth highlighting that we obtained particles at a nanometric scale, especially Fe_3O_4 (magnetite) and Fe_2O_3 (maghemite) structures, with potential superparamagnetism properties that could open a wide range of future applications for the production of these materials at low cost and easy access.

Keywords: Magnetic nanoparticles; Magnetite; Maghemite; SEM; XRD.

Resumen

En la última década los nanomateriales magnéticos se han utilizado ampliamente en el campo de la química, la física, la ingeniería y la medicina debido a sus propiedades ópticas, magnéticas y de conducción, y como agentes de contraste en resonancia magnética. Se ha evaluado su influencia en el tratamiento de tumores cancerosos y está despertando gran interés en sistemas de reparación ambiental como absorbentes magnéticos que atrapan partículas de metal y algunos contaminantes. En este estudio se analizó la influencia de los parámetros de proceso en la obtención de nanopartículas magnéticas bajo tres métodos de síntesis química. La caracterización morfológica se hizo por microscopía electrónica de barrido (SEM), su composición elemental se estudió mediante espectroscopia de energía dispersiva de rayos x (EDS), y su estructura, mediante difracción de rayos x (XRD). Los resultados evidenciaron una gran influencia del método de obtención, como se reflejó en la variabilidad del tamaño de las nanopartículas. Es de resaltar la obtención de partículas a escala nanométrica, con predominancia de estructuras Fe_3O_4 (magnetita) y Fe_2O_3 (maghemita), lo cual supondría propiedades de superparamagnetismo que abrirían el camino a un amplio abanico de aplicaciones futuras con su producción a bajo costo y de fácil acceso.

Palabras clave: Nanopartículas magnéticas; Magnetita; Maghemita; MEB; DRX.

Citation: Nicolás Ortiz-Godoy, Dayi Gilberto Agredo-Díaz, Jimmy Rene Junco, *et al.* Influence of process parameters on the size, morphology, and structure of magnetic nanoparticles obtained by chemical methods. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):951-959, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1223>

Editor: Gabriel Téllez Acosta

***Corresponding autor:**
Nicolás Ortiz Godoy;
nortizg@unal.edu.co

Received: May 22, 2020

Accepted: July 30, 2020

Published: December 5, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

Introduction

Recently, studies have centered on nanomaterials with magnetic behavior that have different applications in physics, chemistry, and medicine due to their optical properties, as well as in other fields (Blanco-Gutiérrez, *et al.*, 2013; Kisan, *et al.*, 2014; Blanco-Gutiérrez, *et al.*, 2010; López-Ruiz, *et al.*, 2012; Muñoz, *et al.*, 2013). They are also used as a contrast in vascular diagnostic imaging (Bakenecker, *et al.*, 2020), like temperature sensors in MRI (Hankiewicz *et al.*, 2019), and as an alternative treatment for patients with cancerous tumors through magnetic fluid hyperthermia (MFH) (Benhal, *et al.*, 2019). In environmental remediation, their ability to retain metals and contaminants, such as chromium VI in contaminated water resulting from the corrosion caused by the stainless-steel present in nuclear reactor shells, has been tested as well, which is vital given the risk it represents for the environment and human health (Ismail, *et al.*, 2019). Similarly, they have proven useful to detect *Salmonella* in milk quickly and efficiently (Jin, *et al.*, 2020) and in the processing of cooking oil waste to make biodiesel using magnetic nanoparticles as a catalyst (Touqeer, *et al.*, 2020).

Magnetic nanoparticles can be obtained by chemical and physical methods (Wang & Zhang, 2020), using a hydrothermal method based on low-temperature coprecipitation (Chellappa & Vijayalakshmi, 2019), or by self-combustion (Sontu, *et al.*, 2018).

Within the wide variety of magnetic nanoparticles, iron oxides such as magnetite Fe_3O_4 and maghemite Fe_2O_3 stand out due to their stability and accessibility. Magnetite is stable in the pH range between 8 and 14 in an environment where no oxidation is present. The composition has a ratio of 2:1 of Fe^{3+} and Fe^{2+} ions whereas if the process is carried out in a potentially oxidizing environment what maghemite is obtained (Toma, *et al.*, 2016).

In the present study, we compared three chemical methods for obtaining magnetic Fe nanoparticles, each of them with a different degree of difficulty. We specifically compared their effectiveness in obtaining a homogeneous morphology and nanometric scale and an adequate elemental composition, i.e., with no contamination of the precursor elements of the process and with a highly crystalline structure.

One of the synthesis methods discussed in our study was coprecipitation in an aqueous medium without temperature, which has a medium-level complexity and can be carried out in a standard laboratory. This method was used by Arévalo, *et al.* (2017) with a great variety of precursors, such as polymeric surfactants, polyvinyl alcohol, and others, and they achieved a high level of reliability in the synthesis of particles with nanometric dimensions and spinel structure, which is characteristic of magnetite. Other researchers obtained similar results when using this method with different precursors (Houshiar, *et al.*, 2014; Iranmanesh, *et al.*, 2018; Raeisi-Shahraki, *et al.*, 2012).

The second synthesis method we analyzed was the obtention of magnetic Fe nanoparticles by using ferrous sulfate as the main precursor for coprecipitation at a constant temperature of 90°C. A similar process using the same main precursor but a different chemical synthesis method was conducted by Tao, *et al.* (2020). In their study, they made the physicochemical analysis of the sustainable production of Fe_2O_3 nanoparticles from the reduction of ferrous sulfate with coke, thereby optimizing the sulfur recycling process resulting from the obtention of white titanium (Ren, *et al.*, 2017). The third method we explored was coprecipitation without temperature where the precursor is an alternative element such as iron filings obtained from nails or wires and immersed in an acidic medium, such as vinegar, for a period of 12 to 24 hours (Toma, *et al.*, 2016).

Materials and methods

Nanoparticles were obtained through three synthesis methods which we describe below:

Synthesis method 1

In this method, we used coprecipitation in an aqueous medium without temperature mixing the Fe^{2+} and Fe^{3+} precursors in an alkaline medium (Toma, *et al.*, 2016). First, we prepared

two solutions in distilled water in beakers: one with 1.079 M de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and another with 2.1458 M de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. These two solutions were then mixed using a mechanical agitator with a polymer impeller at 1000 rpm for 5 minutes. Subsequently, we prepared a solution with 0.3 M de NaOH in distilled water and added it to the previously made mixture, we then incorporated the three solutions and stirred again at 1000 rpm until the initially orange mixture changed to black, after which we continued to stir for another 15 minutes. Once the mechanical agitation finished, magnetic nanoparticles (MNP) were separated using a neodymium magnet, subsequently decanted with acetone, and, finally, completely dried by applying temperature on a watch glass to eliminate all the humidity. **Figure 1** shows an outline of the method.

Synthesis method 2

Figure 2 shows an outline of the second synthesis method where we used a mechanical stirrer with a polymer impeller and a temperature plate to maintain a constant temperature of 80 to 90°C in the mixture throughout the stirring process. The 66×10^{-3} M solution of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ was prepared in distilled water and mixed with two previously prepared solutions: the first one with 56.05×10^{-3} M de KNO_3 and the second one with 1.485 M de KOH, both in distilled water. Then the beaker with the mixture was placed on the preheated plate, the temperature was quickly stabilized between 80 and 90°C, and, then, the mixture was stirred at 1000 rpm. When we started the mixing of the three solutions, the color was green which later turned to black due to the reactions produced by the agitation and the temperature. After this color was reached, we continued agitating for 20 minutes and, finally, we checked the alkaline pH of the product at a range between 12 and 14. Then the NPMs were separated using a neodymium magnet and decanted with acetone for their subsequent drying (**Toma, et al., 2016**).

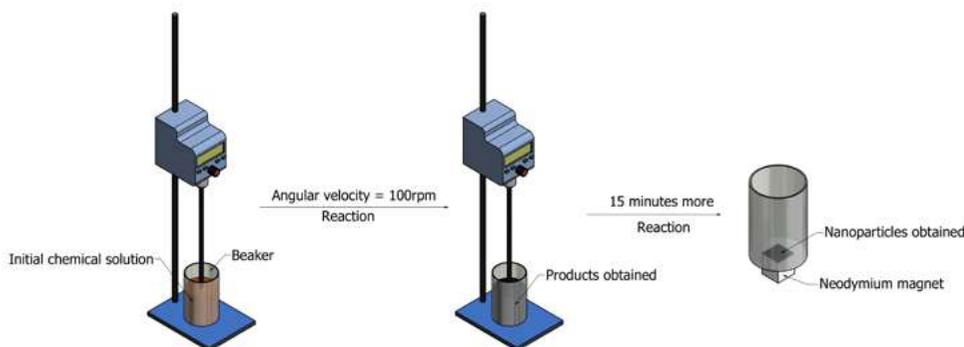


Figure 1. Simplified scheme of synthesis method 1

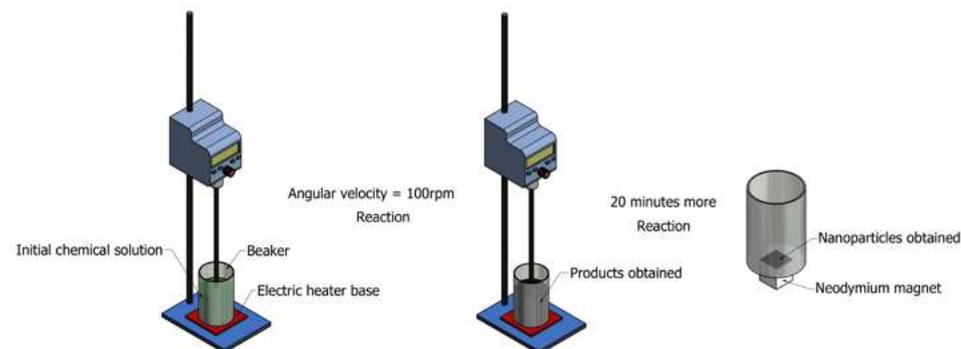


Figure 2. Simplified scheme of synthesis method 2

Synthesis method 3

For the development of the third method, a lance was used as the main precursor, which was kept immersed in a beaker with vinegar for a period of 24 hours to obtain an iron solution. This precursor was selected and used as recommended by **Toma, *et al.*** (2016) for non-conventional materials potentially suitable to obtain NPMs. After the 24-hour period, the medium had elapsed and we separated the lance and the iron solution obtained: one third in one beaker and the remaining two thirds in another one. Then, we slowly added 10 volumes of hydrogen peroxide to the beaker containing two-thirds of the iron solution until it changed from yellow to black. Subsequently, the black solution obtained was mixed with the remaining iron solution and a 5 M solution of NaOH in distilled water. The final mixture was stirred with a glass mixer to homogenize it until the black color was obtained again in the final product. The resulting NPMs were then separated using a neodymium magnet, decanted using acetone, and, finally, dried to remove the moisture. **Figure 3** shows an outline of this synthesis method.

We analyzed the morphology of the three totally dried nanoparticle samples by scanning electron microscopy in a Vega3 Tescan electronic microscope and we measured their size by implementing the free version of the ImageJ computational tool (**Schneider, *et al.***, 2012).

The elemental characterization of the samples was performed using a Bruker XFlash® 410-M EDS probe coupled to the scanning electron microscope.

The structural characterization was carried out by X-ray diffraction (XRD) in a PANalytical X'Pert Pro diffractometer with a Co anode, a wavelength of $K\alpha=1,789 \text{ \AA}$, a current of 40 mA, and a voltage of 40 kV using the Bragg Brentano configuration with an angular step of 0.013° and an exposure time of 10 s.

Results and discussion

Morphological characterization

Figure 4a, obtained by scanning electron microscopy at 8.72 kX, shows the results for the synthesis method 1 revealing a random distribution of particles of different sizes with irregular granular formations of the particles and an average size of $2.31 \pm 1.05 \mu\text{m}$. Grey tones corresponding to the elements present in the sample Na, S, Cl, and Fe are evident in the image of backscattered electrons.

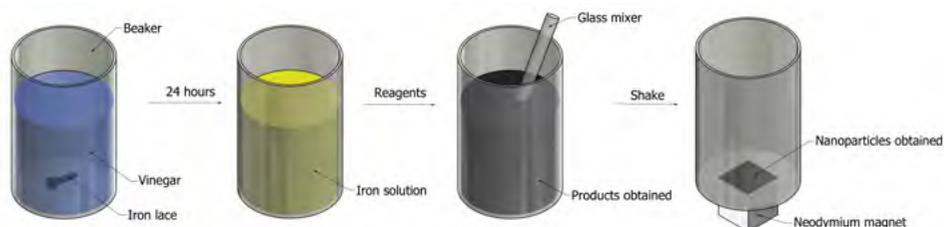


Figure 3. Simplified scheme of synthesis method 3

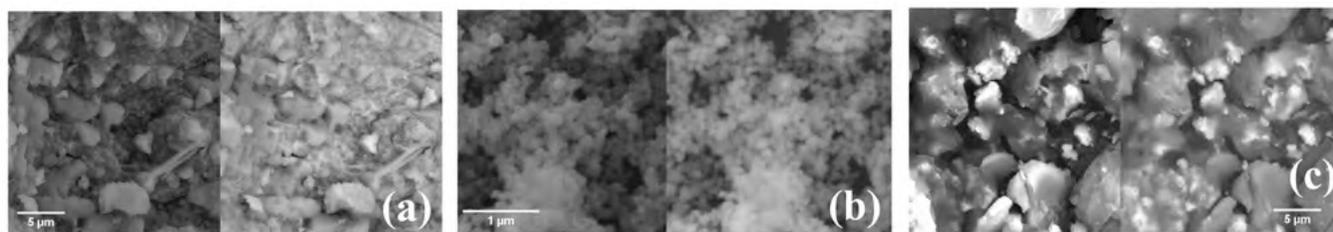


Figure 4. SEM micrographs of the samples. (a) Synthesis method 1, (b) Synthesis method 2, (c) Synthesis method 3

The results from the scanning electron microscopy at 70 kX for synthesis method 2 (**Figure 4b**) showed a spherical and uniform morphology. We calculated the average particle size obtaining a value of 104 ± 27 nm. These results are similar to those obtained by **Mohamad, et al.** (2020) where the glutathione catalyzed nano-magnetite particles appeared as scales and spheres with a particle size in the range of 50 to 100 nm. These results are also similar to those obtained by other researchers (**Shahid & Choi, 2020**; **Nurlilasari, et al., 2020**).

Synthesis method 3 (**Figure 4c**) at 8.72 kX showed particles of irregular morphology with an average size of 4.03 ± 1.95 μm , which evidences that this method can produce micrometric particles due to the low speed of agitation used during the obtention process and the nature of the precursor elements.

Composition

In the spectrum of **figure 5a**, we observed a marked presence of Fe and O from which the possible formation of iron oxides can be inferred, as explained by **Rodríguez-López (2012)** in his doctoral work on the study of the synthesis and characterization of magnetite nanoparticles where he pointed out that this is the typical elemental composition of iron oxide particles. The appearance of elements such as Cl, S, and Na as residual traces of the precursors used in this method is evident as it has been reported in other studies by **Rodríguez-López, et al. (2012)** where they obtained magnetite particles using electrochemical methods.

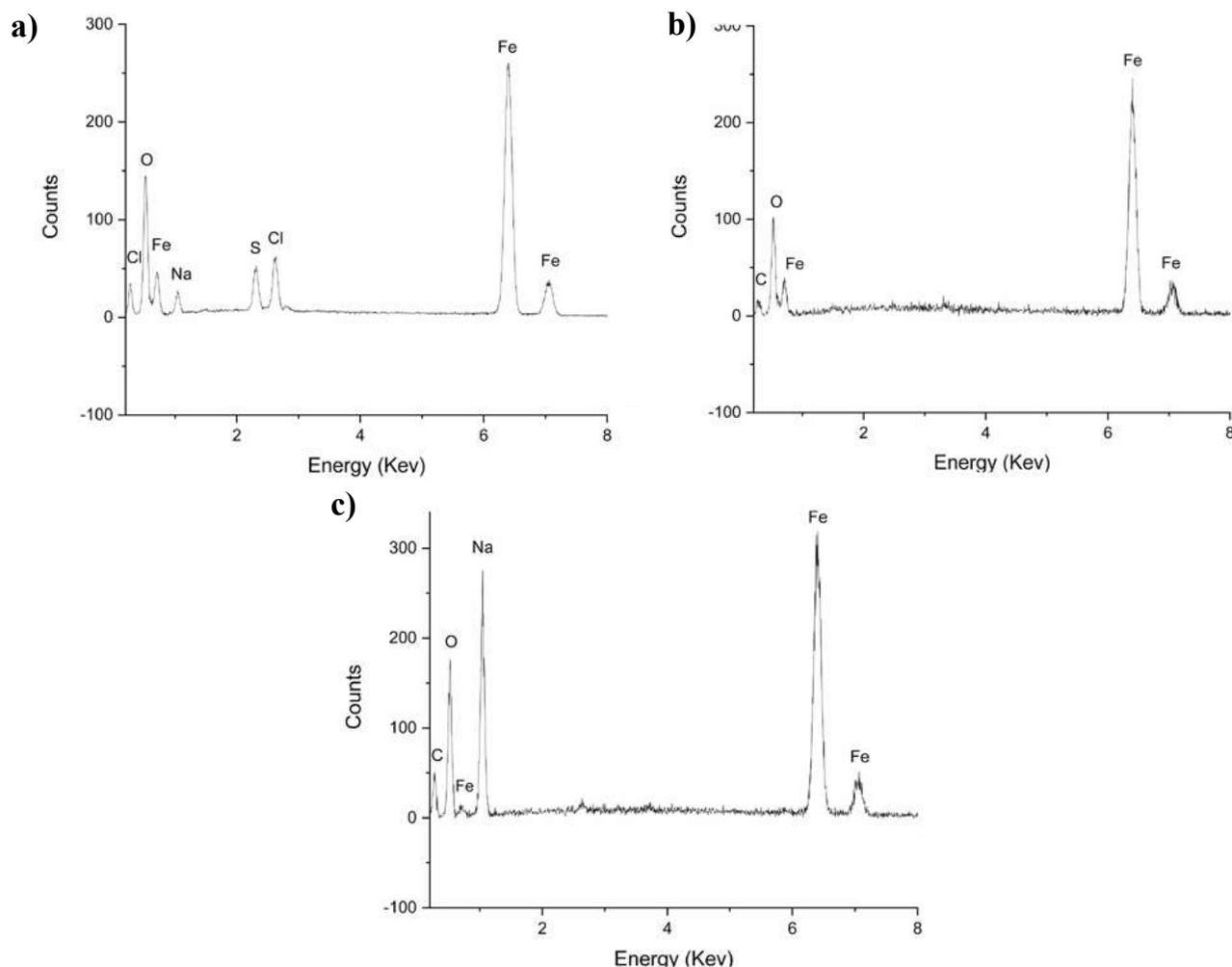


Figure 5. Elemental composition by EDS of the samples. (a) Synthesis method 1, (b) Synthesis method 2, (c) Synthesis method 3

The elemental composition shown in **figure 5b** corresponds to the sample obtained by using synthesis method 2, which presents a high purity since no peaks different from those of Fe and O are evident. However, the C, corresponding to the graphite tape used for the positioning of the powder in the scanning electron microscope camera, can be identified. Since the elements detected are Fe and O (as in method 1), we can infer that these particles correspond to iron oxides. This result is consistent with the investigations by **Yuan, *et al.*** (2020) where magnetite coatings were characterized.

The results of Method 3 are shown in **figure 5c** with the EDS spectrum showing a high presence of Fe, which indicates that these particles may be iron or iron oxides due, again, to the oxygen peak detected. The presence of Na, a product of the precursors, is strongly marked.

Structural characterization

Figure 6a shows the diffractogram obtained for the sample synthesized by method 1 where the peaks corresponding to the crystalline structures of iron oxides are clearly observed. We also detected that the presence of magnetite was consistent with the diffraction pattern identified in the databases under ICDD No. 01-075-0449 and the magnetite identified under ICDD No. 00-025-1402. In **Shahid & Choi's** (2020b) study, the presence of these structures was evidenced in the samples obtained from industrial waste by inverse coprecipitation in the open air. Those samples showed magnetic behavior and structural results equivalent to those obtained in our study for the maghemite and magnetite phases.

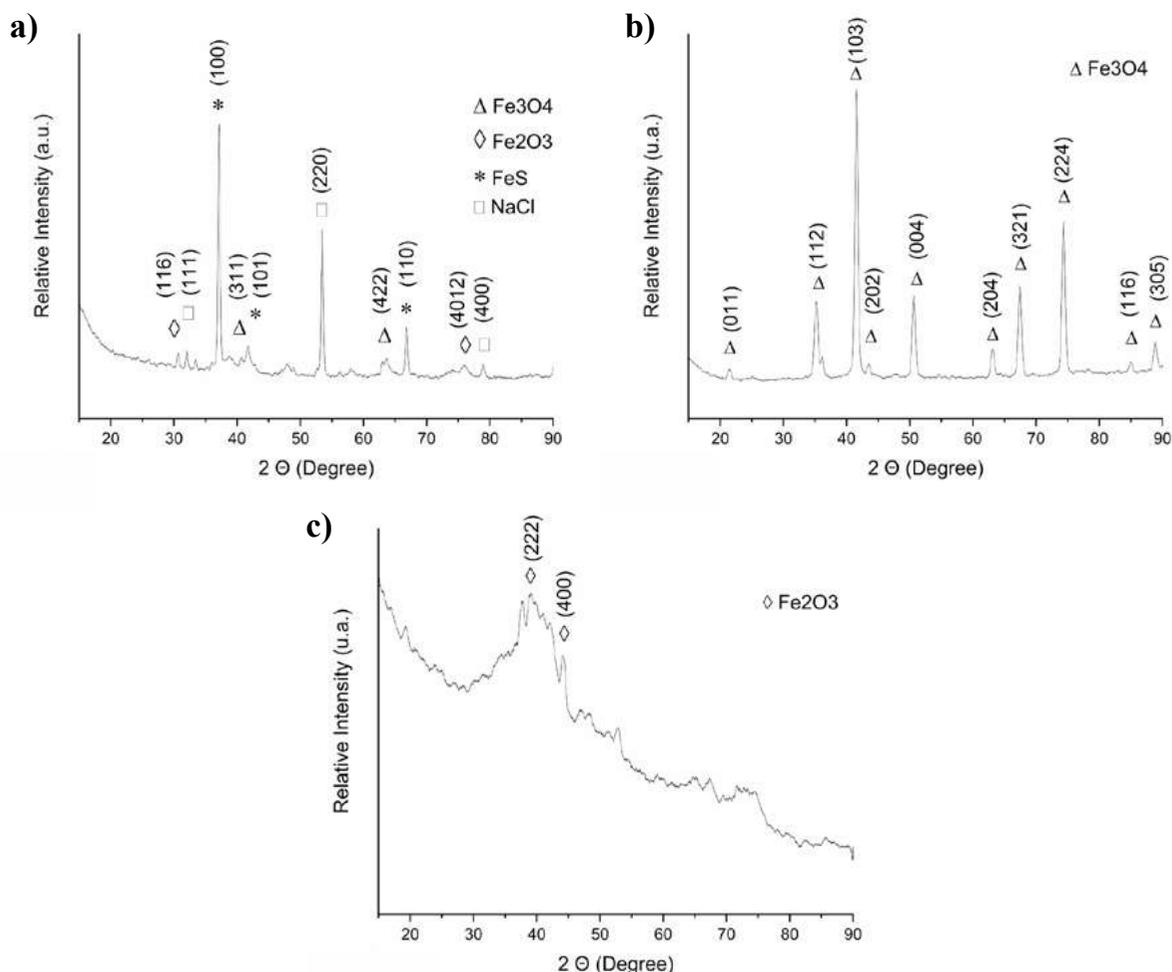


Figure 6. Diffractograms of the samples. (a) Synthesis method 1, (b) Synthesis method 2, (c) Synthesis method 3

As observed in the EDS, this sample had additional elements such as S, Cl, and Na, which formed crystalline salt structures such as NaCl matching the diffraction pattern identified by ICDD reference No. 00-002-0818 and FeS identified by ICDD reference No. 00-049-1632 in the process of obtention.

The diffractogram in **figure 6b** (synthesis method 2) allowed the identification of the formation of a single orthorhombic crystal structure present in the sample corresponding to the characteristic peaks of magnetite (Fe_3O_4). Those peaks matched with the diffraction pattern identified as ICDD reference No. 01-075-1609, an iron oxide known as magnetite with ferromagnetic behavior (Noval, *et al.*, 2017). This result is similar to the diffraction pattern obtained in the study conducted by Singh, *et al.* (2020) where they obtained and characterized magnetite-ZnO nanocomposites in which the magnetite had an equivalent diffraction pattern. In this sample, a greater definition of the diffraction peaks was observed due to the temperature used in the process, a similar behavior to that obtained by Picasso, *et al.* (2012) using low and high temperatures during the process for obtaining magnetite particles by sol-gel and coprecipitation.

The diffraction pattern in **figure 6c** corresponds to the sample obtained with synthesis method 3: A mostly amorphous structure and two peaks corresponding to the iron oxide known as maghemite (Shokrollahi, 2017) coinciding with the diffraction pattern identified with the ICDD reference No. 00-039-0238. Patra, *et al.* results (2019) were similar, as they obtained amorphous maghemite by direct solid-state synthesis. This type of structures, especially amorphous nanoparticles, have different physicochemical properties showing weaker magnetization responses than those shown by the same nanoparticles with a defined crystalline structure (Hoang & Ganguli, 2012).

Our results using methods 1 and 2 are consistent with those reported in the literature in terms of morphology and particle size, meaning they are easily accessed and developed to obtain maghemite and magnetite nanoparticles.

Conclusions

The elemental composition of the samples analyzed by EDS primarily included Fe and O consistent with results reported in the literature regarding the composition of magnetic iron nanoparticles.

Method 2 did not present traces of any element other than Fe and O, however, methods 1 and 3 had traces of elements such as Na, S, and Cl, which are products of the precursors.

The samples obtained by method 2 showed crystalline magnetite structures while those obtained by synthesis method 1 showed structures of magnetite, maghemite, iron sulfide, and sodium chloride, and synthesis method 3 was characterized by the formation of an amorphous structure with small maghemite spikes.

These results showed that the obtention method has a great influence on the morphology and particle size with the sample obtained by method 2 being the most suitable in terms of its homogeneous, spherical, and nano-sized shapes up to 80 times smaller than those achieved by method 3 and up to 40 times smaller than those from method 1. These results open up a range of possibilities regarding the size, structure, and magnetic properties of the particles for future applications.

The physicochemical properties, particularly the magnetic ones, are affected by the presence of elements other than Fe and O, as well as the presence of an amorphous structure, a property that will be studied in future studies.

Author contributions

NOG, DGAD, and JRR collaborated with the synthesis of the samples, compiled the EDS and SEM results, and wrote the manuscript; JRJ carried out the synthesis of the nanoparticles and carried out the structural characterization; DALT collaborated with the compositional and structural analysis of the samples.

Conflicts of interest

The authors declare that there is no conflict of interest of any kind regarding the publication of the results of our research work.

References

- Arévalo, P., Isasi, J., Caballero, A. C., Marco, J. F., Martín-Hernández, F. (2017). Magnetic and structural studies of Fe₃O₄ nanoparticles synthesized via coprecipitation and dispersed in different surfactants. *Ceramics International*. **43** (13): 10333-10340. Doi: 10.1016/j.ceramint.2017.05.064
- Bakenecker, A. C., Ahlborg, M., Debbeler, C., Kaethner, C., Buzug, T. M., Lüdtke-Buzug, K. (2020). Magnetic particle imaging in vascular medicine. *Innovative Surgical Sciences*. **3** (3): 179-192. Doi: 10.1515/iss-2018-2026
- Benhal, P., Broda, A., Najafali, D., Malik, P., Mohammed, A., Ramaswamy, B., Shapiro, B. (2019). On-chip testing of the speed of magnetic nano- and micro-particles under a calibrated magnetic gradient. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **474** (November 2018): 187–198. Doi: 10.1016/j.jmmm.2018.10.148
- Blanco-Gutiérrez, V., Demourgues, A., Gaudon, M. (2013). Sub-micrometric β-CoMoO₄ rods: optical and piezochromic properties. *Dalton Transactions*. **42**: 13622-13627.
- Blanco-Gutiérrez, V., Saez-Puche, R., Torralvo-Fernández, M. J. (2010). Magnetic behavior of ZnFe₂O₄ nanoparticles: Effects of a solid matrix and the particles size. *Physical Chemistry C*. **114**: 1789-1795.
- Chellappa, M., & Vijayalakshmi, U. (2019). Fabrication of Fe₃O₄-silica core-shell magnetic nano-particles and its characterization for biomedical applications. *Materials Today: Proceedings*. **9**: 371-379. Doi: 10.1016/j.matpr.2019.02.166
- Hankiewicz, J. H., Stoll, J. A., Stroud, J., Davidson, J., Livesey, K. L., Tvrđy, K., ... Celinski, Z. J. (2019). Nano-sized ferrite particles for magnetic resonance imaging thermometry. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **469** (August 2018): 550-557. Doi: 10.1016/j.jmmm.2018.09.037
- Hoang, V. Van, & Ganguli, D. (2012). Amorphous nanoparticles - Experiments and computer simulations. *Physics Reports*. **518** (3): 81-140. Doi: 10.1016/j.physrep.2012.07.004
- Houshiar, M., Zebhi, F., Razi, Z. J., Alidoust, A., Askari, Z. (2014). Synthesis of cobalt ferrite (CoFe₂O₄) nanoparticles using combustion, coprecipitation, and precipitation methods: A comparison study of size, structural, and magnetic properties. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **371**: 43-48. Doi: 10.1016/j.jmmm.2014.06.059
- Iranmanesh, P., Tabatabai Yazdi, S., Mehran, M., Saeednia, S. (2018). Superior magnetic properties of Ni ferrite nanoparticles synthesized by capping agent-free one-step coprecipitation route at different pH values. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **449**: 172-179. Doi: 10.1016/j.jmmm.2017.10.040
- Ismail M, A., Mostafa M, H., Sayed S, M. (2019). Experimental and mathematical modeling of Cr(VI) removal using nano-magnetic Fe₃O₄-coated perlite from the liquid phase. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. **(Vi)**: 100632. Doi: 10.1016/j.neubiorev.2019.07.019
- Jin, L., Li, T., Wu, B., Yang, T., Zou, D., Liang, X., Zhang, J. (2020). Rapid detection of Salmonella in milk by nuclear magnetic resonance based on membrane filtration super-paramagnetic nanobiosensor. *Food Control*. **110** (September 2019). Doi: 10.1016/j.foodcont.2019.107011
- Kisan, B., Shyni, P. C., Layek, S., Verma, H. C., Hesp, D., Dhanak, V., Perumal, A. (2014). Finite size effects in magnetic and optical properties of antiferromagnetic NiO nanoparticles. *IEEE Transactions on Magnetics*. **50** (1). Doi: 10.1109/TMAG.2013.2278539
- López-Ruiz, R., Magén, C., Luis, F., Bartolomé, J. (2012). High temperature finite-size effects in the magnetic properties of Ni nanowires. *Journal of Applied Physics*. **112** (7). Doi: 10.1063/1.4756038
- Mohamad, N. D., Zaki, Z. M., Amir, A. (2020). Mechanisms of enhanced oxidative degradation of tetrachloroethene by nano-magnetite catalysed with glutathione. *Chemical Engineering Journal*. **393** (March): 124760. Doi: 10.1016/j.cej.2020.124760
- Muñoz, F., Romero, A. H., Mejía-López, J., Morán-López, J. L. (2013). Finite size effects on the magnetocrystalline anisotropy energy in Fe magnetic nanowires from first principles. *Journal of Nanoparticle Research*. **15** (4). Doi: 10.1007/s11051-013-1524-6
- Noval, V. E., Ochoa, C., Carriazo, J. G. (2017). Magnetita, una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea. *Revista Colombiana de Química*. **18**: 42-59. Doi: 10.15446/rev.colomb.quim.v1n1.62831

- Nurlilasari, P., Widiyastuti, W., Setyawan, H.** (2020). Novel monopolar arrangement of multiple iron electrodes for the large-scale production of magnetite nanoparticles for electrochemical reactors. *Advanced Powder Technology*. **31** (3): 1160-1168. Doi: 10.1016/j.apt.2019.12.043
- Patra, D., Gopalan, B., Ganesan, R.** (2019). Direct solid-state synthesis of maghemite as a magnetically recoverable adsorbent for the abatement of methylene blue. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **7** (5): 103384. Doi: 10.1016/j.jece.2019.103384
- Picasso, G., Vega, J., Uzuriaga, R., Ruiz, G. P.** (2012). Preparación de nanopartículas de magnetita por los métodos sol-gel y precipitación: estudio de la composición química y estructura. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*. **78** (3): 170-182.
- Raeisi-Shahraki, R., Ebrahimi, M., Seyyed Ebrahimi, S. A., Masoudpanah, S. M.** (2012). Structural characterization and magnetic properties of superparamagnetic zinc ferrite nanoparticles synthesized by the coprecipitation method. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **324** (22): 3762-3765. Doi: 10.1016/j.jmmm.2012.06.020
- Ren, G., Yang, L., Zhang, Z., Zhong, B., Yang, X., Wang, X.** (2017). A new green synthesis of porous magnetite nanoparticles from waste ferrous sulfate by solid-phase reduction reaction. *Journal of Alloys and Compounds*. **710**: 875-879. Doi: 10.1016/j.jallcom.2017.03.337
- Rodríguez-López, A., Paredes-Arroyo, A., Mojica-Gomez, J., Estrada-Arteaga, C., Cruz-Rivera, J. J., Elías Alfaro, C. G., Antaño-López, R.** (2012). Electrochemical synthesis of magnetite and maghemite nanoparticles using dissymmetric potential pulses. *Journal of Nanoparticle Research*. **14** (8). Doi: 10.1007/s11051-012-0993-3
- Rodríguez-López, A.** (2012). Estudio de la síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita por métodos electroquímicos. Access date: September 15, 2012. Retrieved from: <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/91/1/Estudiodelasintesisy caracterización de nanopartículas de magnetita por métodos electroquímicos.pdf>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., Eliceiri, K. W.** (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. **9** (7): 671-675. Doi: 10.1038/nmeth.2089
- Shahid, M. K. & Choi, Y.** (2020). Characterization and application of magnetite particles, synthesized by reverse coprecipitation method in open air from mill scale. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **495** (August 2019): 165823, p9. Doi: 10.1016/j.jmmm.2019.165823
- Shokrollahi, H.** (2017). A review of the magnetic properties, synthesis methods and applications of maghemite. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **426** (October 2016): 74-81. Doi: 10.1016/j.jmmm.2016.11.033
- Singh, H., Kumar, A., Thakur, A., Kumar, P., Nguyen, V. H., Vo, D. V. N., Kumar, D.** (2020). One-Pot Synthesis of Magnetite-ZnO Nanocomposite and Its Photocatalytic Activity. *Topics in Catalysis*. (0123456789). Doi: 10.1007/s11244-020-01278-z
- Sontu, U. B., G, N. R., Chou, F. C., M, V. R. R.** (2018). Temperature dependent and applied field strength dependent magnetic study of cobalt nickel ferrite nano particles: Synthesized by an environmentally benign method. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **452**: 398-406. Doi: 10.1016/j.jmmm.2018.01.003
- Tao, Y., Jiang, B., Yang, X., Ma, X., Chen, Z., Wang, X., Wang, Y.** (2020). Physicochemical study of the sustainable preparation of nano-Fe₂O₃ from ferrous sulfate with coke. *Journal of Cleaner Production*. **255**: 120175, p 9. Doi: 10.1016/j.jclepro.2020.120175
- Toma, H. E., Gomes da Silva, D., Condomitti, U.** (2016). *Nanotecnologia experimental*. São Paulo: Blucher. p. 63-85.
- Touqeer, T., Mumtaz, M. W., Mukhtar, H., Irfan, A., Akram, S., Shabbir, A., Yaw Choong, T. S.** (2020). Fe₃O₄-PDA-lipase as surface functionalized nano biocatalyst for the production of biodiesel using waste cooking oil as feedstock: Characterization and process optimization. *Energies*. **13** (1). Doi: 10.3390/en13010177
- Wang, L. & Zhang, M.** (2020). Study on synthesis and magnetic properties of Nd₂Fe₁₄B nanoparticles prepared by hydrothermal method. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 507(October 2019): 166841. Doi: 10.1016/j.jmmm.2020.166841
- Yuan, Z., Zhao, X., Meng, Q., Xu, Y., & Li, L.** (2020). Effect of selective coating of magnetite on improving magnetic separation of ilmenite from titanite. *Minerals Engineering*. 149 (May 2019): 106267, p 10. Doi: 10.1016/j.mineng.2020.106267

Ciencias Físicas

Artículo de revisión

Caracterización de parámetros del rayo en Colombia con base en sistemas de localización terrestres y satelitales, 20 años de análisis

Characterization of lightning parameters in Colombia based on terrestrial and satellite lightning locating systems, a 20 years analysis

Camilo Younes-Velosa

Departamento de Ingeniería Eléctrica, Electrónica y Computación. Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Nacional de Colombia

Artículo de posesión para admisión como miembro correspondiente a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Resumen

Se presenta una revisión de los avances en la investigación en torno a los parámetros del rayo en Colombia en los últimos 20 años a partir del uso de bases de datos de sistemas de localización de rayos terrestres y satelitales que han permitido caracterizar el fenómeno de manera adecuada en un país como Colombia cuyos niveles de actividad eléctrica atmosférica y características geográficas y orográficas, además del hecho de estar ubicado en zona tropical, lo convierten en un caso especial que exige su comprensión con base en la hipótesis de la variación espacial y temporal de los parámetros del rayo planteada hace tres décadas. En el estudio se presentan los resultados relacionados con los siguientes parámetros del rayo: densidad de descargas a tierra, nivel cerámico, polaridad y multiplicidad, así como el análisis de los efectos de las irregularidades del terreno en la propagación de las ondas electromagnéticas radiadas por la descarga de retorno y la forma en que las actividades antropogénicas, especialmente la emisión de material en partículas, inciden en la electrificación atmosférica.

Palabras claves: Parámetros del rayo; Sistemas de localización de rayos; Descargas eléctricas atmosféricas.

Abstract

In this paper, we review research results on lightning parameters in Colombia during the last 20 years by analyzing databases of terrestrial and satellite lightning locating systems to adequately characterize this natural phenomenon in a country such as Colombia whose electric atmospheric activity and geographic and orographic characteristics, together with its location in a tropical zone, make the country a very special case that demands the comprehension of the phenomenon based on the spatial and temporal variations of the lightning parameters hypothesis formulated three decades ago. We present some results on the following lightning parameters: ground flash density, kneraunic level, polarity, and multiplicity, as well as on those concerning the effects of terrain irregularities on the electromagnetic wave propagation radiated by the return stroke and of anthropogenic activities, mainly the emission of particulate matter, on the electrification of the atmosphere.

Keywords: Lightning Parameters; Lightning Locating Systems; Lightning.

Introducción

El rayo es uno de los fenómenos naturales más estudiado en la historia moderna. Los experimentos sobre la electrificación atmosférica se encuentran en la literatura especializada desde el 10 de mayo de 1752, cuando se llevó a cabo el experimento propuesto y diseñado por Benjamin Franklin en Marly-la-Ville, cerca de París, para analizar y

Citación: Camilo Younes-Velosa. Caracterización de parámetros del rayo en Colombia con base en sistemas de localización terrestres y satelitales, 20 años de análisis. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):960-973, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1171>

Editor: Jairo Roa Rojas

***Correspondencia:**
Camilo Younes-Velosa;
cyounesv@unal.edu.co

Recibido: 18 de marzo de 2020

Aceptado: 14 de agosto de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

documentar los líderes ascendentes emanados de una punta captadora aislada de tierra usando botellas de vino (**Rakov & Uman, 2003**). **Franklin (1774)** publicó la prueba de las características eléctricas de los rayos, especialmente de su polaridad y, desde entonces, numerosos investigadores en el mundo han dedicado sus esfuerzos a la caracterización o parametrización de este fenómeno atmosférico.

A finales del siglo XIX, gracias a los avances tecnológicos ya existentes en la época, se estudiaron las características particulares del rayo, así como sus interacciones generales, ya que todavía no había claridad sobre la distribución de la actividad eléctrica atmosférica. Los primeros mapas del nivel cerámico se elaboraron en Francia a comienzos del siglo XX y, aunque el fenómeno venía siendo analizado localmente en los países donde mayores avances científicos había a la fecha (Francia, Inglaterra, Rusia, entre otros), todavía no era factible determinar los comportamientos globales, especialmente por las dificultades en las comunicaciones, las cuales se ampliaron solo a partir del desarrollo del telégrafo en la segunda mitad del siglo XIX.

A comienzos del siglo XX, los avances mencionados permitieron cimentar las condiciones para el planteamiento de teorías en áreas del conocimiento que se desarrollaban vertiginosamente, como la meteorología, lo que facilitó, por ejemplo, el planteamiento de la hipótesis del circuito eléctrico global, inicialmente estructurado por **Wilson (1920)**, que posteriormente muchos investigadores siguieron desarrollando, como lo ha explicado ampliamente **Torres (1998)**.

La hipótesis del circuito eléctrico global explicaba los fenómenos de carga y descarga entre la superficie de la Tierra y la ionósfera como generados por los grandes centros de generación constituidos por las nubes de tormenta e implicaba hacer un análisis certero de la distribución espacial y temporal de la actividad eléctrica atmosférica a nivel global.

Gracias a los avances de la electrónica y la computación durante la década de los 50, se presentaron los primeros avances en la medición de tormentas eléctricas mediante sistemas de medición de rayos de una sola estación. Los primeros reportes los hizo **Pierce (1956)** y, desde entonces, se han perfeccionado los sistemas de medición terrestres, aunque todos se basan en una de estas tres técnicas empleadas individualmente o en combinación: tiempo de llegada (*time of arrival*, TOA), detección de dirección magnética (*magnetic direction finding*, MDF) e interferometría.

Durante las últimas dos décadas ha habido un cúmulo importante de investigación, principalmente de la NASA, sobre la actividad de los rayos a nivel mundial a través de misiones espaciales como la *Optical Transient Detector (OTD)* y la *Lightning Imaging Sensor (LIS)* (**Boccipio, et al., 2000**; **Boccipio, et al., 2002**), que ha permitido tener una visión de la actividad de los rayos a nivel global mediante el análisis de imágenes y señales ópticas satelitales, con lo que se ha ratificado la hipótesis planteada por **Torres (1998)** sobre la variación espacial y temporal de los parámetros del rayo y su predominante actividad en la zona tropical continental.

Asimismo, al finalizar el siglo pasado, gracias al avance en los equipos de video de alta velocidad, comenzaron a registrarse y estudiarse los primeros fenómenos asociados con tormentas eléctricas a mesoescala, tales como los chorros azules (Bluejets) y los espectros rojos (Red Sprites) o elfos (Elfs). (**Lyons & Williams, 1993**, **Boccipio, et al., 1995**; **Lyons, 1996**).

Recientemente, gracias al uso de herramientas de cómputo avanzadas, como las presentadas por **Mostajabi, et al. (2020)**, ha sido posible analizar más profundamente las relaciones del rayo con otros fenómenos atmosféricos. Además, con el uso de cámaras de alta velocidad, tecnologías de detección y monitoreo en 3D de la actividad eléctrica atmosférica (como el *Lightning Mapping Array*, LMA) y el análisis de misiones como las del *Lightning Imaging Sensor (LIS)* de la NASA, se han reportado los primeros eventos de descargas eléctricas en la atmósfera superior colombiana, entre ellos el reportado por **Van der Velde (2019)**, y se ha confirmado que en el territorio colombiano se encuentran varios de los puntos con mayor densidad de descargas a tierra (DDT) del mundo (**Albrecht, et al., 2016**).

Durante las últimas décadas se llevaron a cabo en Colombia diversos estudios sobre el fenómeno del rayo y su caracterización, los cuales fueron recopilados recientemente (Torres, 2017; Torres, *et al.*, 2015; Herrera, *et al.*, 2018); en ellos se confirma la preponderancia de la actividad de los rayos en el país y su naturaleza privilegiada para este tipo de estudios, cuya pertinencia responde, entre otros aspectos, a las altas tasas de mortalidad y morbilidad debidas al fenómeno (Cruz-Bernal, *et al.*, 2018), así como a su impacto económico y social, como lo han analizado ampliamente para los Estados Unidos continentales (*contiguous United States*, CONUS) Koshak, *et al.* (2015), y para la zona montañosa, Soto & Pérez (2019). Por otra parte, la confiabilidad de los sistemas eléctricos de potencia bajo estas condiciones ha sido analizada por Pérez, *et al.* (2020).

A pesar de la sistematicidad de los estudios y del lugar que ocupa Colombia en la investigación sobre las descargas eléctricas atmosféricas a nivel internacional, todavía hay mucho desconocimiento del comportamiento de este fenómeno en lugares de alta actividad y especiales características geográficas, geológicas, orográficas, atmosféricas e, inclusive, antropogénicas, situados en el norte de Suramérica y caracterizados por altitudes de hasta más de 5.000 m s.n.m. y valles profundos y prolongados.

El territorio colombiano presenta una alta actividad eléctrica atmosférica, especialmente relacionada con la densidad de las descargas eléctricas a tierra (DDT) y la amplitud de la corriente del rayo (Pinto, *et al.*, 2007; Younes, *et al.*, 2004), lo que ha determinado que se adelanten investigaciones en lugares del territorio colombiano con condiciones climáticas extremas y cercanos a la línea ecuatorial (Aranguren, *et al.*, 2016, Rojas, *et al.*, 2017).

Estas características son importantes para entender sus efectos en los parámetros del rayo, por lo que en los últimos 15 años se han hecho estudios que involucran más integralmente los parámetros de este fenómeno físico con otro tipo de características.

En el presente estudio se hizo una recopilación de los resultados de la investigación adelantada en los últimos 20 años con la participación directa del autor, haciendo énfasis en los parámetros del rayo en Colombia y su interacción con otras características como las ya mencionadas.

Materiales y métodos

La mayor parte de los resultados se obtuvieron del análisis de la información suministrada por las redes de localización de rayos que han estado instaladas en Colombia desde 1997, período en el cual se han logrado recolectar suficientes datos que permiten empezar a hacer inferencias meteorológica y estadísticamente confiables.

Colombia ha tenido dos redes de localización de rayos. La primera, suspendida en el 2016, perteneció a la más grande empresa de transmisión de energía eléctrica del país (Intercolombia S.A. E.S.P.) y la segunda, instalada más recientemente, pertenece a una empresa privada de servicios y desarrollo tecnológico (Keraunos S.A.S.).

La primera red tuvo dos períodos de operación con tecnologías diferentes, por lo que, para efectos prácticos, en el presente artículo se asumieron como redes independientes. El primer período de operación fue de 1997 a 2001, cuando se contaba con seis sensores LPATSIII (*Lightning Position and Tracking System*) distribuidos en diferentes lugares del territorio colombiano, una unidad de procesamiento central que obtenía la localización e información básica de señales electromagnéticas de descargas de rayos (*strokes*) con base en el método TOA. En el segundo período, entre el 2007 y el 2015, se operaba con un sistema compuesto de seis sensores IMPACT LS7001 ubicados en lugares diferentes a la red original, los cuales determinaban el punto de impacto de los *flashes* nube-tierra mediante la combinación de los métodos MDF y TOA (Herrera, *et al.*, 2018).

Como se observa en la **figura 1**, la distribución de los sensores de las redes 1 y 2 están en la zona colombiana en donde se concentra más del 70 % de la población y de las actividades económicas (DANE, 2018) y que cubre las regiones andinas, de la costa caribe y pacífica, principalmente. Asimismo, la altitud en la que se encuentran los sensores varía entre apenas unos metros y cerca de 3.000 m s.n.m., lo que refleja la especial condición topográfica y orográfica del país, aspecto central de la discusión en el presente artículo.

La segunda red entró en operación en el 2012 y en la actualidad la componen 24 sensores que cubren una región mucho más amplia del territorio colombiano. Esta red utiliza la técnica de detección de rayos LINET, que se basa en la técnica TOA pero con un algoritmo adicional para utilizar información de señales VLF/LF de descargas nube-tierra e intranube. Esta red tiene una línea de base (distancia entre sensores) con un rango entre los 120 y los 420 km, ubicada en diferentes lugares que varían entre los 0 y los 2.800 m s.n.m.

Como se aprecia en la **figura 1**, la distribución espacial de los sensores de la segunda red es mucho mejor, ya que cubre una mayor extensión del territorio colombiano, incluidos dos sensores en países vecinos (Venezuela y Panamá). Este mayor número de sensores (24) aumenta la confiabilidad de sus datos y, por ende, del análisis, pues son más redundantes y están menos distanciados entre sí.

La información de las redes de localización de rayos que han operado en Colombia se utilizó para el análisis del comportamiento de los parámetros del rayo en el país. Dichas redes entregan información en bruto a través de un centro de procesamiento central con datos básicos de las descargas eléctricas atmosféricas detectadas (principalmente la ubicación espacial, latitud y longitud, y la amplitud de la corriente del rayo), lo que permite hacer análisis estadísticos y de minería de datos para caracterizar el fenómeno del rayo en una región dada.

Como todo sistema de medición, las redes de localización de rayos deben evaluarse para determinar su desempeño. Desde que se instalaron las primeras redes de localización de rayos a finales de la década de 1980 y principio de los 90, se estableció que para todo análisis de información proveniente de estos sistemas, los dos principales parámetros de evaluación del desempeño serían la exactitud de la localización (*Location accuracy*, LA) y la eficiencia de la detección (*detection efficiency*, DE).

La exactitud en la localización (LA) se asocia principalmente con las técnicas utilizadas para ubicar geoespacialmente el lugar de impacto de la descarga eléctrica atmosférica que, en la mayoría de las redes, implica análisis relacionados con las metodologías TOA, las cuales utilizan algoritmos de triangulación basados en la diferencia en el tiempo de llegada a diferentes sensores de la señal electromagnética generada por el rayo que se pretende localizar. Lo anterior hace que el análisis de los efectos causados en la propagación de dichas ondas electromagnéticas, especialmente los debidos a la conductividad del terreno y los obstáculos naturales como elevaciones montañosas, sean de crucial importancia. Esto ha sido objeto de recientes análisis por parte de varios autores, entre los que cabe mencionar a **Soto & Pérez (2019)**, **Karami, et al. (2019a)**, **Karami, et al. (2019b)**, y **Pulgarín (2020)**.

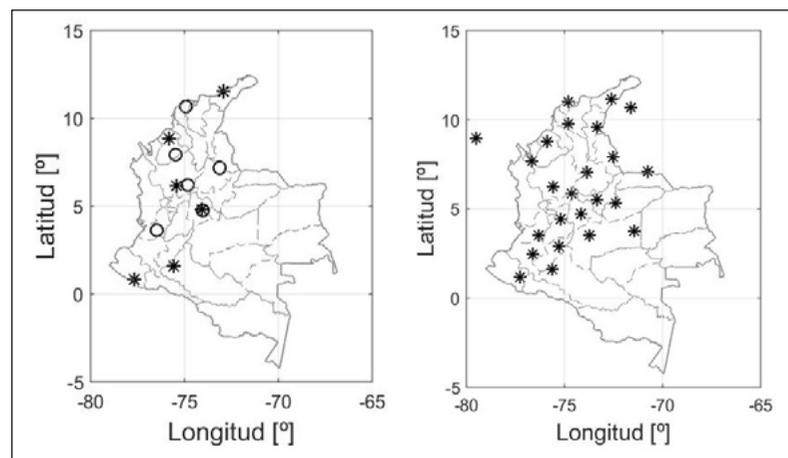


Figura 1. Ubicación espacial de las redes de localización. Izquierda: primera red ([o] 1997 – 2001, [*] 2007 – 2015). Derecha: segunda red (adaptado de **Herrera, et al., 2018**). Derecha: tercera red

La eficiencia en la detección (DE) y sus implicaciones en la caracterización de los parámetros del rayo, especialmente en la densidad de las descargas a tierra, se ha estudiado con mayor detalle por ser un parámetro con importantes implicaciones en la evaluación del riesgo por rayos, entre otras (Pinto, *et al.*, 2007; Younes, *et al.*, 2013; Zhang, *et al.*, 2016; Zhang, *et al.*, 2019). Dado que el porcentaje de rayos detectados por una red de localización con respecto al total de los producidos en cierta región mide su eficiencia, se debe partir del establecimiento de una red patrón. Para ello se han desarrollado diferentes metodologías, bien sea para correlacionar dos redes de localización de rayos terrestres (Diendorfer, *et al.*, 2009; Abarca, *et al.*, 2010) o para correlacionar redes de localización terrestres y satelitales (Younes, *et al.*, 2004; Thomas, 2000; Zhang, 2016).

El fenómeno del rayo se ha parametrizado con el fin de determinar su comportamiento espacial y temporal y así disminuir las altas tasas de morbilidad y mortalidad que provoca, con una mortalidad que alcanza a ser de tres por cada millón de habitantes, además de los miles de millones de dólares de pérdidas económicas anuales (Koshak, *et al.*, 2015; Cruz-Bernal, *et al.*, 2018). En la presente revisión se analizaron los resultados obtenidos durante los últimos 20 años en Colombia utilizando los datos de las redes de localización de rayos relativos a los siguientes parámetros: multiplicidad, densidad de descargas a tierra y polaridad.

La multiplicidad es un parámetro que surge de la física del rayo propiamente, ya que se pueden presentar una o varias descargas que, sumadas, conforman lo que se conoce en la literatura científica como un *flash*. Las redes de localización de rayos no detectan *flashes* sino las descargas individuales (*strokes*). Con el fin de analizar integralmente los parámetros a partir del fenómeno, se agruparon las descargas individuales usando el algoritmo de agrupamiento propuesto por Rakov & Huffines (2003), en el cual las descargas se agrupan en un *flash* si cumplen con los siguientes criterios: a) tienen puntos de impacto dentro de un radio de 10 km de la primera descarga, y b) no hay más de 500 ms de tiempo entre las descargas. La duración máxima de un *flash* es de 1 segundo y la multiplicidad máxima permitida es de 15.

La densidad de descargas a tierra (*Ground Flash Density*, GFD) es uno de los parámetros más relevantes, toda vez que permite medir la verdadera distribución espacial del fenómeno. Hoy, gracias a diversas investigaciones, especialmente a través de misiones espaciales de la NASA, se sabe con certeza que en el mundo hay lugares con mayores valores de este parámetro, especialmente en la zona tropical continental (Cecil, *et al.*, 2014), y sitios puntales o *hotspots* de altísima actividad eléctrica atmosférica (Albrecht, *et al.*, 2016).

Resultados y discusión

Los primeros resultados del análisis sistemático de la información proveniente de las redes de localización de rayos en Colombia fueron presentados por Younes & Torres (2002) cuando ya la primera red colombiana de localización de rayos (RECMA) llevaba cinco años de funcionamiento. Así se recopiló las evidencias necesarias para ratificar la hipótesis de la variación espacial y temporal de los parámetros del rayo y su mayor incidencia en la zona tropical. En aquel momento se pudieron hacer análisis estadísticos basados en la información emanada de la red.

Los primeros análisis se relacionaban con la variación espacial y en ellos se dividieron las áreas de análisis de la información en una retícula acorde con el desempeño de las redes en cuanto a la exactitud de la localización (LA). La figura 2 (izquierda) muestra los valores de densidad de las descargas a tierra (*Ground Stroke Density*, GSD) en el área de mayor actividad detectada por la red entre 1997 y 2002. Como puede observarse, este parámetro de densidad está fuertemente asociado al área de análisis, lo que evidencia la necesidad de tener redes con una mejor LA y hacer análisis que permitieran incluir las incertidumbres generadas por los errores en la localización. En esa época ya se observaba la variación espacial de los parámetros del rayo, confirmada posteriormente por Albrecht, *et al.* (2016) mediante el análisis de cerca de 20 años de datos de los sistemas de detección de rayos satelitales.

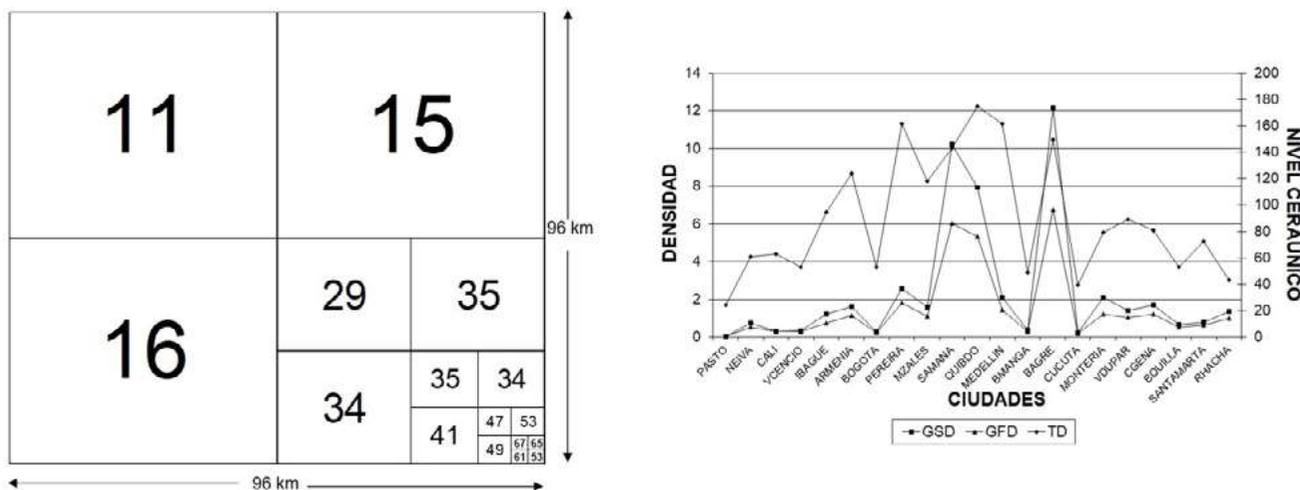


Figura 2. Densidad de las descargas a tierra (GSD), densidad de descargas a tierra de *flashes* (GFD) y nivel cerámico (TD) en diversas ciudades de Colombia distribuidas de sur a norte, 1997-2002 (derecha)

Para verificar la variación espacial de los parámetros asociados con la frecuencia y la densidad de la actividad eléctrica atmosférica (densidad tanto de descargas como de *flashes* y nivel cerámico), se hicieron otros análisis como el de la figura 2 (derecha). Allí se observa que, al desplazarse de sur a norte a lo largo de diferentes ciudades en el territorio colombiano, los valores de dichos parámetros varían considerablemente.

Dada la importancia que tienen los dos parámetros (densidad de descargas a tierra y nivel cerámico), a nivel internacional se acepta el uso de ecuaciones que los relacionen. Con base en los resultados obtenidos por Younes & Torres (2002), se propuso la ecuación (1), la cual relaciona estos parámetros para emplearlos en la zona tropical, donde N_g es la densidad de descargas a tierra en *flashes*/km²/año y T_d es el número de días tormentosos por año. Esta ecuación se incorporó en las normas internacionales (IEEE, 2011) y es más apropiada para el caso colombiano que, como se ha mencionado anteriormente, tiene características especiales desde el punto de vista orográfico y meteorológico, así como una alta actividad eléctrica atmosférica.

$$N_g = 0.0017 T_d^{1.56} [\textit{flashes}/\textit{km}^2/\textit{año}] \tag{1}$$

Los resultados obtenidos en el 2002 en Colombia en cuanto a la caracterización de los parámetros del rayo hacían necesario analizar el desempeño de las redes de localización para determinar si, efectivamente, los valores sorprendentemente altos de densidad de descargas a tierra (que para la época no se habían reportado en la literatura científica internacional), eran correctos. Como no había otras redes de localización disponibles en el territorio colombiano, con la ayuda de la NASA y la información de dos misiones espaciales que emplearon sendos dispositivos de detección de rayos basados en la información y el procesamiento de imágenes OTD (*Optical Transient Detector*) y LIS (*Lightning Imaging Sensor*), se desarrolló una metodología utilizando series de tiempo para correlacionar y validar el sistema terrestre de localización de rayos que operaba entonces (Younes, et al., 2002; Younes, et al., 2003).

Los resultados mostraron que ambas series de tiempo se correlacionaban mutuamente y que la eficiencia de la red terrestre para la detección de los datos permitía afirmar que, efectivamente, eran confiables según las metodologías estadísticas utilizadas.

Con base en los datos suministrados por la red de localización que funcionaba en el 2002 y las misiones OTD y LIS, se pudieron elaborar mapas de densidad de descargas a tierra, con el fin de determinar el comportamiento espacial de dicho fenómeno con sistemas confiables.

Como puede observarse en la **figura 3**, los mapas concuerdan en cuanto a su distribución espacial, con los mayores valores en las regiones del Bajo Cauca antioqueño y el Catatumbo colombo-venezolano. Las diferencias se deben a la eficiencia en la detección de la red terrestre. En estudios posteriores de **Albrecht, et al. (2016)** y **Aranguren, et al. (2016)** se evidenció que los resultados obtenidos en el 2002 eran acertados.

Una vez determinado el comportamiento de la densidad de descargas a tierra, el cual mostraba su mayor actividad en lugares muy específicos del territorio colombiano, se procedió analizarlo más en detalle.

Como se aprecia en la **figura 4**, el comportamiento del fenómeno varía mucho en distancias muy cortas de solo algunas decenas de kilómetros. Este comportamiento es extraño en un fenómeno natural, pues se espera que no haya variaciones tan fuertes. La hipótesis era que se debía a la forma de definir el parámetro de densidad de descargas a tierra a partir de la información de las redes de localización. En general, los análisis de datos, especialmente los provenientes de las redes de localización, excluyen incertidumbres generadas en la información que debe tenerse en cuenta para analizar este tipo de fenómenos.

El diferenciar en áreas pequeñas el territorio y contar el número de impactos detectados por la red sin tener en cuenta que la exactitud en la localización se basa en algoritmos que no necesariamente son funcionales en territorios con una orografía como la colombiana, se hacía necesario empezar a incorporar dichas incertidumbres en el análisis mediante estrategias metodológicas.

Se encontró que la teoría de subconjuntos difusos podía ser útil para considerar, no solamente los rayos que impactaban una zona, sino también aquellos de zonas aledañas con un factor o peso menor, de manera que se minimizaban los errores generados por la incertidumbre de la exactitud en la detección de la red.

Cuando se toman los datos de las celdas sin tener en cuenta estos problemas, se obtienen mapas tridimensionales como los de la **figura 5** (izquierda), que en la teoría de subconjuntos difusos se definen como de densidad *crisp*.

Como puede observarse, es evidente que el comportamiento no es uniforme ni continuo, lo cual es ajeno al que se espera en los fenómenos naturales en un espacio territorial determinado. Aplicando la teoría de subconjuntos difusos, ampliamente explicada en **Younes, et al. (2011)** y **Younes, et al. (2006)**, es posible generar superficies que incluyan información proveniente de celdas aledañas mediante funciones de pertenencia trapecoidales.

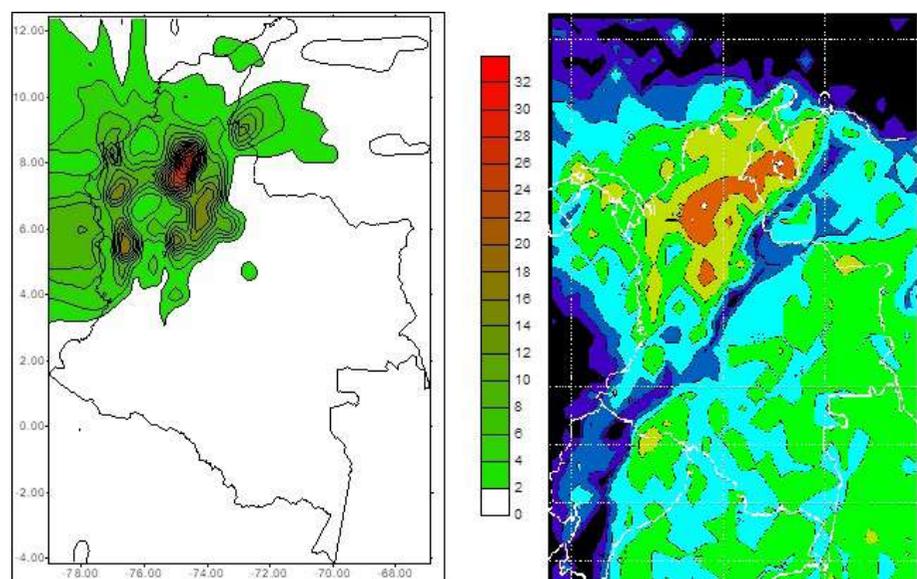


Figura 3. Mapas con los datos recolectados en las redes de detección de rayos entre 1997 y 2002. Izquierda: red de localización de rayos terrestre. Derecha: sistema de detección de rayos satelital

Una vez implementada la estrategia que conduce a lo que llamamos densidad difusa, se llega a resultados que se aproximan mucho mejor al comportamiento del fenómeno natural analizado. En la **figura 7** (derecha) se observa la misma superficie reportada en la izquierda después de aplicar el método computacional. Como se aprecia, en la misma región con alta densidad de rayos se encuentra un comportamiento que equivale a suavizar la superficie. Es importante resaltar que el método no busca suavizar superficies, sino que

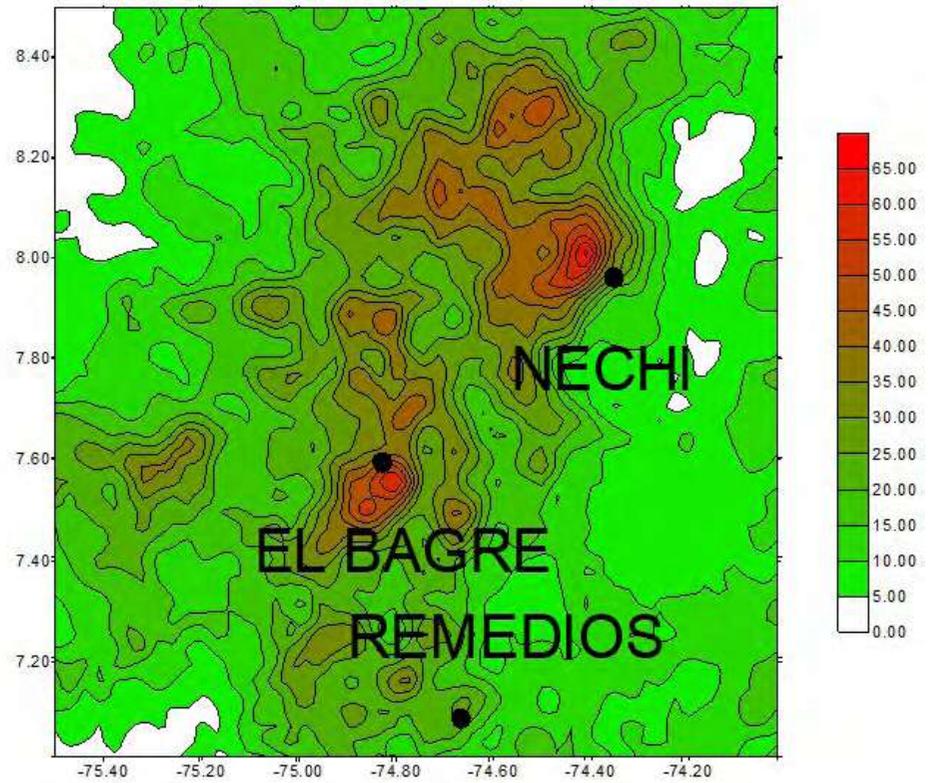


Figura 4. Mapa detallado de la densidad de descargas en la zona de mayor actividad de rayos detectada por la red terrestre en el 2002

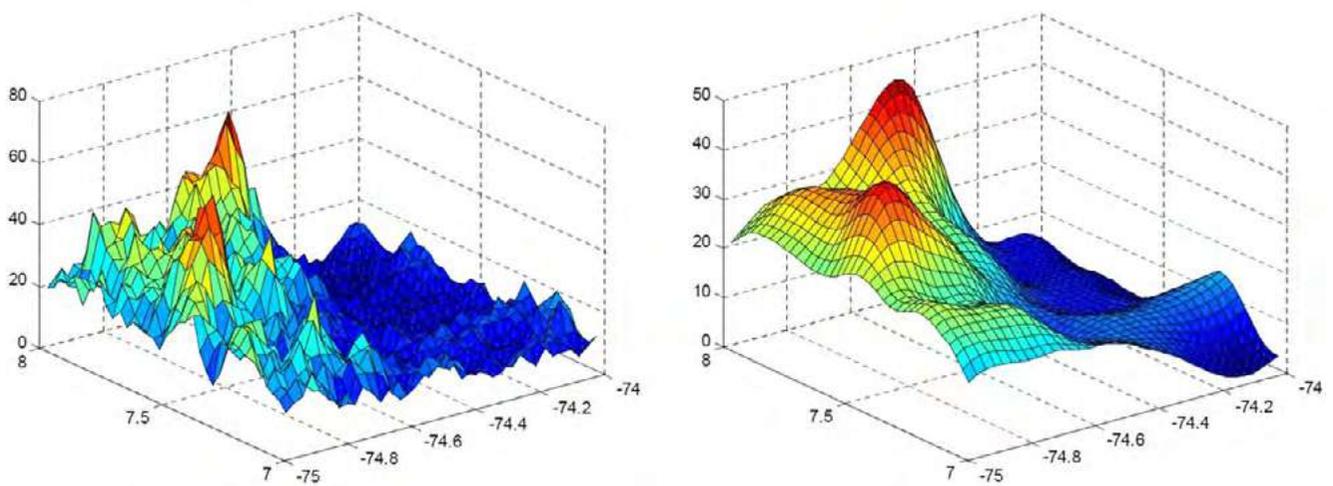


Figura 5. Mapa en tres dimensiones de la densidad de rayos a tierra en la zona de mayor actividad en Colombia. Izquierda: densidad *crisp*. Derecha: densidad difusa

incorpora información relevante en ciertas celdas que permiten un comportamiento más adecuado del fenómeno si se incluyen las incertidumbres propias del manejo de datos de las redes de localización de rayos.

La metodología arrojó buenos resultados en los casos descritos, especialmente donde las líneas de base de las redes son grandes y hay puntos focalizados de alta actividad eléctrica atmosférica, como en el caso colombiano, con errores de localización mayores que pueden incrementarse aun más por aspectos relacionados con la orografía, como se mostrará más adelante.

El estudio de los parámetros del rayo ha avanzado principalmente en los países de zonas templadas (altas o bajas), pero en la zona tropical hay pocas investigaciones relevantes; es el caso de Colombia, donde los estudios han buscado incorporar otros aspectos propios de la geografía nacional, como el efecto de las cadenas montañosas en la propagación de las ondas electromagnéticas radiadas por el fenómeno del rayo. En cuanto a las redes de localización, estas han sido calibradas en regiones con amplias zonas planas, donde la atenuación de los campos electromagnéticos es muy baja y se tiene mucho mejor desempeño de los sistemas de detección y localización de descargas eléctricas atmosféricas.

La situación particular de las regiones con alta actividad eléctrica atmosférica y cadenas montañosas con altitudes que van desde cero hasta 5.000 m s.n.m. es muy particular, lo que debe analizarse en el caso colombiano. Teniendo en cuenta que la actividad de rayos disminuye con la altitud, pues los picos máximos ocurren en las llamadas áreas de piedemonte, algunos estudios (Aranguren, *et al.*, 2016; Younes & Duarte, 2006) se han centrado en encontrar relaciones que permitan determinar los lugares con mayor actividad a partir de las condiciones geográficas propias de un territorio en zona tropical.

Younes & Duarte (2006) también analizaron otras relaciones con las características geológicas y meteorológicas del territorio colombiano y llegaron a las primeras conclusiones sobre la correlación entre diversos parámetros y los sistemas de medición mediante estrategias de minería de datos basadas en las reglas de asociación difusas.

La concentración de puntos de alta actividad eléctrica atmosférica y su variación temporal y espacial hizo necesario analizar los posibles efectos de la emisión de material en partículas, especialmente la antropogénica, para comprobar por primera vez en Colombia los efectos de fenómenos como las islas de calor y la polución en los parámetros del rayo.

Los resultados más importantes del análisis del efecto urbano y de la emisión de material en partículas en Bogotá hecho por Del Río, *et al.* (2017) y Del Río (2018) muestran que, aunque los picos de actividad eléctrica atmosférica coinciden con aquellos de las temporadas de lluvias de abril y octubre, hay altos niveles inesperados en diciembre, mes de baja precipitación y de polución moderada, lo que requiere continuar con el estudio de los efectos antropogénicos en la actividad eléctrica atmosférica y en los parámetros del rayo, específicamente.

Dada la orografía y alta actividad eléctrica atmosférica de Colombia, otro aspecto de gran relevancia en el marco de los estudios en el país es la necesidad de evaluar el efecto del relieve sobre la propagación de las ondas electromagnéticas radiadas por rayos y su implicación en las redes de localización.

Pulgarín (2020) analiza las simulaciones computacionales que permitieron por primera vez en Colombia evaluar el efecto del relieve sobre las ondas de baja y muy baja frecuencia, especialmente en el desempeño de los sistemas de localización de rayos. Esta es el primer estudio de evaluación del efecto del terreno desde una perspectiva de análisis numérico de onda completa con elevaciones montañosas tan altas como las de Colombia.

En la figura 6 (izquierda) se observa un mapa de Colombia con las cadenas montañosas y los puntos de simulación de impacto y medición de señales de rayos que atraviesan montañas de hasta 5.000 m s.n.m. Los círculos son los puntos de impacto y los triángulos los lugares de medición. Se pueden ver trayectorias como la que conecta los puntos L_A y S_C en la que hay elevaciones que alcanzan los 5.000 m s.n.m. En estas circunstancias, un rayo que impactara a tierra en la posición L_A tendría que sortear un obstáculo muy alto que,

dependiendo de las principales longitudes de onda eventualmente generadas por dicho fenómeno al descomponerse en el espectro electromagnético, podrían ser muy grandes y tener efectos fuertes de atenuación de la onda.

Para ello se hicieron simulaciones con el fin de comparar los efectos sin la atenuación generada por las irregularidades del terreno, es decir, en terreno plano, con aquellas generadas por el obstáculo. En la **figura 6** (derecha abajo) se muestran los resultados de dichas simulaciones. La línea continua es el resultado de la simulación en ausencia de obstáculo, es decir, en terreno plano. La línea punteada es el resultado del análisis en presencia del obstáculo.

En la **figura 6** (derecha arriba y abajo) se muestran los resultados en el caso en que el impacto del rayo se produce en el punto L_C y la medición se realiza a 55 km de distancia, en S_G . Como se observa, hay una atenuación importante, de casi el 50 %, en el campo eléctrico medido a la distancia mencionada. Para el caso del terreno plano, se hicieron dos análisis: el primero haciendo la medición a la misma altitud del punto de impacto y el segundo, sobre el terreno, lo cual no fue significativo para el proceso bajo análisis.

Los análisis de **Pulgarín (2020)** son muy importantes porque permiten verificar la importancia de considerar el tipo de terreno en el análisis de los parámetros del rayo en Colombia, especialmente en cuanto al desempeño de las redes de localización, aspecto también abordado por **Herrera & Younes (2020)** utilizando una plataforma experimental para la medición de los parámetros del rayo mediante la captura simultánea de las variables de campo magnético, campo eléctrico y video de alta velocidad, con el fin de contrastar dichas mediciones con el sistema de medición de rayos terrestre de la segunda red ya descrita y mejorar su desempeño, específicamente en lo relacionado con la eficiencia de la detección (DE), en la cual se puede subestimar el número de rayos detectados afectando, en consecuencia, el parámetro de multiplicidad.

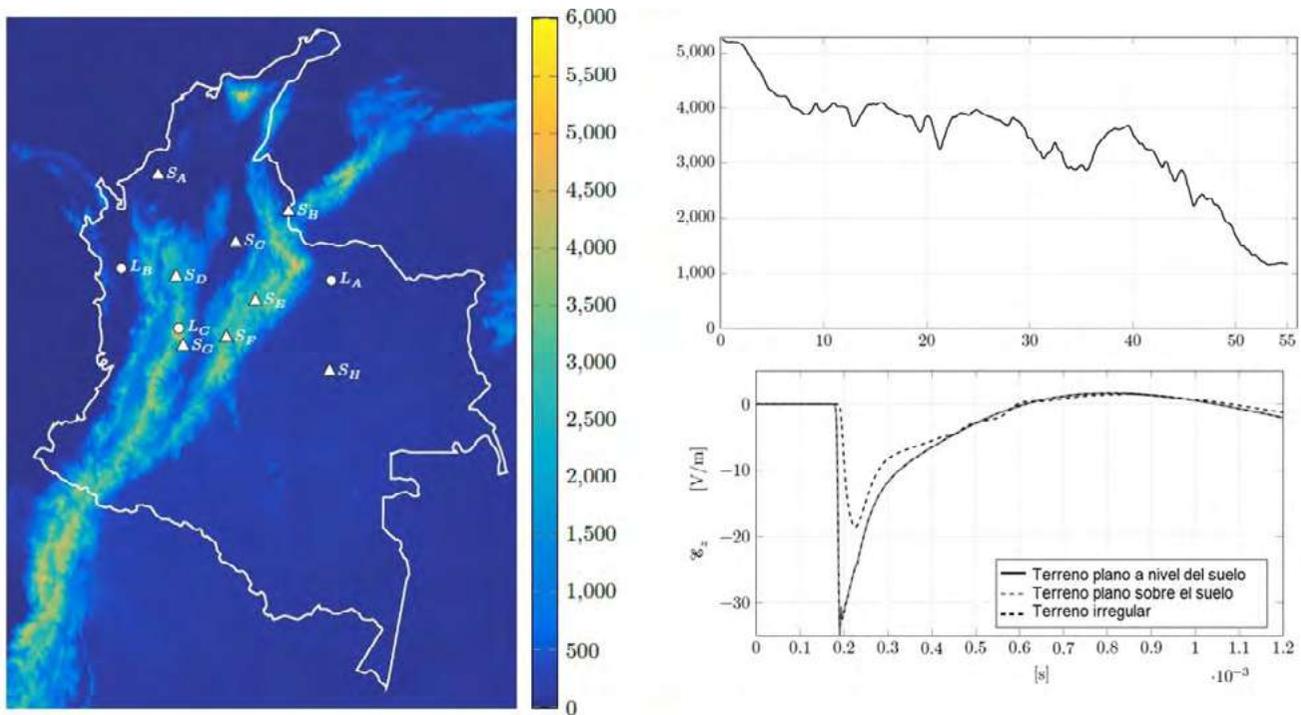


Figura 6. Izquierda: Mapa de elevación de las cadenas montañosas en Colombia con los puntos de impacto y medición de rayos simulados (escala en m s.n.m.). Derecha arriba: perfil de relieve de la simulación desde el punto de impacto L_C hasta el punto de medición S_G (eje vertical en m s.n.m., eje horizontal en km) (tomado de Google Earth Pro). Derecha abajo: campo eléctrico vertical medido después en el punto S_G , cuya fuente es el impacto del rayo L_C comparando terreno irregular y terreno plano (adaptado de **Pulgarín, 2020**).

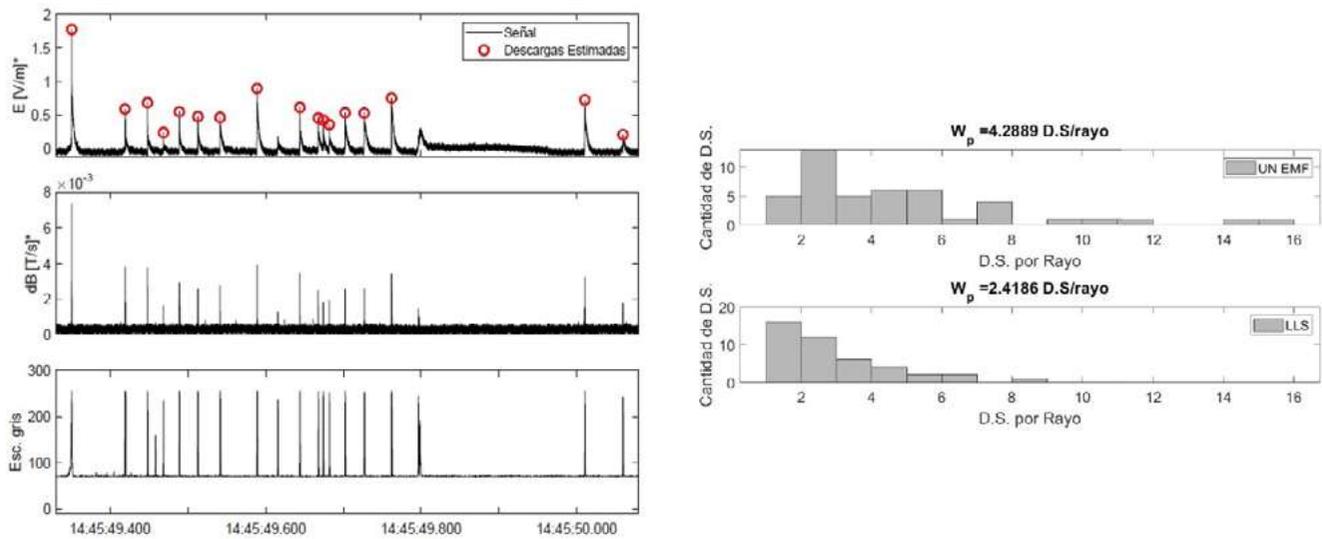


Figura 7. Derecha: mediciones simultáneas de un evento de rayo (descarga de retorno y descargas subsiguientes) en la región del Valle de Aburrá, Colombia, utilizando los parámetros de campo eléctrico (superior) y campo magnético (intermedia) y los registros tomados con video de alta velocidad (inferior). Izquierda: análisis de la multiplicidad de dos sistemas de medición. Plataforma local de medición con video incorporado (arriba). Sistema de localización de rayos (abajo) (adaptado de **Herrera & Younes, 2020**).

En la **figura 7** se presentan los registros simultáneos de un evento de rayo (descarga de retorno y descargas subsiguientes) de señales de campo eléctrico, campo magnético y registros tomados de video de alta velocidad en una zona del Valle de Aburrá (Colombia). Con estos registros fue posible determinar con mucha mayor exactitud la cantidad de descargas de cientos de eventos de rayos en la zona de estudio, ya que se tenían los registros de video.

Con base en el análisis de todos los eventos, se pudo establecer una primera apreciación certera de la eficiencia de la detección de la red de localización de rayos en Colombia, pues se tenían indicios de subestimación de la cantidad de rayos detectados. En la **figura 7** (derecha) se presentan los resultados de la comparación del número de descargas subsiguientes por rayo, tanto para el sistema experimental con video incorporado, como para la red de localización de rayos, con base en cerca de 10 mil mediciones. Como puede observarse, la multiplicidad determinada por el sistema de localización de rayos es mucho menor. El cálculo final refleja una eficiencia en la detección del 53 %, lo que está ampliamente explicado en **Herrera & Younes (2020)**.

Conclusiones

Durante los últimos 20 años el autor ha estudiado el fenómeno del rayo, su caracterización y sus efectos en Colombia. Desde el inicio, la investigación evidenció que las características espaciales y temporales de los parámetros de este fenómeno natural ratificaban la hipótesis planteada por **Torres (1998)**. Desde comienzos del presente siglo ha quedado establecido que Colombia cuenta con lugares de altísima actividad eléctrica atmosférica ubicados en puntos específicos de su geografía. Esta circunstancia, ya planteada en varios estudios de una década atrás con base en los mapas de los niveles isocerámicos, fue comprobada con mayor certeza a partir del análisis de los datos de los sistemas de información provenientes de las primeras redes de localización de rayos en el país y ratificada por las misiones espaciales de la NASA mediante la detección de rayos desde el espacio basada en el análisis de imágenes.

El uso de las bases de datos de los sistemas de localización de rayos exigió herramientas de computación flexibles, tales como la teoría de subconjuntos difusos y las reglas de asociación difusas, lo que facilitó la interpretación y adecuación de los datos a las realidades del fenómeno natural analizado, ratificando, a la vez, las características especiales de la actividad eléctrica atmosférica en Colombia.

El análisis de los parámetros del rayo a partir de los datos de las redes de localización se viene realizando en Colombia desde hace 20 años con aportes significativos que destacan las particularidades del fenómeno a la luz de las realidades geográficas, orográficas y meteorológicas de un país ubicado en zona tropical.

Los efectos del terreno, especialmente de los altos gradientes de altitud, así como de las variables meteorológicas del territorio colombiano, incentivó el estudio, por primera vez en el mundo, de los efectos de la propagación de las ondas electromagnéticas generadas por el rayo en el desempeño de los sistemas de localización del fenómeno en cuanto a la eficiencia de la detección y la exactitud de la localización.

La eficiencia de los sistemas de localización de rayos ha permitido el desarrollo de herramientas para contrastar el desempeño de las grandes redes de localización y ha aportado al conocimiento de parámetros del rayo como la multiplicidad real y la densidad de rayos a tierra en algunos lugares del territorio colombiano.

Los primeros análisis de los efectos antropogénicos, especialmente los derivados de las emisiones de material en partículas, y su relación con el incremento de la actividad de rayos en ciertas zonas del territorio colombiano requieren de estudios más profundos para ser concluyentes.

Agradecimientos

El autor agradece a la Universidad Nacional de Colombia y al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (anteriormente Colciencias) por la financiación de la totalidad de las investigaciones que se reportan en el presente artículo, así como a Intercolombia S.A. E.S.P y a Keraunos S.A.S. por la colaboración prestada en el suministro de los datos de las redes de localización de rayos.

Conflicto de intereses

El autor no tiene conflicto de intereses.

Referencias

- Abarca, S. F., Corbosiero, K. L., Galarneau Jr, T. J.** (2010). An evaluation of the worldwide lightning location network (WWLLN) using the national lightning detection network (NLDN) as ground truth. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. **115** (D18): 1-11.
- Albrecht, R. I., Goodman, S. J., Buechler, D. E., Blakeslee, R. J., Christian, H. J.** (2016). Where are the lightning hotspots on Earth? *Bulletin of the American Meteorological Society*. **97** (11): 2051-2068.
- Aranguren, D., López, J., Inampué, J.C., Torres, H., Betz, H.** (2016). Cloud-to-ground lightning activity in Colombia and the influence of topography. *Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics*. **154**: 182-189.
- Boccippio, D. J., E. R. Williams, S. J. Heckman, W. A. Lyons, I. Baker, R. Boldi.** (1995). Sprites, ELF transients and positive ground strokes, *Science*. **269**: 1088.
- Boccippio, D. J., Koshak, W., Blakeslee, R., Driscoll, K., Mach, D., Buechler, D., Goodman, S. J.** (2000). The Optical Transient Detector (OTD): Instrument characteristics and cross-sensor validation. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*. **17** (4): 441-458.
- Boccippio, D. J., Koshak, W.J., Blakeslee, R.J.** (2002) Performance assessment of the Optical Transient Detector and Lightning Imaging Sensor. Part I: Predicted Diurnal Variability. *Journal of Atmospheric & Oceanic Technology*. **19.2**: 1318.
- Cecil, D. J., Buechler, D. E., Blakeslee, R. J.** (2014). Gridded lightning climatology from TRMM-LIS and OTD: Dataset description. *Atmospheric Research*. **135**: 404-414.
- Cruz-Bernal, A. S., Torres-Sánchez, H., Aranguren-Fino, H., Inampué-Borda, J. C.** (2018). Lightning mortality rate in Colombia for the period 1997–2014. *Revista UIS Ingenierías*. **17** (2): 65-74.
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE).** (2018). Censo Nacional de Población y Vivienda 2018–Colombia. Fecha de consulta: 22 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/demografia-y-poblacion/censo-nacional-de-poblacion-y-vivienda-2018/cuantos-somos>

- Del Río-Trujillo, D., Younes-Velosa, C., Pulgarín-Rivera, J.** (2017). Lightning activity over large cities located in mountainous tropical zones and its relationship with particulate matter PM10 distribution-the Bogota City Case. *Revista Facultad De Ingenieria-Universidad de Antioquia*. **82**: 22-30.
- Del Río-Trujillo, D. F.** (2018) Evaluación del efecto urbano sobre los parámetros del rayo. Caso colombiano (Disertación doctoral, Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales).
- Diendorfer, G., Bernardi, M., Cummins, K. L., Del la Rosa, F., Hermoso, B., Hussein, A. M., Torres, H.** (2009). Cloud-to-Ground Lightning Parameters Derived from Lightning Location Systems-The Effects of system Performance. Review of CIGRE Report. p. 1-5.
- Franklin, B.** (1774). Experiments and observations on electricity made at Philadelphia. London. E Cave.
- Herrera, J., Younes, C., Porras, L.** (2018). Cloud-to-ground lightning activity in Colombia: A 14-year study using lightning location system data. *Atmospheric Research*. **203**: 164-174.
- Herrera, J. & Younes, C.** (2020). Plataforma experimental para la medición sistemática de parámetros de descargas eléctricas atmosféricas (p. 1-106). Manizales: Universidad Nacional de Colombia. <http://www.hermes.unal.edu.co>
- IEEE.** (2011) Guide for Improving the Lightning Performance of Electric Power Overhead Distribution Lines, en IEEE Std 1410-2010 (Revision of IEEE Std 1410-2004). pp.1-73, Doi: 10.1109/IEEESTD.2011.5706451
- Karami, H., Mostajabi, A., Azadifar, M., Wang, Z., Rubinstein, M., Rachidi, F.** (2019). Locating Lightning Using Electromagnetic Time Reversal: Application of the Minimum Entropy Criterion. In 2019 International Symposium on Lightning Protection (XV SIPDA) (pp. 1-4). IEEE.
- Karami, H., Azadifar, M., Mostajabi, A., Rubinstein, M., Rachidi, F.** (2019). Numerical and Experimental Validation of Electromagnetic Time Reversal for Geolocation of Lightning Strikes. *IEEE Transactions on Electromagnetic Compatibility*. **62** (5): 2156-2163. Access date: October 12, 2020, doi: 10.1109/TEMPC.2019.2957531.
- Koshak, W. J., Cummins, K. L., Buechler, D. E., Vant-Hull, B., Blakeslee, R. J., Williams, E. R., Peterson, H. S.** (2015). Variability of CONUS lightning in 2003–12 and associated impacts. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*. **54** (1): 15-41.
- Lyons, W. A. & Williams, E. R.** (1993). Preliminary investigations of the phenomenology of cloud-to-stratosphere lightning discharges. Conference on atmospheric electricity, St. Louis, Missouri.
- Lyons, W. A.** (1996). Sprite observations above the US High Plains in relation to their parent thunderstorm systems. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. **101** (D23): 29641-29652.
- Mostajabi, A., Finney, D. L., Rubinstein, M., Rachidi, F.** (2019). Nowcasting lightning occurrence from commonly available meteorological parameters using machine learning techniques. *npj Climate and Atmospheric Science*. **2** (1): 1-15.
- Pérez, E., Espinosa, J., Aranguren, D.** (2020). On the development of dynamic stroke density for transmission line for power system operational applications. *International Journal of Electrical Power & Energy Systems*. **116**: 105527.
- Pierce, E.T.** (1956). Some techniques for locating thunderstorms from a single observing station. In *Vistas in Astronomy*, ed. A. Beer, vol. 2, pp. 850–5. London and New York: Pergamon Press.
- Pinto Jr, O., Pinto, I. R. C. A., Naccarato, K. P.** (2007). Maximum cloud-to-ground lightning flash densities observed by lightning location systems in the tropical region: A review. *Atmospheric Research*. **84** (3): 189-200.
- Pulgarín, J.D.** (2020). Propagation of LF and VLF lightning electromagnetic waves: The ground effects. Applications to lightning locating systems in mountainous regions. (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia).
- Rakov, V. A. & Uman, M. A.** (2003). *Lightning: physics and effects*. Cambridge University Press.
- Rakov, V. A. & Huffines, G. R.** (2003). Return-stroke multiplicity of negative cloud-to-ground lightning flashes. *Journal of Applied Meteorology*. **42** (10): 1455-1462.
- Rojas, H. E., Santamaría, F., Escobar, O. F., Román, F. J.** (2017). Lightning research in Colombia: lightning parameters, protection systems, risk assessment and warning systems. *Ingeniería y Desarrollo*. **35** (1): 240-261.
- Soto, E. & Pérez, E.** (2019). Lightning-induced voltages on overhead lines over irregular terrains. *Electric Power Systems Research*. **176**: 105941.

- Thomas, R. J., Krehbiel, P. R., Rison, W., Hamlin, T., Boccippio, D. J., Goodman, S. J., Christian, H. J.** (2000). Comparison of ground-based 3-dimensional lightning mapping observations with satellite-based LIS observations in Oklahoma. *Geophysical research letters*. **27** (12): 1703-1706.
- Torres, H.** (1998). Espacio y tiempo en los parámetros del rayo, ensayo sobre una hipótesis de investigación. Trabajo de investigación presentado a la Universidad Nacional de Colombia para promoción a la categoría de Profesor Titular. Bogotá.
- Torres, H.** (2015). El rayo en el trópico: certezas temporales de investigación sobre el fenómeno del rayo. Universidad Nacional de Colombia, Rectoría. Bogotá. p. 201.
- Torres, H., Pérez, E., Younes, C., Aranguren, D., Montaña, J., Herrera, J.** (2015). Contribution to lightning parameters study based on some American Tropical Regions observations. *IEEE Journal of selected topics in applied earth observations and remote sensing*. **8** (8): 4086-4093.
- Torres-Sánchez, H.** (2017). The interdisciplinarity of lightning. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **41** (159): 174-186.
- Van der Velde, O. A., Montanyà, J., López, J. A., Cummer, S. A.** (2019). Gigantic jet discharges evolve stepwise through the middle atmosphere. *Nature communications*. **10** (1): 1-10.
- Wilson, C.T.R.** (1920). Investigations on lightning discharges and on the electric field of thunderstorms. *Phil. Trans. Roy. Soc. A* **221**: 73-115.
- Younes, C., & Torres, H.** (2002). Evaluación de parámetros del rayo con mediciones terrestres y satelitales para Colombia. Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá. p. 173.
- Younes, C., Torres, H., Perez, E., Gallego, L., Montana, J., Herrera, J., & Vargas, M.** (2003). A comparison between satellital and terrestrial lightning detection systems. In *Proceedings of ISH*.
- Younes, C. & Duarte, O.** (2006). Metodologías para la correlación de parámetros del rayo con características geográficas y meteorológicas, caso colombiano (Disertación doctoral, Ph. D., Universidad Nacional de Colombia).
- Younes, C., Duarte, O., Pulgarín, J.** (2013). A novel fuzzy parameter for ground flash density. *Dyna*. **80** (182): 41-49.
- Younes, C., Torres, H., Pérez, E., Gallego, L., Cajamarca, G., Pavas, A.** (2004). Lightning parameters evaluation in the Colombian highest atmospheric activity zone. In *Proceedings of ICLP*. p. 143.
- Zhang, D., Cummins, K. L., Nag, A., Murphy, M., Bitzer, P.** (2016). Evaluation of the National Lightning Detection Network Upgrade Using the Lightning Imaging Sensor. In *24th Int. Lightning Detection Conf. & Sixth Int. Lightning Meteor. Conf.*
- Zhang, D., Cummins, K. L., Bitzer, P., Koshak, W. J.** (2019). Evaluation of the performance characteristics of the Lightning Imaging Sensor. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*. **36** (6): 1015-1031.

Original article

Mie scattering study of dielectric nanoparticles and nanoantennas applications

Estudio de la dispersión de Mie de nanopartículas dieléctricas y de las aplicaciones en nanoantenas

Oslen Dilayder Jaimes-Suárez*, Heriberto Peña-Pedraza

Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia

Abstract

The development of devices for focusing radiation on desired targets is of great importance in different fields of science and communication technologies as it would allow the creation of more efficient optical instruments. In this study, we explored the dispersion of dielectric spherical nanoparticles using elements from Mie's theory. There was evidence that the form of dispersed radiation patterns depends on factors such as the size of particles and the wavelength of incident radiation. The knowledge regarding radiation dispersion could be applied in the development of nanoantennas, as well as new nanotechnology devices and arrangements.

Keywords: Dielectric nanoparticles; Nanoantennas; Radiation pattern.

Resumen

El diseño de dispositivos capaces de enfocar la radiación de la manera deseada es de gran importancia en diferentes campos de la ciencia y la tecnología de la comunicación, y permitiría la creación de instrumentos ópticos más eficientes. En este estudio se exploró la dispersión de nanopartículas esféricas dieléctricas a partir de elementos de la teoría de Mie. Se pudo observar que la forma del patrón de radiación dispersa depende de factores como el tamaño de la partícula y la longitud de onda de la radiación incidente. El conocimiento sobre la dispersión de la radiación podría utilizarse en aplicaciones de nanoantenas, en el desarrollo de nuevos dispositivos y en arreglos de nanotecnología.

Palabras clave: Nanopartículas dieléctricas; Nanoantenas; Patrón de radiación.

Introduction

The development of optical circuits and nanoantennas promises to be a point of great importance for the proper functioning of ultrafast optical communication systems, in photonics science and the technology to generate, control, and detect light at a quantum level. This is possible by researching, designing, developing, and creating the elemental components of the various nanophotonic devices and their properties including scattering patterns through which the incident radiation can be precisely redirected or focused.

The variations of the refractive indexes of the dielectric material used in the manufacture of nanoparticles are among the components useful for controlling radiation direction. This can be done by varying the frequency of the incident wave or selecting an adequate particle size. In this context, Tribelsky, *et al.* (2015) studied the effects of the relation between the dipole and multipolar modes that produce anomalous scattering effects.

Many functional devices such as nano lenses, wave nano-guides, and nanoparticle-based nanoantennas can operate as optical devices. The main drawbacks of using metallic nanoparticles are their intrinsic losses, which strongly affect their general performance when used as optical devices. In terms of directionality, in metallic nanoparticles, the resonant scattering is dominated by resonances of the electric dipole type due to their

Citación: Jaimes-Suárez OD, Peña-Pedraza H. Mie scattering study of dielectric nanoparticles and nanoantennas applications. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):974-983, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1265>

Editor: Pedro Fernández de Córdoba

***Correspondencia:**

Oslen Dilayder Jaimes Suarez;
oslen.jaimes@unipamplona.edu.co

Recibido: 9 de julio de 2020

Aceptado: 8 de septiembre de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

plasmonic behavior. On the other hand, in the dielectric nanoparticles, the electric and magnetic dipole resonances predominate enabling an improvement in the directionality of the scattering (**Fu, et al.**, 2013).

Silicon dielectric nanoparticles exhibit sharp scattering due to the pronounced resonances associated with the excitations of the magnetic and electrical modes. Factors such as the high permittivity of the dielectric nanoparticle allow observing magnetic dipole resonance in the visible spectral range for silicon nanoparticles with radii of approximately 100 nm (**Evlyukhin, et al.**, 2012).

The study and development of optically resonant nanostructures for the control of far-field scattering through intermodal interference have been determined by the rapid progress in the field of nanophotonics. These effects are associated with plasmonic nanostructures. Based on this, a new branch of nanophotonics has emerged, which seeks to manipulate the strong Mie electronic and magnetic resonances optically produced in high refractive index dielectric nanoparticles. One of the reasons for the use of dielectric nanoparticles is that they reduce dissipative losses and, therefore, achieve a resonant improvement in electric and magnetic fields (**Kuznetsov, et al.**, 2016).

In the design and construction of resonant dielectric nanophotonic devices, silicon is generally maintained as a constituent material always due to its availability, low cost, and advanced technological treatment. The optical properties of silicon are almost ideal for a strong Mie resonant response, as it has a refractive index of 3.5 and negligible absorption losses in the telecommunications spectral range, thus presenting a significant magnetic dipole response. In addition to their exceptional optical properties, silicon nanostructures are mechanically and thermally exceptional (**Decker & Staude**, 2016).

Nanoantennas behave in the same way as radio wave antennas, which are characterized by their ability to establish an efficient link between the near optical fields and the far-field of propagation. Thus, the nanoantennas can energetically improve the interaction of light with matter at the nanoscale due to their ability to efficiently link spatially located and propagated optical fields and, also, by giving fine characteristic directivity to the radiation and focusing and concentrating the electromagnetic fields at specific points with an enormous potential for applications ranging from light microscopy and nanoscale spectroscopy to the conversion of solar energy, integrated optical nanocircuits, and optoelectronics (**Biagioni, et al.**, 2012).

Maintaining control of light at the nanoscale has been a topic of particular interest due to the many emerging applications, such as 3D optical interconnections on multilayer chips, the improvement of fluorescence signals in bioimaging, high-resolution spatial light modulators, and concentration of light energy in heat-assisted magnetic recording. At the nanoscale, conventional optical elements are neither applicable nor useful for the development of nanodevices, therefore, current optical devices as nanoantennas offer a new conceptual approach with new geometries for non-classical light emission, harmonic generation, nanoscale photodetectors, and the detection of individual molecules (**Novotny & Van Hulst**, 2011).

The plasmonic nanoantennas studied in optics are still far from achieving the same characteristics that conventional antennas present at radio frequencies due to losses in metallic elements. For this reason, the use of fully dielectric nanoantennas is considered an alternative to plasmonic or metallic nanostructures. The use of dielectrics also has advantages such as low radiation loss, relatively small sizes, lightweight, high radiation efficiency, and reasonable bandwidth (**Mongia & Bhartia**, 1994).

The directivity in dielectric nanoparticles in some spectral wavelengths is possible because the particles can act as Huygens sources by scattering all radiation in the forward direction while other wavelengths of the electromagnetic radiation will be almost totally scattered backward (**Kerker, et al.**, 1983). This behavior is associated with Fano directional resonance, a type of resonance effect that helps to explain the existing asymmetry of directionality. The microscopic origin of this resonance arises from constructive and

destructive interference. Generally, this resonance is associated with quantum systems, but these wave function interference phenomena are also present in classical optics (Luk'yanchuk, *et al.*, 2003).

Materials and methods

We report here on the geometry of the radiation scattered by spherical silicon particles at nanometric scales using the Mie theory (Luk'yanchuk, *et al.*, 2003). When considering a nanoparticle as a nanoantenna, the particularities of each nanoparticle determine its intrinsic radiation patterns. In this way, it is possible to study the characteristics of gain and directivity of the radiation absorbed and scattered by spherical silicon nanoparticles.

For the visualization of the scattering patterns, we wrote a code in Python using the Mie theory to then calculate forward and backward scattering patterns. The Mie theory studies the characteristics of the scattering of electromagnetic radiation with the matter at the nanometer scale. To conduct the study, we reviewed the problem of a plane electromagnetic wave that impinges on a spherical particle where the wave induces an excitation in the electrons producing electronic oscillations and the energy of the incident electromagnetic wave can be scattered and absorbed by the particle. In dielectric nanoparticles, irradiated scattering occurs as a consequence of electrical and magnetic resonances resulting in a great variety of forms observable in the scattered radiation. The absorption (σ_{abs}), extinction (σ_{ext}), and scattering (σ_{dis}) cross-sections are written as (Bohren & Huffman, 2008):

$$\sigma_{dis} = \frac{2 \pi}{k^2} \sum_{j=1}^{\infty} (2j + 1) Re(a_j + b_j) \tag{1}$$

$$\sigma_{ext} = \frac{2 \pi}{k^2} \sum_{j=1}^{\infty} (2j + 1) (|a_j|^2 + |b_j|^2) \tag{2}$$

$$\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_{dis} \tag{3}$$

$$a_j = \frac{m \psi_j(mx) \psi'_j(x) - \psi_j(x) \psi'_j(mx)}{m \psi_j(mx) \xi'_j(x) - \xi_j(x) \psi'_j(mx)} \tag{4}$$

$$b_j = \frac{\psi_j(mx) \psi'_j(x) - m \psi_j(x) \psi'_j(mx)}{\psi_j(mx) \xi'_j(x) - m \xi_j(x) \psi'_j(mx)} \tag{5}$$

where k is the wave vector (m^{-1}); a_j, b_j are the scattering coefficients; x is the size parameter m , the ratio between the refractive indices of the nanoparticle and the medium, and $\psi_j(x), \xi_j(x)$ are the Ricatti-Bessel functions defined as:

$$\psi_j(x) = \sqrt{\frac{\pi x}{2}} J_{j+\frac{1}{2}}(x) \tag{6}$$

$$\xi_j(x) = \sqrt{\frac{\pi x}{2}} [J_{j+\frac{1}{2}}(x) + iY_{j+\frac{1}{2}}(x)] \tag{7}$$

where $J_{j+\frac{1}{2}}(x)$ is the Bessel function of the first kind and $Y_{j+\frac{1}{2}}(x)$ is the Bessel function of the second kind.

Using the angular components of the electric field scattered by the particle, it is possible to study the behavior and shape of the scattered radiation using the following equations:

$$S_1 = \sum_j \frac{2j + 1}{j(j + 1)} (a_j \pi_j + b_j \tau_j) \tag{8}$$

$$S_2 = \sum_j \frac{2j + 1}{j(j + 1)} (a_j \tau_j + b_j \pi_j) \tag{9}$$

$$\pi_j = \frac{P_j^1(\cos\theta)}{\sin\theta} \tag{10}$$

$$\tau_j = \frac{dP_j^1(\cos\theta)}{d\theta} \tag{11}$$

where $P_j^1(\cos\theta)$ corresponds to the associated Legendre polynomials of order 1 and degree j ; i_{\parallel} is defined as the parallel scattered irradiance per unit of incident radiation, and i_{\perp} as the perpendicular scattered irradiance per unit of incident radiation:

$$i_{\parallel} = |s_1|^2 \tag{12}$$

$$i_{\perp} = |s_2|^2 \tag{13}$$

For the angular dependence, the sums of the irradiances are plotted in polar and spherical coordinates varying Mie parameter given by:

$$x = \frac{2\pi r}{\lambda} \tag{14}$$

where λ is the wavelength of the incident radiation.

Results and discussion

In this work, we considered the use of free access computational tools with several codes implemented in Python for numerical calculation and the subsequent display of the results of the radiation patterns shown below.

Figure 1 shows the scattering cross-section of a spherical silicon particle with a radius of 80 nm in free space interacting with a plane electromagnetic wave; these spectra were calculated based on Mie’s theory. The forward scattering spectra corresponds to the curve in blue color while backscattering spectra corresponds to orange color.

As shown in **figure 1**, both spectra have two well-defined peaks in the visible spectral range. The maximum of forward scattering spectra located around 520 nm is due to electrical resonances and the one close to 640 nm is due to magnetic resonances (**Kuznetsov, et al., 2012**).

Furthermore, the maximum values of the electrical and magnetic resonances of the backscattering spectrum are located closer to each other compared to the forward. For wavelengths higher than 635 nm and values less than 525 nm (cyan color line in **figure 1**), the forward scattering spectrum is higher than the backscattering spectrum; values of

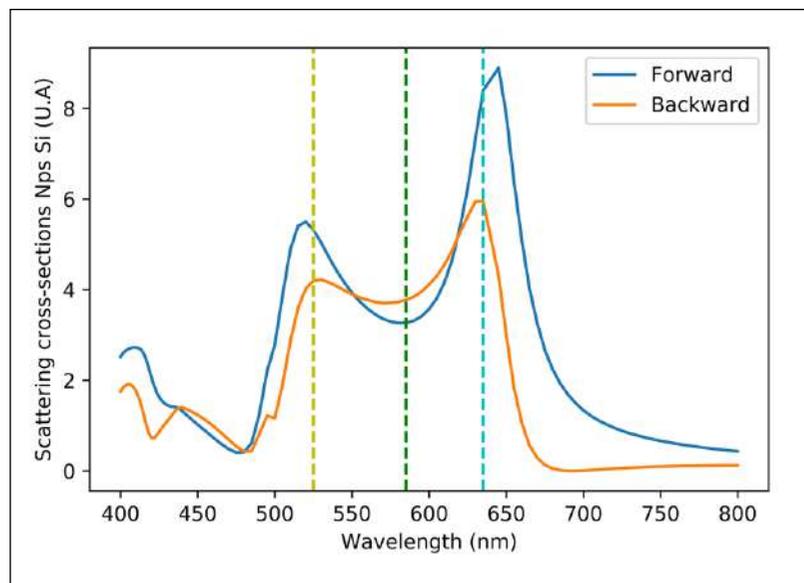


Figure 1. Forward and backward scattering cross-sections for Si nanoparticle with a size of 80 nm

550 nm and 620 nm for backscattering and forward scattering will occur in approximately equal amounts. At 585 nm (green line in **figure 1**), the magnitude of the backscattering spectrum is higher than in the forward scattering spectrum.

To corroborate these results, the irradiance scattered by a spherical particle with a radius of 80 nm and a refractive index of silicon in free space was analyzed in polar and spherical coordinates varying the wavelength.

As shown in **figures 1, 2**, and **figure 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2886>; the scattering of the spherical particle is approximately the same for wavelengths shorter than 525 nm. However, for wavelength values at which the backward and forward scattering spectra are similar, backscattered irradiance predominates.

As shown in **figure 2S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2887>; the scattering by the particle occurs in higher quantity towards the rear, thus generating a backscatter antenna.

As shown in **figure 3S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2888>; the nanoparticle scattering generated mainly goes forward, thus forming a directional nanoantenna with a forward scatter pattern and a gain factor close to 11.

In silicon nanoparticle synthesis, methanol, ethanol, and butanol are often used as solvents in the reaction to obtain the nanoparticles (**Cornejo-Monroy, et al., 2009**). To compare the radiation patterns of the silicon nanoparticles suspended in different media, the absorption and scattering cross-sections spectra for spherical particles of 80 nm suspended in methanol were computed taking as refractive index 1.326. The results can be seen in **figure 3**.

In **figure 3**, three peaks can be observed; at 446 nm in the backscatter there was higher intensity than in the forward scattering, but the difference was not significant. At 500 nm and 645 nm wavelengths, forward scattering was higher than the backscattering.

To analyze the radiation patterns obtained with these resonant values of a silicon nanoparticle with a radius of 80 nm suspended in methanol, the graphs of the irradiance in polar and spherical coordinates were calculated.

In **figure 4**, the resulting radiation pattern for a spherical silicon particle of 80 nm suspended in methanol is shown. **Figure 4a)** shows a forward scattering with a maximum gain close to 6 in the 0° direction. Also, it presents some radiation scattering in a perpendicular direction as observable by the lobes at right angles with a small gain close to 2.5; there is a small backscattering at 180°.

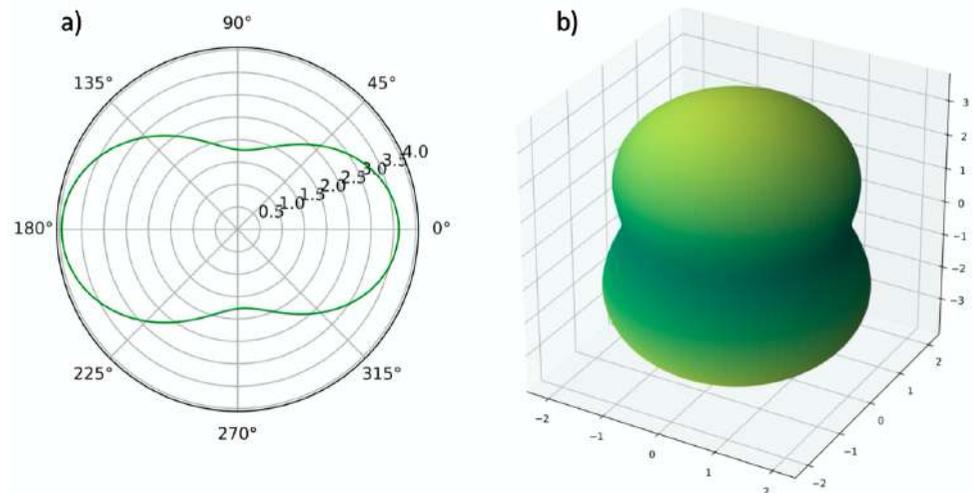


Figure 2. Parallel and perpendicular irradiance of a silicon nanoparticle with a radius of 80 nm, a wavelength of 525 nm, $n=4.168$, and $k=0.036$. The radiation pattern represents the scattering of an electric dipole type nanoantenna. **a)** In polar coordinates; **b)** in spherical coordinates

In figures 4S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2889> and 5S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2891>; the radiation patterns of a silicon nanoparticle with a radius of 80 nm suspended in methanol can be appreciated; the scattering of radiation produced by the nanoparticle is directional forward in a higher amount. In the radiation pattern shown in figure 4S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2889>; the wavelength was 500 nm, the scattering occurred in a higher proportion in a forward direction, but there was also a significant backscatter fraction. Moreover, in figure 5S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2891>; a big forward scatter is observed, but with a broader pattern and less gain compared with the previous case; here, a small fraction backscattered also appears.

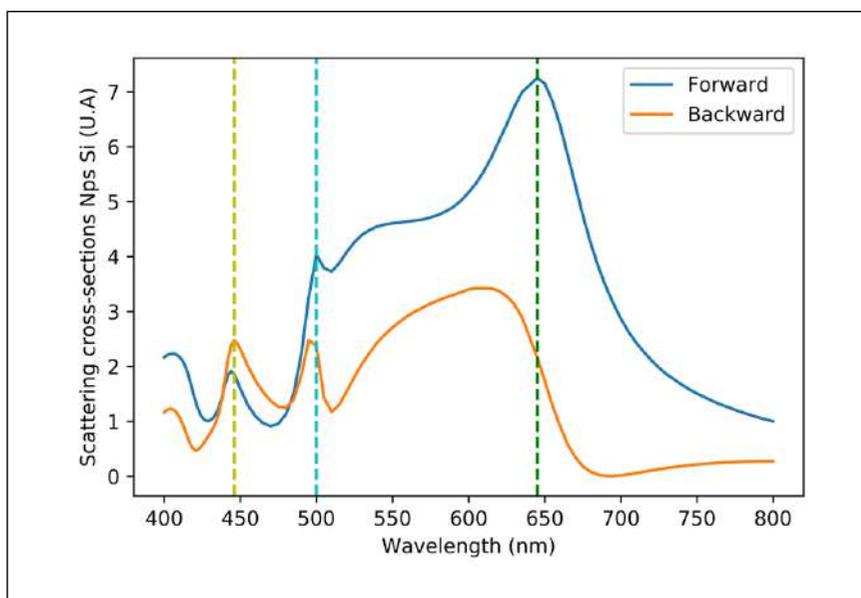


Figure 3. Forward and backward scattering cross-sections of an 80 nm silicon nanoparticle suspended in methanol

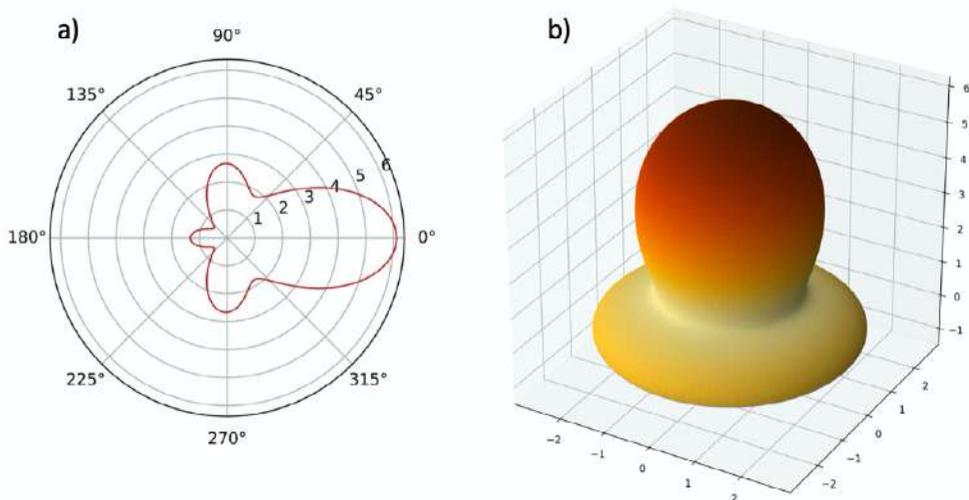


Figure 4. Parallel and perpendicular irradiance of a silicon nanoparticle with a radius of 80 nm suspended in methanol at 446 nm wavelength, $n=4.718$, and $k=0.099$. **a)** In polar coordinates and **b)** in spherical coordinates

For application purposes in the field of nanocircuits, silicon nanoparticles can also become stabilized in quartz. To register the behavior of the scattering of the silicon nanoparticles, the scattering cross-section in quartz was calculated for the refractive index of 1.544, as shown in **figure 5**.

Figure 5 shows the existence of three peaks very similar to those seen in Figure 3, but they differ in that the gap between the scattering peaks forward and backward increased.

To observe the scattering behavior of the silicon nanoparticles in quartz, a scattered irradiance graph was done for each of the wavelength values corresponding to the peak values.

Figure 6 shows the radiation pattern produced by an 80 nm radius silicon nanoparticle in quartz. The graphs also show a narrow directed frontal lobe that concentrates the radiation mostly as a solid angle lower than $\pi/4$ radians, as well as a peculiar feature in the radiation pattern, namely the existence of a small fraction of backscattering and the occurrence of a perpendicular scattering directed at $\pi/2$ radians.

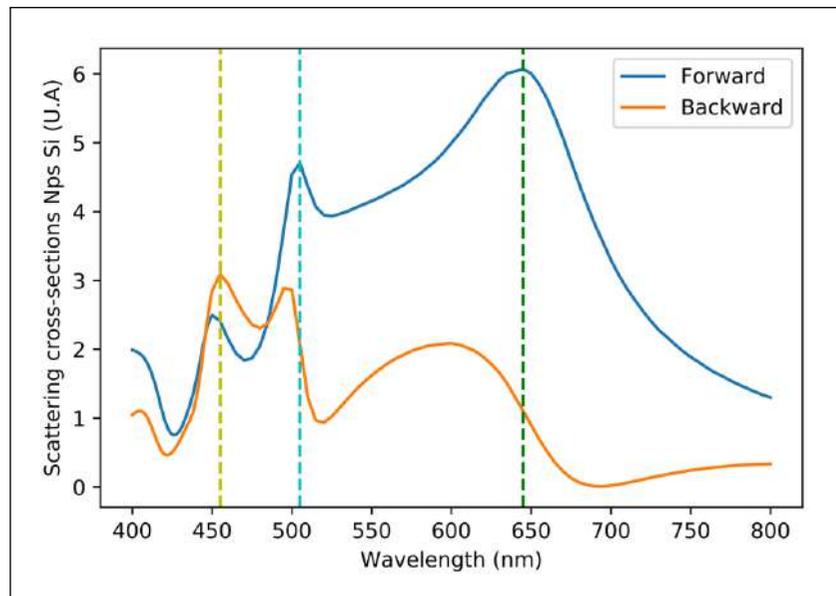


Figure 5. Forward and backward scattering cross-sections for a nanoparticle with a size of 80 nm in quartz

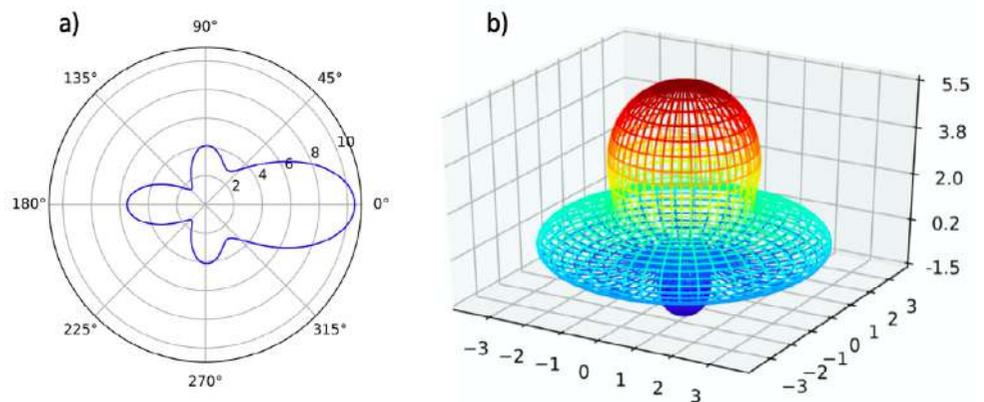


Figure 6. Parallel and perpendicular irradiance of an 80 nm radius silicon nanoparticle in quartz with a wavelength of 455 nm, $n=4.622$, and $k=0.085$. **a)** In polar coordinates and **b)** in spherical coordinates

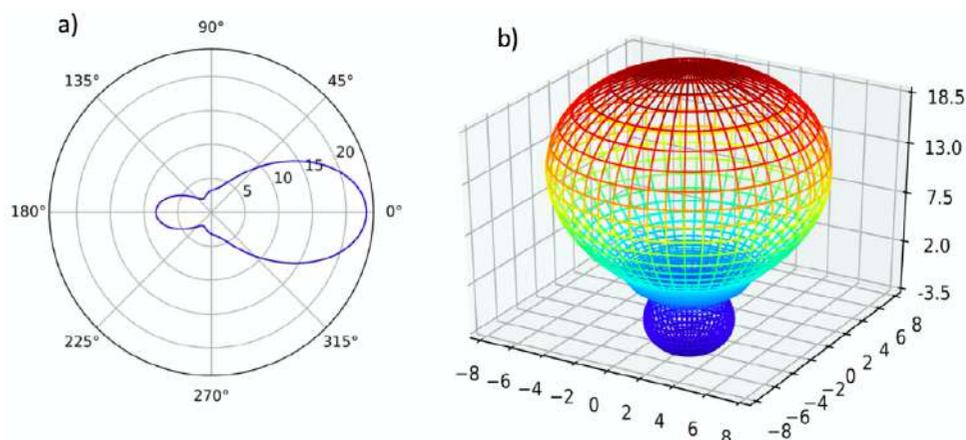


Figure 7. Parallel and perpendicular irradiance of an 80 nm radius silicon nanoparticle in quartz with a wavelength of 505 nm, $n=4.262$, and $k=0.045$. **a)** In polar coordinates and **b)** in spherical coordinates

In **figure 7** and **figure 6S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2892>; showing the irradiance of an 80 nm radius silicon nanoparticle in quartz, the scattering of the radiation is mainly forward. The pattern in **figure 7** shows a higher directivity and gain than the one in **figure 6S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2892>; where a more narrowing lobe in the horizontal plane than in the vertical plane can be observed, which means that there is more directivity in this plane. **Figure 6S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2892>; shows higher homogeneity of the radiation pattern; in any case, the radiation is directed frontally with a gain of 13. The existence of some of the anomalous scattering present in these nanoparticles is due to the joint appearance of electronic and magnetic orthogonal dipole resonances, which influence the radiation pattern resulting from the spherical nanoparticle.

Conclusions

The Mie scattering study of dielectric nanoparticles was done taking as reference 80 nm silicon nanoparticles suspended in different media to analyze their radiation patterns and the characteristics obtained in various suspension media, as well as their possible applications in nanoantennas. Based on the results it can be concluded that the radiation patterns, their directivity, and the gain of the incident radiation on a dielectric particle can be anticipated and addressed numerically knowing relevant data such as the dielectric constants of the materials, the shape, and the size of the nanoparticles, allowing a useful tool in the practical design of nanoantennas for future applications in nanotechnology systems. **Figure 2**, **figure 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2886>; **figure 2S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2887>; **figure 3S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2888>; **figure 4**, **figure 4S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2889>; **figure 5S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2891>; **figure 6**, **figure 7**, and **figure 6S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2892> show the exclusive results of the study, especially for the case of 80 nm silicon nanoparticles suspended in three different media.

Knowing the dimensions of the nanoparticles and the dielectric constants of the materials used, and developing the necessary numerical calculations and using the scattering spectra it was possible to visualize the radiation patterns of the silicon nanoparticles in polar and spherical coordinate systems at different wavelengths, which allowed for the analysis of the shape and the predominant scattering in a spherical silicon nanoparticle suspended in different material media (vacuum, methanol, quartz).

The anisotropic scattering in silicon nanoparticles suspended in different media, which can be caused by the interference of electric and magnetic dipoles induced by the incident electromagnetic radiation, was demonstrated using the calculus of Mie theory formulas.

The radiation patterns of the nanoparticles strongly depend on the shape and the size of the nanoparticle, the dielectric constants of the materials, and the surrounding media. When analyzing **figures 1, 3, and 5** showing the scattering cross-sections for silicon nanoparticles, it can be observed that if the incident electromagnetic radiation is in the visible spectral range, increasing the refractive index of the medium containing the nanoparticles of silicon will send forward most of the scattered energy.

These results may be useful when including nanoparticles in nanotechnology applications such as nanoantennas, lens-type systems, the concentration of radiation on quantum dots, the focusing of light in photonic devices and solar cells, and in the study of samples in nano-spectroscopy.

Supplementary information

Figure 1S. Parallel and perpendicular irradiance of a silicon nanoparticle with a radius of 80 nm, with a wavelength of 550 nm, $n = 4.075$, and $k = 0.029$. For wavelengths of 620 nm, $n = 3.893$ and $k = 0.017$ the irradiance graph is similar, **a)** in polar coordinates **b)** in spherical coordinates. See the figure 1S in <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2886>

Figure 2S. Parallel and perpendicular irradiance of a Silicon nanoparticle with radius 80nm, with a wavelength of 585nm, $n=3.971$ y $k=0.022$, **a)** in polar coordinates **b)** in spherical coordinates. See the figure 2S in <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2887>

Figure 3S. Parallel and perpendicular irradiance of a Silicon nanoparticle with radius 80 nm, with a wavelength of 660 nm, $n=3.828$, and $k=0.014$. **a)** in polar coordinates **b)** in spherical coordinates. See the figure 3S in <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2888>

Figure 4S. Parallel and perpendicular irradiance of a suspended in methanol silicon nanoparticle with a radius of 80 nm, at 500 nm wavelength, $n=4.290$, and $k=0.047$. **a)** in polar coordinates **b)** in spherical coordinates. See the figure 4S in <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2889>

Figure 5S. Parallel and perpendicular irradiance of a suspended in methanol silicon nanoparticle with a radius of 80 nm, at 645 nm wavelength, $n=3.850$, and $k=0.015$. **a)** in polar coordinates **b)** in spherical coordinates. See the figure 5S in <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2891>

Figure 6S. Parallel and perpendicular irradiance of a Silicon nanoparticle with a radius of 80 nm in quartz, with a wavelength of 645 nm, $n=3.850$, and $k=0.015$. **a)** in polar coordinates **b)** in spherical coordinates. See the figure 6S in <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1265/2892>

Author contribution

Both authors contributed to the research and writing of the code to carry out the numerical calculations, to the analysis of the data obtained, and to the final drafting of the manuscript.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest to declare.

References

- Biagioni, P., Huang, J. S., Hecht, B.** (2012). Nanoantennas for visible and infrared radiation, *Reports on Progress in Physics*. **75** (2): 024402.
- Bohren, C. F., Huffman, D. R.** (2008). *Absorption and scattering of light by small particles*, New York, USA: John Wiley & Sons.

- Cornejo-Monroy, D., Sánchez-Ramírez, J. F., Pescador Rojas, J. A., Herrera-Pérez J. L., González-Araoz, M. P., Guarneros, C.** (2009). Nanoesferas monodispersas de SiO₂: síntesis controlada y caracterización, *Superficies y vacío*. **22** (3): 44-48.
- Decker, M., Staudé, I.** (2016). Resonant dielectric nanostructures: a low-loss platform for functional nanophotonics, *Journal of Optics*. **18** (10):103001.
- Evlyukhin, A. B., Novikov, S. M., Zywiets, U., Eriksen, R. L., Reinhardt, C., Bozhevolnyi, S. I., Chichkov, B. N.** (2012). Demonstration of magnetic dipole resonances of dielectric nanospheres in the visible region. *Nano letters*. **12** (7): 3749-3755.
- Fu, Y. H., Kuznetsov, A. I., Miroshnichenko, A. E., Yu, Y. F., Luk'yanchuk, B.** (2013). Directional visible light scattering by silicon nanoparticles. *Nat, Commun*. **4**: 1527.
- Kerker, M., Wang, D. S., Giles, C. L.** (1983). Electromagnetic scattering by magnetic spheres, *JOSA*. **73** (6): 765-767.
- Kuznetsov, A. I., Miroshnichenko, A. E., Fu, Y. H., Zhang, J., Luk'yanchuk, B.** (2012). Magnetic light, *Scientific reports*. **2**: 492.
- Kuznetsov, A. I., Miroshnichenko, A. E., Brongersma, M. L., Kivshar, Y. S., Luk'yanchuk, B.** (2016). Optically resonant dielectric nanostructures, *Science*. **354** (6314): aag2472.
- Luk'yanchuk, B., Zheludev, N. I., Maier, S. A., Halas, N. J., Nordlander, P., Giessen, H., Chong, C. T.** (2010). The Fano resonance in plasmonic nanostructures and metamaterials, *Nature materials*. **9** (9): 707-715.
- Mongia, R. K., Bhartia, P.** (1994). Dielectric resonator antennas—A review and general design relations for resonant frequency and bandwidth, *International Journal of Microwave and Millimeter-Wave Computer-Aided Engineering*. **4** (3): 230-247.
- Novotny, L., Van Hulst, N.** (2011). Antennas for light, *Nature photonics*. **5** (2): 83-90.
- Tribelsky, M. I., Geffrin, J. M., Litman, A., Eyraud, C., Moreno, F.** (2015). Small dielectric spheres with high refractive index as new multifunctional elements for optical devices, *Scientific reports*. **5**: 12288.

Artículo original

Análisis de polaridades magnéticas en regiones activas para la predicción de fulguraciones solares

Analysis of magnetic polarities in active regions for the prediction of solar flares

✉ Natalia Granados-Hernández, ✉ Santiago Vargas-Domínguez

Grupo de Astrofísica Solar, Observatorio Astronómico Nacional, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Resumen

Las regiones solares activas, y los procesos que en ellas ocurren, han sido estudiadas y analizadas ampliamente y se han elaborado muchos tipos de modelos y caracterizaciones de los distintos eventos eruptivos que tienen lugar en la atmósfera solar. Las regiones más características son aquellas que tienen polaridad magnética opuesta y que, en su mayoría, generan eventos explosivos, como las denominadas fulguraciones solares. Las fulguraciones son intensas explosiones que suceden en la atmósfera solar, que pueden llegar a tener efectos adversos sobre la Tierra y la tecnología desarrollada por el ser humano, además de ser determinantes en el llamado clima espacial, por lo cual se ha intentado predecir su aparición. En este estudio se desarrolló un modelo predictivo de fulguraciones solares de clase mayor a M5 con base en los propuestos por **Korsos, et al.** (2014, 2015), utilizando la relación existente entre las fulguraciones y las regiones activas bipolares. En el análisis se tuvieron en cuenta las áreas de las umbras de las manchas solares de polaridad opuesta, su campo magnético promedio y los baricentros de cada una de estas manchas en una muestra de tres regiones activas. Como resultado se generó un modelo predictivo encontrando la variación temporal de cantidades relacionadas con los baricentros magnéticos que se produce por la evolución de las manchas solares, con lo que se confirmaron resultados previos consignados en la literatura. Se hizo un análisis estadístico para inspeccionar si después de una fulguración, puede tener lugar otra en las horas siguientes.

Palabras clave: Actividad solar; Regiones activas bipolares; Fulguración; Manchas solares.

Abstract

Solar active regions and the processes that occur in them have been extensively studied and analyzed and many types of models and characterizations have been proposed for the occurrence of different eruptive events that take place in the solar atmosphere. The most characteristic of these regions are those that have opposite magnetic polarity, which, in their majority, generate explosive events such as the so-called solar flares. The flares are intense explosions occurring in the solar atmosphere with adverse effects on the Earth and the technology developed by humans, and they are also determining factors in the so-called space weather. For this reason, attempts have been made to predict the occurrence of these events. In the present study, we developed a predictive model of solar flares higher than M5 based on the articles proposed by **Korsos, et al.** (2014, 2015) using the relationship between the flares and the bipolar active regions. The analysis took into account the areas of the sunspots' umbra of opposite polarity, their average magnetic field, and the magnetic barycenter from each sunspot in the region for a sample of three active regions to find the temporal variation due to the evolution of the sunspots, thus confirming previous results reported in the literature. We made a statistical analysis to determine whether after a flare occurs, another can arise in the subsequent hours.

Keywords: Solar activity; Bipolar active regions; Solar flares; Sunspots.

Citación: Granados-Hernández N, Vargas-Domínguez S. Análisis de polaridades magnéticas en regiones activas para la predicción de fulguraciones solares. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):984-995, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1196>

Editor: Román Eduardo Castañeda Sepúlveda

***Correspondencia:**
Santiago Vargas-Domínguez;
svargasd@unal.edu.co

Recibido: 22 de abril de 2020

Aceptado: 19 de octubre de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

Desde hace más de un siglo el estudio del Sol y sus regiones activas ha sido continuo debido a la gran importancia que tienen la aparición y la evolución de eventos explosivos como las denominadas fulguraciones solares. Estos fenómenos pueden causar ciertos efectos adversos en la Tierra, especialmente en la tecnología desarrollada por la especie humana en los últimos cincuenta años.

Las fulguraciones de tipo X pueden emitir radiación de alta energía hacia el exterior del Sol a altas velocidades. La luz que emiten alcanza nuestro planeta a los 8 minutos y 19 segundos del evento y las partículas que expulsa pueden colisionar con el campo magnético terrestre hasta aproximadamente tres días después de ocurrido el evento en la atmósfera solar y afectar la actividad y el comportamiento de la atmósfera de nuestro planeta.

Dependiendo de la intensidad de la fulguración, en la Tierra se pueden experimentar desde auroras boreales, sin consecuencias negativas, hasta efectos realmente contraproducentes. Por ejemplo, una gran explosión puede causar anomalías en la ionósfera, las denominadas tormentas geomagnéticas, las cuales pueden perjudicar y afectar las comunicaciones y las posiciones satelitales a nivel global, poner en peligro a astronautas en misiones que estén orbitando la Tierra e, incluso, sobrecargar y generar apagones en redes de distribución eléctrica. Esto sucede debido a que las partículas expelidas en las fulguraciones llegan a la parte superior de la atmósfera y crean corrientes eléctricas fuertes allí, generando cambios drásticos en las propiedades electromagnéticas que posteriormente influyen en las redes eléctricas de la Tierra. Asimismo, pueden alterar las comunicaciones interrumpiendo la propagación de ondas de radio y de otras señales de las que nuestra sociedad actual depende en gran medida. Los más vulnerables frente a estos eventos son los satélites que orbitan la Tierra, así como las personas que se encuentren en estaciones espaciales, ya que esta radiación impacta directamente, sin el filtro que constituye la atmósfera (Collins, 2013). El fenómeno solar más intenso del que tenemos registro ocurrió a finales de agosto de 1859 y se le denominó “Evento Carrington”; se produjo por una fulguración acompañada de una gran liberación de material solar (eyección de masa coronal o *Coronal Mass Ejection-CME*), que generó una tormenta geomagnética de grandes proporciones en la Tierra, produciendo auroras incluso en latitudes cercanas al ecuador, como la reportada en Colombia (Moreno-Cárdenas, *et al.*, 2016).

Por esto es importante desarrollar modelos predictivos de fulguraciones (Korsos, *et al.*, 2014, 2015), en los cuales se usa la dependencia de las regiones activas magnéticamente bipolares con la formación de fulguraciones. Las variables de interés son las áreas y la magnitud media del campo magnético en las umbras de manchas solares en regiones de polaridad opuesta, y la distancia entre los baricentros de dichas zonas magnéticamente opuestas.

Herramientas para el análisis de los magnetogramas

En el desarrollo del estudio se usaron magnetogramas adquiridos con el instrumento Michelson-Doppler Imager (MDI) a bordo del satélite Solar and Heliospheric Observatory (SOHO, Domingo, *et al.*, 1995), en el formato line-of-sight (LOS) magnetic field y tomados del catálogo Virtual Solar Observatory. Se seleccionó una muestra de regiones activas bipolares, es decir, zonas donde se observa una marcada diferencia a gran escala entre la polaridad positiva y la negativa del campo magnético.

Algoritmo

Para el análisis de los magnetogramas se usó el programa Python (Robitaille, *et al.*, 2013). Las librerías requeridas fueron: matplotlib, para graficar los magnetogramas; astropy, con la que se puede manipular la información proporcionada por el magnetograma; numpy, con el cual se manipula el tamaño del arreglo y se encuentran algunas variables de interés; scipy para el manejo de algunas variables, y skimage, que permite manipular la resolución de la imagen.

Inicialmente se tomó el magnetograma y se lo transformó en un arreglo usando el paquete `astropy.io.fits.getdata`. Una vez transformado, se graficó con `matplotlib` para poder ubicar la región de interés. En la **figura 1** se muestra un ejemplo de uno de los magnetogramas del disco solar. Sobre la imagen del magnetograma se realizó una extracción de la región bipolar de interés (ver recuadro en la **figura 1**). La región recortada se destaca en la **figura 2**.

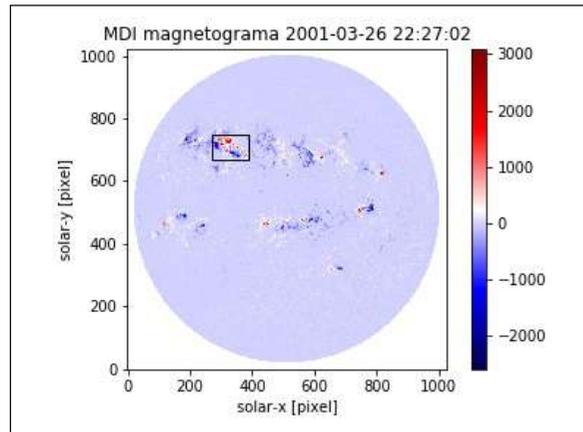


Figura 1. Magnetograma de la región activa NOAA AR 9393 del 26 de marzo de 2001, tomada con el satélite SOHO. La escala de color indica el valor del campo magnético en unidades de Gauss, con las polaridades positivas y negativas en rojo y azul. El recuadro que se observa en la figura destaca la región activa de interés.

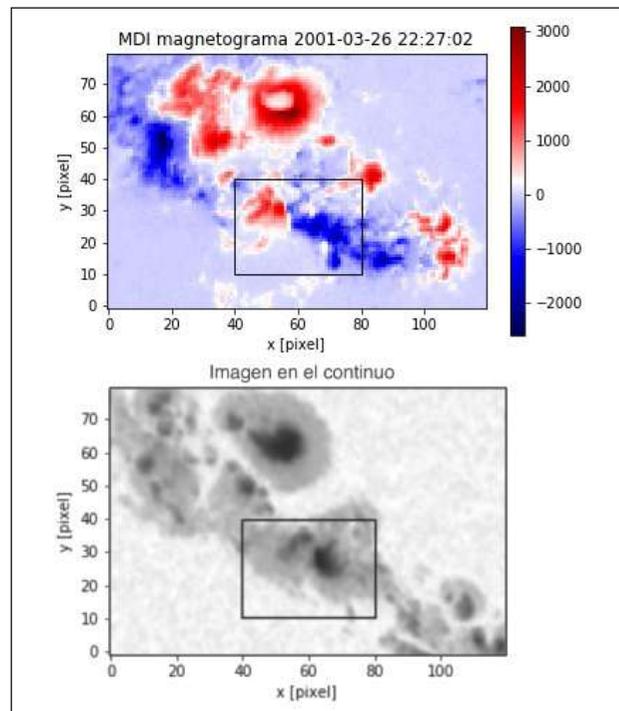


Figura 2. Región activa NOAA AR 9393 extraída de la figura 1. Panel superior: magnetograma. El recuadro destaca la subregión donde se encuentran las manchas solares con polaridad opuesta objeto del análisis. Panel inferior: imagen en el continuo en luz blanca de la región de interés tomada con el telescopio espacial SOHO.

Cuando se trata de una región solar activa compleja con varios pares de manchas solares, se debe seleccionar una región más pequeña y simple que incluya solo un par de manchas de polaridad opuesta, por lo cual se extrae una subregión sobre la cual se hace el análisis (ver recuadro en la **figura 2**).

Este par simple de manchas solares tiene la característica de tener una línea de inversión de polaridad (*polarity inversion line*, PIL), es decir, una zona neutra bien definida que las separa y que caracteriza la región bipolar, es decir, aquella en la cual finalmente se determinarán todas las variables. En esta imagen recortada se aprecia notablemente el pixelado. El tamaño del pixel correspondió a 1,98 arcosegundos tanto para el eje x como para el y . Para trabajar más adecuadamente se aplicó un suavizado a la imagen reduciendo el tamaño de los pixeles a la décima parte, lo que permitió identificar de mejor manera los bordes de la región bajo análisis, en particular las umbras, es decir las zonas con valores extremos (positivos y negativos) de campo magnético.

Para hallar el área de las umbras se usó una máscara sobre el magnetograma elaborada con el módulo `skimage.measure.find_contours`, el cual permite hallar contornos sobre la imagen teniendo en cuenta el valor del pixel (en Gauss). Dado que a simple vista es complicado hallar un borde asociado con la umbra, se hizo un cambio en el mapa de colores de la región para resaltar e identificar bordes de valores en la imagen.

Los mapas de color seleccionados (`set3` y `tab20`), que en adelante se denominan `Map1` y `Map2`, permitieron dividir la imagen en 12 y 20 niveles, respectivamente, con el fin de analizar qué delimitación de la umbra se adecuaba mejor al modelo de **Korsos, et al.** (2014, 2015). Una vez establecido el nivel más cercano a la umbra, se graficó y se verificó su correspondencia, tal como se ilustra en la **figura 3**.

Ya definido el valor asociado con el borde de la umbra, se calculó el área sumando la cantidad de pixeles que envolvían el contorno y haciendo la conversión a arcosegundos con los datos de la cabecera del FITS asociado con el magnetograma. Posteriormente, se calculó el valor promedio del campo magnético dentro del área seleccionada para la umbra usando el comando `count_nonzero` de la librería `numpy` y la media.

Para hallar el baricentro de las regiones de polaridad opuesta se usó la librería `scipy` y su comando `ndimage.center_of_mass`, el cual permite usar los pixeles que están dentro del contorno previamente seleccionado. Se usaron los siguientes cuatro métodos para encontrar el baricentro de las manchas solares de polaridad opuesta.

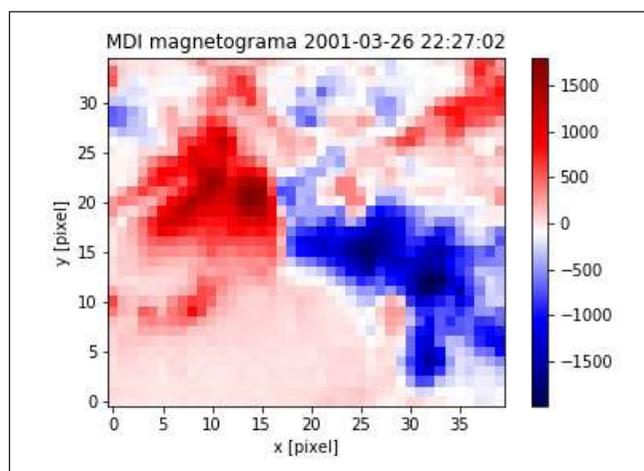


Figura 3. Magnetogramas de MDI de la región activa NOAA AR 9393 con contornos de magnitud del campo magnético. La columna de la izquierda muestra el magnetograma con los contornos de campo magnético en que se resalta la umbra de las manchas solares calculada con los mapas de contornos mostrados en la columna derecha con diferentes niveles correspondientes a `Map1` (superior) y `Map2` (inferior).

1. Una máscara que involucró los píxeles con un valor mayor o igual a 40 % del máximo y menor o igual al 40 % del mínimo de la región.
2. Una máscara que involucró los píxeles con un valor mayor o igual al 99 % del máximo y menor o igual al 99 % del mínimo de la región.
3. Una máscara que involucró los píxeles asociados dentro de la umbra encontrada a partir del mapa de colores Map1.
4. Una máscara que involucró los píxeles asociados dentro de la umbra encontrada a partir del mapa de colores Map2.
5. Un ejemplo de la ubicación de estos baricentros se ilustra en la **figura 4**, resaltando sus posiciones para ambas polaridades con símbolo de estrellas.

Análisis de los datos

Se analizaron magnetogramas tomados del instrumento Michelson-Doppler Imager (MDI) del Solar and Heliospheric Observatory (SOHO), con el fin de estudiar regiones activas bipolares con el método usado recientemente por varios autores (**Korsos, et al., 2014**) para predecir un rango de tiempo en el que puedan generarse fulguraciones de categoría mayor a M5 y X.

Inicialmente se analizaron tres regiones activas usando el método ya descrito. Se calculó el área de las umbras de cada región, así como el valor medio del campo magnético en esta zona y la distancia entre los baricentros magnéticos de cada mancha de polaridad opuesta. Se ajustó el estudio de referencia del trabajo (**Korsos, et al., 2014**) para determinar el campo magnético tomando los datos del campo magnético promedio dentro de la umbra. Posteriormente, se usó la definición de gradiente de campo magnético (*Magnetic Field Gradient, G_M*) y la generalización dada por **Korsos, et al. (2015)**, así como el gradiente magnético horizontal ponderado (*Weighted Horizontal Magnetic Gradient, WG_M*). Estas cantidades se definen en las ecuaciones (1) y (2).

$$G_M = \left| \frac{B_p \cdot A_p - B_n \cdot A_n}{D} \right| \quad (1) \text{ y}$$

$$WG_M = \left| \frac{\sum_{p,i} B_{p,i} \cdot A_{p,i} - \sum_{n,j} B_{n,j} \cdot A_{n,j}}{D} \right| \quad (2),$$

donde A y B representan el área de las umbras y el campo magnético promedio dentro de estas, respectivamente, los índices p, n denotan la polaridad positiva y negativa, y los índices i, j la sucesión de las manchas usadas. Por último, D es la distancia entre los baricentros de las manchas solares en la región activa de polaridad opuesta. Esta distancia se determina con la ecuación de la distancia entre dos puntos (3),

$$D = \sqrt{(x_p - x_n)^2 + (y_p - y_n)^2} \quad (3),$$

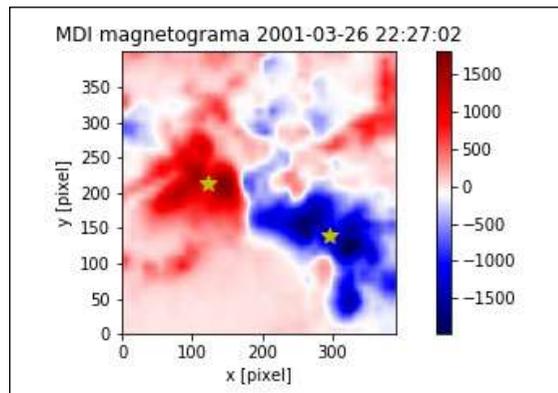


Figura 4. Magnetograma de la región activa de interés donde se marcan los baricentros magnéticos (con el símbolo de estrella) para las polaridades positivas y negativas (rojo y azul) hallados con el método 4

donde (x_p, y_p) y (x_n, y_n) son las coordenadas de los baricentros de las manchas con polaridad positiva y negativa, respectivamente. Esta ecuación se usa porque la distancia entre ellas es mucho más pequeña que el perímetro solar, por lo cual se puede aproximar a una distancia lineal.

Una vez se hallaron todas las variables mencionadas, se hicieron las gráficas de G_M y WG_M en el tiempo para conocer cuál de las dos variables se ajustaba mejor al modelo mencionado.

Las regiones activas que se analizaron fueron las siguientes:

- NOAA AR 8771, del 23 al 27 de noviembre de 1999
- NOAA AR 9393, del 26 de marzo al 2 de abril de 2001
- NOAA AR 10226, del 16 al 20 de diciembre de 2002

Para verificar la hora de aparición de estas fulguraciones se usó la hora de inicio de la base de datos Laboratory of X-Ray Astronomy of the Sun, LPI RAS, Russia, (<https://tesis.lebedev.ru/en/>).

Dado el modelo presentado en **Korsos, et al.** (2014, 2015) se esperaba encontrar un crecimiento de G_M y WG_M asociado con la acción de acercamiento de las manchas de polaridad opuesta y la creación de una hoja de corriente entre las líneas de su campo magnético. En una posterior fase de retroceso, estas variables decrecen cuando las manchas se separan, generando el proceso de reconexión magnética que produce la fulguración, como se ilustra en la **figura 5**.

Se estimó el tiempo entre el máximo de G_M y WG_M y la fulguración. Además, se aplicó un modelo estadístico para el cálculo del tiempo entre la primera fulguración y la posterior siguiendo el orden cronológico en cada región activa en caso de que en las siguientes no se tuviera un máximo asociado.

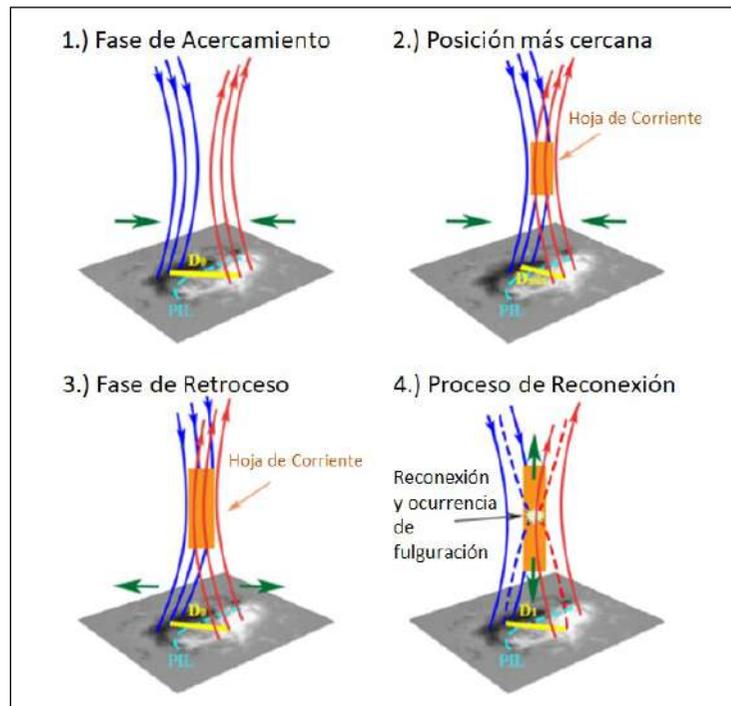


Figura 5. Proceso de formación de una fulguración asociado con el acercamiento (paneles 1 y 2) y alejamiento (paneles 3 y 4) de manchas de polaridad opuesta dentro de una región activa. Las líneas de color naranja y azul corresponden a las líneas magnéticas asociadas con las polaridades positiva y negativa, respectivamente. La línea punteada de color cian corresponde a la línea de inversión de polaridad (PIL) sobre el magnetograma. La línea amarilla denota la distancia D entre los baricentros de polaridad magnética. Fuente: adaptado de **Korsos, et al.** (2018)

Resultados

Se encontró que el método más efectivo para hallar el tiempo estimado de aparición de una fulguración fue aquel en que se usó el gradiente magnético horizontal ponderado, WG_M , para todas las regiones activas de la muestra seleccionada y los métodos más efectivos para hallar los baricentros de las manchas solares de polaridad opuesta fue mediante los mapas de colores Map1 y Map2 (métodos 3 y 4).

Región activa 8771

En esta región se encontró que habían ocurrido dos fulguraciones, la primera de clase M5.7, el 26 de noviembre de 1999 a las 01:10 UT, y la segunda de clase X1.4, el 27 de noviembre de 1999 a las 12:05 UT. Los valores calculados para esta región activa se encuentran en la **tabla 1**; se muestran los distintos máximos WG_M^{max} para cada condición. El tiempo de aparición de la fulguración posterior al máximo en cada condición fue de 45 horas 59 minutos. En la **figura 6** (paneles superiores) se presentan las gráficas de evolución temporal de WG_M donde se aprecia la dependencia del gradiente magnético horizontal

Tabla 1. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado WG_M^{max} previo a las fulguraciones M5.7 y X1.4 con su respectivo valor WG_M^{flare} en el momento de su aparición

	Fecha	WG_M^{max} [Wb/m]	WG_M^{flare} M5.7 [Wb/m]	WG_M^{flare} X1.4 [Wb/m]
$WG_{M,Map1}$	24/11/1999 3:11	$8,02 \times 10^7$	$5,61 \times 10^7$	$7,59 \times 10^7$
$WG_{M,Map2}$	24/11/1999 3:11	$6,46 \times 10^7$	$4,42 \times 10^7$	$6,14 \times 10^7$

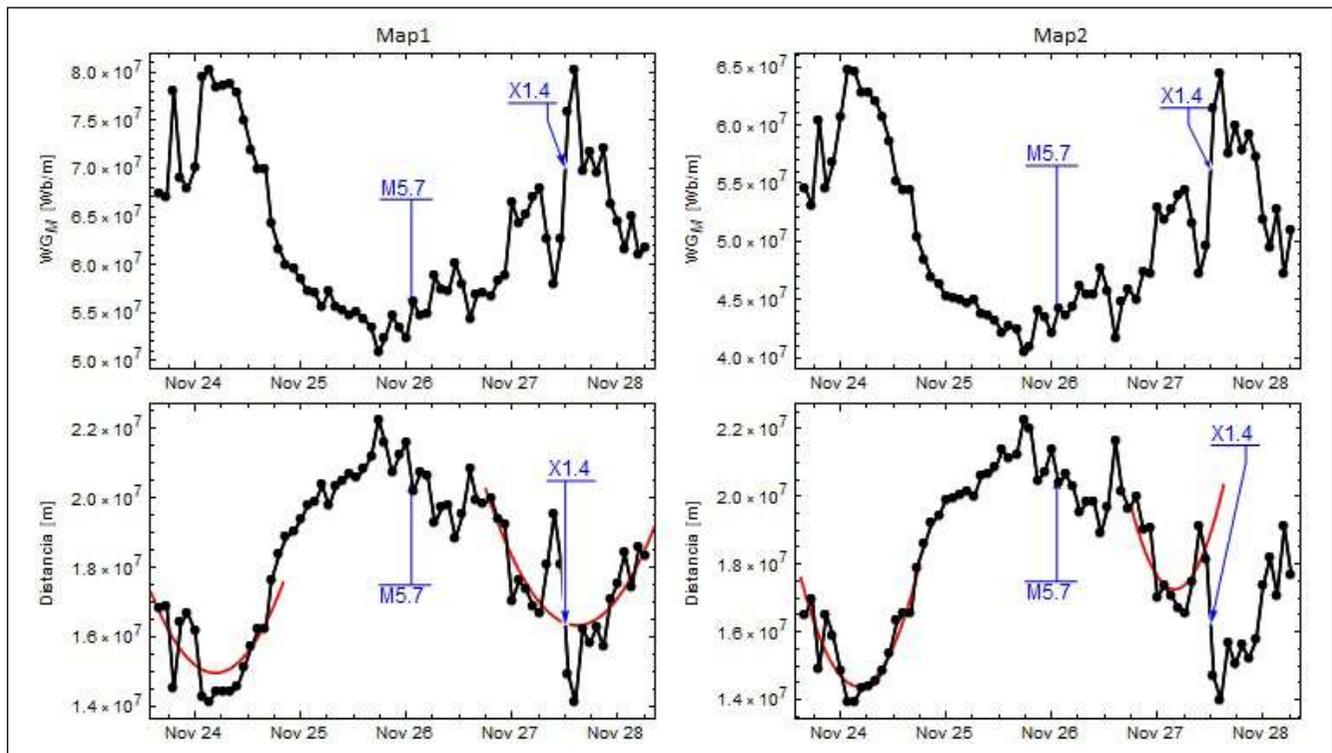


Figura 6. Variación temporal del gradiente magnético horizontal ponderado WG_M para la región activa NOAA AR 8771. Columna izquierda: análisis para Map1. Columna derecha: análisis para Map2. Para cada condición en la parte inferior se encuentra la variación de la distancia de los baricentros de las umbras de polaridad magnéticamente opuestas. Se indican los momentos de aparición de fulguraciones de diferente tipo (en azul).

ponderado con el tiempo. En las gráficas de la izquierda se refleja el análisis hecho con el mapa de colores Map1 y a la izquierda, con el mapa de colores Map2. En ambos casos se observó un crecimiento de WG_M con un posterior decrecimiento lento asociado con la fase de retroceso que se da entre las manchas de polaridad opuesta.

Las gráficas de comportamiento entre la distancia de los baricentros magnéticos (paneles inferiores de la **figura 6**) se hicieron análogamente y en estos se evidenció un comportamiento parabólico previo a la aparición de las fulguraciones que permite deducir que estas ocurren después de que los baricentros se separan notablemente, generando una reconexión entre las líneas de campo magnético que originan la fulguración.

Región activa 9393

En esta región se encontró que habían ocurrido tres fulguraciones, la primera, de clase X1.7, el 29 de marzo de 2001 a las 09:57 UT, la segunda, de clase X1.4, el 2 de abril de 2001 a las 10:04 UT y la última, de clase X2.0, el 2 de abril de 2001 a las 21:32 UT.

Los datos encontrados para cada fulguración se encuentran en las **tablas 2, 3 y 4**. Por notación, los subíndices 1, 2 y 3 se relacionaron con las fechas y los máximos previos a cada una de las fulguraciones en orden cronológico.

En la **tabla 2** se muestra la fecha y el máximo $WG_{M,1}^{max}$ previo a la aparición de la primera fulguración de clase X1.7. El tiempo entre este máximo y la manifestación de la fulguración fue de 22 horas 45 minutos.

Por último, en la **tabla 4** se encuentran los máximos asociados con la última fulguración, de clase X2.0. El tiempo entre este máximo y la manifestación de la fulguración fue de 5 horas 32 minutos.

Se observó que se produjeron tres picos de WG_M asociados con cada una de las fulguraciones (paneles superiores de la **figura 7**). En los dos casos esta variable creció hasta formarse un máximo de menor intensidad previo a la fulguración X1.7. Posteriormente, esta variable se mantuvo estable hasta el decrecimiento que produjo la fulguración X1.4, para luego crecer y disminuir rápidamente hasta generar una fulguración más intensa de tipo X2.0.

Tabla 2. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado $WG_{M,1}^{max}$ previo a la fulguración X1.7 con su respectivo valor $WG_{M,1}^{flare}$ en el momento de su aparición

	<i>Fecha</i> ₁ [Wb/m]	$WG_{M,1}^{max}$ [Wb/m]	$WG_{M,1}^{flare}$ X1.7 [Wb/m]
$WG_{M,Map1}$	28/03/2001 11:12	$1,73 \times 10^8$	$1,58 \times 10^8$
$WG_{M,Map2}$	28/03/2001 11:12	$1,46 \times 10^8$	$1,32 \times 10^8$

Tabla 3. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado $WG_{M,2}^{max}$ previo a la fulguración X1.4 con su respectivo valor $WG_{M,2}^{flare}$ en el momento de su aparición

	<i>Fecha</i> ₂ [Wb/m]	$WG_{M,2}^{max}$ [Wb/m]	$WG_{M,2}^{flare}$ X1.4 [Wb/m]
$WG_{M,Map1}$	1/04/2001 11:12	$1,77 \times 10^8$	$1,46 \times 10^8$
$WG_{M,Map2}$	1/04/2001 16:00	$1,55 \times 10^8$	$1,38 \times 10^8$

Tabla 4. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado $WG_{M,3}^{max}$ previo a la fulguración X2.0 con su respectivo valor $WG_{M,3}^{flare}$ en el momento de su aparición

	<i>Fecha</i> ₃ [Wb/m]	$WG_{M,3}^{max}$ [Wb/m]	$WG_{M,3}^{flare}$ X2.0 [Wb/m]
$WG_{M,Map1}$	2/04/2001 16:00	$1,90 \times 10^8$	$1,47 \times 10^8$
$WG_{M,Map2}$	2/04/2001 16:00	$1,68 \times 10^8$	$1,32 \times 10^8$

En ambos casos se puede apreciar que la evolución temporal de la distancia de los baricentros tuvo un comportamiento parabólico antes de la formación de las fulguraciones (paneles inferiores, **figura 7**).

Región activa 10226

En esta región se observaron dos fulguraciones, la primera, de clase M2.4, que se produjo el 18 de diciembre de 2002 a las 06:31 UT, y la segunda, de clase M6.8, que se generó el 20 de diciembre de 2020 a las 13:13 UT.

En esta región se hizo una excepción y se tuvo en cuenta la fulguración de clase M2.4 porque en las gráficas de WG_M (ver la figura del material suplementario, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1196/2898>) se pudo observar un pequeño pico posiblemente asociado con esta fulguración de menor clase. Sumado a ello, se consultó la base de datos de fulguraciones y esta fue la única de clase M producida ese día. En las **tablas 5 y 6** se presentan los datos obtenidos para las variables WG_M .

En la **tabla 5** se muestra la fecha y el máximo $WG_{M,1}^{max}$ anterior a la aparición de la primera fulguración de clase M2.4. El tiempo entre este máximo y la manifestación de la fulguración fue de 8 horas 7 minutos.

En la **tabla 6** se muestra la fecha y el máximo $WG_{M,2}^{max}$ previo a la aparición de la primera fulguración de clase M2.4. El tiempo entre este máximo y la manifestación de la fulguración fue de 22 minutos tanto para Map1 como Map2.

Se observó un comportamiento similar de los dos mapas con tiempos iguales entre el máximo y la fulguración en los dos casos (ver figura en material suplementario, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1196/2898>). Análogamente se observó un máximo inicial al que no le correspondió ninguna fulguración y que pudo deberse al uso de datos cercanos al limbo solar en donde hay efectos de proyección que afectan el cálculo del área de las regiones magnéticas.

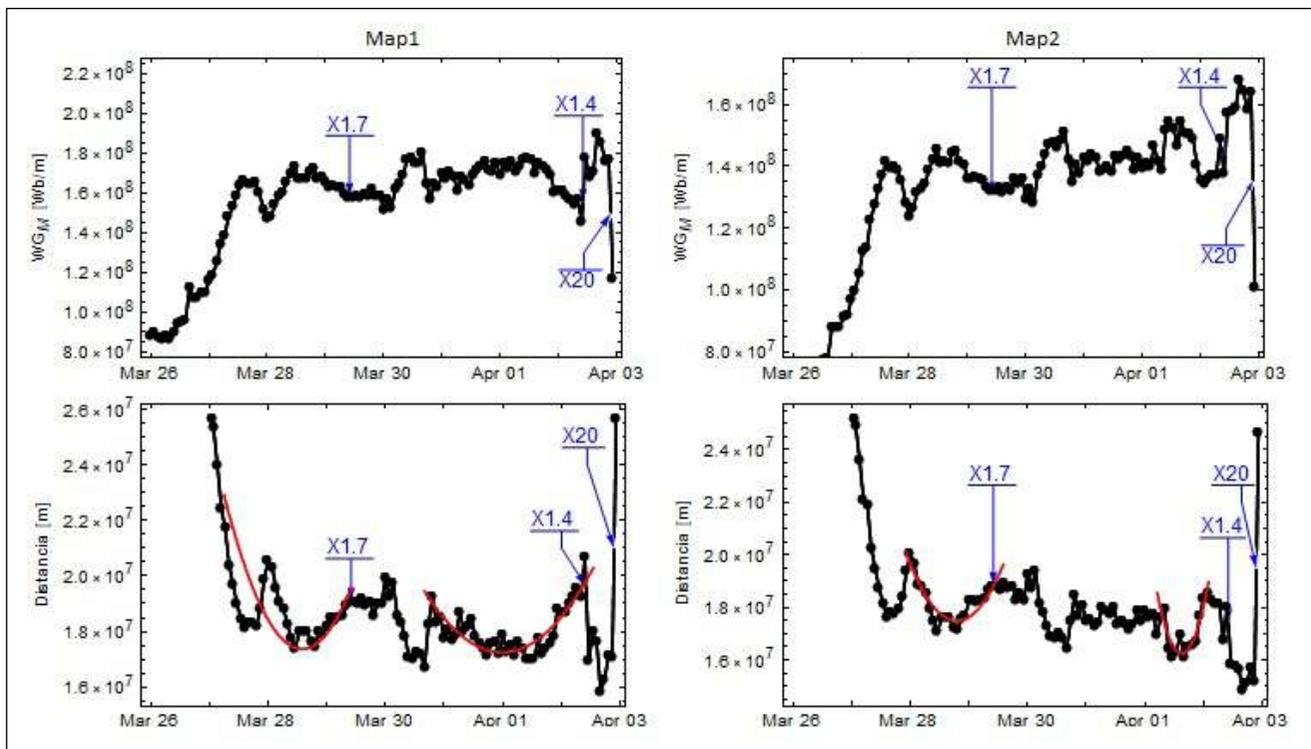


Figura 7. Variación temporal del gradiente magnético horizontal ponderado WG_M para la región activa NOAA AR 9393, cuya descripción coincide con la expuesta en la figura 6.

Tabla 5. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado $WG_{M,1}^{max}$ previo a la fulguración M2.4 con su respectivo valor $WG_{M,1}^{flare}$ en el momento de su aparición

	<i>Fecha₁</i>	$WG_{M,1}^{max}$ [Wb/m]	$WG_{M,1}^{flare}$ M2.4 [Wb/m]
$WG_{M,Map1}$	16/12/2002 17:36	$1,99 \times 10^8$	$6,84 \times 10^7$
$WG_{M,Map2}$	17/12/2002 22:24	$8,98 \times 10^7$	$5,79 \times 10^7$

Tabla 6. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado $WG_{M,2}^{max}$ previo a la fulguración M6.8 con su respectivo valor $WG_{M,2}^{flare}$ en el momento de su aparición

	<i>Fecha₂</i> [Wb/m]	$WG_{M,2}^{max}$ [Wb/m]	$WG_{M,2}^{flare}$ M6.8 [Wb/m]
$WG_{M,Map1}$	20/12/2002 12:51	$3,61 \times 10^8$	$3,14 \times 10^8$
$WG_{M,Map2}$	20/12/2002 12:51	$2,63 \times 10^8$	$2,33 \times 10^8$

Tabla 7. Fecha y máximo del gradiente magnético horizontal ponderado $WG_{M,3}^{max}$ previo a la fulguración X20 con su respectivo valor $WG_{M,3}^{flare}$ en el momento de su aparición

Fulguración	$WG_{M,3}^{max}$ % _{Map1}	$WG_{M,3}^{flare}$ % _{Map2}
Región activa 8771		
M5.7	30,05 %	31,57 %
X1.4	11,78 %	12,86 %
Región activa 9393		
X1.7	8,67 %	9,59 %
X1.4	17,51 %	10,97 %
X20	22,63 %	21,43 %
Región activa 10226		
M2.4	65,63 %	35,52 %
M6.8	13,02 %	11,42 %

En el caso de la fulguración de clase M2.4 se observó un pico de menor intensidad con un decrecimiento que la generó, en tanto que para la fulguración de clase M6.8 hubo un aumento y una rápida disminución del WG_M , generando tiempos cortos entre el máximo y la fulguración, en este caso, de 22 minutos después del máximo.

En todos los casos se observó una tendencia parabólica en la distancia entre los baricentros de las manchas de polaridad opuesta previa a la formación de las fulguraciones.

Análisis estadístico de las regiones activas

Se analizó la formación de las fulguraciones posteriores a una ocurrida previamente a partir del modelo estadístico usado en **Korsos, et al.** (2015, 2018) y se halló la diferencia porcentual $WG_M^{\%}$ entre el máximo de WG_M^{max} y el valor del gradiente magnético en el momento de la fulguración WG_M^{flare} . En la **tabla 7** se presentan los porcentajes obtenidos para cada fulguración.

En el análisis se usó la base de datos del Laboratory of X-Ray Astronomy of the Sun, LPI, y se tuvieron en cuenta fulguraciones de todas las clases.

Se determinó que en todos los casos de fulguraciones, con excepción de la M2.4 de la región activa 10226, hubo otras en las 18 horas siguientes a su manifestación; por lo tanto, el método permitió estimar que: (i) para diferencias de porcentuales del gradiente

magnético horizontal ponderado $WG_M^{\%}$ mayores al 35,5 % no son de esperar fulguraciones en las 18 horas posteriores; (ii) que si $WG_M^{\%}$ es menor a 30,1 % hay probabilidad de que en las siguientes 18 horas se genere otra fulguración.

Conclusiones y discusión

En este estudio el objetivo era estudiar los modelos usados en **Korsos, et al.** (2014, 2015) a partir de magnetogramas tomados del observatorio satelital y el instrumento SOHO/MDI. Se usaron cuatro métodos para calcular los baricentros magnéticos de las manchas de polaridad opuesta para cada región activa y se constató que los óptimos para calcular el baricentro fueron los asociados con Map1 y Map2 (métodos 3 y 4). Estas condiciones generaron máximos WG_M^{max} notables seguidos de fulguraciones en un rango menor a 45 horas.

En todas las gráficas asociadas con el modelo se observó el crecimiento y el decrecimiento de la variable de interés, lo que generó un máximo, ya que las manchas de polaridad magnética opuesta dentro de la región activa se acercaron e hicieron que las líneas equipotenciales de su campo se entrecruzaran formando una hoja de corriente. Posteriormente, en el momento en que se separaron ambas polaridades, se generó el proceso de reconexión magnética entre los campos magnéticos asociados con estas dos manchas, lo que desencadenó un evento de fulguración (**Figura 5**).

Se evidenció que cuando el crecimiento de WG_M sucede rápidamente, hay probabilidad de que se genere una fulguración en las 10 horas posteriores al máximo. En algunas gráficas (**Figura 6**) se formaron máximos en sus extremos con la evolución temporal de WG_M , lo que puede deberse a que se tomaron datos cerca del limbo; en los estudios futuros se tendrá en cuenta este aspecto y se aplicarán correcciones para las regiones con efectos de borde.

Se hizo un análisis estadístico basado en las referencias de **Korsos, et al.** (2015, 2018) y se encontró la diferencia porcentual de $WG_M^{\%}$ entre el máximo del gradiente magnético horizontal ponderado WG_M^{max} y el valor de este al momento de manifestarse la fulguración WG_M^{flare} , con lo que se determinó el rango de tiempo en el que se pueden producir fulguraciones posteriores. Se obtuvo que cuando $WG_M^{\%}$ es mayor a 35,5 %, no es de esperarse la generación de fulguraciones en las siguientes 18 horas, en tanto que si es menor a 30,1 %, es dable esperar que se produzcan fulguraciones en las 18 horas posteriores. Si el valor de $WG_M^{\%}$ está entre 30,1 y 35,5 %, no se puede señalar certeramente la aparición de fulguraciones. Este análisis debe expandirse a una muestra más amplia de regiones activas para tener una base de datos con menor incertidumbre.

Se halló que la variable más importante en el momento de la producción de una fulguración fue la distancia entre los baricentros magnéticos de las manchas de polaridad opuesta, por lo tanto, se debe mejorar su método de obtención. Se espera complementar este trabajo con un algoritmo que permita analizar una muestra mucho más amplia de regiones activas con presencia de fulguraciones, para así mejorar el análisis estadístico y corroborar los resultados del método aquí presentados.

Información suplementaria

Figura suplementaria. Variación temporal del gradiente magnético horizontal ponderado WGM para la región activa NOAA AR 10226. Columna izquierda: análisis para Map1. Columna derecha: análisis para Map2. Para cada condición en la parte inferior se encuentra la variación de la distancia de los baricentros de las umbras de polaridad magnéticamente opuestas. Se indican los momentos de aparición de fulguraciones de diferente tipo (en azul). Ver la figura suplementaria en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1196/2898>

Contribución de los autores

NG: Descarga de datos, creación de rutinas de procesamiento, y visualización de los resultados; SVD: Apoyo en la creación de algoritmos para el análisis de magnetogramas solares, análisis de los resultados e interpretación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Collins, C.** (2013). *Astronomy 101: From the Sun and Moon to Whormholes and Warpdrive, Key Theories, Discoveries, and Facts about the Universe*, 1st ed. USA: Adams Media. p. 39-40.
- Korsos, M.B., Ludmány, A., Erdélyi, R., Baranyi, T.** (2014). Pre-Flare Dynamics of Sunspots Groups. *The Astrophysical Journal*. **789**: 107.
- Korsos, M.B., Ludmány, R., Ludmany, A.** (2015). On Flare Predictability Based on Sunspot Group Evolution. *The Astrophysical Journal*. **802**: L21.
- Korsos, M. B., Yang, S., Erdélyi, R.** (2018). Investigation of Pre-Flare Dynamics Using the Weighted Horizontal Magnetic Gradient Method: From small to major flare classes. *Journal of Space Weather and Space Climate*. **9**: A6
- Moreno-Cárdenas, F., Cristancho-Sánchez, S., Vargas-Domínguez, S.** (2016). *Advances in Space Research, The Grand Audrolume*, 1 January 2016. **57** (1): 257-267.
- Domingo, V., Fleck, B., Poland, A.I.** (1995). SOHO: The Solar and Heliospheric Observatory. *Space Sci Rev*. **72**: 81-84.
- Robitaille, T., Tollerud, E., Greenfield, P., Droettboom, M., Bray, E., Aldcroft, T., Streicher, O.** (2013). Astropy: A community Python package for astronomy. *Astronomy & Astrophysics*. **558**: A33.

Artículo original

Poríferos asociados a rompeolas en el departamento de Sucre (Caribe colombiano)

Sponges (Porifera) associated with breakwaters in the department of Sucre (Colombian Caribbean)

✉ Jesús Daniel David-Colón*, ✉ Dairo Humberto Marin-Casas

Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, Programa de Biología, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

Resumen

Las esponjas se encuentran en diversos sustratos duros, tanto naturales como artificiales. En estos últimos son pocos los estudios realizados en Colombia. En este trabajo se listan y describen brevemente las especies de esponjas asociadas con rompeolas en el departamento de Sucre. La recolección de las esponjas se hizo manualmente en tres espolones de Coveñas. Para la identificación se hicieron montajes de espículas y cortes histológicos gruesos y se consultó la literatura taxonómica relevante. Se encontraron 22 especies, agrupadas en 15 familias y ocho órdenes; de estos registros, ocho son nuevos para la ecorregión del golfo de Morrosquillo y diez para el departamento de Sucre. La riqueza de especies encontrada fue superior a la registrada en otros trabajos en el golfo de Morrosquillo. Estos resultados contribuyen a fortalecer el conocimiento de las esponjas en sustratos artificiales y su distribución geográfica en el Caribe colombiano.

Palabras claves: Esponjas; Porifera; Rompeolas; Riqueza; Golfo de Morrosquillo.

Abstract

Sponges inhabit various natural and artificial hard substrates. In the latter, few studies have been conducted in Colombia. In this study, we listed and briefly described the species of sponges associated with breakwaters in the department of Sucre. The sponges were collected manually from three breakwaters in Coveñas. For their identification, spicule mounts and thick histological sections were made, and the relevant taxonomic literature was consulted. We found 22 species grouped in 15 families and eight orders eight of which are new records for the ecoregion of the Gulf of Morrosquillo and ten for the department of Sucre. The richness of species was higher than previously recorded for the Gulf of Morrosquillo. These results contribute to strengthen the knowledge of sponges in artificial substrates and their geographical distribution in the Colombian Caribbean.

Keywords: Sponges; Porifera; Breakwater; Richness; Gulf of Morrosquillo.

Introducción

Las esponjas (Porifera) son componentes importantes de las comunidades bentónicas tropicales. Sus diversas estrategias de vida en los ecosistemas marinos están relacionadas con funciones ecológicas como la incorporación de materia orgánica suspendida en el fondo, la producción primaria, la remineralización (Díaz & Ward, 1997) y la conformación de hábitats para procariotas y eucariotas (Hentschel, *et al.*, 2002 y Gracia, *et al.*, 2013).

Las esponjas se encuentran en diversos sustratos duros naturales (raíces de mangle, arrecifes de coral, pastos marinos, entre otros) y artificiales (pilotes de muelles, espolones, rompeolas, etc.) (Wulff, 2012). Estos últimos sustratos han venido en aumento a raíz del desarrollo económico de las poblaciones humanas en las costas, lo que ha promovido la construcción de estructuras tales como muelles, puertos, espolones, rompeolas y plataformas de gas y petróleo que funcionan como sustratos artificiales y sirven de hábitat a

Citación: Jesús Daniel David-Colón, Dairo Humberto Marin-Casas. Poríferos asociados a rompeolas en el departamento de Sucre (Caribe colombiano). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):996-1007, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1038>

Editor: Néstor Hernando Campos

***Correspondencia:**

Jesús Daniel David Colón;
jesusdanieldavid@gmail.com

Recibido: 19 de octubre de 2019

Aceptado: 23 de junio de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

una gran variedad de organismos marinos (Bomkamp, *et al.*, 2004). Específicamente las estructuras de defensa costera como los rompeolas pueden ser un hábitat cuya abundancia y diversidad de peces, corales y otros organismos bentónicos a menudo superan las de los ecosistemas naturales (Pondella, *et al.*, 2002; Burt, *et al.*, 2009a, 2009b, 2011). En rompeolas recién construidos, las esponjas son componentes dominantes junto con las algas y los bivalvos (Burt, *et al.*, 2011).

En Colombia muchas playas turísticas poseen espolones y rompeolas de roca caliza para disminuir la erosión costera. En los municipios de Tolú y Coveñas en el golfo de Morrosquillo (Sucre), Caribe colombiano, hay muchas estructuras de este tipo. Sin embargo, la investigación sobre poríferos en el golfo se ha enfocado únicamente en ambientes naturales: raíces de mangle (Quirós-Rodríguez, *et al.*, 2017), praderas de *Thalassia testudinum* (Montoya, 2002) y arrecifes artificiales (Vishnoff & Delgadillo-Garzón, 2010; Delgadillo-Garzón, *et al.*, 2010). En ese contexto, el principal objetivo de este estudio fue determinar y describir la riqueza de especies de esponjas asociadas con los rompeolas artificiales de las playas de Coveñas (Sucre).

Materiales y métodos

Área de estudio

Este estudio se realizó en tres rompeolas de roca calcárea en las playas Boca La Caimanera, municipio de Coveñas-Sucre, parte sur del golfo de Morrosquillo (Figura 1). Los rompeolas están ubicados entre las coordenadas $9^{\circ} 26' 21,46''$ N, $75^{\circ} 37' 40,39''$ O y $9^{\circ} 26' 6,33''$ N,

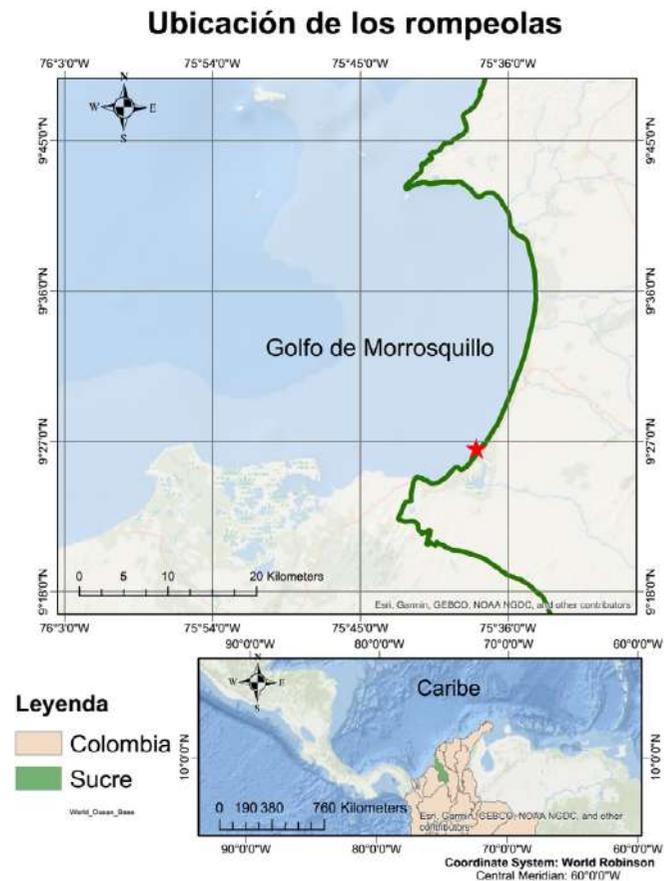


Figura 1. Área de estudio y localización de los rompeolas muestreados en el municipio de Coveñas, departamento de Sucre, Caribe colombiano

75° 37' 52,15" O, a ambos costados de la desembocadura de la laguna costera La Caimanera y situados en paralelo a una distancia máxima de 116 m de la costa y a una profundidad menor de tres metros. Desde el punto de vista geomorfológico estas playas están dominadas por fondos de lodos arenosos litoclásticos (Posada, *et al.*, 2007). En la región los vientos de mayor intensidad se presentan en la época seca (diciembre-abril) y provienen predominantemente del noroccidente y el occidente (Bastidas & Ordoñez, 2017). La altura de las olas es inferior a la de otras partes del Caribe colombiano y los eventos extremos del oleaje son generados principalmente por frentes fríos (Otero, *et al.*, 2016).

Fase de recolección y análisis

Los muestreos se hicieron entre el 20 de agosto de 2017 y 3 de junio de 2018 en jornadas de buceo a pulmón libre. Se recolectaron las esponjas manualmente utilizando una espátula y guantes protectores; cada organismo se desprendía desde su base y se depositaba individualmente en una bolsa plástica de cierre hermético. Se tomaron notas del sustrato, la forma, el color y la consistencia de las esponjas y se hicieron fotografías en el lugar usando una cámara SJ4000 de SJCAM con 12 megapíxeles. Las muestras se etiquetaron y se preservaron en etanol al 70 % para ser llevadas al laboratorio de Conservación Biológica de la Universidad de Sucre en Sincelejo.

Para el estudio del esqueleto de las esponjas se hicieron montajes de espículas y fibras de espongina siguiendo la metodología de Zea (1987). Se utilizaron las claves taxonómicas propuestas por Hooper & Van Soest (2002) hasta el nivel de género y para llegar al nivel de especie, se usó el catálogo virtual de Zea, *et al.* (2014), el de Zea de 1987 y las descripciones de especies del Caribe registradas en artículos de la base de datos de Van Soest, *et al.* (2018a). Los especímenes fueron ingresados al Museo de Zoología de la Universidad de Sucre (MUZUSU) y se elaboró una lista anotada de las esponjas identificadas hasta el nivel de especie, en tanto que los sinónimos y nombres actualizados se consultaron en Van Soest, *et al.* (2018a).

Resultados

Se identificaron 22 especies agrupadas en 15 familias y ocho órdenes (Tabla 1), todas pertenecientes a la clase Demospongiae; 16 se identificaron a nivel de especie y seis hasta el nivel de género; de estas, ocho son nuevos registros para la ecorregión del golfo de Morrosquillo: *Spongia* (*Spongia*) *tubulifera* Lamarck, 1814, *Spongia* (*Spongia*) *anclotea* de Laubenfels & Storr, 1958, *Neopetrosia proxima* (Duchassaing & Michelotti, 1864), *Neopetrosia carbonaria* (Lamarck, 1814), *Cynachirella alloclada* (Uliczka, 1929), *Geodia gibberosa* (Lamarck, 1815), *Biemna caribea* Pulitzer-Finali, 1986 y *Lissodendoryx* (*Lissodendoryx*) *isodictyalis* (Carter, 1882), y diez para el departamento de Sucre, con el registro de *Suberites aurantiacus* (Duchassaing, 1864) y *Halichondria* (*Halichondria*) *melanodocia* de Laubenfels, 1936. A continuación se presenta el material con ilustraciones del esqueleto y comentarios de las 16 especies identificadas hasta ese nivel; las seis de nivel de género quedan pendientes para futuros registros.

Sistemática

El orden de esta lista anotada sigue la clasificación propuesta por Morrow & Cárdenas (2015). Los taxones por debajo del rango de familia se ordenaron según Van Soest, *et al.* (2018a).

Clase Demospongiae

Orden Chondrillida

Familia Chondrillidae

Género *Chondrilla* Schmidt, 1862

Chondrilla caribensis Rützler, Duran & Piantoni, 2007 (Figura 2a, b)

Material examinado: MZUSU-I00011, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018

Tabla 1. Listado de especies encontradas en los rompeolas

Orden	Familia	Especie
Chondrillida	Chondrillidae	<i>Chondrilla caribensis</i> f. <i>caribensis</i> Rützler, Duran & Piantoni, 2007
Dictyoceratida	Irciniidae	<i>Ircinia felix</i> (Duchassaing & Michelotti, 1864)
	Spongiidae	<i>Spongia</i> sp.
		<i>Spongia (Spongia) anclotea</i> de Laubenfels & Storr, 1958
Haplosclerida	Chalinidae	<i>Spongia (Spongia) tubulifera</i> Lamarck, 1814
		<i>Haliclona</i> sp.
	Niphatidae	<i>Haliclona (Soestella) caerulea</i> (Hechtel, 1965)
		<i>Amphimedon viridis</i> Duchassaing & Michelotti, 1864
		<i>Niphates erecta</i> Duchassaing & Michelotti, 1864
Petrosiidae	<i>Neopetrosia carbonaria</i> (Lamarck, 1814)	
	<i>Neopetrosia proxima</i> (Duchassaing & Michelotti, 1864)	
Biemnida	Biemnidae	<i>Biemna caribea</i> Pulitzer-Finali, 1986
Tetractinellida	Geodiidae	<i>Geodia gibberosa</i> Lamarck, 1815
	Tetillidae	<i>Cinachyrella alloclada</i> (Uliczka, 1929)
Poecilosclerida	Coelosphaeridae	<i>Lissodendoryx (Lissodendoryx) isodictyalis</i> (Carter, 1882)
	Tedaniidae	<i>Tedania (Tedania) ignis</i> (Duchassaing & Michelotti, 1864)
Clionaida	Clionaidae	<i>Cliona</i> sp.
	Placospongiidae	<i>Placospongia</i> sp. 1
		<i>Placospongia</i> sp. 2
Suberitida	Subertidae	<i>Pseudosuberites</i> sp.
		<i>Suberites aurantiacus</i> (Duchassaing & Michelotti, 1864)
	Halichondriidae	<i>Halichondria (Halichondria) melanadocia</i> Laubenfels, 1936

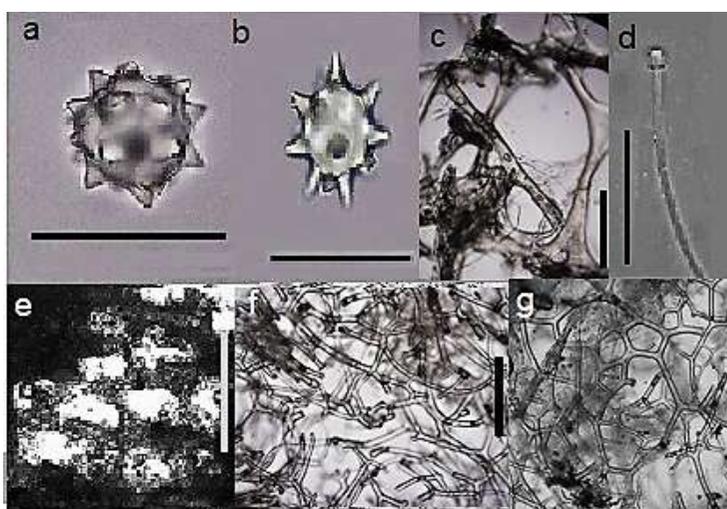


Figura 2. a-b) *Chondrilla caribensis*: a) esferaster (escala: 20 µm); b) oxiaster (escala: 50 µm); c-e) *Ircinia felix*: c) fibras ascendentes (escala: 200 µm); d) filamento de colágeno (escala: 50 µm); e) reticulación ectosómica de detritos (escala: 100 µm); f) arquitectura esquelética de *Spongia anclotea*. (escala: 500 µm); g) arquitectura esquelética de *Spongia tubulifera* (escala: 500 µm)

Comentarios: esta especie fue registrada para el Caribe colombiano por **Wintermann-Kilian & Kilian** (1984) como *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862, pero no fue descrita. Se caracteriza por poseer únicamente microscleras (esferaster y esferoxyaster). Tiene una consistencia cartilaginosa y exuda una sustancia mucosa. La presente identificación se basa en **Rützler, et al.** (2007). Por el color gris del espécimen recolectado, parece tratarse de la forma *C. caribensis* forma *caribensis* que habita en raíces de manglares (**Rützler, et al.**, 2007).

Orden Dictyoceratida

Familia Irciniidae

Ircinia Nardo, 1833

Ircinia felix (Duchassaing & Michelotti, 1864) (**Figura 2c-e**)

Material examinado: MZUSU-I00012, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987). Su identificación se hizo a partir de los filamentos de colágeno, la reticulación ectosómica de detritos, los ósculos coloreados por un anillo oscuro y los fibrofascículos ascendentes.

Familia Spongiidae

Género *Spongia* Linnaeus, 1759

Spongia (Spongia) anclotea de Laubenfels & Storr, 1958 (**Figura 2f**)

Material examinado: MZUSU-I00036, Coveñas, en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta especie fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987) como *Spongia pertusa* Hyatt, 1877. Al encontrar que el nombre *Spongia pertusa* Hyatt, 1877 del Atlántico occidental era homónimo de *Spongia pertusa* Esper, 1794, del océano Índico (ahora dentro del género *Hyattella*), **Van Soest, et al.** (2018b) designaron como nombre válido el primer sinónimo joven disponible definido por **van Soest** (1978), es decir, *S. (S.) anclotea*. Esta esponja se diferencia de *S. tubulifera* por poseer un coanosoma cavernoso tapizado por dermis y porque la organización de sus fibras es más densa; muchas de las fibras secundarias son similares en diámetro a las primarias, lo que dificulta diferenciarlas.

Spongia (Spongia) tubulifera Lamarck, 1814 (**Figura 2g**)

Material estudiado: MZUSU-I00010, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1-3 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta especie fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987) como *Spongia obscura* (Hyatt, 1887). Posee una reticulación anisotrópica de fibras de esponjina muy organizada y se caracteriza por poseer túbulos osculares delgados de alrededor de 1 cm de altura.

Orden Haplosclerida

Familia Chalinidae

Género *Haliclona* Grant, 1841

Subgénero *Haliclona (Soestella)* De Weerd, 2000

Haliclona (Soestella) caerulea (Hechtel, 1965) (**Figura 3a-b**)

Material examinado: MZUSU-I00015, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987) como *Sigmadocia caerulea* Hechtel, 1965. En los rompeolas estudiados aparecía con un color blanco semitransparente y espículas oxeadas y sigmas.

Familia Niphathidae

Género *Amphimedon* Duchassaing & Michelotti, 1864

Amphimedon viridis Duchassaing & Michelotti, 1864 (**Figura 3d**)

Material examinado: MZUSU-I00043, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1 m, recol. J. David, 20 de agosto de 2017.

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987). Su coloración es verde esmeralda, posee pequeñas oxeas que en el ectosoma dispuestas de forma que le dan una arquitectura alveolada, en tanto que en el coanosoma están dispuestas de forma reticulada anisodictial, que se hace más densa cerca de la superficie.

Género *Niphates* Duchassaing & Michelotti, 1864

Niphates erecta Duchassaing & Michelotti, 1864 (**Figura 3e-f**)

Material examinado: MZUSU-I00029, Coveñas, rompeolas en zona protegida del oleaje, 1-3 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987). Posee una gran variabilidad de fenotipos, desde formas rastreras hasta ramas erectas anastomosadas; la consistencia varía de firme a quebradiza y su color, de azul-grisáceo a púrpura oscuro (**Zea**, 1987). Los especímenes recolectados poseen algunas oxeas gruesas, con puntas algo romas que llegan a parecerse a estróngilos y a estilos, lo que ya fue descrito por **Rützler, et al.** (2014).

Familia Petrosiidae

Género *Neopetrosia* Laubenfels, 1949

Neopetrosia carbonaria (Lamarck, 1814) (**Figura 3g-i**)

Material examinado: MZUSU-I00035, Coveñas, rompeolas en zona protegida del oleaje, 2 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta especie fue descrita para el Caribe colombiano como *Pellina carbonaria* por **Zea** (1987). Se caracteriza por poseer un ectosoma con arquitectura isodictial, a veces algo confusa, y un coanosoma con arquitectura isotrópica. Posee espículas oxeas de dos diferentes grosores y centrotíloles. Cuando se fija en alcohol exuda una tinta oscura.

Neopetrosia proxima (Duchassaing & Michelotti, 1864) (**Figura 3j**)

Material estudiado: MZUSU-I00034, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

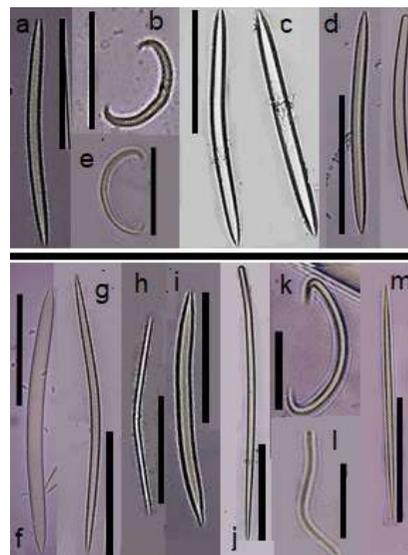


Figura 3. a-b) *Haliclona caerulea*: a) oxea (escala 100 μm); b) sigma (escala: 20 μm); c) oxeas de *Amphimedon viridis* (escala: 100 μm); d-e) *Niphates erecta*; d) oxeas (escala: 100 μm); e) sigma (escala 20 μm); f-g) *Neopetrosia carbonaria*: f) oxea i (escala: 100 μm); g) oxea ii (oxea 100 μm); h) centrostilote (escala: 30 μm); i) oxea de *Neopetrosia proxima* (escala: 100 μm); j-m) *Biemna caribea*; j) estilo (escala: 100 μm); k) sigma (escala: 20 μm); l) comma (escala: 20 μm); m) oxea (escala 50 μm)

Comentarios: esta especie fue descrita para el Caribe colombiano como *Xestospongia proxima* por **Zea** (1987). Su identificación se basa en la presencia de únicamente oxeas de dos grosores diferentes, en una coloración de tonos claros y oscuros y una consistencia dura, en tanto que su coanosoma presenta una arquitectura reticulada isodictial.

Orden Biemnida

Familia Biemnidae

Género *Biemna* Gray, 1867

Biemna caribea Pulitzer-Finali, 1986 (**Figura 3k-n**)

Material examinado: MZUSU-I00046, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 20 de agosto de 2017.

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987) como *Biemna tubulata* (Dendy, 1905). Se caracteriza por poseer estilos grandes, oxeas de menor tamaño, y microscleras sigmas y comas, además de una organización confusa de su esqueleto.

Orden Tetractinellida

Familia Geodiidae

Género *Geodia* Lamarck, 1815

Geodia gibberosa Lamarck, 1815 (**Figura 4**)

Material examinado: MZUSU-I00033, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 2 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta esponja fue registrada sin descripción para el Caribe colombiano (isla de Providencia) por **de Laubenfels** (1939). La presente identificación se basó en la presencia de protriaenas dispuestas debajo del ectosoma que lo sostienen, a diferencia de *Geodia papyraceae* Hechtel, 1965, en la que las protriaenas lo atraviesan (**Cardenas, et al.**, 2009). Hay cierta dificultad para diferenciar estas dos especies en campo, ya que son simpátricas.

Familia Tetillidae

Género *Cinachyrella* Wilson, 1925

Cinachyrella alloclada (Uliczka, 1929)



Figura 4. *Geodia gibberosa*. **a)** anatriaena (escala: 300 μm); **b)** oxea i (escala: 100 μm); **c)** plagiotriena (escala: 200 μm); **d)** oxea ii (escala: 50 μm); **e)** cladoma de anatriaena (escala: 20 μm); **f)** corte transversal que muestra la arquitectura del esqueleto (escala: 200 μm), nótese las plagiotriaenas debajo del córtex; **g)** esterraster (escala: 50 μm); **h)** acercamiento a esterraster (escala: 10 μm)

Material examinado: MZUSU-I00037, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 20 de agosto de 2017.

Comentarios: esta especie fue descrita por **Díaz** (2007) y registrada por **Díaz & Zea** (2008) para el Caribe colombiano. Su esqueleto tiene una arquitectura radial, y se diferencia de *Cinachyrella apion* (Uliczka, 1929) por el tamaño diferente de sus oxexas, y de *Cinachyrella kuekenthali* (Uliczka, 1929), por no poseer pequeñas oxexas crenuladas. En campo es difícil diferenciarlas, ya que son especies simpátricas. La presente identificación se basó en **Díaz** (2007) y **Rützler & Smith** (1992).

Orden Poecilosclerida

Familia Coelosphaeridae

Género *Lissodendoryx* Topsent, 1892

Lissodendoryx (*Lissodendoryx*) *isodictyalis* (Carter, 1882) (**Figura 5e-g**)

Material examinado: MZUSU-I00045 Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 2 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta esponja fue registrada por **Wintermann-Kilian & Kilian** (1984) y descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987) como *Lissodendoryx isodictyalis* (Carter, 1882). Es una esponja que se caracteriza por poseer tilotes, estilos fusiformes, sigmas y quelas arqueadas. El espécimen estudiado posee oxexas, pero es probable que estas sean foráneas.

Familia Tedaniidae Ridley & Dendy, 1886

Género *Tedania* Gray, 1867

Subgenero *Tedania* (*Tedania*) Gray, 1867

Tedania (*Tedania*) *ignis* (Duchassaing & Michelotti, 1864) (**Figura 5a-d**)

Material examinado: MZUSU-I00038, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 20 de agosto de 2017.

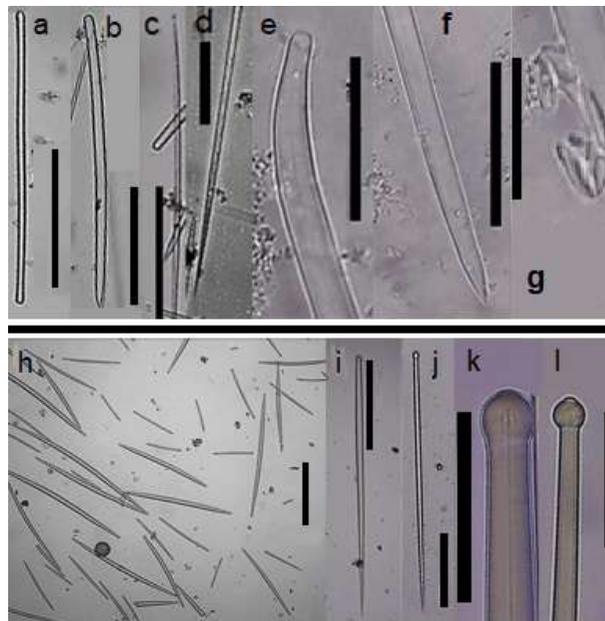


Figura 5. a-d) *Tedania ignis*: a) tilote (escala: 100 μ m); **b)** estilo (escala: 100 μ m); **c)** oniqueta (escala: 100 μ m); **d)** acercamiento a la oniqueta, obsérvese la rugosidad dada por las espinas (escala: 30 μ m); **e-g) *Lissodendoryx isodictyalis*: e)** cabeza de estilo curvado (escala: 30 μ m); **f)** punta de estilo (escala: 30 μ m); **g)** isoquela arqueada (escala: 30 μ m); **h)** espículas de *Halichondria melanodocia* (escala: 100 μ m). **i-l) *Suberites aurantiacus*: I)** tilostilos I (escala: 300 μ m); **j)** tilostilos II (escala: 100 μ m); **k)** cabeza de tilostilo I (50 μ m); **m)** cabeza de tilostilo II (escala: 30 μ m)

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987). Se caracteriza por poseer tilotes y oxeas crenuladas (llamadas oniquetas). Es muy abundante en este sustrato artificial. Mediante estudios ecológicos, morfológicos y moleculares se describió como *Tedania (Tedania) klausi* Wulff, 2006 una especie muy similar que habita en pastos marinos.

Orden Suberitida

Familia Subertidae

Género *Suberites* Nardo, 1833

Suberites aurantiacus (Duchassaing & Michelotti, 1864) (**Figura 5 h-k**)

Material examinado: MZUSU-I00030, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 20 de agosto de 2017.

Comentarios: esta especie fue registrada para el Caribe colombiano por **Quirós-Rodríguez** (2017), pero no fue descrita. Posee tilostilos de varios tamaños y la arquitectura de su esqueleto es radial, con mechones que sobresalen de la superficie, lo que le da un aspecto hispido. La presente identificación se basó en **Rützler & Smith** (1993).

Familia Halichondriidae

Género *Halichondria* Fleming, 1828

Halichondria (Halichondria) melanadocia Laubenfels, 1936 (**Figura 5l**)

Material examinado: MZUSU-I00044, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 20 de agosto de 2017; MZUSU-I00022, Coveñas, rompeolas en zona expuesta al oleaje, 1,5 m, recol. J. David, 3 de junio de 2018.

Comentarios: esta esponja fue descrita para el Caribe colombiano por **Zea** (1987). Su identificación se basa en la presencia de tres tipos de oxeas de diferente tamaño y grosor, y por la arquitectura confusa del esqueleto. Por su morfología externa, en campo es un poco difícil diferenciarla de *N. carbonaria*. Sin embargo, la consistencia dura de esta última, en comparación con la compresible y suave de *H. melanadocia*, permite distinguirlas.

Discusión

Con las 22 especies de esponjas que aquí se relacionan, el número de especies registradas para el golfo de Morrosquillo aumentó de 30 a 38, y para el departamento de Sucre, de 25 a 35, cantidad superior a la de otros estudios en áreas del golfo como la bahía de Cispatá, con 14 especies (**Quirós, et al.**, 2017), los arrecifes artificiales, con cinco a 20 especies (**Vishnoff & Delgadillo**, 2010 y **Delgadillo-Garzón, et al.**, 2010), y las praderas de *Thalassia*, con 15 especies (**Montoya**, 2002). Es probable que esto se deba a que el sustrato artificial duro posee muchos lugares crípticos que protegen a las esponjas del golpe del oleaje y, hasta cierto punto, de los depredadores. Por otra parte, la abundancia de organismos fotosintéticos como las algas es menor en estos lugares (**Zea**, 1993; **Rützler, et al.**, 2014). Asimismo, estas áreas reciben un aporte importante de materia orgánica de La Caimanera, lo que beneficia la alimentación de las esponjas. Por otro lado, debe recalarse que solo se muestrearon tres rompeolas, y es probable que con un mayor esfuerzo de muestreo aumente el número de especies.

Entre las especies de esponjas encontradas, *T. ignis*, *S. tubulifera*, *H. melanadocia* y *A. viridis* ya habían sido reportadas en sustratos artificiales, siendo *T. ignis* una de las más abundantes en estos lugares (**Zea**, 1987; **Vishnoff & Delgadillo-Garzón**, 2010; **Gracia, et al.**, 2013). También las especies *S. tubulifera*, *H. cavernosa*, *P. intermedia*, *S. aurantiacus*, *I. felix*, *H. melanadocia*, *A. viridis*, *H. caerulea*, *T. ignis*, *C. caribensis*, *G. gibberosa*, *N. erecta*, *N. carbonaria* y *N. proxima* han sido registradas en ecosistemas de manglar (**Reyes & Campos**, 1992; **Alcolado**, 2006, **Díaz & Rützler**, 2009 y **Quirós-Rodríguez, et al.**, 2017). Es probable que, dada la cercanía de estas playas a La Caimanera, este sustrato artificial sea colonizado por larvas de esponjas que se encuentran en el sitio, pero es necesario confirmarlo en futuros estudios.

En los rompeolas la mayoría de las especies poseen hábito incrustante o masivo de poco tamaño, lo que se explica porque a profundidades cercanas a 1 m las esponjas se ven sometidas a una tensión constante debido al oleaje, lo que puede beneficiar a aquellas con este tipo de crecimiento, pues soportan la acción mecánica de las olas mejor que las formas de crecimiento erectas y de gran tamaño (Díaz, *et al.*, 1985; Alcolado, 1999; Nuñez, *et al.*, 2010).

Conclusiones

La riqueza de especies (22) encontrada en estos rompeolas contribuye al conocimiento que se tiene de su presencia en sustratos artificiales y extiende la distribución de algunas de ellas (10) en el Caribe colombiano. También sugiere que este sustrato artificial es óptimo para el asentamiento de las esponjas y que, en algunos casos, llega a superar los hábitats naturales y otras estructuras artificiales en el golfo de Morrosquillo, pues allí las esponjas están sometidas a un ambiente de gran energía por el constante golpe de las olas y la alta luminosidad, condiciones ambientales propicias para determinadas especies.

La presencia de estos organismos en los rompeolas puede cambiar la visión que se tiene de ellos como simples reductores de la erosión costera para considerarlos como un componente importante de la conservación biológica.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los miembros del Grupo de Investigación en Biología Evolutiva por su colaboración en la realización de este trabajo, especialmente a los investigadores Juan Tovar y Erwin Sequeda por su acompañamiento durante los muestreos, así como a los técnicos del laboratorio de conservación biológica de la Universidad de Sucre Pedro Álvarez y Humberto Quintana, y al profesor Sven Zea de la Universidad Nacional de Colombia por su ayuda en la identificación de algunas especies y su guía en el estudio de las esponjas.

Contribución de los autores

JDDC: formulación de la idea general, recolección de muestras, identificación taxonómica, análisis de datos y redacción del manuscrito; DHMC: formulación de la idea general, análisis de datos y redacción del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existen conflictos de intereses para la publicación de este estudio.

Referencias

- Bastidas, M., Ordóñez, A.** (2017). Región 7: Golfo de Morrosquillo. En: C. Ricaurte-Villota y M. Bastidas. (Ed.). Regionalización oceanográfica: una visión dinámica del Caribe. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives De Andrés (INVEMAR) (pp. 124-137). Santa Marta, Colombia. Serie de Publicaciones Especiales de INVEMAR.
- Bomkamp, R., Page, H., Dugan, J.** (2004). Role of food subsidies and habitat structure influencing benthic communities of shell mounds at sites of existing and former offshore oil platforms. *Marine Biology*. **146**: 201-211.
- Burt, J., Bartholomew, A., Bauman, A., Saif, A., Sale, P.** (2009a). Coral recruitment and early benthic community development on several materials used in the construction of artificial reefs and breakwaters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **373**: 72-78.
- Burt, J., Bartholomew, A., Usseglio, P., Bauman, A., Sale, P.F.** (2009b). Are artificial reefs surrogates of natural habitats for corals and fish in Dubai United Arab Emirates? *Coral Reefs*. **28**: 663-675.
- Burt, J., Bartholomew, A., Sale, P.** (2011). Benthic development on large-scale engineered reefs: A comparison of communities among breakwaters of different age and natural reefs. *Ecological Engineering*. **37**: 191-198.

- Delgadillo-Garzón, O., Delgado-Cuadros, F., Henríquez, R., García, L., Ruíz-Álvarez, T., Zamora-Guzmán, A., Martínez, K., Blanco, F., Coronado-Luna, G., Mogollón, M., Puerta-Padilla, F., Jiménez, J., Navarro, L., Vishnoff, I., Perdomo-Ramos, S.** (2010). Avances y desafíos del Programa Diáspora: Arrecifes artificiales en el golfo de Morrosquillo, Caribe colombiano. En: INVEMAR-ACIMAR (Eds.) XIV Seminario Nacional de Ciencias y Tecnologías del Mar (SENALMAR) (pp:561–565). Santa Marta, Colombia: Serie de Publicaciones Especiales de Invemar.
- Díaz, C.M.** (2007). Poríferos de la plataforma continental (10- 50 m de profundidad) del Departamento de la Guajira, Caribe colombiano (Trabajo de Grado), Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá.
- Díaz, C.M. & Zea, S.** (2008). Distribución de esponjas sobre la plataforma continental de La Guajira, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. **37** (2): 27-43.
- Esper, E.C.J.** (1794). Die Pflanzthiere in Abbildungen nach der Natur mit Farben erleuchtet, nebst Beschreibungen. Zweyter Theil. (Raspe: Nürnberg): 1-303.
- Gracia, A., Cruz, N., Borrero, G., Baéz, D., Santodomingo, N.** (2013). Invertebrados marinos asociados con las plataformas de gas en la guajira (Caribe colombiano). *Boletín de Investigaciones Marinas y Costera*. **42** (2): 361-386.
- Hentsche, U., Hopke, J., Horn, M., Friedrich, A., Wagner, J., Moore B.** (2002). Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from different oceans. *Applied and Environmental Microbiology*. **68** (9): 4431-4440.
- Hooper, J. & Van Soest, R.W.M.** (Ed.) (2002). *Systema Porifera: A guide to the classification of Sponges*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow. 2 Volumes. 1706 p.
- Hyatt, A.** (1877). Revision of the North American Poriferae; with Remarks upon Foreign Species. Part II. *Memoirs of the Boston Society of Natural History*. **2**: 481-554, pls XV–XVII.
- Laubfels de, M.W.** (1939). Sponges collected on the Presidential cruise of 1938. *Smithsonian Miscellaneous Collections*. **98** (15): 1-7.
- Montoya-Maya, P.** (2002). Evaluación de la macrofauna epibentónica asociada a praderas de *Thalassia testudinum* (Banks ex König) en el Caribe colombiano. Trabajo de grado, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá.
- Morrow, C. & Cárdenas, P.** (2015). Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). *Frontiers in Zoology*. **12** (7): 1-27.
- Núñez, M., Rodríguez-Quintal, J.G., y Díaz, M.C.** (2010). Distribución de esponjas (Porifera) a lo largo de un gradiente de profundidad en un arrecife coralino, Parque Nacional San Esteban, Carabobo, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*. **58** (3): 175-187.
- Otero, L., Ortíz-Royero, J.C., Ruiz-Merchan, J.K., Higgins, A.E., Henríquez, S.A.** (2016). Storms or cold fronts: what is really responsible for the extreme waves regime in the Colombian Caribbean coastal region? *Natural Hazards and Earth System Sciences*. **16** (2): 391-401.
- Pondella, D., Stephens, J., Craig, M.** (2002). Fish production of a temperate artificial reef based on the density of embiotocids. *ICES Journal of Marine Science*. **59**: S88-S93.
- Posada, P., Oliva, B., Henaio, W.** (2008). Diagnóstico de la erosión en la zona costera del Caribe colombiano. Santa Marta, Colombia: Serie de Publicaciones Especiales.
- Quirós-Rodríguez, J., Medrano, W., Santafé-Patiño, G.** (2017). Esponjas (Porifera: Demospongiae) de raíces sumergidas de *Rhizophora mangle* en la bahía de Cispatá, Córdoba, Caribe colombiano. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. **88** (1): 80-85.
- Rützler, K., Piantoni, C., Van Soest, R.M.W., Díaz, M.C.** (2014). Diversity of sponges (Porifera) from cryptic habitats on the Belize barrier reef near Carrie Bow Cay. *Zootaxa*. **3805**: 1-29.
- Rützler, K. & Smith, K.P.** (1992). Guide to western Atlantic species of *Cinachyrella* (Porifera: Tetillidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **105** (1): 148-164.
- Rützler, K. & Smith, K.P.** (1993). The genus *Terpios* (Suberitidae) and new species in the “*Lobiceps*” complex. *Scientia Marina*. **57** (4): 381-393.
- Valderrama, D., Zea, S.** (2003). Esquemas de distribución de esponjas arrecifales (Porifera) del noroccidente del golfo de Urabá, Caribe sur, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. **32**: 37-56.
- Van Soest, R.W.M.** (1978). Marine sponges from Curaçao and other Caribbean localities. Part I. Keratosa. *Studies on the Fauna of Curaçao and other Caribbean Islands*. **56** (179): 1-94.
- Van Soest, R., Boury-Esnault, N., Hooper, J., Rützler, K., de Voogd, N., Álvarez, B., Hajdu, E., Písera, A., Manconi, R., Schönberg, C., Klautau, M., Picton, B., Kelly, M., Vacelet, J., Dohrmann, M., Díaz, M., Cárdenas, P., Carballo, J., Ríos, P., Downey, R.** (2018a). World Porifera database. World wide electronic publication. Fecha de acceso: 14 de julio, 2018. Disponible en: <http://www.marinespecies.org/porifera>

- Van Soest, R., Boury-Esnault, N., Hooper, J., Rützler, K., de Voogd, N., Álvarez, B., Hajdu, E., Pisera, A., Manconi, R., Schönberg, C., Klautau, M., Picton, B., Kelly, M., Vacelet, J., Dohrmann, M., Díaz, M., Cárdenas, P., Carballo, J., Ríos, P., Downey, R.** (2018b). World Porifera database. *Spongia officinalis tubulifera* var. *pertusa* Hyatt, 1877. Worldwide electronic publication. Fecha de acceso: 14 de julio, 2018. Disponible en <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=391068>
- Vishnoff, I. & Delgadillo-Garzón, O.** (2010). Cobertura de la biota sésil asociada a cuatro arrecifes artificiales en el golfo de Morrosquillo, Caribe colombiano. En: INVEMAR-ACIMAR (Ed.). XIV Seminario Nacional de Ciencias y Tecnologías del Mar (SENALMAR) (pp. 367–372). Santa Marta, Colombia: Serie de Publicaciones Especiales de Invemar.
- Wintermann-Kilian, G., Kilian, E.F.** (1984). Esponjas marinas de la región de Santa Marta (Colombia). Parte II. Homosclerophorida, Choristida, Spirophorida, Hadromerida, Axinellida, Halichondrida, Poecilosclerida. *Estudios de Fauna y Medio Ambiente Neotropicales*. **19** (3): 121-135.
- Wulff, J.L.** (2006). Sponge Systematics by Starfish: Predator Distinguish Criptyc Sympatric Species of Caribbean Fire Sponges, *Tedania ignis* and *Tedania kausi* n. sp. (Demospongiae, Poecilosclerida). *Marine Biological Laboratory*. **211**: 83-94.
- Zea, S.** (1987). Esponjas del Caribe colombiano. Bogotá, Colombia: Editorial Catálogo Científico. p. 286.
- Zea, S.** (1993). Cover of Sponges & and Other Sessile Organisms in Rocky and Coral Reef Habitats of Santa Marta, Colombian Caribbean Sea. *Caribbean Journal of Science*. **29**: 75-88.
- Zea, S.** (1998). Estado actual del conocimiento en sistemática de esponjas marinas (Porifera) del Caribe colombiano. *Boletín Ecotrópica: Ecosistemas Tropicales*. **33**: 45-59.
- Zea, S., Henkel, T., Pawlik, J.** (2014). The Sponge Guide: a picture guide to Caribbean sponges. 3rd Edition. World wide electronic publication. Fecha de consulta: Accedido en 14 de julio, 2018. Disponible en www.spongeguide.org

Artículo original

Frecuencia cardíaca y frecuencia de muda a diferentes temperaturas en dos especies de lagartijas colombianas, *Anolis huilae* y *A. tolimensis* (Squamata: Dactyloidae)

Heart rate and molting frequency at different temperatures in two species of Colombian lizards, *Anolis huilae* and *A. tolimensis* (Squamata: Dactyloidae)

Myriam Lorena Buitrago-Monroy, Jorge Luis Turriago-González, Manuel Hernando Bernal-Bautista*

Grupo de Herpetología, Eco-Fisiología & Etología, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia.

Resumen

La frecuencia cardíaca y la frecuencia de muda son dos variables fundamentales para la determinación del estado fisiológico de un animal, en especial ante los cambios ambientales que afectan su temperatura corporal. Debido a la poca información sobre estos dos parámetros fisiológicos en ecotermos, el objetivo de este trabajo fue reportarlos en las lagartijas *Anolis huilae* y *A. tolimensis* en tres temperaturas diferentes bajo condiciones de laboratorio, y establecer su sensibilidad térmica. Las temperaturas fueron 15, 20 y 25 °C para *A. huilae*, y 17, 22 y 27 °C para *A. tolimensis*, seleccionadas con base en las de las localidades donde viven en el departamento del Tolima: Juntas (*A. huilae*) y Llanitos (*A. tolimensis*). Las temperaturas altas incrementaron la frecuencia cardíaca (*A. huilae*: entre 53,3 latidos por minuto, lpm, a 17 °C y 57,2 lpm a 27 °C; *A. tolimensis*: entre 45,1 lpm a 15 °C y 50,6 lpm a 25 °C) y disminuyeron la frecuencia de muda (*A. huilae*: entre 135 días a 15 °C y 38 días a 25 °C; *A. tolimensis*: entre 53 días a 17 °C y 25 días a 27 °C). La sensibilidad térmica de la frecuencia cardíaca fue baja, en tanto que en la frecuencia de muda fue mucho más alta. Como era de esperarse, los incrementos en la temperatura ambiental producen cambios significativos en la función animal, que pueden tener un costo energético para el desempeño normal de los lagartos bajo condiciones naturales.

Palabras clave: Ambiente térmico; Ecdisis; Lagartos; Tasa cardíaca; Tolima.

Abstract

The heart rate and the molting frequency are two valuable parameters to determine the physiological state of animals, especially under the current environmental changes which are affecting their body temperature. Given the little information about these two physiological parameters in ectotherms, in this work, we determined the heart rate and molting frequency of the lizards *Anolis huilae* and *A. tolimensis* at three different temperatures under laboratory conditions, as well as their thermal sensitivity. The temperatures were 15, 20, and 25 °C for *A. huilae* and 17, 22, and 27 °C for *A. tolimensis*, selected according to the temperatures in the localities where they live in the department of Tolima: Juntas (*A. huilae*) and Llanitos (*A. tolimensis*). High temperatures increased the heart rate (*A. huilae*: from 53.3 beats per minute (bpm) at 17°C to 57.2 bpm at 27°C; *A. tolimensis*: from 45.1 bpm at 15°C to 50.6 bpm at 25°C) and decreased the molting frequency (*A. huilae*: from 135 days at 15°C to 38 days at 25°C; *A. tolimensis*: from 53 days at 17°C to 25 days at 27°C). Heart rate thermal sensitivity was low whereas the molting frequency was higher. As expected, increased environmental temperatures produced significant changes in animal functions that may be energetically expensive for the normal performance of lizards in natural conditions.

Keywords: Ecdysis; Heart rate; Lizards; Thermal environment; Tolima.

Citación: Myriam Lorena Buitrago-Monroy, Jorge Luis Turriago-González, Manuel Hernando Bernal-Bautista. Frecuencia cardíaca y frecuencia de muda a diferentes temperaturas en dos especies de lagartijas colombianas, *Anolis huilae* y *A. tolimensis* (Squamata: Dactyloidae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1008-1017, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1168>

Editor: Martha Patricia Ramírez Pinilla

***Correspondencia:**

Manuel Hernando Bernal-Bautista;
mhbernal@ut.edu.co

Recibido: 12 de marzo de 2020

Aceptado: 8 de julio de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

La temperatura es uno de los factores ambientales de más impacto en los procesos fisiológicos y comportamentales de los animales (Angilletta, *et al.*, 2002; Du, *et al.*, 2010a), en especial en lagartos ectotérmicos cuya temperatura corporal está fuertemente influenciada por las condiciones térmicas de su microambiente (Diele-Viegas, *et al.*, 2018). Entre estos procesos se encuentra la termorregulación, definida como la habilidad de un organismo para mantener su temperatura corporal dentro de unos límites preferidos (Angilletta, 2009), cuya eficacia conductual está determinada, en gran medida, por los cambios cardiovasculares (Seebacher & Grigg, 2001). Es por esta razón que la frecuencia cardíaca puede ejercer cierto control sobre el intercambio de calor entre algunos reptiles y su ambiente, especialmente a través de la regulación de la velocidad del transporte sanguíneo caliente o frío (Seebacher & Franklin, 2005). Esta capacidad de los reptiles de controlar la conductancia térmica a través de la frecuencia cardíaca y el flujo sanguíneo se conoce como histéresis frente al calentamiento y al enfriamiento (Seebacher & Grigg, 2001), y permite a los animales mantenerse durante más tiempo al día dentro de su rango térmico preferido (Seebacher, 2000).

La muda o ecdisis es otro proceso morfo-fisiológico que se ve afectado por la temperatura ambiental. En vertebrados la muda se define como el proceso de renovación constante de la parte externa de la piel por el desprendimiento periódico del estrato corneo (capa externa de la epidermis) conformado por células queratinizadas (Wells, 2010). Durante este proceso la parte eliminada se desprende en una sola pieza, o el animal la arranca por partes con la ayuda de la boca y las extremidades. Los animales pequeños suelen ingerirla con el propósito de reciclar materiales para una rápida generación de la epidermis (Ling, 1972), para recuperar sus proteínas epidérmicas (Sabagh & Carvalho-e-Silva, 2008), o como suplemento de vitamina D en su dieta (Bustard & Maderson, 1965). La frecuencia de muda está regulada principalmente por los niveles de actividad de la glándula tiroidea (Jørgensen & Larsen, 1960) bajo la estimulación de la glándula pituitaria, y varía con la edad o la masa corporal (Triana, *et al.*, 2013), y por factores ambientales como la humedad o la temperatura (Patrakov & Kuranova, 2006; Meyer, *et al.*, 2012).

Además de su importancia termorreguladora, la frecuencia cardíaca en lagartos es fundamental para establecer el estado de salud de un animal. Por ejemplo, Raske, *et al.* (2012) mencionan que los datos sobre la frecuencia cardíaca, la respiratoria y la temperatura corporal pueden proporcionar información sobre la mejoría en los tratamientos clínicos en vertebrados ectotérmicos; sin embargo, la información sobre los parámetros de base que determinan la salud de un individuo es muy escasa en reptiles. En estudios previos también se ha demostrado que la frecuencia cardíaca puede usarse como un indicador confiable de la tasa metabólica siempre que se cumplan ciertos criterios (Green, 2011; Piercy, *et al.*, 2015); por ello la frecuencia cardíaca puede proporcionar información sobre los costos energéticos de actividades como la locomoción, el forrajeo, la reproducción y la capacidad de respuesta de un organismo ante factores ambientales. En el caso de la muda, su recambio es importante para el reemplazo de los microorganismos que se alojan en la piel, como bacterias y hongos, que pueden resultar patógenos si no se reemplazan frecuentemente (Meyer, *et al.*, 2012). Además, la frecuencia de muda ayuda en el diagnóstico de problemas como la mala alimentación o el bajo nivel de hidratación (Ling, 1972). Dada la poca información sobre estos parámetros fisiológicos en ectotérmicos, especialmente en especies de lagartos, en el presente estudio se reporta por primera vez la frecuencia cardíaca en reposo y la frecuencia de muda de dos especies de lagartijas endémicas de Colombia, *Anolis huilae* y *A. tolimensis*, expuestas a tres temperaturas. Además, se evaluó la sensibilidad de estos dos parámetros fisiológicos a los cambios en la temperatura ambiental. Se espera que esta información sirva de referencia para el estudio de otros lagartos y ectotérmicos empleados como modelo en ecología, fisiología, desarrollo y evolución.

Materiales y métodos

Especies estudiadas

Se seleccionaron dos especies de lagartijas endémicas de Colombia, *Anolis huilae* y *A. tolimensis*, las cuales son abundantes en el departamento del Tolima y se encuentran comúnmente expuestas a fluctuaciones térmicas diarias, por lo que se consideran un buen modelo biológico para el desarrollo de este trabajo.

Anolis huilae (Williams, 1982) se encuentra registrada en los departamentos de Huila y Tolima, en localidades alrededor de los 2.000 m s.n.m. (Williams, 1982). Habita en zonas de bosques secundarios y áreas con marcada intervención antrópica. Los machos tienen una longitud promedio entre hocico y cloaca (LHC) de $70,5 \pm 5,6$ mm y las hembras de $62,8 \pm 5,4$ mm (Bejarano-Bonilla & Bernal-Bautista, 2019). En este estudio la especie se recolectó en un bosque secundario en el corregimiento de Juntas, municipio de Ibagué (Tolima) ($4^{\circ}33'13''$ N & $75^{\circ}19'29''$ O), a 2.000 m s.n.m. Allí la temperatura ambiental promedio durante las horas del día es de $21,07 \pm 2,99$ °C (rango diario de 15,1 a 24,6 °C) según Bejarano-Bonilla & Bernal-Bautista (2019), y la humedad relativa es del 96,37 %. En esta zona la especie es abundante y fácil de observar y capturar.

Anolis tolimensis (Boulenger, 1908) se encuentra distribuida en los departamentos de Tolima, Cauca, Valle del Cauca, Risaralda, Caldas y Huila, entre los 1.000 y 2.000 m s.n.m. (Uetz, et al., 2020). Su longitud entre hocico y cloaca es de $47,91 \pm 3,79$ mm en los machos y de $51,92 \pm 2,57$ mm en las hembras (Ardila-Marín, et al., 2008). La especie se recolectó en un área con cultivos de plátano (*Musa paradisiaca*) en el corregimiento de Llanitos, municipio de Ibagué, (Tolima) ($4^{\circ}29'24''$ N & $75^{\circ}17'10''$ O), a una altitud de 1.150 m y con una temperatura ambiental promedio de $22,7 \pm 3,4$ (rango diario de 17,8 a 27 °C). Previamente, Gallego-Carmona, et al. (2016) habían nombrado la especie como *A. antonii*, sin embargo, Grisales-Martínez, et al. (2017) aclararon luego que corresponde a *A. tolimensis*.

Recolección de los individuos

Entre octubre y diciembre de 2016, durante las horas de la mañana, se capturaron 18 individuos de cada especie mediante la técnica de relevamientos por encuentros visuales (*A. huilae*, LHC: $57,8 \pm 1,26$ mm, masa corporal: $3,77 \pm 1,55$ g; *A. tolimensis*, LHC: $52,9 \pm 6,1$ mm, masa corporal: $2,18 \pm 0,52$ g). Se registró la temperatura corporal, la temperatura del sustrato y la temperatura ambiental del sitio de recolección para todos los individuos. La temperatura corporal se midió en la parte dorsal del animal usando un termómetro infrarrojo (EXTECH IR200, Estados Unidos), con una precisión de $\pm 0,3$ °C, a una distancia aproximada de 20 cm. Las temperaturas del sustrato y del ambiente (a 30 cm por encima del animal) se registraron utilizando una termocupla (EXTECH 421502, Estados Unidos) con una precisión de $\pm 0,3$ °C. Posteriormente, los individuos fueron transportados en recipientes plásticos a la Universidad del Tolima en donde se registró la longitud hocico-cloaca con un calibrador digital (Mitutoyo 500-196-20, Japón) de precisión $\pm 0,025$ mm. Tanto los machos como las hembras se colocaron aleatoriamente por parejas (en ningún caso se observaron agresiones entre los animales) dentro de otros recipientes plásticos (15 x 10 x 10 cm) para ser sometidos a los experimentos.

Tratamientos térmicos

Debido a las diferencias en la temperatura ambiental a la que se encuentran las dos especies de estudio, las temperaturas experimentales se seleccionaron con base en el rango ya mencionado registrado en su hábitat. Por lo tanto, las temperaturas experimentales para *A. huilae* fueron de 15 °C (temperatura baja), 20 °C (temperatura media) y 25 °C (temperatura alta), y para *A. tolimensis*, de 17 °C (temperatura baja), 22 °C (temperatura media) y 27 °C (temperatura alta). Estas temperaturas se obtuvieron mediante el uso de cabinas térmicas (SISTEMA DANFOS ERC 102 KIT) programadas a las temperaturas experimentales deseadas (± 1 °C). Para confirmar las temperaturas de exposición, en cada

cabina se colocó un sensor que registraba en un panel externo la temperatura a la cual se encontraban los individuos, considerada como similar o muy cercana a la temperatura corporal de las lagartijas según los ensayos preliminares.

Medición de la frecuencia cardíaca

Los registros de la frecuencia cardíaca se hicieron durante tres días consecutivos a partir del día en que los individuos fueron capturados y transportados al laboratorio. El orden de exposición de los individuos a cada una de las temperaturas experimentales se determinó de manera aleatoria. Los individuos se mantuvieron durante una hora a la temperatura experimental y, transcurrido este tiempo, se registró dentro de la cabina térmica la frecuencia cardíaca (latidos por minuto, lpm) con el medidor infrarrojo de frecuencia cardíaca (sistema BUDDY, AVIAN BIOTECH, Reino Unido) (Du, *et al.*, 2010b). Se obtuvieron tres registros de la frecuencia cardíaca de cada individuo en intervalos de 2 minutos para hallar un valor promedio. Este mismo procedimiento se repitió en el segundo y el tercer día con las otras dos temperaturas, de tal manera que cada animal fue sometido a las tres temperaturas experimentales. Por último, al cuarto día todos los individuos fueron expuestos nuevamente a la temperatura experimental inicial para confrontar los valores de la frecuencia cardíaca antes y después de la exposición a los tres tratamientos térmicos. No se encontraron diferencias significativas (prueba de Wilcoxon, $p > 0,05$). Durante los días de experimentación, los animales fueron alimentados *ad libitum* con insectos recolectados en la Universidad del Tolima y se les dejó agua dentro de cada recipiente plástico.

Medición de la frecuencia de muda

Para estos registros se utilizaron los mismos 18 individuos de cada una de las dos especies del experimento anterior una vez este finalizó. Los individuos de cada especie se dividieron en tres grupos de seis y fueron sometidos permanentemente a las tres temperaturas experimentales hasta la aparición de la muda. Cada animal se marcó en el dorso mediante un punto pintado con esmalte de uñas de color blanco (Vogue), tal y como se ha reportado en otros estudios con lagartos (Carvajal-Cogollo & Urbina-Cardona, 2008) y anuros (Meyer, *et al.*, 2012). Se hicieron dos observaciones diarias, una en la mañana (7:00) y otra en la noche (19:00) hasta el día en que ocurrió la muda, lo cual se verificó con la ausencia de la marca dorsal. Una vez ocurrido esto, se marcó nuevamente el animal y se inició el registro del tiempo hasta la siguiente muda, repitiendo este procedimiento dos veces más por cada animal para obtener tres registros, con los cuales se calculó un valor promedio de la frecuencia de muda.

Análisis de datos

Los datos de la frecuencia cardíaca de los 18 individuos de *A. huilae* y los 18 de *A. tolimensis* expuestos a las tres temperaturas experimentales se compararon mediante el análisis de medidas repetidas previa comprobación del cumplimiento de los supuestos de la prueba, incluida la prueba de esfericidad de Mauchly ($p > 0,05$), con la cual se comprobó si había diferencias significativas en la frecuencia cardíaca al exponer a cada lagartija a las tres temperaturas diferentes, controlando las diferencias de los tamaños corporales del análisis de medidas repetidas. Los datos sobre la frecuencia de muda en los tres tratamientos térmicos se compararon utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) debido a que no se cumplieron los supuestos de las pruebas paramétricas, probablemente por el reducido número de datos, ya que no se trataba de un experimento de medidas repetidas. Esta prueba se hizo para comprobar si la frecuencia de muda cambiaba significativamente en las tres temperaturas experimentales. Los análisis estadísticos se hicieron con el programa SPSS (versión 21). Además, se calcularon los valores Q_{10} (Randall, *et al.*, 2002) para la frecuencia cardíaca y la frecuencia de muda con el propósito de establecer la sensibilidad térmica de estos dos parámetros fisiológicos al aumentar 10 °C en la temperatura experimental.

Resultados

La frecuencia cardíaca en *A. huilae* estuvo en un rango entre $45,2 \pm 5,4$ lpm a $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $50,7 \pm 5,5$ lpm a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabla 1, Figura 1), con un Q_{10} de 1,12. En el caso de *A. tolimensis*, la frecuencia cardíaca presentó un rango entre $53,3 \pm 6,5$ lpm a $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $57,3 \pm 6,2$ lpm a $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabla 1, Figura 1), con un Q_{10} de 1,07. A pesar del bajo índice Q_{10} , en ambas especies la frecuencia cardíaca se incrementó significativamente con el aumento de la temperatura experimental (Figura 1) (*A. huilae*: Anova $F_{(2,16, N=18)}=21,50, p=0,000$; *A. tolimensis*: Anova $F_{(2,16, N=18)}=3,64, p=0,049$). Específicamente los datos de la frecuencia cardíaca en *A. huilae* arrojaron diferencias significativas entre las tres temperaturas $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ Vs. $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (diferencia mínima significativa (DMS)=-2,81, $p=0,000$); $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ Vs. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (DMS=-5,46, $p=0,000$); $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ Vs. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (DMS=-0,66, $p=0,001$), en tanto que en *A. tolimensis* se presentaron entre la temperatura baja y la alta: $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ Vs. $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ (DMS=-3,94, $p=0,019$).

Con respecto a la frecuencia de muda, se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas experimentales de las dos especies (*A. huilae*: Kruskal-Wallis $H=10,68, p=0,000$; *A. tolimensis*: Kruskal-Wallis $H=9,10, p=0,010$). La frecuencia de muda en las lagartijas fue más lenta en las temperaturas experimentales bajas (*A. huilae*: $135 \pm 8,2$ días; *A. tolimensis*: $52,2 \pm 11,8$ días), y más rápida en las temperaturas altas (*A. huilae*: $38,3 \pm 4,9$ días; *A. tolimensis*: $27 \pm 8,1$ días) (Tabla 1, Figura 2). Los valores Q_{10} para la frecuencia de muda en *A. huilae* fueron de 0,28 (entre 15 y $25\text{ }^{\circ}\text{C}$), y 0,52 en *A. tolimensis* (entre 17 y $27\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Discusión

Los datos obtenidos en *A. huilae* y *A. tolimensis* sobre el aumento de la frecuencia cardíaca con el incremento de las temperaturas experimentales reflejan la tendencia general

Tabla 1. Valores promedio de la frecuencia cardíaca (latidos por minuto) y de muda (número de días) en *A. huilae* y *A. tolimensis* a tres temperaturas experimentales

<i>A. huilae</i>			<i>A. tolimensis</i>		
T	FC	FM	T	FC	FM
15 °C	45,2 ± 5,4	135 ± 8,2	17 °C	53,3 ± 6,5	52,2 ± 11,8
20 °C	48,0 ± 4,8	68,6 ± 7,9	22 °C	54,6 ± 6,6	24 ± 4,9
25 °C	50,7 ± 5,5	38,2 ± 4,9	27 °C	57,3 ± 6,2	27 ± 8,1

T: temperatura, FC: frecuencia cardíaca, FM: frecuencia de muda; promedio ± desviación estándar

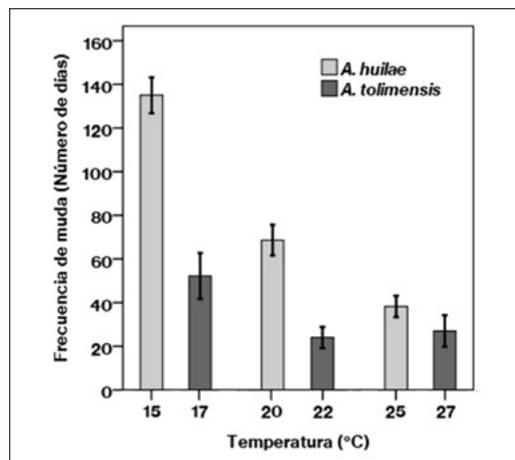


Figura 1. Comparación de la frecuencia cardíaca con relación a la temperatura en *Anolis huilae* y *Anolis tolimensis*. Las barras indican error estándar.

reportada en otros estudios con reptiles (Bennett, 1972; Butler, *et al.*, 2004; Aubret, *et al.*, 2013) cuyos procesos fisiológicos funcionan mejor dentro de ciertas temperaturas corporales y disminuyen fuera de su rango óptimo o curva de desempeño térmico (Angilletta, 2001; 2006). Este resultado implica que los incrementos en las temperaturas ambientales que actualmente se reportan pueden aumentar la frecuencia cardíaca y otras variables fisiológicas asociadas, como la tasa de asimilación energética (Angilletta, 2001) y la tasa metabólica de los organismos (Bennett & Dawson, 1976; Zari, 1991). Sin embargo, dado que en el valor Q_{10} encontrado para las dos especies (alrededor de 1,1) no hay un cambio que incremente notablemente la frecuencia cardíaca, es posible que estas especies se encuentren dentro del grupo de lagartos que tienen cierta capacidad de regular fisiológicamente su temperatura interna a través de la frecuencia cardíaca y el flujo sanguíneo (Grigg & Seebacher, 1999; Dzialowski & O'Connor, 2001; Seebacher & Grigg, 2001). También es posible que la respuesta individual al cautiverio ejerza algún impacto diferencial sobre las mediciones de la frecuencia cardíaca y su sensibilidad a la temperatura y que unas lagartijas sean más sensibles que otras, lo que se reflejó en el análisis de medidas repetidas, pero no en el valor Q_{10} .

Al comparar la frecuencia cardíaca de *A. huilae* medida a 25 °C (50,7 lpm) con las frecuencias cardíacas reportadas por Licht (1965) en otras especies de lagartos a la misma temperatura, estas presentaron valores notablemente más bajos, desde los 25 lpm en *Dipsosaurus dorsalis*, que tiene una longitud corporal (longitud hocico-cloaca) promedio de 13 cm, hasta 40 lpm en *Sceloporus graciosus*, con una longitud corporal de 4,7 a 6,9 cm. Tales diferencias en los resultados podrían explicarse por las variaciones en el tamaño corporal, ya que los individuos pequeños presentan una frecuencia cardíaca mayor (Randall, *et al.*, 2002), lo que también se comprobaría al contrastar los resultados de las dos especies aquí estudiadas, pues *A. huilae*, que es más grande que *A. tolimensis*, presentó una frecuencia cardíaca menor (Figura 1). No obstante, en otros lagartos como *Podarcis muralis*, con un tamaño corporal (5,2 a 6,5 cm) dentro del rango de las dos especies de este estudio, las frecuencias cardíacas reportadas a 25 °C por Aubret, *et al.* (2013) fueron de alrededor de 100 lpm, un valor alto en comparación con los datos reportados aquí con la misma metodología de registro cardíaco. Esto indica que la relación inversa y significativa entre el tamaño corporal y la frecuencia cardíaca no se presenta en todos los casos, y abre la posibilidad de que distintas especies de lagartos presenten diferencias fisiológicas asociadas con su grupo filogenético. Debido a la poca información que hay sobre las frecuencias cardíacas en lagartos, se requieren más estudios para establecer generalidades sobre estas variaciones dentro de cada especie y entre ellas, y sobre su sensibilidad ante los cambios de temperatura ambiental.

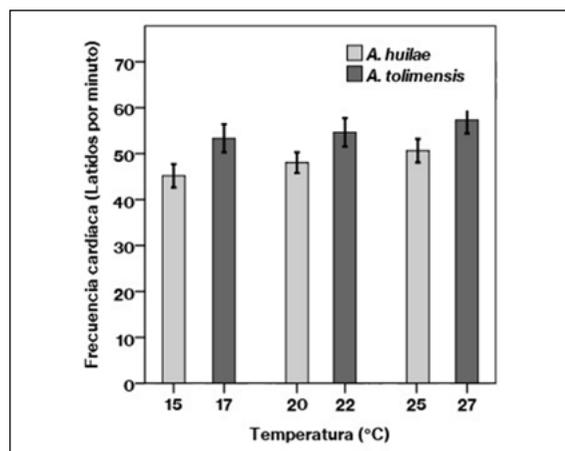


Figura 2. Comparación de la frecuencia de muda con relación a la temperatura en *Anolis huilae* y *Anolis tolimensis*. Las barras indican error estándar.

En cuanto a la frecuencia de muda, por primera vez se brinda información sobre las lagartijas *A. huilae* y *A. tolimensis* y sus variaciones en función de la temperatura ambiental. En ambas especies hubo una reducción en el tiempo de muda en las temperaturas altas: en *A. huilae* pasó de $135 \pm 8,2$ días a 15°C a $38,3 \pm 4,9$ días a 25°C , en tanto que en *A. tolimensis* cambió de $52,2 \pm 11,8$ días a 17°C a $27 \pm 8,1$ días a 27°C . Específicamente los datos del Q_{10} evidenciaron una reducción del tiempo de muda de 3,5 veces en *A. huilae* ($Q_{10}=0,28$) y de casi 2 veces en *A. tolimensis* ($Q_{10}=0,52$), lo que refleja un retardo importante en la renovación de su piel frente a un cambio en la temperatura ambiental de 10°C , lo que sucede en condiciones naturales, como ya se indicó. La relación inversa entre la frecuencia de muda y la temperatura se ha reportada en otros vertebrados ectotérmicos (Stefano & Donoso, 1964; Meyer, et al., 2012) y está relacionada con la reducción del metabolismo de los animales en las temperaturas más bajas, lo que hace que todos sus procesos fisiológicos sean más lentos, incluida la renovación de la capa epidérmica de su piel. Esto también se puede atribuir al hecho de que en las temperaturas bajas los animales redistribuyen su gasto energético en otro tipo de actividades vitales como la digestión, la locomoción, y la selección de microhábitats, entre otros (Harwood, 1979; Angilletta, et al., 2009; Schofield, et al., 2009), y el proceso de muda representa un gasto significativo de energía (Semlitsch, 1979) que se podría disminuir, especialmente bajo estas condiciones térmicas, por ejemplo en un 3% en *Elaphe guttata* o hasta en un 11 % en *Heterodon platyrhinos* (Smith, 1976).

De la poca información publicada sobre la frecuencia de muda en los lagartos a diferentes temperaturas para comparar con los resultados del presente estudio, se encuentra el reporte en *Tupinambis teguxin*. En ese estudio se encontró que los juveniles (longitud hocico-cloaca: 11 - 25 cm) tuvieron una frecuencia de muda de $28,01 \pm 7,1$ días, y los inmaduros (longitud hocico-cloaca: 25 - 32 cm) de $24,62 \pm 6,3$ días al mantenerlos a temperaturas diarias entre los 21 y los 34°C (Yanosky & Mereolli, 1991), valores similares a los encontrados para la especie *A. tolimensis* expuesta a 22 y 27°C . En otros reptiles como las serpientes, Smith (1976) reportó para *Heterodon platyrhinos* una frecuencia de muda de $38,3 \pm 3,66$ días, y para *Elaphe guttata*, de $40,5 \pm 2,75$ días a una temperatura de 25°C , en tanto que los individuos expuestos a 15°C tuvieron una frecuencia de muda más prolongada, aunque dicho tiempo no se especificó. Por su parte, Semlitsch (1979) encontró que en *Natrix fasciata* mantenida a $30,6^\circ\text{C}$ la frecuencia de muda fue de 18,1 días, en tanto que a $20,4^\circ\text{C}$ fue aproximadamente de 43 días. Como en el caso de la frecuencia cardíaca, son necesarios más estudios para determinar la frecuencia de muda en diversas especies de lagartos y evaluar cómo los factores ambientales asociados con el hábitat la pueden afectar, pues podrían potenciar enfermedades infecciosas asociadas con la piel. Por ejemplo, la presencia muy frecuente de ectoparásitos (Gallego, et al., 2012) o de microbios patógenos en lagartijas podría tener un mayor efecto negativo en las temperaturas bajas que en las altas, ya que el recambio de la piel y de los organismos asociados con ella son más lentos (Meyer, et al., 2012).

En conclusión, la frecuencia cardíaca aumentó en las lagartijas con el incremento de la temperatura experimental, así como la frecuencia de muda. Por su parte, la sensibilidad térmica de la frecuencia de muda fue notablemente más alta que la de la frecuencia cardíaca ante cambios experimentales de 10°C . Sin embargo, debido a los múltiples factores internos y externos que pueden afectar la medición de estos dos parámetros fisiológicos, se requieren más estudios para ampliar el conocimiento sobre la fisiología de los lagartos y ectotermos en general y su forma de responder a cambios en condiciones naturales como la temperatura ambiental.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Oficina de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad del Tolima (proyecto número 510114), y contó con el Permiso Marco de Recolección otorgado por la Corporación Autónoma del Tolima, CORTOLIMA (resolución número 3758 del 16 de noviembre de 2016), así como con el aval del comité de bioética de la Universidad del Tolima.

Contribución de los autores

MLBM: experimentos, análisis de los datos y escritura del manuscrito; JLTG: análisis de los datos y escritura del manuscrito; MHBB: concepción del estudio, diseño de los procedimientos experimentales, análisis de los datos y escritura del manuscrito

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Angilletta, M. J.** (2001). Thermal and physiological constraints on energy assimilation in a wide-spread lizard (*Sceloporus undulatus*). *Ecology*. **82**: 3044-3056. Doi: 10.1890/0012-9658(2001)082[3044:TAPCOE]2.0.CO;2
- Angilletta, M. J.** (2006). Estimating and comparing thermal performance curves. *Journal of Thermal Biology*. **31**: 541-545. Doi: 10.1016/j.jtherbio.2006.06.002
- Angilletta, M. J.** (2009). *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. New York, United States: Oxford University Press. p. 289.
- Angilletta, M. J., Niewiarowski, P. H., Navas, C. A.** (2002). The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*. **27** (4): 249-268. Doi: 10.1016/S0306-4565(01)00094-8
- Angilletta, M. J., Sears, M. W., Pringle, R. M.** (2009). Spatial dynamics of nesting behavior: lizards shift microhabitats to construct nests with beneficial thermal properties. *Ecology*. **90** (10): 2933-2939. Doi: 10.1890/08-2224.1
- Ardila-Marín, D. A., Gaitán-Reyes, D. G., Hernández-Ruz, E. J.** (2008). Biología reproductiva de una población de *Anolis tolimensis* (Sauria: Iguanidae) en los Andes colombianos. *Caldasia*. **30** (1): 151-159.
- Aubret, F., Tort, M., Blanvillain, G.** (2013). A non-invasive method of measuring heart rates in small reptiles and amphibians. *Herpetological Review*. **44**: 421-423.
- Bejarano-Bonilla, D. A. & Bernal-Bautista, M. H.** (2019). Patrón de actividad diaria y de temperaturas ambientales y microambientales en una población de la lagartija endémica colombiana *Anolis huilae* (Squamata, Dactyloidae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **43** (166): 38-43. Doi: 10.18257/raccefyn.687
- Bennett, A. F.** (1972). The effect of activity on oxygen consumption, oxygen debt, and heart rate in the lizards *Varanus gouldii* and *Sauromalus hispidus*. *Journal of Comparative Physiology*. **79** (3): 259-280. Doi: 10.1007/BF00694220
- Bennett, A. F. & Dawson, W. R.** (1976). *Biology of the Reptilia: Metabolism*. New York, United States: New York Academic Press. p. 373.
- Boulenger, G. A.** (1908). Description of new batrachians and reptiles discovery by Mr. M.C. Palmer in south-western Colombia. *Annals and Magazine of Natural History*. **8** (2): 515-522.
- Bustard, H. R. & Maderson, P. F. A.** (1965). The eating of shed epidermal material in squamate reptiles. *Herpetologica*. **21** (4): 306-308.
- Butler, P. J., Green, J. A., Boyd, I. L., Speakman, J. R.** (2004). Measuring metabolic rate in the field: the pros and cons of the doubly labelled water and heart rate methods. *Functional Ecology*. **18** (2): 168-183. Doi: 10.1111/j.0269-8463.2004.00821.x
- Carvajal-Cogollo, J. E. & Urbina-Cardona, J. N.** (2008). Patrones de diversidad y composición de reptiles en fragmentos de bosque seco tropical en Córdoba, Colombia. *Tropical Conservation Science*. **1** (4): 397-416. Doi: 10.1177/194008290800100407
- Diele-Viegas, L. M., Vitt, L. J., Sinervo, B., Colli, G. R., Werneck, F. P., Miles, D. B., Pontes, E.** (2018). Thermal physiology of Amazonian lizards (Reptilia: Squamata). *PloS One*. **13** (3): e0192834. Doi: 10.1371/journal.pone.0192834
- Du, W. G., Ye, H., Zhao, B., Warner, D. A., Shine, R.** (2010a). Thermal acclimation of heart rates in reptilian embryos. *PLoS One*. **5** (12): e15308. Doi: 10.1371/journal.pone.0015308
- Du, W. G., Zhao, B., Shine, R.** (2010b). Embryos in the fast lane: high-temperature heart rates of turtles decline after hatching. *PLoS One*. **5** (3): e9557. Doi: 10.1371/journal.pone.0009557
- Dzialowski, E. M. & O'Connor, M. P.** (2001). Thermal time constant estimation in warming and cooling ectotherms. *Journal of Thermal Biology*. **26** (3): 231-245. Doi: 10.1016/S0306-4565(00)00050-4
- Gallego, C. A., Castro, C. F., Torres, K. A., Forero, J. S.** (2012). Relación uso de hábitat y ectoparasitismo en una población de *Anolis antonii* (Dactyloidae) en Llanitos, Tolima-Colombia. *The Biologist*. **10** (2): 99.

- Gallego-Carmona, C. A., Castro-Arango, J. A., Bernal-Bautista, M. H.** (2016). Effect of habitat disturbance on the body condition index of the Colombian endemic lizard *Anolis antonii* (Squamata: Dactyloidae). *South American Journal of Herpetology*. **11** (3): 183-188. Doi: 10.2994/SAJH-D-16-00020.1
- Green, J. A.** (2011). The heart rate method for estimating metabolic rate: review and recommendations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. **158** (3): 287-304. Doi: 10.1016/j.cbpa.2010.09.011
- Grigg, G. C. & Seebacher, F.** (1999). Field test of a paradigm: hysteresis of heart rate in thermoregulation by a free-ranging lizard (*Pogona barbata*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. **266** (1425): 1291-1297. Doi: 10.1098/rspb.1999.0777
- Grisales-Martinez, F. A., Velasco, J. A., Bolivar, W., Williams, E. E., Daza, J. M.** (2017). The taxonomic and phylogenetic status of some poorly known *Anolis* species from the Andes of Colombia with the description of a *nomen nudum* taxon. *Zootaxa*. **4303** (2): 213-230. Doi: 10.11646/zootaxa.4303.2.2
- Harwood, R. H.** (1979). The effect of temperature on the digestive efficiency of three species of lizards, *Cnemidophorus tigris*, *Gerrhonotus multicarinatus* and *Sceloporus occidentalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. **63** (3): 417-433. Doi: 10.1016/0300-9629(79)90613-3
- Jørgensen, C. B. & Larsen, L. O.** (1960). Hormonal control of moulting in amphibians. *Nature*. **185** (4708): 244-245. Doi: 10.1038/185244a0
- Kruskal, W. H. & Wallis, W. A.** (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association*. **47** (260): 583-621. Doi: 10.2307/2280779
- Licht, P.** (1965). Effects of temperature on heart rates of lizards during rest and activity. *Physiological Zoology*. **38** (2): 129-137.
- Ling, J. K.** (1972). Adaptive functions of vertebrate molting cycles. *American Zoologist*. **12** (1): 77-93. Doi: 10.1093/icb/12.1.77
- Meyer, E. A., Cramp, R. L., Bernal, M. H., Franklin, C. E.** (2012). Changes in cutaneous microbial abundance with sloughing: possible implications for infection and disease in amphibians. *Diseases of aquatic organisms*. **101** (3): 235-242. Doi: 10.3354/dao02523
- Patrakov, S. V. & Kuranova, V. N.** (2006). Variation of moulting activity in *Lacerta agilis* and *Zootoca vivipara* (Reptilia: Sauria: Lacertidae). In *Proceedings of the 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica*. **111**: 113.
- Piercy, J., Rogers, K., Reichert, M., Andrade, D. V., Abe, A. S., Tattersall, G. J., Milsom, W. K.** (2015). The relationship between body temperature, heart rate, breathing rate, and rate of oxygen consumption, in the tegu lizard (*Tupinambis merianae*) at various levels of activity. *Journal of Comparative Physiology B*. **185** (8): 891-903. Doi: 10.1007/s00360-015-0927-3
- Randall, D., Burggren, W., French, K.** (2002). *Eckert Fisiología Animal: mecanismos y adaptaciones* (4th Edition). Madrid, España: Graw-Hill Interamericana. p. 802
- Raske, M., Lewbart, G. A., Dombrowski, D. S., Hale, P., Correa, M., Christian, L. S.** (2012). Body temperatures of selected amphibian and reptile species. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. **43** (3): 517-521. Doi: 10.2307/41681870
- Sabagh, L. T. & Carvalho-e-Silva, A. M.** (2008). Feeding overlap in two sympatric species of *Rhinella* (Anura: Bufonidae) of the Atlantic Rain Forest. *Revista Brasileira de Zoologia*. **25** (2): 247-253. Doi: 10.1590/S0101-81752008000200013
- Schofield, G., Bishop, C. M., Katselidis, K. A., Dimopoulos, P., Pantis, J. D., Hays, G. C.** (2009). Microhabitat selection by sea turtles in a dynamic thermal marine environment. *Journal of Animal Ecology*. **78** (1): 14-21. Doi: 10.1111/j.1365-2656.2008.01454.x
- Seebacher, F.** (2000). Heat transfer in a microvascular network: the effect of heart rate on heating and cooling in reptiles (*Pogona barbata* and *Varanus varius*). *Journal of Theoretical Biology*. **203** (2): 97-109. Doi: 10.1006/jtbi.1999.1067
- Seebacher, F. & Franklin, C. E.** (2005). Physiological mechanisms of thermoregulation in reptiles: a review. *Journal of Comparative Physiology B*. **175** (8): 533-541. Doi: 10.1007/s00360-005-0007-1
- Seebacher, F. & Grigg, G.** (2001). Changes in heart rate are important for thermoregulation in the varanid lizard *Varanus varius*. *Journal of Comparative Physiology B*. **171** (5): 395-400. Doi: 10.1007/s003600100188
- Semlitsch, R. D.** (1979). The influence of temperature on ecdysis rates in snakes (genus *Natrix*) (Reptilia, Serpentes, Colubridae). *Journal of Herpetology*. **13** (2): 212-214. Doi: 10.2307/1563932
- Smith, G. C.** (1976). Ecological energetics of three species of ectothermic vertebrates. *Ecology*. **57** (2): 252-264. Doi: 10.2307/1934814

- Stefano, F. J. & Donoso, A. O.** (1964). Hypophyso-adrenal regulation of moulting in the toad. *General and comparative endocrinology*. **4** (5): 473-480. Doi: 10.1016/0016-6480(64)90055-3
- Triana, T. M., Henao, L. M., Bernal, M. H.** (2013). Comparación ontogénica de la frecuencia de muda en *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae). *Iheringia Série Zoologia*. **103** (1): 47-50. Doi: 10.1590/S0073-47212013000100007
- Uetz, P., Freed, P. Hošek, J.** (eds.) (2020). The Reptile Database. http://reptiledatabase.reptarium.cz/species?genus=Anolis&species=tolimensis&search_param=%28%28search%3D%27anolis+tolimensis%27%29%29
- Wells, K. D.** (2010). *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago-London: University of Chicago Press. p. 1400
- Williams, E. E.** (1982). Three New Species of the *Anolis punctatus* complex from Amazonian and inter-Andean Colombia, with comments on the eastern members of the punctatus species group. *Breviora*. **467**: 1-38. Doi: 10.5962/bhl.part.28050
- Yanosky, Á. A. & Mercolli, C.** (1991). Temperaturas internas y frecuencias de muda en crías de *Tupinambis teguixin* (Reptilia: Teiidae) bajo condiciones controladas. *Cuadernos de Herpetología*. **6** (4): 23-26.
- Zari, T. A.** (1991). The influence of body mass and temperature on the standard metabolic rate of the herbivorous desert lizard, *Uromastyx microlepis*. *Journal of Thermal Biology*. **16** (3): 129-133. Doi: 10.1016/0306-4565(91)90033-X

Artículo original

Riqueza, composición y distribución de las plantas vasculares en sabanas y bosques ribereños de la cuenca baja del río Pauto (Casanare-Colombia)

Richness, composition, and distribution of vascular plants in savannas and riparian forests of the Pauto River lower watershed (Casanare-Colombia)

● Diego Mauricio Cabrera-Amaya^{1,*}, ● Laura Judith Giraldo-Kalil^{1,2},
● Orlando Rivera-Díaz³, ● Francisco Castro-Lima⁴

¹ Fundación Yoluka, Bogotá, Colombia

² Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México

³ Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá, Colombia

⁴ Fundación Horizonte Verde, Cumaral, Meta, Colombia

Resumen

A pesar de la importancia ecológica y económica de la Orinoquía colombiana, aún son escasos los estudios básicos sobre la vegetación, los cuales se requieren para planificar el manejo y la conservación de la flora de esta región. El objetivo de este estudio fue analizar la riqueza, composición y distribución geográfica de las plantas vasculares de la cuenca baja del río Pauto (Casanare-Colombia). Se hicieron muestreos de la vegetación durante las temporadas de sequía y lluvias en cuadrantes de 1x1 m en las sabanas y en parcelas de 50x20 m en los bosques, incluyendo áreas con transformación antropogénica. Se registraron 701 especies, 421 géneros y 121 familias en un catálogo sistemático; 52 de las especies no se habían registrado previamente en la flora de la Orinoquía. En las sabanas, las familias con mayor riqueza fueron Leguminosae *sensu lato* (43), Cyperaceae (42) y Poaceae (38); y en los bosques, Leguminosae *sensu lato* (49), Malvaceae y Rubiaceae (26 cada una). Las formas de crecimiento con más especies fueron las hierbas (294), seguidas de árboles (129) y sufrutices (111). La mayoría de las especies están ampliamente distribuidas en el Neotrópico y muchas se encuentran en las selvas húmedas, bosques secos y sabanas de Suramérica. En el futuro es necesario incrementar los muestreos en sabanas y en el estrato herbáceo de los bosques ribereños, así como los esfuerzos de categorización de las amenazas de la flora regional de la Orinoquía.

Palabras clave: Bosque de galería; Bosque de vega; Sabana estacional, Sabana hiperestacional, Sabana semiestacional.

Abstract

Despite the ecological and economic importance of the Colombian Orinoquía region, the basic studies of vegetation that would be necessary for planning management and conservation of the regional flora are still scarce. In the present study we analyzed the richness, composition, and geographical distribution of vascular plants in the lower Pauto river basin (Casanare-Colombia). We collected samples during the rainy and dry seasons in savannas and forests in plots of 1x1 m and 50x20 m, respectively, including collections in areas with anthropogenic impact. We recorded 701 species, 421 genera, and 121 families in a systematic catalog; 52 species are reported for the first time for the Orinoquía region. The richest families in savannas were Leguminosae (43), Cyperaceae (42), and Poaceae (38); while in the forests the richest were Leguminosae (49), Malvaceae, and Rubiaceae (26 each). Herbs were the richest in species (294) followed by trees (129) and sub-shrubs

Citación: Diego Mauricio Cabrera-Amaya, Laura Judith Giraldo-Kalil, Orlando Rivera-Díaz, *et al.* Riqueza, composición y distribución de las plantas vasculares en sabanas y bosques ribereños de la cuenca baja del río Pauto (Casanare-Colombia). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1018-1032, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyfyn.1188>

Editor: Gerardo Antonio Aymard Corredor

***Correspondencia:**
Diego Mauricio Cabrera-Amaya;
dmcabreraa@unal.edu.co

Recibido: 3 de abril de 2020

Aceptado: 18 de julio de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

(111). Most species are widely distributed in the neotropics, many of them occurring in wet forests, dry forests, and South American savannas. We emphasize the need to increase the sampling in savannas and in the understory of riparian forests in future studies, as well as to update the list of threatened species to aid conservation efforts in the Orinoquía region.

Keywords: Gallery forest; Floodplain forest; Seasonal savanna; Hiperseasonal savanna; Semi-seasonal savanna.

Introducción

Las sabanas inundables abarcan más del 12 % del área de la cuenca del Orinoco en Colombia; se concentran en la depresión conformada por los departamentos de Arauca y Casanare (**Mora-Fernández, et al., 2015**) y proveen servicios ecosistémicos como el mantenimiento de la biodiversidad, el reciclaje de nutrientes, la formación de suelo, la producción primaria, la regulación hídrica y la provisión de belleza escénica (**Mora-Fernández & Peñuela-Recio, 2013a; Lasso, et al., 2014**).

La biodiversidad de las sabanas inundables de la Orinoquía colombiana está seriamente amenazada por el cambio de uso del suelo, la deforestación e introducción de pastos exóticos y el desarrollo de monocultivos extensivos (**Ramírez, et al., 2011**). Durante las últimas décadas ha crecido la demanda de tierra en el departamento de Casanare para expandir e intensificar actividades de alto impacto para la biodiversidad como la ganadería, el cultivo de arroz, el establecimiento de plantaciones de palma de aceite y la extracción de hidrocarburos, acelerando el deterioro de las sabanas inundables (**Rippstein, et al., 2001; Mora-Fernández & Peñuela-Recio, 2013a; Mora-Fernández, et al., 2015**). Aunque esto ha despertado el interés por documentar la flora del departamento, los registros de especies de plantas suelen ser más completos en municipios cercanos al piedemonte, donde hay más facilidades de acceso y movilidad, que en aquellos alejados, como San Luis de Palenque y Trinidad, en la cuenca baja del río Pauto (**Córdoba, et al., 2011**).

Los principales referentes para el estudio de la riqueza florística en el río Pauto son la flora de la cuenca del río Orinoco en Colombia (**Cárdenas, et al., 2016; Sua-Tunjano & González-Giraldo, 2018**), el catálogo de espermatófitos de la Orinoquía (**Minorta-Cely & Rangel-Ch., 2014**), la vegetación de sabana tropical de los Llanos de Colombia (**Blydenstein, 1967**), la flora del andén orinoqués (**Castro-Lima, 2010**), las plantas acuáticas de la Orinoquía (**Fernández, et al., 2015; Madriñan, et al., 2017**), el estado del conocimiento de las sabanas inundables en la Orinoquía colombiana (**Mora-Fernández, et al., 2015**), así como varios estudios sobre la composición y la estructura de los bosques ribereños en el río Yukao-Meta (**Veneklaas, et al., 2005**), en Puerto López-Meta (**Carvajal, et al., 2007**), y en la Reserva Tomo Grande-Vichada (**Correa-Gómez & Stevenson, 2010**). En Casanare se destacan los estudios sobre la flora del departamento (**Córdoba, et al., 2011**), las comunidades vegetales del bloque Cubiro (**Pinzón-Pérez, et al., 2011**), y las sabanas de Orocué (**Romero-Duque, et al., 2018**). En la cuenca baja del río Pauto algunos estudios han evaluado la salud ecosistémica (**Mora-Fernández & Peñuela-Recio, 2013a**) y han establecido la guía de campo de flora y fauna (**Mora-Fernández & Peñuela-Recio, 2013b**), así como la composición y estructura de los bosques ribereños (**Cabrera-Amaya & Rivera-Díaz, 2016**).

En el presente estudio se propuso analizar la flora de las sabanas y bosques de la cuenca baja del río Pauto en términos de riqueza, composición y distribución geográfica. La caracterización básica de la vegetación es el punto de partida para las decisiones sobre su conservación, uso y manejo sostenible, y para la evaluación del impacto ambiental de las actividades económicas, por tanto se requiere con urgencia en el departamento de Casanare y la Orinoquía colombiana. Asimismo, se elaboró un catálogo de las especies de plantas vasculares de la zona, con nuevos registros para la Cuenca del Orinoco de Colombia.

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se realizó en los municipios de San Luis de Palenque y Trinidad (Casanare), en la cuenca baja del río Pauto, cuya área aproximada es de 2.874 km² (Mora-Fernández, *et al.*, 2011) (Figura 1). Según el sistema Thornwaite, la región presenta un clima tropical lluvioso unimodal de sabana, con una temperatura promedio de 26 °C, y una precipitación total anual de 2.048 mm distribuida entre la estación seca (diciembre-marzo) y la lluviosa (abril-noviembre), siendo mayo, junio y julio los meses más lluviosos (Mora-Fernández, *et al.*, 2011). Según Goosen (1964) esta zona se subdivide en los paisajes de vegas, llanura eólica y llanura aluvial de desborde; estos paisajes fueron reinterpretados y denominados para efectos del estudio como vegas de ríos andinenses (ríos Pauto y Meta), sabanas inundables con influencia eólica, y sabanas inundables típicas (cuya inundación responde a la falta de infiltración del agua de las lluvias por la baja permeabilidad de los suelos arcillosos, y no al desbordamiento de los cursos de agua, Obs. Pers. Castro-Lima, 2012).

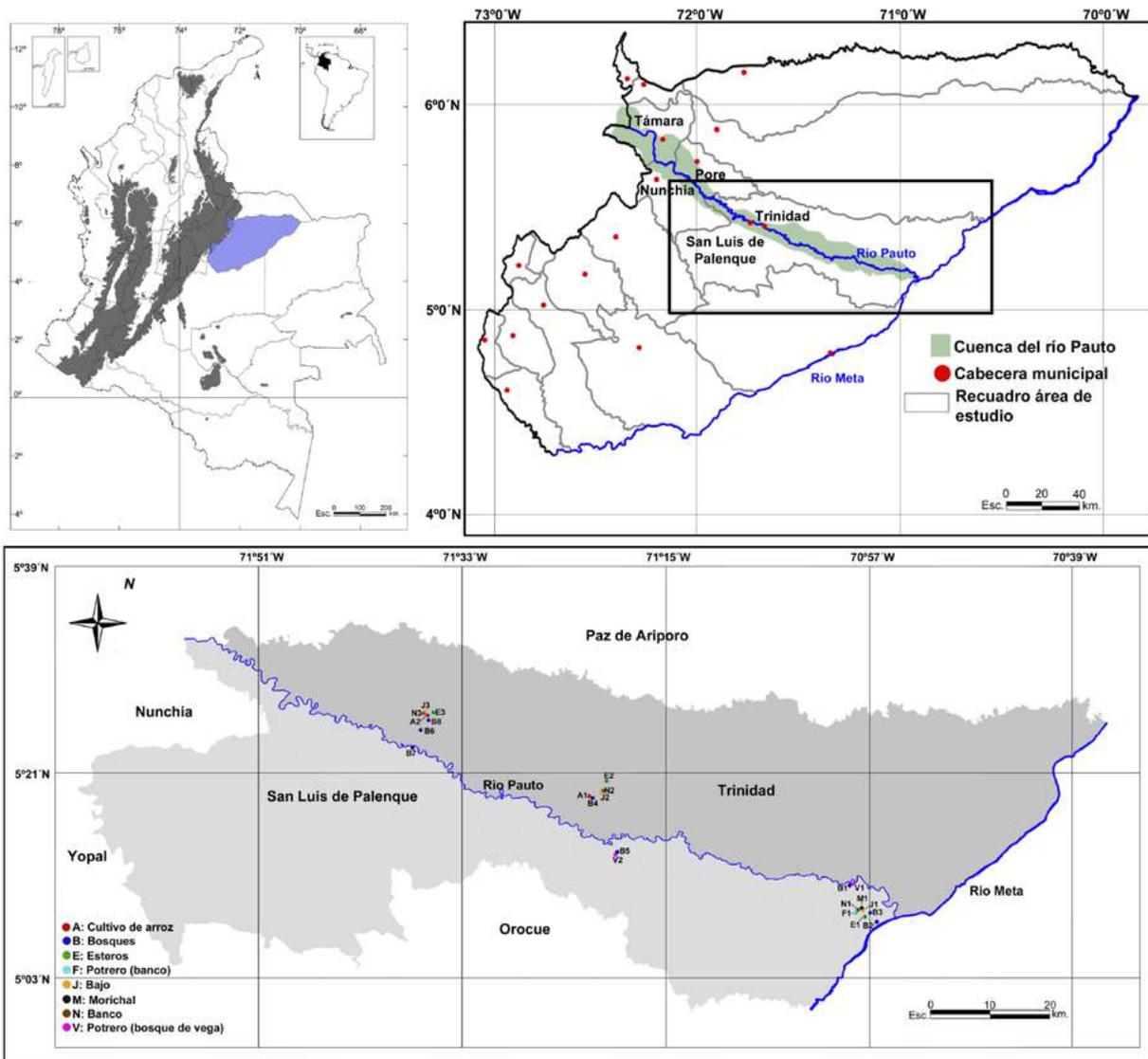


Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo en la cuenca baja del río Pauto (municipios de San Luis de Palenque y Trinidad, Casanare).

Las unidades de vegetación estudiadas se dividen por su fisionomía en bosques y sabanas y otros pastizales (denominadas en adelante como sabanas; ver **anexo S1, figuras S1, S2 y S3** <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>). Dichas unidades se definen a continuación con base en la literatura especializada (**Sarmiento, et al., 1971; Sarmiento, 1990; Caro, 2006; Fernández, 2007; Baptiste & Ariza, 2008**).

Sabanas. Se diferencian por su topografía, la estacionalidad en el contenido de agua del suelo y los tipos de suelos (**Anexo 1, figura S1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>) en: 1) bancos (sabanas secas o estacionales), es decir, zonas levemente elevadas de suelos arenosos bien drenados que no se inundan en la estación de lluvias y experimentan solo dos estaciones, seca y húmeda; 2) bajos (sabanas húmedas o hiperestacionales), depresiones que se inundan temporalmente por la precipitación durante la temporada lluviosa y experimentan cuatro estaciones, sequía, inicio de la saturación del suelo, inundación y disminución de la saturación del suelo; 3) esteros (sabanas semiestacionales), son depresiones de suelo arcilloso que nunca presentan déficit de agua, incluso en la estación seca, se inundan en la estación lluviosa y son habitados por plantas palustres y acuáticas; 4) banco transformado en potrero, con pastos introducidos para el mantenimiento del ganado; 5) cultivo de arroz en áreas manejadas en sabanas hiperestacionales o esteros con dominio de *Oriza sativa*; y 6) potreros inundables, antiguos bosques de vega transformados hoy en potreros que se inundan estacionalmente con los pulsos de inundación de los ríos andinenses.

Bosques. 1) Morichales, palmares estacionalmente inundables dominados por *Mauritia flexuosa*, típicos de sabanas abiertas y márgenes de cursos de agua (**Anexo S1, Figura S2**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>); 2) bosques de galería que se desarrollan en planicies aluviales y de desborde de ríos, caños y cañadas de las sabanas orinocenses (**Anexo S1, Figura S2** <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>); 3) bosques de vega que se extienden sobre los planos de inundación en valles aluviales de ríos andinenses (**Anexo S1, Figura S3**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>), y 4) vegetación ruderal asociada con zonas abiertas alteradas cercanas a caminos y bordes de bosques, ríos y cañadas (**Anexo S1, Figura S4**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>).

Fase de campo

El muestreo se hizo en el 2012 en dos salidas de campo, la primera en marzo durante la temporada seca, y la segunda en julio, en la temporada lluviosa. El detalle de la metodología empleada se presenta en el **anexo S2, tabla S1, figura S5**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>.

Fase de laboratorio y análisis de información

Los ejemplares recolectados se clasificaron mediante la consulta con expertos, la revisión de la literatura especializada, y la comparación con los *exsiccata* de las colecciones del Herbario COL. La clasificación de las familias sigue el sistema APG IV para las angiospermas (**Chase, et al., 2016**) y el sistema de **Smith, et al. (2006)** para los pteridófitos *sensu lato*. Los nombres científicos, sinonimias y autores se validaron empleando la herramienta web *The Taxonomic Name Resolution Service* (**TNRS, 2019**), el Catálogo de plantas y líquenes de Colombia (**Bernal, et al., 2019**). Se analizó la riqueza por familias, géneros y formas de crecimiento de cada unidad de vegetación y se elaboró un catálogo sistemático de la flora vascular con todas las especies registradas para la zona tanto en parcelas de vegetación como en colecciones generales (**Anexo S6**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>). Las diferencias florísticas entre las unidades de vegetación se compararon mediante un análisis de similitud basado en el índice de Sørensen usando el *software* PAST 2.04 (**Hammer, et al., 2001**). Este índice también se empleó para analizar la similitud de las especies nativas de la zona de estudio según su patrón de distribución geográfica en las regiones naturales de América con base en la

propuesta de **Morrone** (2014). La información sobre la presencia de las especies se obtuvo de la base de datos del *Missouri Botanical Garden* (**Tropicos.org**, 2019). Por último, el número de especies amenazadas en la zona se analizó con base en los libros rojos de la Flora de Colombia (**Calderón, et al.**, 2002, 2005; **Calderón**, 2006; **García, et al.**, 2006; **Cárdenas & Salinas**, 2007; **García**, 2007), los listados CITES (**CITES**, 2019), y la lista roja de IUCN (**iucnredlist.org**, 2020).

Resultados

Riqueza florística

En toda la zona estudiada se registraron 701 especies, 421 géneros y 121 familias (**Tabla 1, Anexo S3, Tabla S2**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1188/2893>). En cuanto a las grandes unidades fisionómicas en las sabanas, las familias más diversas fueron Leguminosae *sensu lato* (43), Cyperaceae (42), Poaceae (38), Malvaceae (16), Rubiaceae y Asteraceae (12 cada una), Lamiaceae (10), Euphorbiaceae (8) Onagraceae y Melastomataceae (7 cada uno), que en conjunto representaron el 60 % de la riqueza de especies (**Anexo S3, Tabla S3**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1188/2893>). Los géneros más ricos fueron *Cyperus* (13 especies), *Aeschynomene*, *Hyptis*, *Rhynchospora* y *Eleocharis* (9 cada uno), *Ludwigia* (7) y *Spermacoce* (6), con el 19 % de la riqueza (**Anexo S3, Tabla S4**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1188/2893>). Por otra parte, las familias más ricas en especies en los bosques correspondieron a Leguminosae (49), Malvaceae y Rubiaceae (26 cada una), Poaceae (19), Asteraceae (17), Apocynaceae (16), Euphorbiaceae (15), Sapindaceae (12), Moraceae (11), Melastomataceae y Piperaceae (10 cada una), las cuales representaron el 45 % de las especies (**Anexo S3, Tabla S5**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1188/2893>). Los géneros *Piper*, *Senna* y *Miconia* (7 cada una), *Casearia*, *Ficus*, *Heliconia*, *Inga*, *Passiflora*, *Sida* y *Tillandsia* (5 cada una), son los más ricos y reunieron el 12 % de las especies (**Anexo S3, Tabla S6**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1188/2893>).

En general, en los bosques se registró una mayor riqueza (470 especies) que en las sabanas (325), aunque al detallar las unidades de vegetación, los bosques de vega del río Pauto tuvieron más especies (231), seguidos por los bajos (141) y los bancos (131) (**Tabla 1**). En contraste, los esteros, morichales, cultivos de arroz y el banco transformado en potrero fueron las unidades de vegetación con menor riqueza, cada uno con valores inferiores al 10 % del total de especies (**Tabla 1**).

Tabla 1. Riqueza florística de las unidades de vegetación de la cuenca baja del río Pauto

Unidad de vegetación (Abreviación)	Familias	Géneros	Especies	% de especies
Bosque de vega río Pauto (BV-P)	75	191	231	32,9
Bajo (J)	43	94	141	20,1
Banco (N)	37	88	131	18,7
Vegetación ruderal (R)	50	101	121	17,2
Bosque de galería (BG)	50	92	110	15,7
Potrero inundable (V)	38	75	98	14,0
Bosque de vega río Meta (BV-M)	38	67	70	10,0
Esteros (E)	26	41	54	7,8
Morichal (M)	36	46	53	7,5
Cultivo de arroz (A)	19	40	46	6,6
Banco transformado en potrero (F)	18	32	38	5,4
Total	121	421	701	100

Las hierbas fueron las formas de crecimiento con mayor riqueza (42 %), seguidas de los árboles (18 %), los sufrútices (16 %) y los arbustos (15 %), en tanto que las plantas acuáticas, trepadoras leñosas y herbáceas, epífitas, hemiepífitas, palmoides y hemiparásitas representaron, en conjunto, menos del 10 % de las especies (**Tabla 2**). En las grandes unidades fisionómicas las formas de crecimiento predominantes en las sabanas fueron las hierbas (211 especies), seguidas por las sufrútices (81) y acuáticas (53), que sumaron el 75 % de las especies. Los bosques albergaron el 70 % de las especies, la mayoría árboles (126), seguidos por hierbas (115) y arbustos (88). Se destaca que 52 especies no habían sido registradas previamente en la Orinoquía y constituyen novedades para esta región natural (**Ver Anexo S7**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>); asimismo, se registraron dos especies por primera vez en Colombia: *Nymphaea gardneriana* y *Sagittaria platyphylla*.

Diferencias florísticas entre las unidades de vegetación

Con respecto a las unidades fisionómicas, en las sabanas hubo diferencias florísticas entre las inundables (bajos, arrozales y potreros) y las no inundables como los bancos (**Anexo S4, figura S6-A**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>). Los análisis de similitud de especies separaron bajos y esteros naturales de potreros y arrozales (transformados) en las unidades de vegetación inundables. Por otra parte, en las sabanas naturales hubo una clara diferencia entre esteros. No obstante, los bancos más cercanos al río Meta (N2 y N3) presentaron poca similitud florística con los demás (**Anexo S4, Figura S6-A** <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>), que, además de encontrarse más alejados de ese río, se asemejaban más a los bajos.

Hubo una similitud menor al 50 % entre todos los bosques ribereños, lo que evidencia el bajo número de especies compartidas entre unidades de vegetación. En los bosques los análisis evidenciaron una mayor afinidad florística entre puntos más cercanos (sin importar si se trataba de bosques de galería o de vega), pues por un lado se agruparon las unidades boscosas influenciadas por el río Pauto, y por el otro, las cercanas al río Meta. Por ejemplo (**Anexo S4, Figura S6-B**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>), uno de los bosques de vega (B6) presentó menor similitud con otros bosques de vega que con dos bosques de galería (B4, B8), y todos ellos se encuentran distanciados del cauce principal del río Pauto.

Tabla 2. Riqueza de especies según forma de crecimiento en las unidades fisionómicas y de vegetación de la cuenca baja del río Pauto. BG: bosque de galería, BV-M: bosque de vega río Meta, BV-P: bosque de vega río Pauto, M: morichal, R: vegetación ruderal, J: bajo, N: banco, F: banco transformado en potrero, A: cultivo de arroz, E: estero, V: potrero inundable

Forma de crecimiento	Bosques						Sabanas						Total	
	BG	BV-M	BV-P	M	R	Total	J	N	F	A	E	V		Total
Acuática	1	1	2	0	6	9	21	7	0	3	31	8	53	59
Árbol	50	24	52	22	11	126	2	1	0	2	1	1	7	129
Arbusto	27	12	46	7	11	88	6	9	0	2	3	9	27	105
Epífita	9	2	10	3	1	23	0	0	0	0	0	1	1	24
Hemiepífita	1	0	4	1	0	6	0	0	0	0	0	1	1	7
Hemiparásita	0	0	1	3	2	4	2	0	0	0	0	0	2	5
Hierba	12	7	60	7	43	115	103	90	23	37	27	58	211	294
Palma	0	2	4	1	0	7	0	0	0	0	0	1	1	7
Sufrútice	3	4	22	3	15	44	22	39	16	3	7	21	81	111
Trepadora herbácea	5	6	21	0	17	42	2	8	1	0	0	10	19	54
Trepadora leñosa	12	13	23	6	19	53	2	3	0	0	0	3	8	57
Total	110	70	232	53	121	470	141	131	38	46	55	98	325	701

Patrones de distribución de las especies

A nivel de las sabanas inundables en Colombia, 486 especies de las registradas en el presente trabajo lo están en Arauca, Casanare y Meta. De ellas, 126 se han encontrado en los tres departamentos, 361 están registradas en el departamento del Meta, 333 en Casanare, y 227 en Arauca; además, se registraron en este estudio 228 especies enumeradas previamente para el departamento del Vichada, donde predominan las sabanas no inundables. Por otro lado, ninguna de las especies encontradas es endémica de Colombia, sin embargo, *Cipura gigas* Celis, Goldblatt & Betancur (Iridaceae) y *Diclidanthera bolivarensis* Pittier (Polygalaceae) son taxones restringidos a la Orinoquía de Colombia y Venezuela (Aymard, 2017).

La mayoría de las especies es de amplia distribución en el norte de Suramérica, incluidos Brasil y las Guayanas hacia el oriente, e incluso Panamá y Costa Rica hacia el norte en algunos casos. Muchas están distribuidas en las subregiones biogeográficas Brasileña y Chaqueña y en el caso de las sabanas se distribuyen más especies en los dominios Brasileiro sur (provincia Rondônia), Pacífico (provincias Sabana, Guatuso), Brasileiro norte (provincias Pantepui, Guayana tierras-bajas), Mesoamericano (provincias Mosquito, Veracruz) y Chaqueño (provincia Cerrado) (Anexo S4, Figura S7-A, <https://www.raccefn.co/index.php/raccefn/article/view/1188/2893>). En los bosques hay más especies compartidas en los dominios Pacífico (provincia Sabana), Brasileiro norte (provincias Pantepui, Imerí, Guayana tierras-bajas, Napo), Brasileiro sur (Rondônia, Ucayali, Madeira) y Chaqueña (provincia Cerrado) (Anexo S4, Figura S7-B, <https://www.raccefn.co/index.php/raccefn/article/view/1188/2893>). Por otro lado, son muy pocas las especies que se distribuyen hasta las regiones neártica o andina (regiones templadas de América del norte y del sur, respectivamente), aunque allí hay más especies de sabanas que de bosques.

Especies amenazadas

De las 701 especies registradas en este trabajo, solo 14 (2 %) habían sido evaluadas previamente en cuanto a su estado de conservación según los libros rojos nacionales y las listas rojas internacionales. Se encontraron tres especies amenazadas: *Cedrela odorata* (en peligro, EN), *Syagrus sancona* y *Tapura acreana* (vulnerables, VU). Otras diez están citadas en los apéndices del CITES (CITES, 2019), diez se encuentran en el apéndice II (especies no necesariamente amenazadas cuyo comercio debe controlarse para evitar que su uso sea incompatible con la supervivencia), y una en el apéndice III (especies protegidas por lo menos en un país, y con solicitud de ayuda para controlar su comercio). Por otra parte, 15 de las especies registradas están incluidas en la lista de especies priorizadas en el marco de la Estrategia Nacional para la Conservación de Plantas en la Orinoquia (Instituto Humboldt, 2013) (Ver Anexo S5, <https://www.raccefn.co/index.php/raccefn/article/view/1188/2893>).

Discusión

Riqueza florística

Tanto la composición florística como las familias con mayor riqueza en la región del Pauto se asemejan a las registradas en otros estudios realizados en la Orinoquía que incluyeron vegetación boscosa y de sabana (Córdoba, *et al.*, 2011; Minorta-Cely & Rangel-Ch., 2014; Cárdenas, *et al.*, 2016; Romero-Duque, *et al.*, 2018). La riqueza de especies observada en el presente estudio es relativamente alta comparada con otras zonas de sabana inundable en Arauca y Casanare (Córdoba, *et al.*, 2011; Romero-Duque, *et al.*, 2018). Por otra parte, hubo una mayor riqueza de especies en los bosques que en las sabanas, a pesar de que estas constituyen la principal cobertura vegetal de la región (Minorta-Cely & Rangel-Ch., 2014; Romero-Duque, *et al.*, 2018). Al contrastar el número de especies registradas aquí para la cuenca baja del río Pauto con el de otros trabajos de la Orinoquía colombiana (Minorta-Cely & Rangel Ch., 2014; Cárdenas,

et al., 2016; **Minorta-Cely, et al.**, 2019), se encontró una mayor representación de las especies de bosques ribereños (50, 57 y 67 %, respectivamente) que de las especies de sabanas (38, 39 y 46 %, respectivamente).

Además de aportar al conocimiento de la flora del Casanare y de los municipios de San Luis de Palenque y Trinidad, la presente investigación pone en evidencia la necesidad de aumentar el muestreo en los bosques y sabanas de la región en donde ya se ha advertido sobre los vacíos de información florística (**Córdoba, et al.**, 2011; **Mora-Fernández, et al.**, 2015).

Por otra parte, las leguminosas son una de las familias más ricas en especies en los bosques ribereños del río Pauto. Esto se explica porque las plantas de esta familia obtienen nutrientes de la atmósfera y de suelos extremadamente pobres gracias a asociaciones simbióticas con microorganismos del suelo en sus raíces, lo que les permite ser exitosas en casi todos los hábitats del planeta (**Steidinger, et al.**, 2019); a esto se suman una excepcional variación morfológica y procesos evolutivos de diversificación que, en conjunto, explican su vasta diversidad (**Yahara, et al.**, 2013). Otros estudios realizados en la Orinoquía encontraron resultados similares (**Veneklaas, et al.**, 2005; **Caro**, 2006; **Miranda**, 2006; **Correa-Gómez & Stevenson**, 2010; **Castro-Lima**, 2010; **Pinzón-Pérez, et al.**, 2011; **Pérez-Buitrago, et al.**, 2020); dichos trabajos destacan otras familias de gran riqueza en la cuenca baja del río Pauto como Rubiaceae, Melastomataceae y Moraceae que, además, presentan una gran diversidad en el piedemonte y el bosque subandino de la Orinoquía (**Trujillo-C. & Henao-Cárdenas**, 2017), así como leguminosas, reconocidas entre las más importantes en el Neotrópico (**Gentry**, 1982, 1988).

En el caso de las sabanas, la gran riqueza de familias como Leguminosae, Poaceae, Cyperaceae y Malvaceae concuerda con los estudios realizados en sabanas y ambientes húmedos e inundables de Meta, Arauca, Casanare, Vichada (**Pinzón-Pérez, et al.**, 2011; **Fernández, et al.**, 2015; **Vera-Ospina**, 2017; **Romero-Duque, et al.**, 2018; **Mijares, et al.**, 2019). Además, la riqueza a nivel de géneros y la composición de especies en bancos, bajos y esteros es similar a la encontrada para dichos ambientes en otras sabanas inundables en la Orinoquía colombiana y en la venezolana (**Sarmiento, et al.**, 1971; **Torres, et al.**, 2003; **Romero-Duque, et al.**, 2018; **Mijares, et al.**, 2019).

La proporción de especies según su forma de crecimiento coincide con los resultados de los trabajos analizados, pues evidentemente hay más especies herbáceas en las sabanas que en los bosques (**Sarmiento, et al.**, 1971; **Parra-O.**, 2006; **Pinzón-Pérez, et al.**, 2011), donde son más abundantes las de árboles y arbustos (**Sarmiento, et al.**, 1971; **Veneklaas, et al.**, 2005; **Caro**, 2006; **Parra-O.**, 2006; **Carvajal, et al.**, 2007; **Correa-Gómez & Stevenson**, 2010).

Diferencias florísticas entre las unidades de vegetación

Tal como lo afirma **Sarmiento** (1990), la distribución de agua en el suelo, la microtopografía y el grado de intervención antropogénica influyen en la composición de cada unidad de vegetación; la separación entre sabanas inundables (bajos o esteros) y sabanas secas (bancos) puede explicarse por el régimen marcado de sequía que estas últimas soportan. Lo anterior se reflejó en la presencia de especies como *Andropogon bicornis* y *Axonopus purpusii* en bancos y bajos, respectivamente, y como *Caperonia castenifolia* y *Leersia hexandra* (una forrajera nativa) en bajos y esteros, concordando con trabajos previos en la Orinoquía colombiana y en la venezolana, lo que evidencia la importancia de dichas especies en sus respectivas unidades de vegetación (**Tejos**, 2002; **Pinzón-Pérez, et al.**, 2011). La degradación antropogénica causa cambios evidentes en la composición de la vegetación transformada (arrozales y potreros inundables) frente a la más conservada, pero también en los bancos de la sabana inundable típica comparada con la sabana inundable sometida a la influencia eólica, más cercana al río Meta. Dado que no se inundan, los bancos de la sabana inundable típica se convierten en caminos y carreteras muy transitados en la estación lluviosa (**Goosen**, 1964), lo que implica cierto nivel de degradación (**Mora-Fernández & Peñuela-Recio**, 2013a).

Por otro lado, la composición florística de los bosques fue específica para cada sitio y tuvo, en general, una gran variación, lo que se ha observado también en otros bosques ribereños de Casanare (**Romero-Duque, et al., 2018**). Aunque estos ecosistemas comparten las familias más importantes, su composición y número de especies difiere en los estudios (**Veneklaas, et al., 2005; Romero-Duque, et al., 2018**). Las mayores diferencias en la composición de los bosques se explican por la cercanía geográfica, más no por el paisaje o el tipo de bosque. **Cabrera-Amaya & Rivera-Díaz (2016)** agruparon los bosques de la misma área de estudio en dos bloques por su similitud florística: paisajes de sabana inundable típica (llanura aluvial) y aquellos con influencia eólica (llanura eólica); sin embargo, omitieron el paisaje de vegas de ríos andinenses al cual pertenecen realmente los bosques de vega. Por ello, un factor que explica mejor los dos grupos encontrados es el efecto de corredor de los ríos Pauto y Meta, lo que facilita la dispersión de especies provenientes de ambas cuencas (bosques ribereños del piedemonte, de la altillanura, o la Serranía de la Macarena). Este papel de los ríos como corredores biológicos es típico en este tipo de redes hídricas y ha sido descrito ampliamente por varios autores en regiones templadas y tropicales (**Johansson, et al., 1996; Naiman & Decamps, 1997; Rosales, et al., 1999**).

Patrones de distribución de las especies

El hecho de que la mayoría de las especies registradas se comparta con el departamento del Meta y no con Casanare o Arauca (cuya geomorfología y clima son similares con el área estudiada), podría explicarse porque se han realizado más recolecciones de flora en el Meta, en tanto que el muestreo es bajo en Casanare y Arauca, tal como se observa en el catálogo de espermatofitas de la Orinoquía (**Minorta-Cely & Rangel-Ch., 2014**). También es interesante que las especies de bosques y de sabanas muestren un patrón similar de distribución en otras provincias y dominios biogeográficos de Latinoamérica, lo que reflejaría las similitudes ecológicas entre ambientes marcadamente estacionales tropicales y subtropicales, como las sabanas y los bosques secos o caducifolios de los dominios Pacífico, Mesoamericano y Chaqueño, y las selvas de tierras bajas de los dominios biogeográficos de la subregión Brasileña (dominios Mesoamericano, Pacífico, y Brasileño norte y sur). También, dicha similitud se debería a la conectividad o continuidad que perdieron las floras del norte y sur de Suramérica durante el último avance de los glaciares (*Last Glacial Maximum*, LGM), hace aproximadamente 18 mil años (**Hooghiemstra, et al., 2002**). Estos cambios paleoclimáticos produjeron una retracción pronunciada de la vegetación quedando floras fragmentarias, con importantes disyunciones (por ejemplo, *Macroptilium monophyllum* (Benth.) Marechal & Baudet), tal como se observa actualmente en los bosques caducifolios de ambas regiones (**Banda, et al., 2016; Hooghiemstra, et al., 2002; Prado, 2000; Prado & Gibbs, 1993**).

Las selvas húmedas de la Amazonía llegaban hasta el norte de Suramérica, pero su continuidad con el Chocó biogeográfico, Centroamérica y el Caribe se interrumpió casi totalmente por el levantamiento de los Andes septentrionales y las glaciaciones (**Hooghiemstra & Van der Hammen, 2001**). Además, cuando el clima se hizo más frío y seco durante el último máximo glacial, se produjo la contracción de las selvas a favor de la expansión de ecosistemas secos como bosques caducifolios y sabanas (**Rosales, et al., 1999; Behling & Hooghiemstra, 2000; Pennington, et al., 2000**). En este contexto se conectaron enclaves secos y sabanas en Suramérica permitiendo el contacto de dichas floras (**Bucher, 1982; Pennington, et al., 2000**). No obstante, los bosques húmedos remanentes siguieron conectados con comunidades más secas a través de los corredores ribereños (**Rosales, et al., 1999; Pennington, et al., 2000**). Así, el flujo de especies entre diferentes ecosistemas se mantuvo a través de la red hídrica que forman todos los cursos de agua asociados con cuencas más grandes, como la del Orinoco o la del Amazonas (**Rosales, et al., 1999; Pennington, et al., 2000**). Este patrón ha sido descrito en el cerrado brasileño y explica la distribución presente y pasada de la flora, que es una mezcla de selvas húmedas y ecosistemas secos en constante expansión o contracción según el clima reinante (**Cardoso Da Silva & Bates, 2002**).

Especies amenazadas

En cuanto a las especies evaluadas en la Orinoquía colombiana (Córdoba, *et al.*, 2011), el número de aquellas cuya categoría de amenaza ha sido evaluada en Casanare es muy bajo (8 %), y en el río Pauto se refleja la misma tendencia, con solo tres especies incluidas en las categorías de riesgo en los libros rojos de la flora de Colombia (Calderón, *et al.*, 2002, 2005; Cárdenas & Salinas, 2007) y solo diez citadas en los apéndices del CITES. Por otra parte, apenas 15 de las especies registradas en el presente trabajo están incluidas en la Estrategia Nacional para la Conservación de Plantas en la Orinoquía, aunque dicha lista prioriza únicamente 73 especies (Instituto Humboldt, 2013), lo que evidencia la necesidad de categorizar y proteger las especies de la cuenca baja del río Pauto, especialmente en las sabanas. Por esta razón los esfuerzos de conservación de la Orinoquía colombiana deben aumentar, pues actualmente se desconoce la categoría de amenaza de extinción de la mayoría de sus especies, lo que es crítico para adoptar medidas efectivas de protección y manejo de su hábitat y sus poblaciones.

Otras consideraciones

El presente estudio resalta la importancia de hacer estudios florísticos que consideren la heterogeneidad espacial, edáfica, e hidrológica, factores determinantes en la composición florística de bosques y sabanas de la Orinoquía (Veneklass, *et al.*, 2005; Baruch, 2005). Se resalta, igualmente, la necesidad de que los muestreos de vegetación representen la variación climática de la Orinoquía, ya que la marcada estacionalidad de las lluvias afecta directamente la diversidad y, por ello, los trabajos que solo consideran una temporada pueden subestimarla (Mora-Fernández & Peñuela-Recio, 2013a; Mijares, *et al.*, 2019). Cabe destacar que esta investigación, además de abarcar ambientes naturales, también contribuyó al conocimiento de la diversidad florística de zonas con transformación antropogénica, cuya salud ecosistémica es deficiente, con una reducción de la diversidad y una composición diferente a la de los ambientes de sabana naturales en la zona de estudio (Mora-Fernández & Peñuela-Recio, 2013a; Giraldo-Kalil, 2013). Es evidente, entonces, que el desarrollo de este tipo de estudios es una necesidad creciente dado el rápido deterioro que enfrentan los ecosistemas de la Orinoquía (Mora-Fernández, *et al.*, 2015).

Conclusiones

Del total de 701 especies recolectadas, 52 no habían sido registradas para la Orinoquía; dado que la mayoría de ellas habita en las sabanas, ello refleja la necesidad de incrementar el muestreo en este tipo de ambientes. Los patrones de riqueza y composición florística de la cuenca baja del río Pauto coinciden con los reportados en estudios previos en la Orinoquía colombiana (Minorta-Cely & Rangel-Ch., 2014, Cárdenas, *et al.*, 2016) y en la venezolana (Aymard, 2017), especialmente en cuanto a las familias, pues las de mayor riqueza en bosques ribereños y sabanas fueron las mismas. Se encontró un patrón de riqueza de las formas de crecimiento coincidente con lo reportado en la literatura; no obstante, la riqueza de hierbas en los bosques de vega del río Pauto fue mayor que la esperada en comparación con la de las especies leñosas. La composición florística en sabanas evidencia la importancia de la distribución del agua en el suelo, la topografía, y los disturbios antropogénicos en la configuración de las especies en cada unidad de vegetación, en tanto que en los bosques ribereños hubo diferencias de composición entre las áreas de influencia del río Pauto y del río Meta, probablemente debido a diferencias en los suelos y al efecto de corredor que ejercen los cauces en los que estos se desarrollan. Las especies tienen una distribución amplia en el norte de Suramérica y también en otros bosques húmedos, secos y sabanas del continente, lo que coincide con la hipótesis de continuidad de las floras antes y después del levantamiento de los Andes y el papel de los bosques ribereños como corredores de diversidad. Por último, se evidencia la necesidad de desplegar mayores esfuerzos en la categorización de amenaza de las especies de plantas de la Orinoquía, pues en el área de estudio tan solo el 2% ha sido evaluado en este sentido.

Información suplementaria

Anexo S1. Unidades de vegetación estudiadas en la cuenca baja del río Pauto 2 (Figura S1, Figura S2, Figura S3, Figura S4). Vea el anexo S1 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Anexo S2. Detalle de metodología de muestreo en la cuenca baja del río Pauto (Figura S5, Tabla S1). Vea el anexo S2 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Anexo S3. Grandes grupos taxonómicos, familias y géneros con mayor riqueza de especies por cada unidad de vegetación en sabanas y bosques de la cuenca baja del río Pauto (Tabla S2, Tabla S3, Tabla S4, Tabla S5, Tabla S6). Vea el anexo S3 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Anexo S4. Dendrogramas de similitud florística entre unidades de vegetación, y entre unidades biogeográficas de Latinoamérica (Figura S6, Figura S7). Vea el anexo S4 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Anexo S5. Lista de especies en la cuenca baja del río Pauto cuya categoría de amenaza ha sido evaluada a nivel local y/o global, se encuentran incluidas en los apéndices CITES, o cuya conservación se ha sugerido como prioridad en la Orinoquía colombiana. Vea el anexo S5 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Anexo S6. Catálogo de las especies de plantas vasculares en sabanas y bosques ribereños de la cuenca baja del río Pauto. Vea el anexo S6 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Anexo S7. Lista de especies registradas en la cuenca baja del río Pauto, que no están registradas en trabajos previos para la Orinoquía Colombiana. Vea el anexo S7 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1188/2893>

Agradecimientos

A Yoluka ONG y a la Fundación Horizonte Verde por su apoyo institucional en el marco del proyecto “Evaluación de la salud ecosistémica de las sabanas inundables asociadas a la cuenca del río Pauto”, y a Ecopetrol S.A., por su financiación. Al Herbario Nacional Colombiano (COL) y al profesor Carlos Parra (quién fue su administrador general durante el desarrollo de esta investigación), por la colaboración en el procesamiento del material vegetal y la consulta del herbario; a los curadores Diego Giraldo Cañas y Julio Betancur por su ayuda en el proceso de determinación; a los biólogos Diego Rincón Triana, Marcela González y Eliana Katherine García por su colaboración en campo y en el herbario, y a Jorge Fung Uceda por su ayuda en la fase de laboratorio. A los habitantes de la región por su apoyo en el trabajo de campo. Al profesor Gerardo Aymard por sus invaluable aportes y observaciones para mejorar la versión final del artículo. El autor Diego Cabrera agradece al Jardín Botánico de Bogotá por su apoyo económico a través del programa “Estímulos a la investigación Thomas Van der Hammen”. El autor Orlando Rivera-Díaz agradece a la facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia por el otorgamiento de un periodo sabático durante el cual fue posible concluir este artículo.

Contribución de los autores

DCA: trabajo de campo, revisión taxonómica, análisis de información, diseño y escritura del documento; LGK: trabajo de campo, revisión taxonómica, análisis de información, diseño y escritura del documento; ORD: revisión taxonómica, análisis de información, diseño y escritura del documento; FCL: trabajo de campo, revisión taxonómica y discusión del documento.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Aymard, G.** (2017). Adiciones a la flora vascular de los Llanos de Venezuela: nuevos registros y estados taxonómicos. *Biollania* (Edic. Esp.) **15**: 1-296.
- Banda, K., Delgado-Salinas, A., Dexter, K. G., Linares-Palomino, R., Oliveira-Filho, A., Prado, D., Pullan, M., Quintana, C., Riina, R., Rodríguez, G. M.** (2016). Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science*. **353** (6306): 1383-1387.
- Baptiste, L. G. & Ariza, A.** (2008). Ecología de las Sabanas Inundables de Casanare. En A. Salamanca, L. Baleta, y J. Benítez (Ed.). *Memorias, 1° Congreso Internacional de Producción y Desarrollo Sostenible, Versión Sabanas inundables, 1° Simposio de Recursos Genéticos del Trópico Húmedo.* (pp.120-140). Arauca, Colombia: Universidad Cooperativa de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Sede Arauca.
- Baruch, Z.** (2005). Vegetation-environment relationships and classification of the seasonal savannas in Venezuela. *Flora*. **200** (1): 49-64.
- Behling, H. & Hooghiemstra, H.** (2000). Holocene Amazon rainforest-savanna dynamics and climatic implications: high-resolution pollen record from Laguna Loma Linda in eastern Colombia. *Journal of Quaternary Science*. **15**: 687-695.
- Bernal, R., Gradstein, S. R., Celis, M.** (2019). Catálogo de plantas y líquenes de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Fecha de consulta: entre enero y junio de 2019. Disponible en: <http://catalogoplantasyliquenes.unal.edu.co>
- Blydenstein, J.** (1967). Tropical Savanna Vegetation of the Llanos of Colombia. *Ecology*. **48**: 1-15.
- Bucher, E. H.** (1982). Chaco and Caatinga-South American Arid Savannas, Woodlands and Thickets. En: B. J. Huntley y B. H. Walker (Ed.). *Ecology of Tropical Savannas.* Ecological Studies, (pp. 48-79). Berlín, Alemania. Springer-Verlag.
- Cabrera-Amaya, D. M. & Rivera-Díaz, O.** (2016). Composición florística y estructura de los bosques ribereños de la cuenca baja del río Pauto, Casanare, Colombia. *Caldasia*. **38**: 53-85.
- Calderón, E., Galeano, G., García, N.** (2002). Libro Rojo de Plantas Fanerógamas de Colombia. Volumen 1: Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae y Lecythidaceae. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales - Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. 218 p.
- Calderón, E., Galeano, G., García, N.** (eds). (2005). Libro Rojo de Plantas de Colombia, Volumen 2, Palmas, Frailejones y Zamias. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia - Ministerio del Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 454 p.
- Calderón-Sáenz E.** (editor). 2006. Libro Rojo de Plantas de Colombia. Volumen 3: Orquídeas, Primera Parte. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt - Ministerio del Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 828 p.
- Cárdenas, D., Mendoza, H., González, M. F., Sua, S.** (2016). Flora de la cuenca del río Orinoco en Colombia: grado de conocimiento, uso y conservación. *Revista Colombia Amazónica*. **9**: 96-146.
- Cárdenas-López, D. & Salinas, N. R.,** (editores) (2007). Libro Rojo de Plantas de Colombia, Volumen 4, Especies maderables amenazadas: Primera Parte. Serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 232 p.
- Cardoso Da Silva, J. M. & Bates, J. M.** (2002). Biogeographic Patterns and Conservation in the South American Cerrado: A Tropical Savanna Hotspot. *BioScience*. **52**: 225-234.
- Caro, M.** (2006). Caracterización florística y estructural de la vegetación de un morichal en la hacienda Mataredonda, Municipio de San Martín, Meta. (Trabajo de grado en Ecología). Bogotá D.C., Pontificia Universidad Javeriana.
- Carvajal, L., Parra, C., Patarroyo, J., Gualdrón, A., Jiménez, M., Garzón, A.** (2007). Composición florística y estructural del bosque de galería, Puerto López Meta: Catálogo ilustrado. Corporación para el desarrollo sostenible del área de manejo especial la Macarena - CORMACARENA. Villavicencio, Colombia. 219 p.
- Castro-Lima, F.** (2010). Avance del conocimiento de la flora del Andén Orinoqués en el departamento del Vichada, Colombia. *Orinoquia*. **14**: 58-67.
- Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., Mabberley, D. J., Sennikov, A. N., Soltis, P. S., Stevens, P. F.** (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*. **181**: 1-20.

- CITES. (2019). Lista de especies CITES. Fecha de consulta: entre octubre y diciembre de 2019. Disponible en: <http://checklist.cites.org>
- Córdoba-Sánchez M. P., Miranda, L. M., Ávila, R. C., Pérez, C.** (2011). Flora del Casanare. En J. S. Usma y F. Trujillo (Ed.). Biodiversidad del Casanare: Ecosistemas Estratégicos del Departamento. (pp. 50-71). Bogotá D.C.: Gobernación de Casanare - WWF Colombia.
- Correa-Gómez, D. F., Stevenson, P. R.** (2010). Estructura y diversidad de bosques de galería de una sabana estacional de los llanos orientales colombianos (Reserva Tomo Grande, Vichada). *Orinoquía*. **14**: 31-48.
- Fernández, A.** (2007). Los morichales de los Llanos de Venezuela. En R. Duno de Stefano, G. Aymard y O. Huber (Editores). Catálogo Anotado e Ilustrado de la Flora Vasculare de los Llanos de Venezuela, Parte I: Introducción geobotánica. (pp. 91–98). Caracas, Venezuela: FUDENA–Fundación Empresas Polar – FIBV.
- Fernández, M., Madriñán, S., Bedoya, A. M.** (2015). Plantas acuáticas de las planicies inundables de la Orinoquia Colombiana. *Biota Colombiana*. **16** (1): 96-105.
- García, N.** (ed.). (2007). Libro Rojo de Plantas de Colombia. Volumen 5: Las magnoliáceas, las miristicáceas y las podocarpáceas. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt – CORANTIOQUIA - Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín - Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 236 p.
- García, N. & Galeano, G.** (eds). (2006). Libro Rojo de Plantas de Colombia, Volumen 3, Las bromelias, las labiadas y las pasifloras. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia: Instituto Alexander von Humboldt - Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 679 p.
- Gentry, A. H.** (1982). Patterns of Neotropical Plant Species Diversity. En M. K. Hecht, B. Wallace y G. T. Prance (Ed.). *Evolutionary Biology* (pp. 1–84). Boston, US: Springer.
- Gentry, A. H.** (1988). Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. **75**: 1-34.
- Giraldo-Kalil L. J.**, (2013). Capítulo 4. Diagnóstico de las sabanas inundables asociadas a la cuenca baja del río Pauto, (Casanare-Colombia), En: Mora-Fernández, C., Peñuela-Recio (Ed.). Documento técnico “Evaluación de la salud ecosistémica de las sabanas inundables asociadas a la cuenca del río Pauto (Casanare-Colombia)”. (pp. 75-117). Bogotá, Colombia. Documento técnico, Fundación Horizonte Verde, Ecopetrol y Yoluka ONG.
- Goosen, D.** (1964). Geomorfología de los Llanos Orientales. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **12**: 129-139.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D.** (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. **4**: 1-9.
- Hooghiemstra, H. & Van der Hammen, T.** (2001). Desarrollo del bosque húmedo neotropical en el Neogeno y el Cuaternario: la hipótesis de los refugios. En J. Llorente-Bousquets y J. J. Morrone (Ed.). *Introducción a la biogeografía en Latinoamérica: teorías, conceptos, métodos y aplicaciones*. (pp. 129-136). México, UNAM.
- Hooghiemstra, H., Van der Hammen, T., Cleef, A. M.** (2002). Paleoeología de la flora boscosa. En M. Guariguata & G. H. Kattan (Eds.), *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. (pp. 43-58). Editorial Tecnológica de Costa Rica.
- IUCN.** (2020). Lista roja de especies. Fecha de consulta: entre febrero y marzo de 2020. Disponible en: <https://www.iucnredlist.org/es/search/list>
- Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Red Nacional de Jardines Botánicos de Colombia.** (2013). Plantas priorizadas para la conservación en la Región Orinoquia. 73 registros, aportados por: García, H. (Contacto del recurso), Sofrony, C. (Creador del recurso), González, M. (Proveedor de metadatos), Samper, J. (Proveedor de contenido). Versión 12.2. Fecha de consulta: 20 de junio de 2020. Disponible en: <http://doi.org/10.15472/yotbyy>
- Johansson, M., Nilsson, C., Nilsson, E.** (1996). Do rivers function as corridors for plant dispersal? *Journal of Vegetation Science*. **7**: 593-598.
- Lasso, C. A., Rial, A., Colonnello, G., Machado-Allison A., Trujillo, F.** (2014). XI. Humedales de la Orinoquia (Colombia- Venezuela). Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia. Bogotá, D. C., Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). 303 p.

- Madriñán, S., Rial, A., Bedoya, A. M., Fernández-Lucero, M.** (2017). Plantas acuáticas de la Orinoquia colombiana. Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes. 654 p.
- Mijares-Santana F., Pérez-Buitrago N., Pérez-Cárdenas, N.** (2019). Variación estacional de la composición florística en sabanas inundables en Arauca, Colombia. *Caldasia*. **41** (2): 404-421.
- Minorta-Cely V., Rangel-Ch., J.O, Pinzón-C., C., Castro, F., Aymard, G.** (2019). Riqueza y diversidad de las plantas con flores en el territorio sabanas y humedales de Arauca, Colombia. En: J. O. Rangel-Ch. *et al.* (ed.). Colombia Diversidad Biótica XX. Territorio sabanas y humedales de Arauca. (pp. 387-472). Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia-Instituto de Ciencias Naturales, Parques Nacionales Naturales de Colombia.
- Minorta-Cely, V. & Rangel-Ch., J. O.** (2014). La riqueza y la diversidad de las plantas con flores de la Orinoquia colombiana. En J. O. Rangel-Ch. (ed.). Colombia Diversidad Biótica XIV. La región de la Orinoquia de Colombia. (pp. 237-418). Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia-Instituto de Ciencias Naturales.
- Miranda, L.** (2006). Caracterización florística y estructural arbórea de un bosque de galería y su análisis etnobotánico en la comunidad indígena Sáliba del Resguardo Paravare (Orocué-Casanare). (Trabajo de pregrado en Ecología). Bogotá, Colombia: Facultad de Estudios Ambientales y Rurales, Pontificia Universidad Javeriana.
- Mora-Fernández C. & Peñuela-Recio L.** (2013a). Salud ecosistémica de las sabanas inundables asociadas a la cuenca del río Pauto, Casanare, Colombia. Yoluka ONG, fundación de investigación en biodiversidad y conservación, Fundación Horizonte Verde y Ecopetrol S.A.
- Mora-Fernández C. & Peñuela-Recio, L.** (2013b). Guía de campo. Flora y fauna de las sabanas inundables asociadas a la cuenca del río Pauto, CasanareColombia. Serie Biodiversidad para la Sociedad No. 3. Yoluka ONG, Fundación Horizonte Verde y Ecopetrol S.A.
- Mora-Fernández, C., Castellanos-Castro, C., Cardona-Cardozo, A., Pinzón-Pérez, L., Vargas-Ríos, J. O.** (2011). Geología, geomorfología, clima y vegetación. En T. León-Sicard (ed.). Mamíferos, Reptiles y Ecosistemas del Bloque Cubiro (Casanare): Educación Ambiental para la Conservación. (pp. 49-73). Bogotá, Colombia: Instituto de Estudios Ambientales Universidad Nacional de Colombia, Alange Energy Corp.
- Mora-Fernández, C., Peñuela-Recio, L., Castro-Lima, F.** (2015). Estado del conocimiento de los ecosistemas de las sabanas inundables en la Orinoquia colombiana. *Orinoquia*. **19**: 253-271.
- Morrone J. J.** (2014). Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*. **3782** (1): 1-110.
- Naiman, R. J. & Decamps, H.** (1997). The ecology of interfaces: riparian zones. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **28**: 621-658.
- Parra-O., C.** (2006). Estudio general de la vegetación nativa de puerto Carreño (Vichada, Colombia). *Caldasia*. **28**: 165-177.
- Pennington, R. T., Prado, D. E., Pendry, C. A.** (2000). Neotropical seasonally dry forest and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*. **27**: 261-273.
- Pérez-Buitrago N., Guio-Blanco P.A., Mijares-Santana F.J.** (2020). Jóvenes y aisladas pero diversas: estructura y composición florística de matas de monte en Arauca. *Acta Biológica Colombiana*. **25** (2): 280-293. Doi: <https://doi.org/10.15446/abc.v25n2.76370>
- Pinzón-Pérez, L., Castellanos-Castro, C., Cardona-Cardozo, A., Mora-Fernández, C., Vargas-Ríos, O.** (2011). Caracterización de las comunidades vegetales presentes en el bloque Cubiro, cuenca baja del río Pauto, Casanare (Colombia). En T. León-Sicard (Ed.). Mamíferos, Reptiles y Ecosistemas del Bloque Cubiro (Casanare): Educación ambiental para la conservación. (pp. 97-150). Bogotá, Colombia: Instituto de Estudios Ambientales Universidad Nacional de Colombia, Alange Energy Corp.
- Prado, D. E.** (2000). Seasonally dry forests of tropical South America: From forgotten ecosystems to a new phytogeographic unit. *Edinburgh Journal of Botany*. **57** (3): 437-461.
- Prado, D. E. & Gibbs, P. E.** (1993). Patterns of species distributions in the dry seasonal forests of South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. **80** (4): 902-927.
- Ramírez W., Matallana C., Rial A., Lasso C., Corzo G., Díaz-Pulido A., Londoño-Murcia M. C.** (2011). Capítulo 3: Establecimiento de prioridades para la conservación. En: C.A. Lasso. J. B. Rial, C. Matallana, W. Ramírez, J. Señaris, A. Díaz-Pulido, G. Corzo, A. Machado-Allison (Ed.). Biodiversidad de la cuenca del Orinoco. II Áreas prioritarias para la conservación y uso sostenible. Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Ministerio del Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, WWF Colombia, Fundación Omacha, Fundación La Salle de Ciencias Naturales e Instituto de Estudios de la Orinoquia (Universidad Nacional de Colombia).

- Rippstein, G., Escobar, E., Toledo, J. M., Fisher, M., Mesa, E.** (2001). Caracterización de comunidades vegetales de la altillanura en el centro de investigación agropecuaria Carimagua, en Meta, Colombia. En G. Rippstein, E. Escobar y F. Motta (Ed.). *Agroecología y biodiversidad de las sabanas en los Llanos Orientales de Colombia*. (pp. 22–45). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Romero-Duque, L. P., Castro-Lima, F., Rentería-Mosquera, Á.** (2018). Contribución al conocimiento de la vegetación de las sabanas de Casanare (Colombia). *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*. **21**: 197-205.
- Rosales, J., Petts, G., Salo, J.** (1999). Riparian flooded forests of the Orinoco and Amazon basins: a comparative review. *Biodiversity and Conservation*. **8**: 551-586.
- Sarmiento, G.** (1990). Ecología comparada de ecosistemas de sabanas en América del Sur. En G. Sarmiento (ed.). *Las sabanas americanas: aspecto de su biogeografía, ecología y utilización* (pp. 15-56). Mérida, Venezuela: Universidad de los Andes.
- Sarmiento, G., Monasterio, M., Silva, J.** (1971). Reconocimiento ecológico de los Llanos Occidentales I. Las unidades regionales. *Acta Científica Venezolana*. **22**: 52-61.
- Smith, A. R., Pryer, K. M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H., Wolf, P. G.** (2006). A classification for extant ferns. *Taxon*. **55**: 705-731.
- Steidinger, B. S., T. W. Crowther, J. Liang, M. E. Van Nuland, G. D. A. Werner, P. B. Reich, G. Nabuurs, S. de-Miguel, M. Zhou, N. Picard, B. Herault, X. Zhao, C. Zhang, D. Routh, GFBI consortium & K. G. Peay.** (2019). Climatic controls of decomposition drive the global biogeography of forest-tree symbioses. *Nature*. **269**: 404-412.
- Sua-Tunjano, S. M., González-Giraldo, M. F.** (2018). Base de Datos de Flora de la Cuenca del Río Orinoco en Colombia. Versión 2.3. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. Occurrence Dataset. Fecha de consulta: enero a junio de 2018. <https://doi.org/10.15472/2dbndj>
- Tejos, R.** (2002). Pastos nativos de sabanas inundables: caracterización y manejo. Barquisimeto, Venezuela: Litografía Megagraf. 108 p.
- The Taxonomic Name Resolution Service (TNRS).** (2019). iPlant Collaborative. Version 4.0. Fecha de consulta: entre enero y junio de 2019. Disponible en: <http://tnrs.iplantcollaborative.org>
- Torres R., Chacón E., Ovalles F., Guenni O., Astudillo L., Carrasquel J., García E.** (2003). Efectos de métodos de pastoreo sobre sabanas moduladas. I. Sucesión del pastizal. *Zootecnia Tropical*. **21** (4): 425-448.
- Tropicos.org.** (2019). Tropicos.org, Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO, USA. Fecha de consulta: entre enero y octubre de 2019. <http://www.tropicos.org>
- Trujillo-C. W. & Henao-Cárdenas M. M.** (2017). Riqueza florística y recambio de especies en la vertiente orinoquense de los Andes, Colombia. *Colombia Forestal*. **21** (1): 18-33.
- Veneklaas, E., Fajardo, A., Obregón, S., Lozano, J.** (2005). Gallery forest types and their environmental correlates in a Colombian savanna landscape. *Ecography*. **28**: 236-252.
- Vera-Ospina A.** (2017). Flora y vegetación acuática en áreas de la Orinoquía colombiana. Tesis de Maestría. Departamento de Biología, Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
- Yahara, T., Javadi, F., Onoda, Y., Queiroz, L.P. de, Faith, D., Prado, D.E., Akasaka, M., Kadoya, T., Ishihama, F., Davies, S., Slik, J.W.F., Yi, T., Ma, K., Bin, C., Darnaedi, D., Pennington, R.T., Tuda, M., Shimada, M., Ito, M., Egan, A.N., Buerki, S., Raes, N., Kajita, T., Vatanparast, M., Mimura, M., Tachida, H., Iwasa, Y., Smith, G.F., Victor, J.E., Nkonki, T.** (2013). Global legume diversity assessment: Concepts, key indicators, and strategies. *Taxon*. **62**: 249-266. Doi: <https://doi.org/10.12705/622.12>

Artículo original

Composición florística y aspectos de la estructura de la vegetación en sistemas agroforestales con cacao (*Theobroma cacao* L. - Malvaceae) en el departamento del Huila, Colombia

Floristic composition and aspects of the structure of the vegetation in agroforestry systems with cocoa (*Theobroma cacao* L. - Malvaceae) in the department of Huila, Colombia

✉ Claudia Mercedes Ordoñez¹, ✉ J. Orlando Rangel-Ch^{2,*}

¹ Servicio Nacional de Aprendizaje - SENA, Centro de Formación Agroindustrial, Regional Huila, Neiva, Campoalegre, Colombia

² Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Resumen

Con base en la composición florística y en aspectos de la estructura (área basal y número de individuos), se caracterizó la vegetación en sistemas agroforestales (SAF) ubicados en 47 plantaciones con cacao (*Theobroma cacao*) en el departamento del Huila, Colombia. La vegetación en dichos sistemas estaba dominada por las especies *Pseudosamanea guachapele*, *Musa paradisiaca*, *Erythrina poeppigiana*, *Gmelina arborea*, *Psidium guajava*, *Mangifera indica* y *Cordia alliodora*. Las especies características-dominantes a nivel regional fueron *Gliricidia sepium*, *Cordia alliodora*, *Amyris pinnata* y *Persea americana*. Los sistemas agroforestales con mayor riqueza fueron el de *Pseudosamanea guachapele*, con 36 especies y el de *Musa paradisiaca*, con 25. La altura de los individuos oscilaba entre 3 y 21 m, y el mayor valor se presentó en el sistema de *P. guachapele*; el área basal fue 64,30 m², los mayores valores se registraron en los sistemas agroforestales de *P. guachapele*, con 16,41 m² y en el de *E. poeppigiana*, con 18,03 m². La participación de *T. cacao* a nivel regional en el área basal es de 56,63 m² y el número total de individuos es de 4.808. En los sitios con exposición libre (cultivo limpio en 11.000 m²) la altura promedio de los individuos de cacao era de 3,5 m, el área basal, de 15,31 m², con 1.101 individuos. Esta cantidad es casi igual a la que se encontraría en un área de igual extensión en el sistema agroforestal bajo sombra de *P. guachapele* (1.386 individuos) y cinco veces mayor que aquel con presencia de todas las especies asociadas pero sin *T. cacao* (217 individuos). Aparte de la cosecha de cacao, estos sistemas ofrecen madera, frutos y leña, y proveen servicios ecosistémicos relacionados con la protección del suelo y la conservación de la biodiversidad.

Palabras clave: Cacao; Sistemas agroforestales; Composición florística; Estructura; Huila.

Abstract

We characterized the vegetation types in agroforestry systems located in 47 cocoa plantations (*Theobroma cacao*) in the department of Huila, Colombia, based on the floristic composition and some aspects of the structure (basal area and number of individuals). The vegetation types of these systems were dominated by the species *Pseudosamanea guachapele*, *Musa paradisiaca*, *Erythrina poeppigiana*, *Gmelina arborea*, *Psidium guajava*, *Mangifera indica*, and *Cordia alliodora* while the characteristic dominant species at the regional level were *Gliricidia sepium*, *Cordia alliodora*, *Amyris pinnata*, and *Persea americana*. The systems with the greatest richness were those of *P. guachapele* with 36 species and *M. paradisiaca* with 25. The height of the individuals ranged between 3 and 21 m with the highest value in the *P. guachapele* system; the basal area was 64.30 m², the highest values were registered in the *P. guachapele* system with 16.41 m² and in the *E. poeppigiana* system with 18.03 m². The participation of *T. cacao* at the regional level in the basal area was 56.63 m² with a total number of individuals of 4,808. In sites with free exposure (clean cultivation at 11,000 m²), the average height of cocoa individuals was 3.5 m and the basal area was

Citación: Ordoñez CM, Rangel-Ch JO. Composición florística y aspectos de la estructura de la vegetación en sistemas agroforestales con cacao (*Theobroma cacao* L. - Malvaceae) en el departamento del Huila, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1033-1046, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1183>

Editor: Gerardo Antonio Aymard Corredor

***Correspondencia:**

J. Orlando Rangel-Ch.;
jorangelc@unal.edu.co;
jorangelc@gmail.com

Recibido: 25 de marzo de 2020

Aceptado: 18 de agosto de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

15.31 m² with 1,101 individuals. This amount almost equals what would be found in an area under the shade of equal size in the *P. guachapele* system (1,386 individuals) and five times greater than in the system with all the associated species but without *T. cacao* (217 individuals). Besides the cocoa harvest, these agroforestry systems offer wood, fruits, and firewood, and they provide ecosystem services related to soil protection and biodiversity conservation.

Keywords: Cocoa; Agroforestry systems; Floristic composition; Structure; Huila.

Introducción

El cacao es un cultivo importante por ser el insumo básico en la industria del chocolate. En el 2012 se cosecharon a nivel mundial 5,5 millones de toneladas de cacao en grano en un área de 18 millones de hectáreas (FAOSTAT, 2014; ICCO, 2014). A nivel mundial los sistemas agroforestales representan el 38 % del uso de la tierra (Rapidel, *et al.*, 2015). Las regiones del mundo con mayor superficie de sistemas agroforestales (SAF) son Latinoamérica (200-357 millones de ha), África (190 millones de ha) y el Sudeste de Asia (130 millones de ha) (Somarriba, *et al.*, 2012). En Colombia el cultivo de cacao abarca 175.000 hectáreas (FEDECACAO, 2020), sin embargo, no hay datos del total de la superficie con presencia de dichos sistemas. A pesar de que en el país existen todas las condiciones para el cultivo de cacao, actualmente la producción es de apenas 0,53 toneladas por hectárea (MADR, 2019), y contribuye con el 1 % de la producción mundial, valores extremadamente bajos frente a los de Costa de Marfil, el mayor productor mundial, con 42,2 % (ICCO, 2018). De todas maneras, el subsector cacaotero en el país ha tenido un evidente crecimiento debido a la acogida del producto en el mercado internacional (FEDECACAO, 2020) y porque ha sido denominado el “cultivo de la paz”, pues su siembra en nuevas áreas y la recuperación de algunas ya existentes hace parte del programa nacional de sustitución de cultivos ilícitos (Presidencia de la República, 2016).

Se considera que el lugar de origen del cacao (*Theobroma cacao* L. - Malvaceae) se sitúa en la cuenca alta del Amazonas, en localidades de Colombia, Ecuador y Perú (Thomas, *et al.*, 2012; Zarrillo, *et al.*, 2018), así como en las zonas donde se asentó la cultura Maya en Mesoamérica y lo domesticó en épocas muy antiguas (Motamayor, *et al.*, 2002; Ricaño-R., *et al.*, 2018), como se ha constatado en algunos estudios moleculares recientes (Richardson, *et al.*, 2015; Richardson, *et al.*, 2018). Hay tres variedades de cacao cultivado: el criollo, proveniente de Mesoamérica y del norte de Suramérica; el forastero, de la región amazónica, y el trinitario, híbrido de los dos anteriores que se encuentra en el Caribe (Motamayor, *et al.*, 2002; Rodríguez-Medina, *et al.*, 2019; González-Orozco, *et al.*, 2020). Colombia es el país con la mayor cantidad de especies de *Theobroma* en el mundo, pues cuenta con 12 de las 20 registradas (Cuatrecasas, 1964).

Con el fin de generar las condiciones de sombra apropiadas para un adecuado desarrollo y buen desempeño fisiológico del cacao, se han implementado sistemas agroforestales en cultivos comerciales con diferentes tipologías en función de la estructura mediante la distribución e integración de árboles en fincas y paisajes agrícolas (Somarriba & Lachenaud, 2013). Estos sistemas constituyen una alternativa frente a la problemática de los monocultivos y es una opción apropiada que implica la combinación de especies forestales con otros cultivos y, en ocasiones, con animales domésticos. Se trata de optimizar la producción por unidad de área, de obtener rendimientos y hacer sostenible el proceso conservando el ecosistema (Mata-Anchundia, *et al.*, 2018). Estos sistemas agroforestales tienen una estructura y una composición florística de gran complejidad que varían ampliamente entre las regiones productoras de cacao, entre las fincas de una región e, inclusive, entre sectores dentro de una misma plantación.

La estructura de los sistemas agroforestales con cacao se clasifica según el dosel de sombra y el estado de su desarrollo: pleno sol, sombra especializada, sombra diversificada, sombra productiva y rústica (Somarriba & Lachenaud, 2013). La relación de la estructura con la riqueza y la diversidad de sombra afecta la dinámica hídrica del sistema, la producción de los elementos asociados y la conservación de la biodiversidad. La composición florística

en estos sistemas está determinada por el tipo de sombra y por el arreglo o el manejo que se les confiera. Las especies más utilizadas en los doseles de sombra en plantaciones de cacao en el mundo pertenecen a los géneros *Inga*, *Gliricidia*, *Erythrina*, *Albizia* y *Leucaena*; se mencionan entre 15 y 26 especies arbóreas (Sonwa, *et al.*, 2007).

Área de estudio

Las localidades en las cuales se desarrolló la investigación se ubican el norte del departamento del Huila, suroccidente colombiano (2° 31' 22,588" N y 75° 18' 57,427" O, (Tabla 1), en la formación de bosque tropical seco del valle del río Magdalena, entre los 526 y los 1.140 metros de altitud. La precipitación varía entre 668 mm y 1500 mm anuales; el promedio de horas de sol al año es de 1.721 horas, y la humedad relativa del aire del es de 71 %. El régimen de distribución anual de las lluvias es bimodal tetraestacional con dos periodos secos de julio a septiembre y de diciembre a marzo y dos épocas de lluvia entre abril y junio y octubre y noviembre (Figueroa, 2004). Los suelos son de textura franco arcillosa y arenoso arcillosa.

Metodología

En 47 plantaciones agroforestales con cacao pertenecientes a la red de asociaciones de cacao del Huila (APROCAHUILA), que asocia a los productores de los municipios cacaoteros Rivera, Campoalegre y Algeciras, se seleccionaron parcelas de 1.000 m² de superficie. Las plantaciones agroforestales con cacao se seleccionaron al azar, todas ellas en fincas de cinco hectáreas, de las cuales, en promedio, dos están sembradas con cacao. En las parcelas delimitadas el inventario o conteo de los individuos de *T. cacao* y de las especies asociadas (con un diámetro a la altura del pecho, DAP, superior a 2,5 cm) se complementó con la estimación de la altura. El número de individuos se registró en la tabla de composición florística en la que se ubican los sistemas agroforestales diferenciados según el grado de similitud entre los inventarios. Para cada uno de los sistemas se presentaron el patrón de riqueza y aspectos de la estructura como el área basal (m²), la densidad absoluta (número de individuos) y la relativa (participación en el conjunto). El área basal se estimó según la fórmula $(3,1416/4) * (DAP)^2 / 10000$. Para complementar el análisis de la estructura se estimaron el índice de valor de importancia (IVI) y el de predominio fisionómico (IPF) (Rangel y Velásquez, 1997).

Las estimaciones del área basal y el número de individuos (densidad absoluta y relativa) se hicieron con base en el tamaño de las parcelas de estudio (1.000 m² cada una). A nivel regional se cubrieron 48.000 m² (48 has). En cada sistema agroforestal los valores variaron y se muestran en las tablas respectivas. Se estimaron las especies asociadas con las parcelas en los sistemas, así como los aportes de los individuos de *T. cacao*. Para comparar los resultados obtenidos en los sistemas agroforestales, también se analizaron los valores del área basal y el número de individuos de *T. cacao* en la condición de plena exposición o cultivo limpio.

El material vegetal se recolectó y preservó según los estándares establecidos y posteriormente fueron enviados al laboratorio de botánica del Herbario Nacional Colombiano –COL–, en donde se secaron y se hizo la determinación taxonómica. El estudio trató de responder a la pregunta sobre la conformación de los patrones de riqueza y de estructura en los arreglos forestales, sus efectos sobre la productividad del cacao y los servicios ecosistémicos derivados. Los resultados servirán, asimismo, de línea de base para futuros estudios.

Resultados y discusión

Patrón de riqueza

A nivel regional se encontraron 26 familias representadas por 52 géneros y 61 especies, con una variación por levantamiento entre 1 y 13 especies y un número promedio de cinco (Tabla 2). Se determinó un grupo de especies de amplia distribución entre las cuales fueron importantes por su frecuencia *Gliricidia sepium*, *Cordia alliodora*, *Amyris pinnata*, *Persea americana* y *Citrus limon*.

Tabla 1. Ubicación de los levantamientos de vegetación en los sistemas agroforestales con cacao en el departamento del Huila

No. parcela	Municipio	Vereda	Altitud (m)	Coordenadas N	Coordenadas O
34	Algeciras	Bella Vista	1093	2° 33' 02,9"	75° 17' 20,8"
36	Algeciras	Bella Vista	1105	2° 33' 06,5"	75° 17' 08,5"
37	Algeciras	Bella Vista	1074	2° 32' 55,5"	75° 17' 30,5"
40	Algeciras	Bella Vista	1066	2° 32' 59,7"	75° 17' 34,9"
28	Algeciras	Bella Vista	1058	2° 32' 49,8"	75° 17' 39,7"
43	Algeciras	Bella Vista	1064	2° 32' 49,2"	75° 17' 38,0"
16	Algeciras	Bella Vista	1094	2° 32' 52,3"	75° 17' 20,7"
49	Algeciras	Lagunilla	1039	2° 32' 32,3"	75° 18' 2,9"
29	Algeciras	Andes Bajos	1052	2° 30' 0,4"	75° 20' 57,2"
42	Algeciras	Andes Bajos	1133	2° 29' 30,5"	75° 21' 02,3"
48	Algeciras	Andes Bajos	1132	2° 29' 39,9"	75° 21' 02,9"
60	Algeciras	Andes Bajos	1123	2° 29' 43,0"	75° 21' 00,9"
57	Algeciras	Santa Lucía	1090	2° 28' 59,9"	75° 21' 52,2"
33	Algeciras	Santa Lucía	1085	2° 29' 10"	75° 21' 54"
32	Algeciras	Santa Lucía	1080	2° 29' 2,1"	75° 21' 56,3"
56	Algeciras	Satias	941	2° 31' 05,9"	75° 20' 22,3"
55	Campoalegre	La Esperanza	533	2° 40' 30,2"	75° 21' 24,6"
8	Campoalegre	La Esperanza	532	2° 40' 26,1"	75° 21' 26,1"
9	Campoalegre	Palmar Bajo	700	2° 41' 20,9"	75° 17' 30,4"
17	Campoalegre	Palmar Bajo	704	2° 40' 32,3"	75° 17' 37,9"
41	Campoalegre	Palmar Bajo	711	2° 40' 31,9"	75° 17' 37,1"
15	Campoalegre	Palmar Bajo	565	2° 41' 57,0"	75° 19' 04,4"
20	Campoalegre	Palmar Bajo	656	2° 41' 04,6"	75° 17' 54,9"
7	Campoalegre	Palmar Bajo	658	2° 41' 06,6"	75° 17' 59,2"
35	Campoalegre	Palmar Bajo	651	2° 41' 07,2"	75° 17' 57,7"
58	Campoalegre	Otas	653	2° 36' 58,4"	75° 20' 15,4"
27	Campoalegre	Llano Sur	619	2° 36' 35,6"	75° 21' 45,3"
52	Campoalegre	Llano Sur	526	2° 40' 45,0"	75° 23' 23,2"
62	Campoalegre	Llano Sur	530	2° 40' 43,9"	75° 23' 20,5"
47	Campoalegre	Palmar Bajo	711	2° 41' 27,6"	75° 17' 29,7"
6	Campoalegre	Vilaco Bajo	596	2° 35' 14,4"	75° 27' 00,2"
13	Rivera	Vilaco bajo	616	2° 36' 46,0"	75° 21' 44,7"
14	Rivera	El Guadual	692	2° 45' 52,7"	75° 15' 50,9"
19	Rivera	Bajo Pedregal	640	2° 47' 08,1"	75° 16' 13,5"
25	Rivera	El Guadual	726	2° 47' 47,6"	75° 14' 20,9"
10	Rivera	Alto Guadual	871	2° 46' 26,5"	75° 13' 34,6"
3	Rivera	Alto Guadual	877	2° 46' 23,2"	75° 13' 34,4"
39	Rivera	Alto Guadual	882	2° 46' 19,6"	75° 13' 36,3"
18	Rivera	El Guadual	787	2° 47' 10,4"	75° 14' 06,2"
61	Rivera	Los Medios	583	2° 48' 34,1"	75° 16' 00,7"
31	Rivera	Los Medios	587	2° 48' 39,3"	75° 15' 50,3"
24	Rivera	Termopilas	863	2° 46' 05,2"	75° 14' 13,3"
54	Rivera	Termopilas	866	2° 46' 10,4"	75° 14' 01,8"
44	Rivera	Ulloa	859	2° 47' 56,8"	75° 13' 13,4"
1	Rivera	El Guadual	702	2° 47' 42,4"	75° 14' 42,1"
50	Rivera	El Guadual	721	2° 47' 42,7"	75° 14' 42,7"
45	Rivera	El Guadual	745	2° 47' 38,3"	75° 14' 22,7"

En cuanto a las familias botánicas, se identificaron 61 especies asociadas con los cultivos de cacao en la zona de estudio (**Tabla 3**), una sola de ellas sin identificar.

Las familias con mayor número de géneros y de especies fueron Fabaceae (9 géneros y 12 especies), Myrtaceae (4 y 5), Moraceae (3 y 5), Rutaceae (3 y 5), Anacardiaceae (4 y 4), Malvaceae (3 y 3) y Arecaceae (2 y 3). Con dos géneros y dos especies se registraron Bignoniaceae, Euphorbiaceae, Lauraceae, Meliaceae y Rubiaceae, y las restantes 14 familias, con un género y una especie.

En los sistemas definidos según la dominancia de especies características, se presentó la siguiente situación (**Tabla 3**).

Sistemas agroforestales dominados por *P. guachapele*: se encontraron 36 especies de 32 géneros y 15 familias. La variación por levantamiento fue entre dos y 11 especies, el número promedio fue de seis.

Sistemas agroforestales dominados por *M. paradisiaca*: 25 especies de 25 géneros y 15 familias, con una variación por levantamiento entre dos y 13 y un número promedio de cinco especies.

Sistemas agroforestales dominados por *E. poeppigiana*: 19 especies de 18 géneros y 11 familias, con una variación por levantamiento entre tres y ocho y un número promedio de cinco especies.

Tabla 2. Especies asociadas con los sistemas agroforestales con cultivos de cacao en el departamento del Huila

Familias botánicas	Especies asociadas con los cultivos de cacao
Anacardiaceae	<i>Anacardium excelsum</i> , <i>Manguifera indica</i> , <i>Spondias mombin</i> , <i>Tapirira guianensis</i>
Annonaceae	<i>Annona muricata</i>
Arecaceae	<i>Bactris gasipaes</i> , <i>B. major</i> , <i>Cocos nucifera</i>
Asteraceae	<i>Piptocoma</i> sp.
Bignoniaceae	<i>Jacaranda caucana</i> , <i>Tabebuia rosea</i>
Boraginaceae	<i>Cordia alliodora</i>
Caricaceae	<i>Carica pubescens</i>
Clusiaceae	<i>Calophyllum brasiliense</i>
Euphorbiaceae	<i>Sapium cuatrecasasii</i> , <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>
Fabaceae	<i>Albizia carbonaria</i> , <i>Calliandra pittieri</i> , <i>Enterolobium cyclocarpum</i> , <i>Erythrina fusca</i> , <i>E. poeppigiana</i> , <i>Gliricidia sepium</i> , <i>Inga aff. spectabilis</i> , <i>Inga densiflora</i> , <i>Inga ynga</i> , <i>Pithecellobium dulce</i> , <i>Pseudosamanea guachapele</i> , <i>Senna spectabilis</i>
Lauraceae	<i>Aiouea montana</i> , <i>Persea americana</i>
Malvaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i> , <i>Matisia cordata</i> , <i>Ochroma pyramidale</i>
Meliaceae	<i>Cedrela montana</i> , <i>Guarea guidonia</i>
Moraceae	<i>Artocarpus altilis</i> , <i>Ficus dendrocida</i> , <i>F. hartwegii</i> , <i>Ficus pallida</i> , <i>Maclura tinctoria</i>
Muntingiaceae	<i>Muntingia calabura</i>
Musaceae	<i>Musa paradisiaca</i>
Myrtaceae	<i>Campomanesia lineatifolia</i> , <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Myrcia</i> cf. <i>guianensis</i> , <i>M. paivae</i> , <i>Psidium guajava</i>
Primulaceae	<i>Myrsine guianensis</i>
Rubiaceae	<i>Morinda citrifolia</i> , <i>Psychotria</i> sp. 1
Rutaceae	<i>Amyris pinnata</i> , <i>Citrus limon</i> , <i>C. nobilis</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>Murraya paniculata</i>
Salicaceae	<i>Casearia corymbosa</i>
Sapindaceae	<i>Melicoccus bijugatus</i>
Sapotaceae	<i>Pouteria caimito</i>
Urticaceae	<i>Cecropia peltata</i>

Tabla 3. Composición florística de los sistemas agroforestales en la zona de estudio

Parcela original (#)	34	36	37	40	28	43	49	29	42	48	60	57	33	32	56	55	8	9	17	41	15	20	16	35	58	27	52	62	47	6	13	14	7	19	25	10	3	39	18	61	31	24	54	30	44	1	50	45			
Número de individuos																																																			
Especies de distribución amplia en los sistemas agroforestales (SAF)																																																			
<i>Gliricidia septium</i>	1	1					1	1			5	11	6	6	9	13	6	1			1	2	13														5	4				27	13	3	4						
<i>Cordia alliodora</i>	8	1	13	11	15	14	1				1	3			16			1	3	1			1						1	3						7	6	7	20	24			8								
<i>Amyris pinnata</i>	14			2			1				1	1								3	1	1							4											1			3	7							
<i>Persea americana</i>		2		1			1								1					3	2		3											2			2	10	4												
<i>Citrus limón</i>							1	1		1	1				1	1				1								2									1		1	2											
<i>Cedrela montana</i>			1												1	1																									2				1						
<i>Carica pubescens</i>		2										2																		1												1									
<i>Anacardium excelsum</i>				2	2							1																		3												1									
<i>Ficus pallida</i>												1	1																																1						
<i>Pouteria caimito</i>																														3																1					
<i>Artocarpus altilis</i>												1																																1		1					
<i>Albizia carbonaria</i>			3										1																	2																					
<i>Pithecellobium dulce</i>															1																																2				
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>																1																																			
<i>Melicoccus bijugatus</i>																																															3				
<i>Maclura tinctoria</i>																																																			
<i>Senna spectabilis</i> var. <i>spectabilis</i>		1																																																	
<i>Eucalyptus globulus</i>																																																			
<i>Cecropia peltata</i>																																																			
SAF dominados por <i>Pseudosamanea guachapele</i>																																																			
<i>Pseudosamanea guachapele</i>		2	2	1	13	8	2	1	3	2	3	1	1	4																																					
<i>Guarea guidonia</i>		3			1		2								3	1	1																																		
<i>Citrus nobilis</i>			2													1																																			
<i>Annona muricata</i>			4																																																
SAF dominados por <i>Musa paradisiaca</i>																																																			
<i>Musa paradisiaca</i>																																																			
<i>Psidium guajava</i>																																																			
<i>Manguifera indica</i>																																																			
SAF dominados por <i>Erythrina poeppigiana</i>																																																			
<i>Erythrina poeppigiana</i>																																																			
<i>Erythrina fusca</i>																																																			
<i>Matisia cordata</i>																																																			
SAF dominados por <i>Gmelina arborea</i>																																																			
<i>Gmelina arborea</i>																																																			

Tabla 4. Valores de la frecuencia y la densidad relativas en los sistemas agroforestales (SAF) de la zona de estudio

	Regional		<i>P. guachapele</i>		<i>M. paradisiaca</i>		<i>E. poeppigiana</i>		<i>G. arborea</i>		<i>P. guajava</i>		<i>M. indica</i>		<i>C. alliodora</i>	
	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %	F. rel %	D. rel %
<i>Cordia alliodora</i>	43,8	11,5	69,2	30,9	30,0	4,1	16,7	2,0	25,0	5,6	20,0	4,3	33,3	16,2	57,14	45,04
<i>Gliricidia sepium</i>	43,8	14,1	38,5	4,1	60,0	10,4	33,3	4,1	50,0	21,1	20,0	4,3	NP	NP	57,14	35,88
<i>Amyris pinnata</i>	25,0	3,4	23,1	7,8	40,0	1,2	33,3	10,2	NP	NP	NP	NP	33,3	2,7	28,6	7,6
<i>Persea americana</i>	22,9	2,7	23,1	1,8	30,0	1,2	16,7	6,1	NP	NP	60,0	8,5	33,3	10,8		
<i>Citrus limon</i>	22,9	1,1	23,1	1,4	40,0	0,8	16,7	4,1	NP	NP	20,0	0,6	66,7	8,1		
<i>Cedrela montana</i>	10,4	0,5	7,7	0,5	20,0	0,4	NP	NP	NP	NP	NP	NP	33,3	5,4	14,3	0,8
<i>Carica pubescens</i>	8,3	0,5	15,4	1,8	NP	NP	16,7	2,0	NP	NP	NP	NP	33,3	2,7		
<i>Anacardium excelsum</i>	10,4	0,8	23,1	2,3	NP	NP	16,7	6,1	NP	NP	20,0	0,6	NP	NP		
<i>Ficus pallida</i>	8,3	0,3	7,7	0,5	10,0	0,2	16,7	2,0	NP	NP	NP	NP	33,3	2,7		
<i>Pouteria caimito</i>	4,2	0,3	NP	NP	10,0	0,6	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	14,3	0,8
<i>Pseudosamanea guachapele</i>			100	19,82	10,0	0,4										
<i>Guarea guidonia</i>			30,8	4,15	20,0	0,4							33,3	2,7	14,3	0,8
<i>Citrus nobilis</i>			15,4	1,38												
<i>Annona muricata</i>			15,4	2,8	10,0	1,2	16,7	2,0			40,0	70,1				
<i>Musa paradisiaca</i>			7,7	10,1	100	74,1			25,0	26,8						
<i>Psidium guajava</i>					40,0	1,4										
<i>Erythrina poeppigiana</i>			15,4	4,1	10,0	0,4	100	22,4								
<i>Matisia cordata</i>			7,7	0,5			50	16,3								
<i>Erythrina fusca</i>			7,7	0,5			50	6,1			20,0	1,8	33,3	10,8		
<i>Gmelina arborea</i>									100	40,8451						
<i>Psidium guajava</i>			30,8	3,7					25,0	1,4	100	5,5				
<i>Mangifera indica</i>			7,7	0,5	20,0	0,4	16,7	2,0			40	1,8	100,0	10,8		
<i>Citrus sinensis</i>											20,0	0,6	33,3	2,7		

F. rel: frecuencia relativa; D. rel: densidad relativa; NP: No presente

Tabla 5. Área basal y densidad de las especies acompañantes y de *T. cacao* en los sistemas agroforestales (SAF)

	Especies acompañantes				<i>Theobroma cacao</i>			
	Área basal		Densidad		Área basal		Densidad	
	(m) ²	Relativa %	Número de individuos	Relativa %	(m) ²	Relativa %	Número de individuos	rel. %
Espectro regional	64,30	100	1160	100	56,62	100	4.808	100
SAF de <i>Pseudosamanea guachapele</i>	16,41	25,52	217	18,71	15,83	27,97	1.386	28,83
SAF de <i>Musa paradisiaca</i>	9,78	15,21	491	42,33	10,28	18,16	1.032	21,46
SAF de <i>Erythrina poeppigiana</i>	18,02	28,04	49	4,22	11,43	20,19	747	15,54
SAF de <i>Gmelina arborea</i>	3,16	4,93	71	6,12	4,43	7,84	397	8,26
SAF de <i>Psidium guajava</i>	2,98	4,63	164	14,14	4,85	8,58	433	9,01
SAF de <i>Mangifera indica</i>	10,44	16,24	37	3,19	3,80	6,72	221	4,60
SAF de <i>Cordia alliodora</i>	3,49	5,43	131	11,29	5,97	10,55	592	12,31

Densidad. A nivel regional se contabilizaron 1.160 individuos. El SAF con mayor valor fue el de *M. paradisiaca*, con 491 individuos (42,33 %), seguido por el de *P. guachapele*, con 217 individuos (18,71 %). El menor valor se presentó en el SAF de *M. indica*, con 37 individuos (3,19 %) (**Tabla 5**).

Índice de valor de importancia (IVI). En los 48.000 m² que representan las 48 parcelas delimitadas a nivel regional en diferentes localidades, el mayor valor fue el de *M. paradisiaca*, probablemente por la abundancia de la especie (**Tabla 6**). Le siguieron en importancia *G. sepium* y *C. alliodora*. Los menores valores fueron los de *M. indica* (10,1) y *G. arborea* (14,58). En cuanto a los SAF, el mayor valor lo presentó *G. arborea* (216,6) y la variable que más incidió fue el área basal relativa, seguida por *M. paradisiaca*. El menor valor lo presentó *P. guajava* (106,83).

Área basal y densidad de *Theobroma cacao*

Sistemas agroforestales con especies asociadas. En 47.000 m² a nivel regional el área basal representada por *T. cacao* fue de 56,63 m² (**Tabla 5**). El SAF con mayor valor fue el de *P. guachapele*, con 15,84 m² (28 %), seguido por *E. poeppigiana*, con 11,43 m² (20 %). El menor valor se encontró en el SAF de *M. indica*, con 3,80 m² (7 %). El número total de individuos fue de 4.808, con mayor expresión en el SAF de *P. guachapele* (1.386), en tanto que la más baja se registró en el SAF de *M. indica* (221).

Sitios con libre exposición sin especies asociadas, cultivo limpio. En 11.000 m² se reportaron 1.101 individuos con una variación entre 70 (parcela 4) y 142 (parcela 51). Otras parcelas con valores altos fueron la 51 (142 individuos), la 53 (132) y la 59 (114). La altura promedio fue de 3,5 m; el área basal fue de 15,31 m² con un límite de variación entre 0,46 (parcela 5) y 2,21 m² (parcela 53); otros valores significativos se encontraron en las parcelas 26 (1,75), 59 (1,7) y 51 (1,58).

SAF con y sin cacao (Tabla 7). El área basal (m²/ha) de los SAF al incluir los individuos de cacao varió entre 14,9 (SAF de *C. alliodora*) y 49,1 (SAF de *E. poeppigiana*).

Discusión y conclusiones

Se determinó un grupo de especies características dominantes a nivel regional, entre las cuales figuran *G. sepium*, *C. alliodora*, *A. pinnata* y *P. americana*, de las que los agricultores obtienen madera, frutos, leña y sombra, como se ha señalado en los de estudios en sistemas agroforestales de cacao en Centroamérica (**Jagoret, et al., 2009; Gockowski, et al., 2010; Cerda, et al., 2014; Montagnini, et al., 2015**). En un estudio en Chiapas,

Tabla 6. Índice del valor de importancia (IVI) a nivel regional y local en los sistemas agroforestales (SAF)

	Regional		Local	
	IVI	Área (m ²)	IVI	Área (m ²)
<i>Gliricidia sepium</i>	63,18	48000	-	-
<i>Cordia alliodora</i>	61,02	48000	131,95	7000
<i>Amyris pinnata</i>	28,79	48000	-	-
<i>Persea americana</i>	26,48	48000	-	-
<i>Citrus limon</i>	24,35	48000	-	-
<i>Pseudosamanea guachapele</i>	42,54	48000	167,96	13000
<i>Musa paradisiaca</i>	64,58	48000	212,99	10000
<i>Erythrina poeppigiana</i>	42,20	48000	175,70	6000
<i>Gmelina arborea</i>	14,58	48000	216,60	4000
<i>Psidium guajava</i>	22,58	48000	106,83	5000
<i>Manguijera indica</i>	10,10	48000	115,60	3000

Tabla 7. Área basal y número de individuos en los SAF con cacao y sin este

	Área basal			Individuos		
	SAF con especies asociadas sin cacao	Solo cacao	Total	SAF con especies asociadas sin cacao	Solo cacao	Total
	ha	ha	ha	ha	ha	ha
Espectro regional	13,40	12,05	25,45	241,67	1022,98	1264,65
SAF de <i>Pseudosamanea guachapele</i>	12,62	12,18	24,81	166,92	1066,15	1233,08
SAF de <i>Musa paradisiaca</i>	9,78	10,28	20,06	491,00	1032	1523
SAF de <i>Erythrina poeppigiana</i>	30,05	19,06	49,10	81,67	1245	1326,67
SAF de <i>Gmelina arborea</i>	7,92	11,10	19,02	177,50	992,5	1170
SAF de <i>Psidium guajava</i>	5,96	9,72	15,68	328,00	866	1194
SAF de <i>Manguifera indica</i>	34,82	12,68	47,49	123,33	736,67	860
SAF de <i>Cordia alliodora</i>	4,99	9,96	14,95	187,14	986,67	1173,81

México, una de las especies más abundantes fue *C. alliodora* (Suárez-Venerom, *et al.*, 2019), un resultado predecible al tratarse de una especie extensamente sembrada por el alto valor de su madera.

Se definieron siete arreglos forestales con base en la similitud florística y en las especies dominantes diferenciales. Los que presentaron mayor extensión (área de cultivo) fueron los SAF de *P. guachapele* (13.000 m²), *M. paradisiaca* (10.000 m²) y *E. poeppigiana* (6.000 m²). En estudios en los SAF de cacao en Tumaco (Pacífico de Colombia), Costa Rica y la Amazonía colombiana la especie dominante fue *C. alliodora* (Preciado, *et al.*, 2011; Matey, *et al.*, 2013; Suárez, 2018). En los SAF con cacao de zonas de bosque tropical seco de Nicaragua la especie más importante fue *G. sepium* (Narváez-E., *et al.*, 2015), en tanto que en Ghana (África) predominaron especies de *Musa* y de *Citrus* (Asigbaase, *et al.*, 2019).

En este estudio los arreglos forestales con mayor riqueza fueron el de *P. guachapele* con 36 especies y el de *M. paradisiaca* con 25, debido a que los agricultores las han plantado por su valor de uso en la provisión de frutales y madera, en tanto que las especies de leguminosas las usan para mejorar las condiciones de nitrógeno en el suelo o para alimentación animal de forma similar a lo hallado en Centroamérica por Somarriba, *et al.* (2013). El sistema más pobre fue el de *G. arborea*, con ocho especies, lo que se explica por las preferencias de los productores de sembrar especies maderables aun conociendo que no son especies nativas. Estas acciones han sido promovidas por el Acuerdo Regional de Competitividad de la Cadena de Cacao – Chocolate y su Agroindustria (2004) del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, las gobernaciones del Tolima y Huila y FEDECACAO.

A nivel mundial se menciona una gran variabilidad en la riqueza de especies en los SAF de diferentes regiones, por ejemplo, entre 35 y 95 especies en Talamanca (Costa Rica) (Deheuvels, *et al.*, 2012); entre 21 y 47 especies en Camerún central (Saj, *et al.*, 2013); de 15 a 26 especies en el sureste de Camerún (Sonwa, *et al.*, 2007) y en Alto Beni (Bolivia) (Jacobi, *et al.*, 2014); entre 22 y 35 especies en localidades de Chiapas (México) (Salgado-M., *et al.*, 2007; Suárez-V., *et al.*, 2019), y en la Amazonía colombiana, en sitios con remanentes de bosques, Suárez (2018) encontró 127 especies vegetales asociadas con el cultivo de cacao.

A nivel regional, la altura de los individuos fluctuó entre 3 y 21 m, registrándose el mayor valor mayor en el SAF de *P. guachapele*. En Tabasco (México) en SAF de cacao dominados por *E. americana*, *Cedrela odorata*, *G. sepium*, *Colubrina arborescens* y *Diphysa robinoides* se encontraron alturas entre 2 y 36 m (Sánchez, *et al.*, 2016).

En cuanto a los valores relativos de frecuencia y de densidad, entre las especies características dominaron *C. alliodora* y *G. sepium* y en cada uno de los arreglos forestales se evidenció claramente el dominio de las especies que los caracterizan. En los 48.000 m²

(regional) que se inventariaron, el área basal de 64,30 m² presentó dos arreglos forestales con los valores más altos: el SAF de *P. guachapele*, con 16,41 m² y el de *E. poeppigiana*, con 18,028 m². La participación de *T. cacao* (**Tabla 5**) en el área basal en todos los SAF fue de 56,63 m²; el número total de individuos fue de 4.808, con mayor expresión en el SAF de *P. guachapele* (1.386) y la más baja en el de *M. indica* (221). En los sitios con libre exposición (sin especies asociadas) en un total de 11.000 m² se contaron 1.101 individuos con una variación de 70 (parcela 4) a 142 (parcela 51); la altura promedio fue de 3,5 m y el área basal de 15,31 m².

El área basal de *T. cacao* por hectárea a nivel regional fue de 12 m², con una variación de 19 (SAF de *E. poeppigiana*) a 10 (SAF de *P. guajava*). En términos comparativos, en Nicaragua se registraron 12,8 m²/ha, en Honduras entre 8,6 y 14,2 m²/ha, en Guatemala 10,2 m²/ha, en Costa Rica y Panamá 8,2 m²/ha (**Somarriba, et al., 2012**), en Camerún central entre 6,5 y 8,1 m²/ha (**Jagoret, et al., 2017, 2018**), en Alto Beni (Bolivia), entre 4,3 y 3,1 m²/ha (**Jacobi, et al., 2014**) y en Ghana 10 m²/ha (**Asigbaase, et al., 2019**). El valor promedio encontrado en las fincas del Huila cabe en la variación mencionada en estos países, siendo la expresión más alta (19 m²/ha) la del SAF de *E. poeppigiana*.

El número de individuos de *T. cacao* por hectárea a nivel regional fue de 1.023 y varió entre 1.245 (SAF de *E. poeppigiana*) y 737 (SAF de *M. indica*). En el SAF de Camerún central se registraron entre 1.200 y 1.900 individuos de cacao por hectárea (**Saj, et al., 2013; Jagoret, et al., 2017, 2018**), en Costa de Marfil y en Ghana, entre 700 y 1.250 individuos por hectárea (**Tondoh, et al., 2015**), en Mérida (Venezuela) entre 1.111 y 1.250 individuos por hectárea (**Jaimez, et al., 2013**), en Alto Beni (Bolivia) entre 500 y 625 individuos por hectárea (**Jacobi, et al., 2014**) y en Ecuador entre 500 y 650 individuos por hectárea (**Jadan, et al., 2015**). Los valores en las fincas del Huila fueron inferiores a los de Camerún central y se mantuvieron en los límites de variación de los encontrados en Costa de Marfil y Mérida (Venezuela), en tanto que los encontrados en Ecuador y Alto Beni (Bolivia) fueron inferiores a los del Huila.

En las áreas expuestas libremente al sol, o de cultivo limpio, el área basal de *T. cacao* (15,31 m²) fue casi igual a la del SAF de *P. guachapele* (15,84 m²). En cuanto a este mismo SAF pero con todas las especies incluidas, la diferencia fue mínima (1,1 m²). El número de individuos de *T. cacao* en el cultivo limpio (1,101) se acercó al que se encontró en una superficie de igual extensión en el SAF de *P. guachapele* (1.386) y fue cinco veces mayor al del SAF con todas las especies asociadas (217). En Talamanca (Costa Rica) se encontraron 692 individuos por hectárea en cultivos puros con libre exposición (**Deheuvels, et al., 2012**), valor menor que el estimado en el Huila (1.001 individuos/ha).

Los valores de área basal y de número de individuos de *T. cacao* en los SAF y en el cultivo limpio fluctuaron en el rango de variación reportado en otros países y, en algunos casos, fueron mayores. Estos resultados demuestran que los sistemas agroforestales son beneficiosos, pues incluyen especies que protegen el suelo y proveen servicios ecosistémicos relacionados con la producción de madera, así como elementos de consumo directo.

En una hectárea de robledales andinos húmedos de la cordillera Oriental, entre los 2.600 y los 3.220 m, **Avella, et al. (2017)** encontraron 34 m² de área basal y 593 individuos con un DAP >30 cm, valores de área basal parecidos y un número menor de individuos comparados con los de los SAF de *E. poeppigiana* y de *Manguífera* mencionados por **Minorta-C., et al. (2019)** en palmares de la subregión de la altillanura de la serranía de Manacacías localizados en una parcela de una hectárea con 369 m² de área basal y 3.138 individuos de un DAP >30 cm, cifras muy superiores a las obtenidas en los SAF del Huila.

El mayor IVI a nivel regional se encontró en *M. paradisiaca* (64,6) seguido por *G. sepium* (63,18) y *C. alliodora* (61,02), especies que los agricultores aprovechan como fruta, leña y madera, en tanto que los menores valores se encontraron en *M. indica* (10,1) y *G. arborea* (14,58), lo cual se asocia con un escaso desarrollo debido a una mayor intervención antrópica para el aprovechamiento de las especies o para obtener sombra, o por ser plantaciones muy jóvenes.

Los resultados que se presentan servirán de línea de base para conocer más sobre la forma en que los arreglos agroforestales inciden en la productividad y rentabilidad del cultivo del cacao, así como sobre el impacto positivo a largo plazo de dichos sistemas en la sostenibilidad ecológica y financiera.

Información suplementaria

Anexo. Riqueza y distribución de alturas en los sistemas agroforestales de la zona de estudio. Ver anexo en: <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1183/2894>

Agradecimientos

Al Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), a su Sistema de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación (SENNOVA), al Fondo de Ciencia, Tecnología e Innovación del Sistema General de Regalías (FCTeI-SGR-formación de capital humano de alto nivel, convocatoria 677 de 2014, Doctorado – Nacional); al Instituto de Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia. Las sugerencias de los evaluadores sirvieron para consolidar la versión final.

Contribución de los autores

Los datos de campo fueron recolectados de la tesis de doctorado de Claudia Mercedes Ordoñez, dirigida por J. Orlando Rangel- Ch. La fase analítica del manuscrito fue adelantada por los dos autores, así como la discusión y las conclusiones.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no hay ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Asigbaase, M., Sjogersten, S., Lomax, B.H., Dawoe, E.** (2019). Tree diversity and its ecological importance value in organic and conventional cocoa agroforests in Ghana. *PloS one*. **14** (1). Doi: 10.1371/journal.pone.0210557
- Avella-Muñoz, E.A., Rangel-Churio, J.O, Toro, J.L.** (2017). Los bosques de roble (*Quercus humboldtii*) en Colombia: aspectos florísticos, estructurales y sintaxonómicos. En J.O. Rangel-Ch. (ed.). Colombia diversidad biótica XV: Los bosques de robles (Fagaceae) en Colombia. Composición florística, estructura, diversidad y conservación (p. 11-122). Bogotá D.C. Colombia: Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia.
- Cerda, R., Deheuvels, O., Calvache, D., Niehaus, L., Saenz, Y., Kent, J, Somarriba, E.** (2014). Contribution of cocoa agroforestry systems to family income and domestic consumption: looking toward intensification. *Agroforestry systems*: **88** (6): 957-981.
- Cuatrecasas, J.** (1964). Cacao and its allies: A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Contributions to the U.S. National Herbarium*. **35**: 379-614.
- Deheuvels O., Avelino J., Somarriba, E., Malezieux, E.** (2012). Vegetation structure and productivity in cocoa-based agroforestry systems in Talamanca, Costa Rica. *Agriculture, ecosystems and environment*. **149**: 181-188.
- FAOSTAT.** (2014). *Production/yield quantities of cocoa beans in world*. Fecha de consulta: 6 de agosto de 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Figueroa-C., Y.** (2004). Guía ilustrada de la flora del desierto de La Tatacoa, Huila, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*; Bogota. **9** (2): 88 pp.
- Gockowski, J., Tchatat, M., Dondjang, J.P., Hietet, G., Fouda, T.** (2010). An empirical analysis of the biodiversity and economic returns to cocoa agroforests in southern Cameroon. *Journal of Sustainable Forestry*. **29** (6-8): 638-670.
- González-Orozco, C.E., Galán, A.A.S., Ramos, P.E.** (2020). Exploring the diversity and distribution of crop wild relatives of cacao (*Theobroma cacao* L.) in Colombia. *Genet Resour Crop Evol*. **67**: 2071-2085. Doi: 10.1007/s10722-020-00960-1
- Jagoret, P., Michel, I., Ngnogué, H.T., Lachenaud, P., Snoeck, D., Malézieux, E.** (2017). Structural characteristics determine productivity in complex cocoa agroforestry systems. *Agronomy for Sustainable Development*. **37** (6): 60.

- Jagoret, P., Snoeck, D., Bouambi, E., Ngnogue, H. T., Nyassé, S., Saj, S.** (2018). Rehabilitation practices that shape cocoa agroforestry systems in Central Cameroon: key management strategies for long-term exploitation. *Agroforestry Systems*. **92** (5): 1185-1199.
- Jagoret, P., Ngogue, H.T., Bouambi, E., Battini, J.L., Nyassé, S.** (2009). Diversification des exploitations agricoles à base de cacaoyer au Centre Cameroun: mythe ou réalité? *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. **13** (2): 271-280.
- Jaimez, R.E., Araque, O., Guzman, D., Mora, A., Espinoza, W., Tezara, W.** (2013). Agroforestry systems of timber species and cacao: Survival and growth during the early stages. *J. Agr. Rural Dev. Trop.* **114** (1): 1-11.
- Jacobi, J., Andres, C., Schneider, M., Pillco, M.** (2014). Carbon stocks, tree diversity, and the role of organic certification in different cocoa production systems in Alto Beni, Bolivia. *Agroforest. Syst.* **88**: 1117-32. Doi: 10.1007/s10457-013-9643-8
- Jadán, O., Cifuentes, M., Torres, B., Selesi, D., Veintimilla, D., Günter, S.** (2015). Influence of tree cover on diversity, carbon sequestration and productivity of cocoa systems in the Ecuadorian Amazon. *Bois et forêts des tropiques*. **325** (3): 35-47.
- Matey, A., Zeledón, L., Orozco, L., Chavarría, F., López, A., Deheuvels, O.** (2013). Composición florística y estructura de cacaotales y parches de bosque en Waslala, Nicaragua. *Agroforestería en las Américas*. **49**: 61-67.
- Mata-Anchundia, D., Rivero-Herrada, M., Segovia-Montalván, E.L.** (2018). Sistemas agroforestales con cultivo de cacao fino de aroma: entorno socio-económico y productivo. *Rev. Cubana de Cienc. Forest.* **6** (1):103-115
- Minorta-C., V., Rangel-Ch., J.O., Castro-L., F., Aymard, G.** (2019). La vegetación de la serranía de Manacacias (Meta) Orinoquía colombiana. En: J.O. Rangel-Ch. (ed.). *Colombia Diversidad Biótica XVII. La región de la Serranía de Manacacias (Meta) Orinoquía colombiana*: 155-234. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales. Parques Nacionales Naturales. Bogotá, D.C.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural – MADR.** (2004). Acuerdo regional de competitividad cadena cacao-chocolate región Tolima- Huila. Fecha de consulta: 28 de julio de 2019. Disponible en: <https://www.huila.gov.co/loader.php?lServicio=Tools2&lTipo=descargas&lFuncion=descargar&idFile=2820>
- Montagnini, F., Somarrriba, E., Murgueitio, E., Fassola, H., Eibl, B.** (2015). *Sistemas agroforestales funciones productivas, socioeconómicas y ambientales*. Editorial CIPAV. 454 pp. Cali, Colombia.
- Motamayor, J.C., Risterucci, A.M., Lopez, P.A., Ortiz, C.F., Moreno, A., Lanaud, C.** (2002). Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*. **89**: 380-386.
- Narváez-Espinoza, O., González-Rivas, B., Castro-Marin, G.** (2015). Composición, estructura, diversidad e incremento de la vegetación arbórea secundaria en trópico seco en Nandarola, Nicaragua. *Revista científica La Calera*. **15** (25): 111-116.
- Oficina Asesora de Planeación y Prospectiva – MADR.** (2019). Evaluaciones Agropecuarias Municipales (EVA). Fecha de consulta: 28 de julio de 2020. Disponible en: <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>
- International Cocoa Organization – ICCO.** (2014). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Vol. XL, No. 1, Cocoa year 2013/14.
- International Cocoa Organization – ICCO.** (2018): Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Volume XLIV No. 1, Cocoa Year 2017/18.
- Preciado, O., Ocampo, C.I., Possú, W. B.** (2011). Caracterización del sistema tradicional de producción de cacao (*Theobroma cacao* L.), en seis núcleos productivos del municipio de Tumaco, Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas*. **28** (2): 58-69.
- Presidencia de la República.** (2016/01/21). Producción de cacao aumenta en 2015 y se consolida como cultivo clave en el posconflicto. Fecha de consulta: 28 de julio de 2020. Disponible en: <http://es.presidencia.gov.co/noticia/Produccion-de-cacao-aumenta-en-2015-y-se-consolida-comocultivo-clave-en-el-pos-conflicto>
- Rangel-Ch., J.O. & Velázquez, A.** (1997). Métodos de estudio de la vegetación. En: J.O. Rangel-Ch, P. Lowy-C. y M. Aguilar-P. (eds.). *Colombia diversidad biótica II: Tipos de vegetación en Colombia*. (59-87). Bogotá D.C. Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia.
- Rapidel., B., Ripoché, A., Allinne, C., Metay, A., Deheuvels, O., Lamanda, N., Blazy, J.M., Valdés-Gómez, H., Gary, C.** (2015). Analysis of ecosystem services trade-offs to design agroecosystems with perennial crops. *Agron Sustain Dev*. **35**: 1373-1390. Doi: 10.1007/s13593-015-0317-y

- Ricaño-Rodríguez, J., Ramos-Prado, J.M., Cocoltzi-Vásquez, E., Hipólito-Romero, E.** (2018). El estudio genómico del cacao (*Theobroma cacao* L.); breve recopilación de sus bases conceptuales. *Agroproductividad*. **11** (9): 29-35.
- Richardson, J.E, Whitlock, B.A., Meerow, A.W., Madriñán, S.** (2015). The age of chocolate: a diversification history of *Theobroma* and Malvaceae. *Front Ecol Evol*. **3** (120): 1-14.
- Richardson, J.E, Madriñán, S., Gómez-Gutiérrez, M.C, Valderrama, E., Luna J., Banda-R, K., Serrano, J., Torres, M.F., Jara, O.A., Aldana, A.M., Cortes-B, R., Sánchez, D., Montes, C.** (2018). Uso de filogenias moleculares fechadas para ayudar a reconstruir la historia geológica, climática y biológica: ejemplos de Colombia. *Revista geológica*. **53**: 2935-2943. <https://doi.org/10.1002/gj.3133>
- Rodríguez-Medina, C., Caicedo Arana, A., Sounigo, O., Argout, X., Alvarado, G. A.** (2019). Cacao breeding in Colombia, past, present and future. *Breed. Sci.* **69**: 373-382. Doi: 10.1270/jsbbs.19011
- Saj, S., Jagoret, P., Ngogue, H.T.** (2013). Carbon storage and density dynamics of associated trees in three contrasting *Theobroma cacao* agroforests of Central Cameroon. *Agroforest. Syst.* **87**: 1309-20. Doi: 10.1007/s10457-013-9639-4
- Sánchez-Gutiérrez, F., Pérez-Flores, J., Obrador, J.J., Sol-Sánchez, Á., Ruiz-Rosado, O.** (2016). Estructura arbórea del sistema agroforestal cacao en Cárdenas, Tabasco, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. **7** (spe14): 2695-2709. Fecha de consulta: 6 de marzo de 2020. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016001002695&lng=es&tlng=es
- Salgado-Mora, M.G., Ibarra-Núñez, G., Macias-Samano, J. E., López-Báez, O.** (2007). Diversity of shade trees in cacao plantations of Soconusco, Chiapas, Mexico. *Interciencia*. **32**: 763-8.
- Sonwa, D.J., Nkongmeneck, B.A., Weise, S.F., Tchatat, M., Adesina, A.A., Janssens, M.J.** (2007). Diversity of plants in cocoa agroforests in the humid forest zone of Southern Cameroon. *Journal Biodiversity and Conservation*. **16** (8): 2385-2400.
- Somarriba, E., Beer, J., Alegre-Orihuela, J., Andrade, H.J., Cerda, R., Declerck, F, ..., Krishnamurthy, L.** (2012). Mainstreaming agroforestry in Latin America. In: P. Nair y D. Garrity (eds). *Agroforestry - The Future of Global Land Use. Advances in Agroforestry*. Springer. 453 pp. Dordrecht, Holanda.
- Somarriba, E. & Lachenaud, P.** (2013). Successional cocoa agroforests of the Amazon–Orinoco–Guiana shield. *Forests, Trees and Livelihoods*. **22** (1): 51-59.
- Somarriba E., R., Cerda., L Orozco., M. Cifuentes., ..., O. Deheuvels.** (2013). Carbon stocks and cocoa yields in agroforestry systems of Central America. *Agric. Ecosyst. Environ.* **173**: 46-57.
- Suárez, J.C.** (2018). Comportamiento ecofisiológico de *Theobroma cacao* L. en diferentes arreglos agroforestales bajo condiciones de la Amazonia Colombiana. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá. Repositorio institucional. 147 pp.
- Suárez-Venero, G.M., Avendaño-Arrazate, C.H., Ruiz-Cruz, P.A., Estrada-de-los-Santos, P.** (2019). Structure and impact of taxonomic diversity on cocoa of Soconusco, Chiapas, México. *Agronomía Mesoamericana*. **30** (2): 353-365.
- Young, A.M.** (1994). *The Chocolate Tree: A Natural History of Cacao*. Smithsonian Institution Press. 200 pp. Washington. DC.
- Thomas, E., van Zonneveld, M., Loo, J., Hodgkin, T., Galluzzi, G., van Etten, J.** (2012). Present spatial diversity patterns of *Theobroma cacao* L. in the neotropics reflect genetic differentiation in pleistocene refugia followed by human-influenced dispersal. *PLoS ONE*. **7**: e47676. Doi: 10.1371/journal.pone.0047676
- Tondoh, J E., Kouame, F.N.G., Guéi, A.M., Sey, B., Kone, A.W., Gnessougou, N.** (2015). Ecological changes induced by full-sun cocoa farming in Cote d'Ivoire. *Global Ecology and Conservation*. **3**: 575-595.
- Zarrillo, S., Gaikwad, N., Lanaud, C., Powis, T., Valdez, F.** (2018). The Use and Domestication of *Theobroma cacao* during the Mid-Holocene in the Upper Amazon. *Nature Ecology & Evolution*. **2** (12): 1879-1888.

Artículo original

Evaluación del estado de salud de la colección de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del Museo de La Salle, Bogotá MLS-mam

Evaluation of the health status of the bat collection (Mammalia: Chiroptera) at *Museo de La Salle*, Bogotá MLS-mam

✉ Nerieth Goretti Leuro-Robles^{1,*}, ✉ Julieth Stella Cárdenas-Hincapié¹,
✉ Cristian Alexander Cruz-Rodríguez^{1,2}

¹ Museo de La Salle, Universidad de La Salle, Bogotá D.C., Colombia

² Grupo de Investigación en Biotecnología y Medio Ambiente, Universidad Incca de Colombia, Bogotá D.C., Colombia

Resumen

Fundada en 1904, la colección de mastozoología del Museo de La Salle (MLS) posee los ejemplares de su clase más antiguos en Colombia. Debido a su antigüedad, es necesario evaluar de manera constante y periódica la base de datos, la disposición y las condiciones asociadas con la conservación y la información específica de cada espécimen. Para ello, se calculó el índice de salud de la colección (ISC) mediante una revisión de los datos y la representatividad geográfica y el uso de los indicadores de evaluación de las colecciones propuestos por Cárdenas & Delgadillo (2019) y Acosta & Vallejo (2005). El ISC fue de 79,86 %, lo que indica que la colección se encuentra en un buen estado de conservación. La completitud de la información sobre los ejemplares depositados antes del 2000 fue de 3,7 % y después de ese año, de 2,20 %, es decir que la calidad de los datos de la colección es buena. Por otra parte, el índice geográfico registró un valor de 77,41 %, lo que evidencia la adecuada representación de las diferentes regiones del país como producto de las recolecciones hechas por la comunidad de hermanos de La Salle, siendo Norte de Santander el departamento mejor representado, con 293 ejemplares, seguido por Santander, con 174 ejemplares. Por último, a pesar del potencial que tiene la colección como referente histórico de la mastozoología colombiana, la ausencia de expertos durante varios años se refleja en la desactualización taxonómica de gran parte de sus ejemplares, así como en la necesidad de utilizar unidades de almacenamiento adecuadas que permitan su correcto acceso y crecimiento futuro.

Palabras clave: Colecciones zoológicas; Curaduría; Conservación; Diagnóstico; Especimen; Índice de salud de la colección (ISC)

Abstract

Founded in 1904, the mammalogy collection of the *Museo de La Salle* (MLS) has the oldest specimens of its kind in Colombia. Due to its age, it is necessary to constantly and periodically evaluate the database, disposition, storage environment conditions, and the information on each specimen. To this end, we calculated the collection health index (CHI) by reviewing both the data and the geographic representation of the collections based on the evaluation methods proposed by Cárdenas & Delgadillo (2019) and Acosta & Vallejo (2005). The CHI was 79.86%, which indicates that the collection has a good state of conservation. The data completeness for specimens deposited before 2000 was 3.7 % and 2.20% for those after this date, i.e., that the collection has good data quality. On the other hand, the geographic index was 77.41% evidencing an adequate representation of the country's different regions as a result of the collections made by the community of La Salle brothers; Norte de Santander is the department with the highest number of records, 293 specimens, followed by Santander with 174. Finally, despite the potential of the collection as one of the historical references of Colombian mammalogy, the absence for several years of expert curators is evidenced in the taxonomic outdating of a large part of the collection, as well as the need to have adequate storage units for its correct access and future growth.

Keywords. Conservation; Curatorship; Diagnosis; Collection Health Index (CHI); Specimen; zoological collections.

Citación: Leuro-Robles NG, Cárdenas-Hincapié JS, Cruz-Rodríguez CA. Evaluación del estado de salud de la colección de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del Museo de La Salle, Bogotá MLS-mam. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1047-1059, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefn.1159>

Editor: Elizabeth Castañeda

***Correspondencia:**

Nerieth Goretti Leuro-Robles;
goreleuro@gmail.com

Recibido: 28 de febrero de 2020

Aceptado: 18 de agosto de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

Las colecciones biológicas son los repositorios donde se almacenan ejemplares completos, partes, derivados o elementos asociados con la biodiversidad de un lugar específico en un periodo de tiempo determinado (Ossa, *et al.*, 2012; Mclean, *et al.*, 2016; McDonough, *et al.*, 2018). Dada la cantidad de información que almacenan, son fundamentales para solucionar preguntas en diferentes disciplinas como la taxonomía, la ecología, la evolución, la genética, la biogeografía y la sistemática, y por ello es importante su conservación y mantenimiento a lo largo del tiempo (Simmons & Muñoz-Saba, 2005; Dunnum, *et al.*, 2018).

El personal a cargo de custodiar y conservar las colecciones biológicas debe llevar a cabo las acciones necesarias para que estas no se deterioren con el paso del tiempo (Castaño & Ramírez, 2018), razón por la cual deben evaluar de manera constante la infraestructura, el espacio destinado para su almacenamiento y los costos de su manutención. Además, la institución debe contar con protocolos y procedimientos que garanticen un seguimiento a la calidad y validez nomenclatural de los ejemplares y respalden su determinación (Llorente, *et al.*, 1999) para que la información pueda utilizarse fácilmente en la investigación.

Teniendo en cuenta los diferentes retos a los que se enfrentan las colecciones, se han planteado metodologías para determinar cualitativa y cuantitativamente el estado de una colección (Trujillo, *et al.*, 2014; Paradell & Defea, 2017). Una de las herramientas utilizadas para esta evaluación es el índice de salud de las colecciones (ISC). Esta técnica cualitativa fue propuesta por el Museo Nacional de Historia Natural de los Estados Unidos en 1992 y modificada por McGinley (1993) para evaluar a través de categorías y de manera jerárquica una colección (Camacho & Burneo, 2009). Entre dichas categorías está la curaduría, es decir, el estudio y documentación de las especies resguardadas en las instituciones, así como la catalogación, clasificación, determinación taxonómica, cuidado y conservación de los ejemplares, los materiales, las unidades de almacenamiento, el mobiliario y la infraestructura. También se tiene en cuenta la información del ejemplar, así como la contenida en catálogos físicos y formatos digitales, para garantizar su consistencia y pertinencia para la colección científica (Restrepo, *et al.*, 2009).

Actualmente, en varias colecciones botánicas y zoológicas a nivel nacional e internacional se han implementado fórmulas para el diagnóstico del ISC. En los estudios de Camacho & Burneo (2009), Ariño (2010), García & Morffe (2012, 2013), Rivera-León, *et al.* (2018), León-Cortés, *et al.* (2003), Castaño & Ramírez (2018), Corredores (2009), y Duarte (2017) y de instituciones como el Museo Entomológico Francisco Luis Gallego (Revelo & Medina, 2017) y colecciones del Instituto Alexander Von Humboldt (Simmons & Muñoz-Saba, 2005; Rueda, 2005), se ha evaluado no solamente el estado de las colecciones, sino también las nuevas estrategias para el estudio de los especímenes, y se ha podido establecer la ausencia de datos geográficos o de recolección, el deterioro de las unidades de almacenamiento o de la infraestructura y la falta de recursos económicos y de personal para el manejo de las colecciones. Sin embargo, los factores que se tienen en cuenta en el ISC se clasifican y evalúan con base en categorías y fórmulas que arrojan un único valor, lo cual no ayuda a determinar si las problemáticas encontradas están asociadas con los ejemplares, el mobiliario o los datos.

Fundado en 1904, el Museo de La Salle-Bogotá (MLS) es la institución con mayor trayectoria científica en este campo en Colombia y actualmente alberga los especímenes más antiguos del país, a pesar de que sus colecciones se vieron afectadas en 1948 por el suceso conocido como el Bogotazo, en el cual se perdieron aproximadamente 174.000 ejemplares de diferentes grupos faunísticos y florísticos, así como toda su biblioteca (Rodríguez, 2002; Espitia-Barrera, *et al.*, 2013). Uno de sus investigadores más prominentes fue el Hermano Nicéforo María, apasionado naturalista que después de este infortunado suceso logró continuar el estudio de diversos grupos faunísticos entre los que se destacan sus aportes sobre los ofidios y los murciélagos (Rodríguez, 2002). Sin embargo, por la carencia de personal y de los elementos necesarios para almacenar de manera eficiente

la información asociada con los especímenes, gran parte de la información producida por el Hermano Nicéforo María se recopiló en cuadernos de diferentes tipos, incluso algunos que probablemente ya habían sido usados por estudiantes del Instituto de La Salle y que el hermano reutilizó para almacenar notas de la colección.

Hoy la colección mastozoológica es la quinta en número de ejemplares después de la colección botánica (15.020 ejemplares), la ornitológica (10.237 ejemplares), la ofidio-lógica (3.097 ejemplares) y la ictiológica (1.577 ejemplares). En la colección mastozoológica el grupo de murciélagos está representado por 1.132 ejemplares. Considerando los sucesos históricos que han afectado la colección, así como la ausencia de información para estimar su estado actual, en el presente estudio se propuso: i) evaluar la colección de manera integral: estado de los ejemplares, mobiliario y unidades de almacenamiento, y ii) revisar toda la documentación asociada, con el fin de mejorar la información existente sobre cada uno de los especímenes y determinar los cambios históricos a los cuales se ha visto expuesta.

Materiales y métodos

De los 1.132 especímenes que conforman la colección de murciélagos del MLS se revisaron 268 ejemplares conservados en líquido (etanol al 70 %) y 857 en seco. Se evaluó la unidad de almacenamiento, el estado de preservación de cada ejemplar, la calidad de la información en las etiquetas y que esta concordara con lo descrito en los catálogos y las bases de datos digitales. Por último, se verificó que cada espécimen contara con las partes fundamentales para su determinación: a) estructuras óseas del cráneo y el antebrazo; b) partes blandas como el trago y la hoja nasal, y c) la presencia de la cola, pollex, verrugas, vibrisas, discos y sacos glandulares cuando era el caso. Para los ejemplares preservados en alcohol se tuvieron en cuenta tanto las condiciones mencionadas y el volumen de etanol en cada unidad de almacenamiento. Para obtener el índice de salud y completitud de datos se aplicó la fórmula propuesta por **Cárdenas & Delgadillo** (2019) y la representatividad geográfica con el índice propuesto por **Acosta & Vallejo** (2005). Dado que la metodología del ISC no contempla la revisión de documentos históricos, se consultaron los boletines, la correspondencia, los diarios de campo y los catálogos asociados con la colección de mamíferos del centro de documentación del MLS, con el fin de aumentar la información sobre cada ejemplar y establecer los hechos históricos que han afectado la colección.

Índice de salud de la colección

Se valoraron cuatro categorías para establecer su conservación: 1) el estado del espécimen, es decir, en buen estado o deteriorado, el nivel de alcohol (si era el caso) y la presencia de hongos o daños que afectaran el ejemplar e impidieran su estudio y determinación taxonómica; 2) los datos del ejemplar, o sea, si había información como las fechas de recolección, la taxonomía, así como la existencia de descripciones detalladas de las localidades de recolección; 3) el registro, la catalogación, la determinación taxonómica y la organización de los especímenes, para lo cual se revisó si el ejemplar estaba identificado y si era de fácil acceso en el momento de realizar una consulta, y 4) los aspectos físicos de la colección, es decir, los materiales usados para preservar el ejemplar, así como el estado de las unidades de almacenamiento, la infraestructura y el mobiliario.

Este ISC por categorías permite asignar a cada ejemplar un valor de cero a diez en cada una de las cuatro categorías. Estos valores se promedian para obtener un valor final en cada categoría que refleje el nivel de curaduría, el cual se interpreta como bajo (0 a 3,9), medio (4 a 6,9) o alto (7 a 10). Posteriormente, el índice se calculó individualmente para las tres primeras categorías y, al final se calculó el ISC general de la colección sumando los puntajes de cada una, valor que se multiplicó por 100 para obtener un dato comparable con otros índices y se dividió por 40, que es el valor máximo posible de la suma de las categorías. Las fórmulas utilizadas se presentan en el **anexo 1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1159/2897>.

Completitud de datos de la colección

Los datos asociados con los ejemplares resguardados en el MLS se encuentran consignados en el estándar Darwin Core, el cual permite manejar un lenguaje uniforme y flexible para los datos de biodiversidad y hacer análisis cuantitativos y cualitativos (**Darwin Core Task Group**, 2009). Dada la importancia de la calidad de los datos de cada ejemplar de la colección, se evaluó su índice de completitud según tres categorías: a) elementos del evento de recolección; b) elementos taxonómicos, y c) datos geográficos mediante la ecuación:

$$Cc = (Cd/Ct) \times 100,$$

donde Cc es la completitud de datos, Cd el número de campos críticos (vacíos) indicados en la colección para ejemplares recolectados antes o después del 2000, y Ct el total de campos obligatorios.

Dado que no se contaba con toda la información geográfica de los ejemplares recolectados antes del 2000, porque en el momento del registro no había la tecnología o los insumos necesarios para hacer una descripción detallada de la localidad de recolección, en la valoración de la categoría de datos geográficos se diferenciaron los campos evaluados de los ejemplares recolectados antes y después de ese año.

Representatividad geográfica en Colombia

Se calcularon las áreas del país de donde provenía la mayoría de los ejemplares recolectados y aquellas donde el número de ejemplares era poco o nulo, considerando los 32 departamentos de Colombia (**Instituto Geográfico Agustín Codazzi – IGAC**, 2014). Para generar este índice se utilizó el programa QGIS Development Team (**QGIS**, 2012) y la cartografía en escala de 1:100.000 de Colombia en el formato Geodatabase (**IGAC**, 2014). Se contaron las especies de cada uno de los departamentos y estos se clasificaron por categorías según la cantidad de especies encontradas usando el índice de representatividad geográfica:

$$RGih = [GAih/GAh] \times 100,$$

donde $RGih$ es la representatividad geográfica, $GAih$ el número de áreas geográficas de la colección, y GAh el número de áreas geográficas totales en Colombia.

Resultados

La colección de murciélagos cuenta con 1.132 ejemplares que una vez evaluados reflejaron, en general, un estado de preservación y conservación adecuado por las buenas condiciones en que se los mantiene, con índices altos (>60 %) en los componentes geográfico, taxonómico y de información de los ejemplares. De mantenerse las condiciones físicas y de mobiliario en las cuales se encuentra la colección, se garantizaría a largo plazo su preservación, aunque el espacio físico para el crecimiento futuro es un factor que la institución deberá mejorar.

Vacíos de información en la colección

Una de las dificultades detectadas de manera preliminar en la colección, es que casi una cuarta parte (571 de 2.661) de los números de catálogo de la colección de murciélagos estaba totalmente vacía y no había documentación que precisara la razón por la cual no contenían ningún registro. Sin embargo, la revisión de los manuscritos, boletines y notas de campo conservadas en el MLS permitió determinar que estos campos correspondían a los números en los cuales se encontraban registrados los mamíferos no voladores del Museo de La Salle. Asimismo, se pudo establecer que el Hermano Nicéforo María fue quien separó en documentos aparte los registros de los murciélagos de los ejemplares no voladores que conformaban la colección de mamíferos hace más de 55 años, pero sin separar los números de catálogo de cada una de estas categorías y manteniendo el número consecutivo para toda la colección. Después de su fallecimiento, una interpretación errónea de dichos documentos por parte del personal a cargo provocó que durante casi 30 años se creyera, erróneamente, que eran diferentes colecciones y que por ello, en algunos casos se asignaran a un mismo número dos ejemplares.

Aclarado esto, la colección de murciélagos solo tiene siete especímenes faltantes, es decir, el 0,61 % del total. Aunque las muestras no están en la colección, la información asociada está en la base de datos. Estos especímenes fueron reportados como ausentes por el hermano Nicéforo María desde 1962, aunque no se especifica la razón por la cual los descartó.

Índice de salud de la colección

La colección de murciélagos presenta un índice de salud general de 79,86 %; al revisar los resultados obtenidos por categoría se evidenció un valor más alto en la categoría uno (9,32), ya que los ejemplares cuentan con todas sus partes, presentan un montaje adecuado y no presentan hongos ni ningún tipo de deterioro, lo que facilita su determinación y estudio (**Figura 1A**). En cuanto al método de conservación (unidades de almacenamiento,

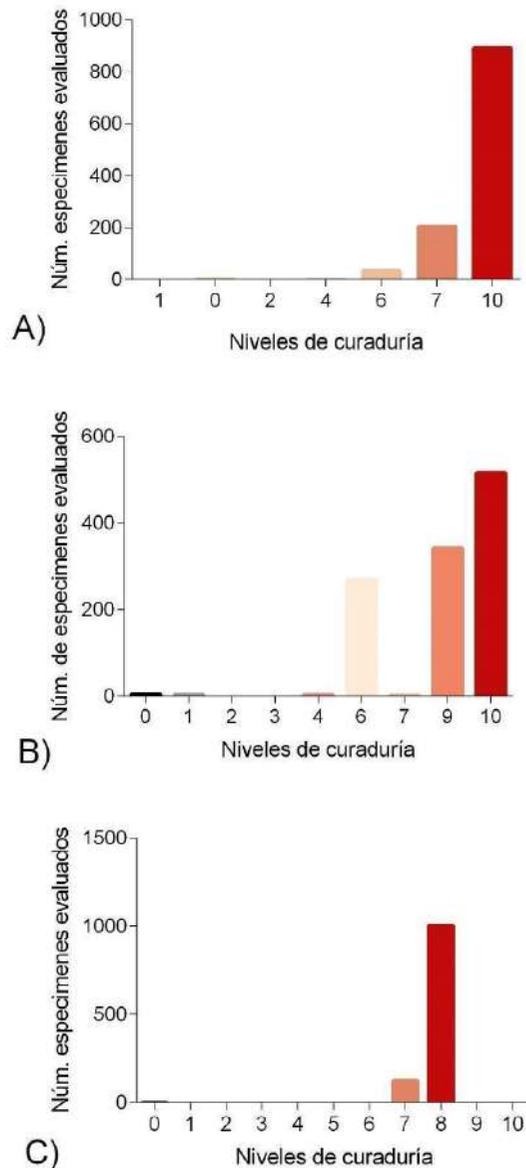


Figura 1. Índice de salud de la colección de quirópteros del Museo de La Salle. A) Categoría 1: Estado del ejemplar. B) Categoría 2: Datos del ejemplar. C) Categoría 3: Registro, catalogación, identificación taxonómica y organización de los ejemplares. En general los ejemplares se encuentran en óptimas condiciones, lo que se refleja en valores superiores al nivel 5

formaldehído, algodón), se observó que las muestras en etanol y en seco están en condiciones óptimas, sin embargo, es necesario un proceso curatorial en cuanto a las etiquetas y los cráneos que se encuentran destruidos casi por completo, ya que no son útiles para los estudios taxonómicos, aunque la información asociada podría considerarse en otras áreas.

En la categoría dos el puntaje fue alto (8,72), lo que indica que la colección está en buen estado y los ejemplares presentan los campos establecidos según el estándar Darwin Core y los criterios adoptados por el museo (**Figura 1B**). En la categoría tres, es decir, el registro, la catalogación, la determinación taxonómica y la organización de los especímenes, el índice fue de 7,89, correspondiente a 1.006 especímenes determinados a nivel de especie que fueron revisados por especialistas en el grupo. Además, se observó que la colección cuenta con ocho familias de las nueve reportadas en Suramérica, y con 67 géneros de los 74 reportados en la literatura (**Díaz, et al.**, 2011), así como con 110 especies de las 250 reportadas en Suramérica (**Tabla 1S**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1159/2895>). Las especies con mayor número de ejemplares en la colección son *Carollia perspicillata* (Linnaeus, 1758), con 142 ejemplares, seguida por *Glossophaga soricina* (Pallas, 1766), con 80 ejemplares, y *Molossus molossus* (Pallas, 1766), con 76 ejemplares. Asimismo, la colección cuenta con tres géneros (*Hipposideros*, *Eidolon* y *Pteropus*) de especies presentes en China, África, Indonesia y Estados Unidos (**Tabla 2S**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1159/2896>). Es necesario resaltar que todos los especímenes se encuentran en gavetas debidamente rotuladas y organizadas filogenéticamente, lo que facilita su ubicación (**Figura 1C**).

Los ejemplares de la colección de murciélagos del Museo han sido referenciados en 14 publicaciones científicas. La publicación más representativa es el libro *Quirópteros, Museo La Salle* (**Hermano Nicéforo**, 2004), publicación que no solo recopiló la información de más del 90 % de los especímenes que tiene la colección, sino que documentó cada una de las notas que el Hermano Nicéforo consignó en sus diarios de campo. De dicho trabajo se resalta el nivel de detalle de las características morfológicas más relevantes de algunos de los especímenes. El libro respetó los escritos del Hermano Nicéforo María y la información tal como la registró hace más de 50 años; de haber sido publicado en su época, probablemente este hubiese sido el primer libro que registrara la diversidad de murciélagos en el país.

En cuanto a la categoría cuatro, la colección se clasificó en el nivel seis, ya que las unidades de almacenamiento son accesibles, pero no tienen suficiente espacio para el crecimiento futuro de la colección. Por otra parte, si bien las etiquetas permiten asociar la muestra con la base de datos y presentan la información taxonómica, la localidad y los datos de recolección, en algunos casos están desactualizadas y no se encuentran sujetas al espécimen, lo que facilita la pérdida de información y la confusión de los ejemplares. Por último, la colección no cuenta con un protocolo de consulta que estipule las condiciones bajo las cuales se deben manipular las muestras.

Completitud de los datos de la colección

La integridad de los datos mostró que solo el 30,75 % de los campos obligatorios para los especímenes que se recolectaron antes del 2000 están vacíos. Con respecto a cada subcategoría, los porcentajes corresponden al 8,93 % de los campos referidos al evento de recolección (714 campos), 9,74 % de los campos taxonómicos, y 6,03 % de los campos geográficos. Por otra parte, para los especímenes recolectados después del 2000 se evidenció que el 2,20 % de los campos obligatorios están vacíos. En el caso de los campos del evento de la recolección, y los taxonómicos y geográficos, se encontró que el 2,21, el 1,14 y el 3,89 %, respectivamente, estaba vacío (**Figura 2**). Este número reducido de campos vacíos se debe a la información conservada en el centro de documentación, ya que, los datos que añaden importancia al ejemplar en físico, también completan la información de la base de datos, pues algunos de los comentarios del Hermano Nicéforo María hechos de su puño y letra, ayudaron a reconstruir las sinonimias de las especies de la colección. Asimismo,

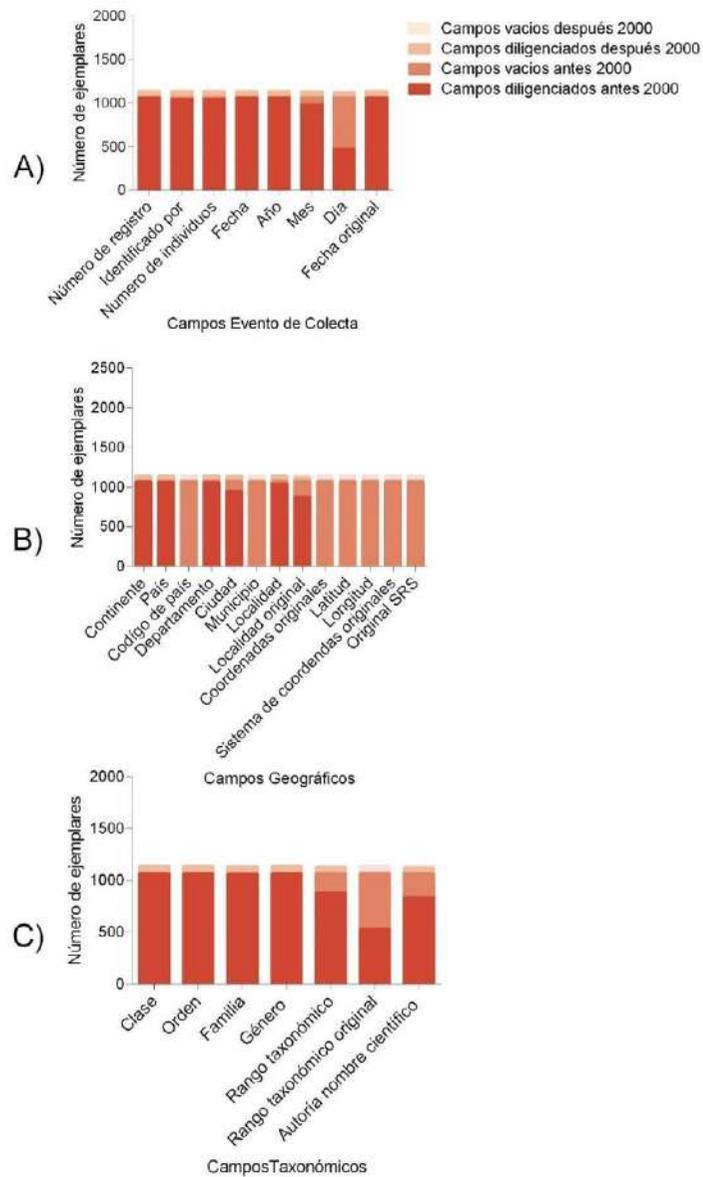


Figura 2. Completitud de datos de la colección de quirópteros del Museo de La Salle- Bogotá. Se presentan cuatro categorías, dos para campos vacíos y dos para campos completos. Las dos categorías son para registros antes y después del 2000. A) Elementos del evento de recolección. B) Datos geográficos. C) Datos taxonómicos. Los ejemplares cuentan con gran parte de la información requerida por los estándares y requerimientos del MLS, una mayor completitud en campos de evento de recolección y taxonómicos.

gran parte de la información contenida en documentos, libros, cartas e, incluso, dentro de la misma colección, ilustra un 43 % de la diversidad de murciélagos de Colombia, lo que aumenta y garantiza el valor documental y patrimonial de la colección.

Representatividad geográfica

La representación geográfica de la colección es del 75 %, equivalente a registros de 24 de los 32 departamentos del país. Como se observa en la **figura 3**, el departamento con el mayor número de registros es Norte de Santander, con 293 registros y 38 especies, siendo *Lonchorhina aurita* (Tomes, 1863) la más representada; le sigue Santander, con 174 registros y 18 especies de las que *Mormoops megalophylla* (Peters, 1864) es la de

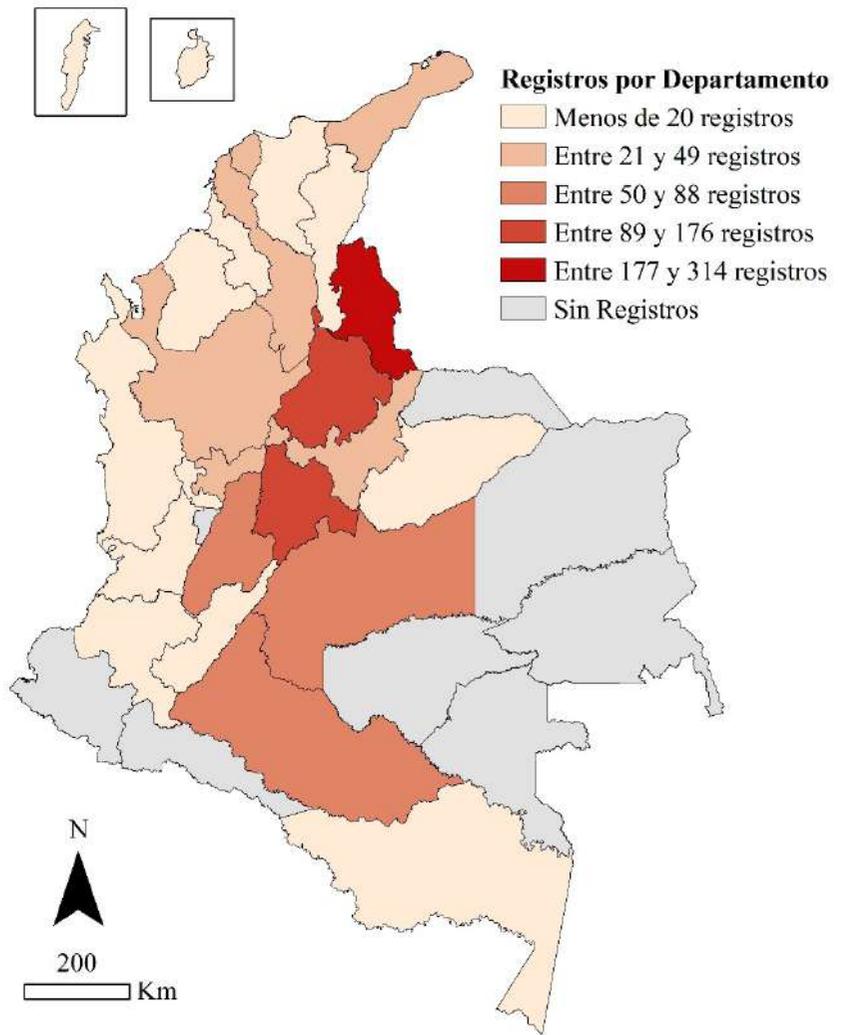


Figura 3. Representación geográfica de la colección de quirópteros del Museo de La Salle. Se destaca que la región con un mayor número de registros es Norte de Santander, seguida por Santander y Cundinamarca

mayor representación, y Cundinamarca con 161 registros y 23 especies, siendo *C. perspicillata* (Linnaeus, 1758) la más representada. En la colección no hay ejemplares de los departamentos de Arauca, Guainía, Guaviare, Nariño, Putumayo, Quindío, Vaupés y Vichada (**Figura 3**). Además, se observó un sesgo en las áreas muestreadas, pues la mayoría de los especímenes fueron recolectados por los hermanos Lasallistas y provienen de los municipios donde esta comunidad religiosa tiene algún tipo de propiedad (centros de educación o fincas).

Discusión

En el estudio se concluye que la determinación del estado de salud de una colección requiere, no solamente describir la situación actual de los ejemplares y sus medios de almacenamiento, sino reconstruir la historia en cuyo marco se ha consolidado la colección. Esto porque, además de una correcta preservación y conservación de los ejemplares biológicos, la adecuada documentación de todas las acciones relacionadas con la colección garantiza su mantenimiento a lo largo del tiempo y permite la trazabilidad de las acciones que se hayan desarrollado.

Índice de salud de la colección

Categoría uno: estado del ejemplar. Teniendo en cuenta los índices de salud de diferentes estudios, se considera como una colección ideal aquella con valores superiores al 60 % en los resultados de los ISC generales (**Simmons & Muñoz-Saba, 2005**). Los resultados de la evaluación de la colección de murciélagos del MLS (79,8 %) evidenciaron que, en general, esta se encuentra en buen estado. Al compararla con otras colecciones como la del Museo de Zoología del Ecuador (QCAZ), con un 79 %, la colección ornitológica del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt (IAvH), con un 93 %, y la colección nacional de mamíferos del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (CNMA), con un 70 %, se constata que los resultados referidos al Museo de La Salle reflejan un ISC alto (**Rivera-León, et al., 2018**), lo que indica un buen estado de las muestras y de la información asociada.

Por otra parte, la proporción de ejemplares faltantes en el MLS (0,61 %) es bajo en comparación con otras colecciones de mamíferos, como la Colección Nacional de Mamíferos (CNMA), que en el 2011 registró un 2,68 % y en el 2015, un 1,22 %; la del Instituto de Ciencias Naturales (ICN), con 8,3 %, o la del Museo de Zoología (QCAZ), con 4 % (**Rivera-León, et al., 2018**). Se evidencia la ausencia de ejemplares en diferentes instituciones y es común que en colecciones históricas, como la del MLS, con el tiempo se pierdan especímenes por la falta de protocolos actualizados y personal capacitado (**Camacho & Burneo, 2009**), por lo que el valor bajo en este ítem es un indicador de un manejo adecuado de la colección.

Categoría dos: datos del ejemplar. Los resultados obtenidos (8,72) reflejan un alto nivel de información en las etiquetas y en la base de datos, además de las descripciones detalladas de varios ejemplares, comparados con otras colecciones y metodologías, como la QCAZ, en la cual el valor del índice incrementó después de las correcciones taxonómicas y geográficas, pasando de 0,63 a 0,79, lo que ha permitido una mejora de las muestras en esta categoría (**Camacho & Burneo, 2009**). Otra colección con condiciones óptimas en cuanto a la completitud de sus datos es la de la Universidad Javeriana, en la que los campos vacíos corresponden a datos geográficos (93 campos), lo que refleja su ausencia en las libretas de campo, o registros antiguos en los cuales la recuperación de la información se dificulta (**Corredores, 2009**).

Categoría tres: registro de la catalogación, la identificación taxonómica y la organización de los especímenes. En esta categoría se obtuvo un valor de 7,89, lo que demuestra que la colección está adecuadamente determinada a nivel de especie después de ser revisada por expertos. Vale la pena mencionar que la revisión de la mayoría de los especímenes se llevó a cabo entre el 2003 y el 2006, por lo que es necesaria una actualización taxonómica, así como verificar las etiquetas de los especímenes recientemente actualizadas, ya que estos no están bajo los estándares de información y materiales establecidas para las colecciones del Museo. Por el contrario, colecciones como la de anfibios del IAvH y la de himenópteros del CIE presentaron más del 70 % de sus especímenes en categorías menores a 5, lo que evidencia la necesidad de hacer una revisión de las etiquetas, la información y la determinación taxonómica (**Simmons & Muñoz-Saba, 2005**). Esto demuestra la importancia de contar con personal que revise periódicamente las colecciones, así como acuerdos con instituciones extranjeras o nacionales y sociedades de investigación involucradas en proyectos de revisión y actualización de la taxonomía en un determinado grupo (**Rodríguez & Morfee, 2017; Camacho & Burneo, 2009**).

Categoría cuatro: aspectos físicos de la colección. Se evidenciaron algunos problemas de humedad y de presencia de insectos en el depósito, lo que en el futuro puede representar un riesgo si no se hace el manejo adecuado. Por ello es necesario establecer un protocolo para el control de las condiciones ambientales y los factores biológicos que pueden afectar las muestras, pues, aunque no se observaron ejemplares afectados, deben hacerse el control preventivo y las inspecciones visuales para mejorar la estabilidad de las unidades de almacenamiento (**Story, 1986; Simmons, 2013**). Además, se evidenció la necesidad

de un protocolo de préstamo o revisión en el que se establezcan los periodos en los que el espécimen estará fuera de la institución para reducir el número de espacios ausentes en la colección (**Castaño & Ramírez, 2018**).

Las desventajas de la infraestructura de las colecciones que conservan sus ejemplares en instalaciones antiguas es una de las amenazas a las cuales se ven expuestas las colecciones en general. Por ejemplo, la colección de mastozoología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) presenta daños en sus instalaciones e infraestructura por la falta de mantenimiento del depósito, lo que ha producido su deterioro (**Lorenzo, et al., 2006**). Considerando el crecimiento de las colecciones, es necesario asignar presupuesto para mejorar la infraestructura e incorporar personal que apoye sus procesos de curaduría, registro, digitalización y gestión (**Lorenzo, et al., 2006; Simmons, 2013; Trujillo, et al., 2014**).

Esta es la primera vez que se desarrolla una evaluación integral de la colección. Es pertinente que se hagan evaluaciones de los índices periódicamente, ya que, como se ha evidenciado en otras colecciones, como la del CNMA, los valores del índice y el número de especímenes en cada categoría varían con el tiempo y las revisiones realizadas (**Rivera-León, et al., 2018**).

Completitud de los datos

La integridad de los datos de la colección de murciélagos registró porcentajes bajos para las muestras recolectadas después del 2000 (2,05 %). Los resultados de estas muestras reflejan que se omite una gran cantidad de datos en el momento de la recolección, a pesar de tener herramientas para su registro, como GPS y mapas. Por ello es necesario que en los protocolos de ingreso a las colecciones se solicite la mayor cantidad de información posible, incluidos datos adicionales sobre la ecología y el comportamiento, y archivos complementarios como fotografías y audios que permitan obtener el mayor detalle del ejemplar (**González, et al., 2008**).

Esta situación no es única del MLS. El Museo Nacional de Historia Natural de Cuba y el Museo de La Plata han detectado vacíos en los datos de los especímenes y limitaciones en su uso (**Duarte, 2017; Paradell & Defea, 2017**). Por ello es necesario completar los campos sobre la taxonomía y la geografía (coordenadas), con el fin de mejorar la base de datos garantizando la calidad de la información para su uso en investigación, y evitar la pérdida de datos que da lugar a la especulación (**Naranjo, 2004; Cristín & Perrilliat, 2011; Abrahamson, 2015**). Además, deben mantenerse los registros de todos los cambios que aparecen en los especímenes o en la colección (taxonomía, ubicación, intervenciones, consultas, préstamos, entre otros) para evitar que las bases de datos estén desactualizadas (**González, et al., 2012**). Para el caso del MLS, la revisión de los documentos asociados con la colección de mamíferos permitió determinar gran parte de los cambios que ha sufrido la colección e incorporar dicha información a la matriz de datos de la misma.

Representatividad geográfica en Colombia

Dado el bajo número de salidas de los investigadores del Museo de La Salle, se consideró que mediante intercambios o donaciones de instituciones con presencia en los departamentos en los que no hay registros, mejoraría la representatividad geográfica de la colección. Estas medidas favorecen la descentralización de las colecciones, ya que el intercambio de duplicados con distintas entidades garantiza que, ante un evento inesperado, se pierdan para siempre los registros espaciales y temporales de dichas recolecciones (**Lorenzo, et al., 2012**). Comparado con la colección de mamíferos de la Pontificia Universidad Javeriana, donde solo 11 departamentos están representados (**Pérez-Torres, et al., 2007**), o la del museo de la Universidad del Valle, con una cobertura de 15 departamentos, entre los que se encuentran Boyacá, Caldas y Caquetá (**Universidad del Valle, 2017**), el MLS se destaca por poseer una mayor representación de departamentos, lo que resalta el valor de los datos que custodia.

Conclusiones

El Museo de La Salle es uno de los repositorios de biodiversidad más antiguos del país. En él se han mantenido las condiciones necesarias para preservar los especímenes que se encuentran depositados en sus colecciones después de superar grandes dificultades, como el incendio durante el llamado Bogotazo, o la falta de personal especializado que revise y monitoree de forma constante la colección.

En este estudio se evidenció la necesidad de llevar a cabo una revisión y una curaduría de los especímenes para detectar problemas y activar los protocolos o acciones requeridas ante los diferentes tipos de afectaciones que puedan deteriorar las muestras.

En cuanto a su infraestructura, actualmente la colección no tiene suficiente espacio para nuevas muestras, por lo que es necesario ampliar su área asignando los recursos necesarios que garanticen el mobiliario requerido, con el fin de asegurar su crecimiento y su conservación a largo plazo.

Aunque el estándar Darwin Core y los criterios del Museo de La Salle requerirían completar los datos con fechas anteriores al 2000, no es posible hacerlo ya, pero sí podrían georreferenciarse, además de ingresar especies que no están en la colección mediante los intercambios con diferentes instituciones.

Por último, cabe resaltar que las colecciones científicas, además de mantener los ejemplares en óptimas condiciones, en un mobiliario idóneo y en unidades de almacenamiento adecuadas, deben tener una documentación completa de todas las acciones y decisiones que se tomen, ya que ello garantizará su correcta gestión en el futuro.

Información suplementaria

Tabla 1S. Familias, géneros y especies reportados para Sudamérica en contraste con los ejemplares depositados en el Museo de La Salle (MLS). Vea la tabla 1S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1159/2895>

Tabla 2S. Registros taxonómicos de las familias, géneros y especies de quirópteros presentes en la colección de mamíferos del Museo de La Salle, teniendo en cuenta lo reportado en la bibliografía. (**). Vea la tabla 2S en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1159/2896>

Anexo 1. Categorías ISC. Vea el anexo 1 en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1159/2897>

Agradecimientos

Agradecemos al director del Museo de la Salle, Fernando Sarmiento Parra, y a todo su personal por su apoyo en el proceso.

Contribución de los autores

NGL: proponente del trabajo, selección del grupo de estudio, captura y análisis de datos y escritura del manuscrito; JSC: captura y análisis de datos, y apoyo en la redacción del manuscrito; CCR: revisión histórica, evaluación de los documentos asociados con la colección, revisión y elaboración del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Abrahamson, B. (2015). Tracking changes in Natural History collections utilization: A case study at the Museum of Southwestern Biology at the University of New Mexico. *Collection Forum*, **29**: 1-21.
- Acosta, A. & Vallejo, M. (2005). Application of biodiversity knowledge indicators for the diagnosis and comparison of biological collections. *NOVA*, **3**: 1-116.

- Ariño, A.** (2010). Approaches to estimating the universe of natural history collections data. *Biodiversity Informatics*. **7**: 81-92.
- Camacho, A. & Burneo, S.** (2009). Assessment of the Mammal Collection at the *Museo de Zoología* of the *Pontificia Universidad Católica del Ecuador* – QCAZ. *Museology*. **12**: 1-16.
- Cárdenas, J. & Delgadillo, D.** (2019). Diagnosis of the status of the anuran collection at La Salle Museum, Bogotá, Colombia. *Biota Colombiana*. **20**: 1-25.
- Castaño-Ramírez, N.D. & Ramírez-Chaves, H.E.** (2018). Sistematización y estimación del índice de salud de la colección de mamíferos (Mammalia) del Museo de Historia Natural de la Universidad de Caldas, Colombia. *Bol. Cient. Mus. His. Nat. Universidad de Caldas*. **22**: 90-103.
- Corredores, L.** (2009). Diagnóstico de la colección de referencia de anfibios de la Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de grado para optar por el título de Bióloga. Departamento de Biología, pp. 1-125.
- Cristín, A. & Perrilliat, M.** (2011). The scientific collections and the protection of paleontological heritage. *Boletín Sociedad Geológica México*. **63**: 421-427.
- Darwin Core Task Group.** (2009). Simple Darwin Core. Biodiversity Information Standards (TDWG). Fecha de consulta: entre junio y agosto de 2019. Disponible en: <http://rs.tdwg.org/dwc/terms/simple/>.
- Díaz, M. M., Aguirre, L. F., Bárquez, R. M.** (2011). Clave de identificación de los murciélagos del cono sur de Sudamérica. Centro de Estudios en Biología Teórica y Aplicada (1-94). Cochabamba, Bolivia. Etreus.
- Duarte, S.** (2017). Valoración e índice de salud de la colección de Hymenoptera del Museo Nacional de Historia Natural de Cuba. *Revista Cubana de Zoología*. **505**: 22-30.
- Dunnum, J., McLean, B., Dowler, R.** (2018). Systematic Collections Committee of the American Society of Mammalogists, Mammal collections of the Western Hemisphere: a survey and directory of collections. *J. Mammal.* **99**: 1307-1322.
- Espitia-Barrera, J.E., Castellanos-Morales, C.A., Bonilla, E.C.** (2013). La Colección Ictiológica del Museo de La Salle (MSL), Universidad de La Salle, Bogotá, DC. *Biota Colombiana*. **14**: 1-32.
- García, N. & Morffe, J.** (2012). Ejemplares e información asociada: el ying y el yang de las colecciones biológicas. *Carta Cuba*. **4**: 17-18.
- García, N. & Morffe, J.** (2013). Colecciones de historia natural, a medio camino entre el patrimonio natural y el cultural. *Carta Cuba*. **5**: 14-16.
- González, H., Silva, G., García, N., Pérez, A.** (2008). Curatorial procedure for zoological collections. *Act. bot. Cuba*. **202**: 13-29.
- González-Ruiz, N., Guzmán, D., Guzmán, A., Hernández-Betancourt, S., Hortelano-Moncada, Y., Iniguez, L., Jiménez-Guzmán, A., ... , Zúñiga-Ramos, M.** (2012). The mammals of Mexico in the scientific collections of North America. *Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México*. **3**: 239-262.
- Hermano Nicéforo María.** (2004). Quirópteros Museo La Salle. Bogotá, Colombia: Grupo editorial Ediciones Unisalle. pp. 231.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi.** (2014). Cartografía base 1:100.000 de Colombia. Formato Geodatabase. Bogotá D. C., Colombia.
- León-Cortés, J., Lorenzo, C., Pozo, C.** (2003). Colecciones biológicas de El Colegio de la frontera Sur, México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). pp. 310.
- Llorente-Bousquets, J., Koleff-Osorio, H., Benítez-Díaz, L., Lara-Morales.** (1999). Síntesis del estado de las colecciones biológicas mexicanas. Resultados de la encuesta “Inventario y Diagnóstico de la actividad taxonómica en México” 1996-1998. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. pp. 143.
- Lorenzo, C., Espinoza, E., Briones, M., Cervantes, F.** (2006). Colecciones mastozoológicas de México. En M. Hernández y J. Barragán. Colección de Mamíferos del Instituto Tecnológico de Huejutla (397-407) Mexico: Asociación Mexicana de Mastozología.
- Lorenzo, C., Álvarez-Castañeda, S., Arellano, E., Arroyo-Cabrales, J., Bolaños, J., Briones-Salas, M., Cervantes, F., Zúñiga-Ramos, M.** (2012). The mammals of Mexico in the scientific collections of North America. *Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México*. **3**: 239-262.
- McDonough, M., Parker, L., Rotzel-McInerney, N., Campana, M., Maldonado, J.** (2018). Performance of commonly requested destructive museum samples for mammalian genomic studies. *J. Mammal.* **99**: 789-802.

- McLean, B.S., Bell, K.C., Dunnum, J.L., Abrahamson, B., Colella, J.P., Deardorff, E.R., Cook, J.A.** (2016). Natural history collections-based research: progress, promise, and best practices. *J. Mammal.* **97**: 287-297.
- McGinley, R.J.** (1993). Where's the management in collection management? Planning for improved care, greater use, and growth of collections. International Symposium and First World Congress on the preservation and conservation of Natural History Collections. **3**: 309-333.
- Naranjo, E.** (2004). La custodia y el manejo de la colección nacional de moluscos. *Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas.* **7**: 35-40.
- Ossa, L., Giraldo, M., López, G., Dias, L., Rivera, F.** (2012). Colecciones biológicas: una alternativa para los estudios de diversidad genética. *Boletín Científico Centro de Museos Historia Natural.* **16**: 143-155.
- Paradell, S. & Defea, B.** (2017). Biodiversity indicators in scientific collections: diagnosis of the Cicadellidae collection (Insecta: Hemiptera) of *Museo de La Plata*, Argentina. *Caldasia.* **39**: 19-32.
- Pérez-Torres, J., Palacio-Guerrero, J., Sánchez, C., Pardo, D., Cortés, N.** (2007). Catálogo de los mamíferos del museo Javeriano de historia natural Lorenzo Uribe Uribe, S.J. (Pontificia Universidad Javeriana). *Universitas Scientiarum. Revista de la Facultad de Ciencias, Edición especial I.* **12**: 131-142.
- QGIS Development Team.** (2012). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://www.qgis.org>
- Revelo, D. E. M. & Uribe, C. A. M.** (2017). Diagnóstico de la colección de escarabajos coprófagos (Scarabaeidae: Scarabaeinae) del Museo Entomológico Francisco Luis Gallego, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. *Revista de la Facultad de Ciencias.* **6** (1): 93-106.
- Restrepo, J., Lleras, C., Cortés, A., Rodríguez, J.** (2009). Curaduría en un museo. Nociones básicas. Ministerio de Cultura- Museo Nacional de Colombia Programa Red Nacional de Museos. Bogotá, Colombia. p. 1-76.
- Rivera-León, V., Hortelano-Moncada, Y., Cervantes, F.** (2018). Health level of a mammal collection. *Revista Mexicana de Biodiversidad.* **89**: 402-411.
- Rodríguez, G.** (2002). El naturalista Antoine Rouhaire (Hermano Nicéforo María) y el desarrollo de la zoología sistemática en Colombia. *Revista Acad. Colomb. Ci. Exact.* **26**: 229-237.
- Rodríguez, G. & Morfee, J.** (2017). Conservación y manejo de colecciones zoológicas. *Diversidad biológica de Cuba: métodos de inventario, monitoreo y colecciones biológicas.* Editorial AMA, La Habana, p. 502.
- Rueda-Solano, L. A.** (2005). Índice de salud de la colección herpetológica del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Fecha de consulta: julio de 2020. Disponible en: <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/9853>
- Simmons, J. & Muñoz-Saba, Y.** (2005). Care, management and conservation of biological collections. *Conservación internacional Serie manual de campo.* **16**: 1-146.
- Simmons, J.** (2013). Application of preventive conservation to solve the coming crisis in collections management. *Collection Forum.* **27**: 89-101.
- Story, K.O.** (1986). Approaches to pest management in museums. *Conservation Analytical Laboratory.* Washington, DC: Smithsonian Institution. **30**: 1-87.
- Trujillo-Trujillo, E., Vargas-Triviño, P., Salazar-Fajardo, L.** (2014). Classification, management and conservation of biological collections: a look at their importance for biodiversity. *Momentos de Ciencia.* Universidad de la Amazonia. **11**: 97-106.
- Universidad del Valle.** (2017). Colección de mamíferos de la Universidad del Valle, 5739 registros, aportados por Giraldo-López, A. (Proveedor de los metadatos), Murillo García O.E. (Curador de la colección, contacto del recurso, proveedor de los metadatos), Arenas, D. & Ruano, L. (Creadores del recurso). <http://doi.org/10.15472/jzume7>, versión 7.2. (actualizado el 12/09/2018).

Artículo original

Fitoperifiton asociado con macrófitas en una ciénaga tropical de la cuenca del río Atrato, Quibdó (Chocó), Colombia

Phytoperiphyton associated with macrophytes in a tropical floodplain of the Atrato River basin, Quibdó, Chocó-Colombia

● Zuleyma Mosquera-Murillo

Grupo de Limnología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Tecnológica del Chocó, Chocó, Colombia

Resumen

El fitoperifiton es una de las comunidades más importantes en las ciénagas o lagos de planos inundables por el papel que desempeña en el flujo de la energía, el ciclo de nutrientes y la productividad primaria de estos importantes ecosistemas. En este estudio se analizó la comunidad fitoperifítica asociada con tres especies de macrófitas (*Ludwigia sedoides* Humb. and Bonpl. Hara 1953, *Nymphoides indica* L. Kuntze, 1891 y *Eichhornia azurea* Swartz. Kunth, 1843) en una ciénaga tropical de la cuenca del río Atrato, Chocó, Colombia. Los muestreos se realizaron entre mayo y agosto del 2014 mediante la recolección de muestras de fitoperifiton de raíces de tres ejemplares de cada especie estudiada. Simultáneamente se midieron algunas variables físicas y químicas del agua circundante. Se registró una densidad de 1.160,63 ind.cm⁻², distribuida en 82 morfoespecies, 26 familias, 16 órdenes y ocho clases, siendo la clase Bacillariophyceae la más abundante en las tres especies estudiadas. *L. sedoides* presentó la mayor densidad y riqueza fitoperifítica asociada. Se registraron diferencias en los valores de densidad, riqueza, diversidad y dominancia del fitoperifiton de las macrófitas estudiadas ($p < 0,05$). El análisis de agrupamiento basado en el índice de Jaccard indicó poca similitud en la composición de la comunidad perifítica entre las especies de macrófitas, así como un marcado efecto del periodo hidrológico. En el estudio se establece la línea de base para el conocimiento de las comunidades fitoperifíticas asociadas con macrófitas en las ciénagas de zonas bajas tropicales como las del río Atrato.

Palabras clave: Composición; Ciénagas; Perifiton; Plantas acuáticas; Río Atrato.

Abstract

The phytoperiphyton is one of the main communities in swamps or floodplains given its fundamental role in the energy flow, the nutrient cycle, and the primary productivity of these ecosystems. In the present study, I analyzed the phytoperiphytic community associated with three macrophyte species (*Ludwigia sedoides* Humb. and Bonpl. Hara 1953, *Nymphoides indica* L. Kuntze, 1891, and *Eichhornia azurea* Swartz. Kunth, 1843) in a tropical swamp in the Atrato River basin, Chocó-Colombia. I collected the phytoperiphyton samples between May and August 2014 from the roots of three specimens of each of the species under study, and I measured some physical and chemical variables of the surrounding water. I registered a density of 1160.63 ind.cm⁻² distributed in 82 morphospecies, 26 families, 16 orders, and eight classes, the Bacillariophyceae class being the most abundant. *L. sedoides* presented the highest density and associated phytoperiphytic richness. I found differences in the density, richness, diversity, and dominance of the phytoperiphyton among the studied macrophytes ($p < 0.05$). Clustering analysis based on the Jaccard index indicated a low similarity in the composition of the phytoperiphytic community among the macrophyte species, as well as a marked effect of the hydrological period. The present study constitutes a baseline for the knowledge of the phytoperiphytic communities associated with macrophytes in the swamps of low tropical areas such as the Atrato River basin.

Keywords: Composition; Wetland; Periphyton; Aquatic plants; Atrato River.

Citación: Mosquera-Murillo Z.
Fitoperifiton asociado con macrófitas en una ciénaga tropical de la cuenca del río Atrato, Quibdó (Chocó), Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1060-1072, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1207>

Editor: Gabriel Roldán

***Correspondencia:**
Zuleyma Mosquera-Murillo;
zuleymamosquera@gmail.com

Recibido: 10 de mayo de 2020

Aceptado: 14 de agosto de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

Las ciénagas o lagos de planos inundables son ecosistemas de río con conexión directa o indirecta, temporal o permanente, con una columna de agua que no supera los 10 m (Ríos, *et al.*, 2008) y que, entre otras funciones, amortiguan los pulsos hidrológicos, influyen en los ciclos biogeoquímicos y constituyen hábitats de gran biodiversidad (Gopal, *et al.*, 2000; Millennium Ecosystem Assessment, 2005). En Colombia este tipo de ecosistemas acuáticos cubren un área aproximada de 5.622.750 ha, y la zona media y baja del río Atrato es uno de los más importantes por su gran diversidad biológica y sus características ecológicas y ambientales (Corpouraba & Codechoco, 2007).

La mayoría de estos ecosistemas son poco profundos y, generalmente, soportan extensos bancos de macrófitas acuáticas que constituyen centros importantes para el mantenimiento de la diversidad acuática (Mormul, *et al.*, 2010), especialmente el fitoperifiton, pues ofrecen una gran superficie para la colonización de esta comunidad adherente (Algarte, *et al.*, 2009); además, las características morfoanatómicas de las macrófitas aumentan la heterogeneidad espacial y pueden incidir en la composición, abundancia, biomasa y productividad de la comunidad fitoperifítica que, vive en las hojas, tallos y raíces sumergidas de estas plantas (Hinojosa-Garro, *et al.*, 2010).

El fitoperifiton es una biopelícula que se forma en sustratos sumergidos naturales y artificiales y está compuesta por algas y cianobacterias, bacterias, hongos y microinvertebrados, cuya compleja estructura también incluye mucílagos y detritos orgánicos, así como un componente inorgánico proveniente de diferentes tipos de partículas (Hameed, 2003). Esta comunidad tiene un papel fundamental en el ciclo de nutrientes, el flujo de la energía y la productividad primaria de los sistemas de tipo cenagoso (Steinman, *et al.*, 2016).

En Colombia son varios los estudios que han contribuido al conocimiento de la composición, la estructura y la ecología de las comunidades fitoperifíticas asociadas con macrófitas en ciénagas, entre ellos cabe mencionar los de Montoya-Moreno & Aguirre-Ramírez (2008, 2009), Montoya-Moreno, *et al.* (2013), Osorio-Avila & Manjarrés-García (2015), De la Hoz-Barrientos & Osorio-Ávila (2016), Andramunio-Acero, *et al.* (2018), y Lozano-Peña, *et al.* (2019). En el departamento del Chocó los únicos trabajos publicados sobre esta comunidad son los de Maturana, *et al.* (2002), quienes estudiaron la estructura del fitoperifiton en *Nymphaea* sp., así como los de Abuhatab, *et al.* (2005) y Salas, *et al.* (2011) sobre el fitoperifiton asociado con sustratos naturales y artificiales en ríos.

El objetivo del presente estudio fue estudiar la composición y la similitud taxonómica de las comunidades fitoperifíticas adheridas a tres especies de macrófitas arraigadas en hojas y tallos flotantes de diferente morfología en una ciénaga tropical de la cuenca del río Atrato (Chocó) Colombia.

Materiales y métodos

Área de estudio

Los muestreos se hicieron en la ciénaga Plaza Seca, ubicada en el corregimiento de Sanceno, Quibdó (Chocó), Colombia, entre los 5°45'15,5" N, 76°42'42,1" O a 43 m s.n.m., con una precipitación promedio anual de 8.000 mm, temperatura promedio de 26,8 °C y una humedad relativa del 85,7 %, correspondiente a una zona de vida de bosque muy húmedo tropical (bmh-T) (Rangel-Ch, *et al.*, 2004). Plaza Seca es la ciénaga principal de un conjunto de ciénagas en racimo y está conectada directamente con el río Atrato por medio del caño Gerunguidó. Las macrófitas *Ludwigia sedoides* (Humb. and Bonpl.) Hara 1953, *Nymphoides indica* (L.) Kuntze 1891 y *Eichhornia azurea* (Schwartz) Kunth 1843 dominan la vegetación enraizada de hojas o tallos flotantes en esta ciénaga (Figura 1).

Según Correa (2014), los sistemas cenagosos de la cuenca del río Atrato se caracterizan por su alta transparencia, pH ácido, baja conductividad, y concentración de sólidos, oxígeno y nutrientes. Asimismo, tienen un desarrollo genérico de suelos arcillosos muy incipientes,



Figura 1. Especies de macrófitas dominantes en la ciénaga Plaza Seca: **a.** *Nymphoides indica*, **b.** *Eichhornia azurea*, **c-d.** *Ludwigia sedoides*

de la edad terciaria, que permanecen inundados casi todo el año y se localizan en las áreas más bajas (pendientes entre 1 y 8 %), poseen poca fertilidad, son químicamente ácidos, orgánicos, de textura generalmente fina, y se ven afectados por un acentuado intemperismo (Duque, 1990). La elevada precipitación, característica de esta región, induce procesos intensos de alteración y lavado, por lo cual los suelos son ácidos y pobres en nutrientes (Instituto Geográfico Agustín Codazzi - IGAC, 2006).

Fase de campo

Los muestreos se hicieron entre mayo y agosto del 2014 durante los periodos hidrológicos de aguas altas y aguas bajas de la zona. Las muestras se tomaron en cada periodo de los parches de las macrófitas dominantes en la ciénaga (*L. sedoides*, *N. indica* y *E. azurea*) en las raíces de tres ejemplares adultos de cada especie. Las raíces se cortaron con tijeras podadoras, se depositaron en bolsas plásticas a las que se les agregó agua de la ciénaga previamente filtrada y, posteriormente, se fijaron con formol al 4 %. En la zona superficial de la ciénaga se midió *in situ* el oxígeno disuelto, el pH, la temperatura del agua, la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos con una sonda multiparamétrica HACH® HQ30d, en tanto que la transparencia se evaluó con un disco de Secchi. Se tomaron muestras de agua para el análisis de nutrientes (nitratos, nitritos, amonio y ortofosfatos) y de la alcalinidad total siguiendo las recomendaciones de la *American Public Health Association (APHA)*, la *American Water Works Association (AWWA)*, y la *Water Environment Federation (WEF)* (2012).

Fase de laboratorio

Las muestras se llevaron al laboratorio de limnología de la Universidad Tecnológica del Chocó donde se rasparon las raíces con un cepillo de cerdas suaves y el material fitoperifítico se almacenó en frascos plásticos de 50 ml. La identificación taxonómica se efectuó en un microscopio binocular considerando 50 campos y un objetivo de 40X según los trabajos de Parra, *et al.* (1983), Prescott, *et al.* (1983), Krammer & Lange-Bertalot (1991),

Komárek & Anagnostidis (2005), y **Bicudo & Menezes (2006)** y bases de datos digitales (**Guiry & Guiry, 2019**). Se consideraron como individuos organismos unicelulares, colonias y filamentos, los cuales se cuantificaron mediante la fórmula propuesta por **Hauer & Lamberti (2007)**, donde la densidad se expresa como el número de individuos por área de superficie (cm²).

Análisis de los datos

Mediante estadística descriptiva se analizaron los datos físicos y químicos estableciendo el promedio, el rango y el coeficiente de variación de Pearson. En cuanto al fitoperifiton, se determinó la densidad relativa a partir del número de individuos recolectados de cada taxón y su relación con el número total de individuos registrados en cada especie de macrófita. La estructura de la comunidad fitoperifítica se evaluó usando los índices de diversidad (**Shannon & Wiener, 1949**) y de dominancia (**Simpson, 1949**), y la riqueza específica, empleando el programa Past 1.57 (**Hammer, et al., 2001**). Para evaluar las diferencias en la densidad, la diversidad, la dominancia y la riqueza entre las especies de macrófitas se empleó un ANOVA, y sus supuestos inherentes se verificaron como aceptables ($p > 0,05$) usando el programa Minitab® (2014). La similitud en la composición de la comunidad perifítica de las macrófitas estudiadas se analizó con el índice de Jaccard (**Magurran, 1988**), con el cual se ejecutaron análisis de agrupamiento cualitativo utilizando datos sobre la presencia o ausencia de los taxones registrados en el estudio mediante el programa BioDiversity Pro (**McAleece, et al., 1997**).

Resultados

Condiciones físicas y químicas de la ciénaga

En la **tabla 1** se resume la expresión de las variables físicas y químicas evaluadas durante el tiempo de muestreo. Los valores de oxígeno disuelto fueron bajos ($\bar{x}=5,69$ mg. l⁻¹), el pH, ligeramente ácido ($\bar{x}=5,40$ unidades), la temperatura del agua alta ($\bar{x}= 27,91$ °C), lo mismo que la conductividad eléctrica ($\bar{x}=192,17$ μS/cm) y la transparencia ($\bar{x}=0,89$ m); mientras que la alcalinidad fue baja ($\bar{x}= 13,33$ mg. l⁻¹). En el caso de los nutrientes, sus concentraciones fueron inferiores a 0,5 mg. l⁻¹, con excepción de los nitratos ($\bar{x}=0,98$ mg. l⁻¹), y el amonio no fue detectable (<0,010 mg. l⁻¹). El oxígeno disuelto, la temperatura del agua, la conductividad eléctrica, los sólidos, el pH, los nitritos, los nitratos y la transparencia se caracterizaron por su poca variación (<15 %), en tanto que la alcalinidad y los ortofosfatos fueron las variables con mayor variabilidad (>30 %) (**Tabla 1**).

Tabla 1. Valores promedios, rangos y coeficientes de variación de las variables fisicoquímicas

Variables	Unidades	Promedio	Rango	CV %
Oxígeno disuelto	mg. l ⁻¹	5,69	5,53 - 5,86	4,06
Temperatura del agua	°C	27,91	27,86 - 27,97	0,27
Conductividad eléctrica	μS/cm	192,17	200,33 - 188,00	9,31
Sólidos totales disueltos	mg. l ⁻¹	100,95	105,23 - 96,67	6,00
pH	Unidades	5,40	5,08 - 5,72	8,34
Alcalinidad total	mg. l ⁻¹ CaCO ₃	13,33	16,66 - 10,0	35,33
Nitritos	mg. l ⁻¹	0,10	0,11 - 0,09	15,99
Nitratos	mg. l ⁻¹	0,98	0,91 - 1,05	9,88
Amonio	mg. l ⁻¹	<0,010		
Ortofosfatos	mg. l ⁻¹	0,10	0,12 - 0,07	37,27
Transparencia (Secchi)	m	0,89	1,03 - 0,76	15,64

Comunidad perifítica asociada con las macrófitas

La composición de la comunidad perifítica en las tres macrófitas estudiadas totalizó 1,160,63 ind.cm⁻², distribuidos en 82 morfoespecies pertenecientes a 26 familias, 16 órdenes y ocho clases (**Tabla 2**). La macrófita *L. sedoides* presentó la mayor densidad promedio, con 365,32 ind.cm⁻² (61,34 %), seguida de *E. azurea*, con un promedio de 136,5 ind.cm⁻² (23,44 %) y *N. indica*, con un promedio de 88,10 ind.cm⁻² (15,11 %). La prueba de varianza mostró diferencias significativas entre las distintas especies de macrófitas con respecto a la densidad de organismos perifíticos (ANOVA, F=16,67; p= 0,0237) (**Figura 2**).

La clase Bacillariophyceae fue la más abundante, con una densidad relativa promedio de 78,04 % (±10,69), seguida por Zygnemaphyceae, con 12,83 % (±8,22); las restantes clases presentaron densidades promedio inferiores al 10% (**Figura 3**). En términos de riqueza, la clase Zygnemaphyceae ocupó el primer lugar, con un porcentaje promedio de 48,82 % (±7,23) de las morfoespecies, seguida de Bacillariophyceae, con el 33,24 % (±7,61) (**Tabla 2**).

Navicula integra (W. Smith) Ralfs, *Frustulia rhomboides* (Ehrenberg) De Toni, *Eunotia* sp1 Ehrenberg, *Asterionella formosa* Hassall, *Surirella tenera* W. Gregory y *Oedogonium* sp. Link ex Hirn se encontraron entre los organismos más frecuentes en la mayoría de las raíces de las macrófitas estudiadas, siendo las tres primeras las que presentaron las mayores abundancias relativas, con el 56,41 % del total de organismos perifíticos cuantificados (**Tabla 2**).

La riqueza específica fue mayor en *L. sedoides* (34 a 38 morfoespecies) y en *E. azurea* (27 a 40 morfoespecies) que en *N. indica* (17-22 morfoespecies); la diversidad fue también mayor en *L. sedoides* y *E. azurea* (H'= 2,52 y 2,42 bits.ind⁻¹ respectivamente), en comparación con *N. indica* (H'= 1,61 bits.ind⁻¹); asimismo, el índice de dominancia registró valores entre 0,109 y 0,151 para *L. sedoides* y *E. azurea* y entre 0,253 y 0,325 para *N. indica*, es decir, hubo diferencias entre macrófitas (p<0,05). El análisis de varianza evidenció diferencias significativas en la riqueza, la diversidad y la dominancia de las distintas macrófitas estudiadas (p<0,05).

Similitud entre macrófitas

21 morfoespecies fueron exclusivas de *L. sedoides* (25,60 %), 18 (21,95 %) de *E. azurea* y tres (3,65 %) de *N. indica*, en tanto que las tres macrófitas compartieron 19 morfoespecies (23,17 %) (**Tabla 2**). El análisis de agrupamiento basado en el índice de Jaccard arrojó un intervalo de similitud cercano al 27 % en la composición de la comunidad fitoperifítica presente en las tres macrófitas estudiadas, con la formación de dos grupos definidos según el periodo hidrológico, siendo el 67,07 % de las morfoespecies exclusivas de uno u otro. Tanto en aguas altas como bajas se evidenció una mayor afinidad entre *L. sedoides* y *E. azurea* (41,86 y 36,84 %, respectivamente), en tanto que entre *L. sedoides* y *N. indica* fue de alrededor de 28 % en ambos periodos (**Figura 4**).

Discusión

Condiciones fisicoquímicas de la ciénaga

La ciénaga Plaza Seca se caracterizó por presentar un comportamiento fisicoquímico típico de la zona tropical, con valores relativamente bajos de oxígeno disuelto (<6,0 mg. l⁻¹), pH ligeramente ácido (<6 unidades) y alta temperatura del agua (>27 °C). Los valores de oxígeno fueron similares a los registrados por Mosquera-Murillo (2017, 2018) y Mosquera & Córdoba (2015) en ciénagas de la cuenca del Atrato. Los ecosistemas lénticos tropicales tienden a presentar valores relativamente bajos de oxígeno disuelto (Lewis, 2000; Roldán, 2003), lo que coincide con lo reportado en este estudio. Los valores de pH registrados pueden atribuirse en gran medida a la naturaleza de los suelos de la zona, los cuales son ácidos, como los de la mayoría del departamento del Chocó, y se encuentran dentro los límites aptos para la supervivencia de los organismos acuáticos (entre 4,5 y 8,5) (Roldán & Ramírez, 2008). En el caso de la temperatura del agua, los

Tabla 2. Composición taxonómica y densidad (ind. x cm²) de la comunidad fitoperifítica asociada con tres especies de macrófitas

Clase	Orden	Morfoespecie	<i>L. sedoides</i>	<i>E. azurea</i>	<i>N. indica</i>	
Chlorophyceae	Oedogoniales	<i>Oedogonium</i> sp	10,92	6,10	3,86	
		<i>Bulbochaete</i> sp	4,27	0,00	0,00	
	Sphaeropleales	<i>Ankistrodesmus</i> sp	0,24	0,00	0,00	
<i>Scenedesmus denticulatum</i>		0,00	0,14	0,00		
Trebouxiophyceae	Chlorellales	<i>Oocystis</i> sp	4,94	4,27	0,00	
Zygnemaphyceae	Desmidiales	<i>Cosmarium margaritatum</i>	5,82	3,27	0,04	
		<i>Cosmarium circulare</i>	0,14	0,34	1,27	
		<i>Cosmarium elegantissimum</i>	0,00	3,27	0,04	
		<i>Cosmarium</i> sp1	3,27	0,00	0,00	
		<i>Cosmarium</i> sp2	0,00	0,14	0,00	
		<i>Pleurotaenium minutum</i>	0,44	0,14	0,00	
		<i>Pleurotaenium nodulosum</i>	6,37	2,27	0,00	
		<i>Pleurotaenium tabecula</i>	7,37	9,95	0,04	
		<i>Pleurotaenium ehrenbergii</i>	0,00	0,00	0,04	
		<i>Pleurotaenium</i> sp1	4,27	0,00	0,00	
		<i>Staurastrum</i> sp1	0,14	0,04	0,00	
		<i>Staurastrum hirsutum</i>	3,27	0,00	0,00	
		<i>Staurastrum asteriodeum</i>	3,27	0,00	0,00	
		<i>Staurastrum chaetoceras</i>	0,00	0,14	0,00	
		<i>Staurastrum rotula</i>	0,14	0,00	0,00	
		<i>Staurastrum arcuatum</i>	0,00	0,14	0,00	
		<i>Staurastrum gladiusum</i>	0,00	0,14	0,00	
		<i>Staurastrum dickeii</i>	2,27	0,14	0,00	
		<i>Arthrodesmus convergens</i>	0,00	0,14	0,00	
		<i>Sphaeroszma</i> sp	0,14	0,00	0,00	
		<i>Stauroidesmus validus</i>	0,00	0,04	0,00	
		<i>Euastrum</i> sp1	3,55	2,27	0,04	
		<i>Euastrum</i> sp2	0,00	0,04	0,00	
		<i>Xanthidium trilobum</i>	0,04	0,00	0,00	
		<i>Xanthidium</i> sp	0,00	3,55	0,00	
		<i>Micrasterias foliaceae</i>	15,46	0,00	0,00	
		<i>Spondylosium</i> sp	3,27	0,00	1,27	
		<i>Triploceras verticillatum</i>	0,04	0,00	0,00	
		<i>Desmidium baileyi</i>	11,46	3,55	0,00	
		<i>Actinotaenium</i> sp	6,37	0,14	1,27	
		<i>Phymatodocis nordstedtiana</i>	1,27	0,00	0,00	
		<i>Closterium peraserosum</i>	1,27	0,00	0,00	
		<i>Closterium cetaceum</i>	4,59	0,14	1,27	
		<i>Closterium acutum</i>	0,04	0,00	0,00	
		<i>Closterium portianum</i>	0,00	0,14	0,00	
		<i>Closterium closterioides</i>	0,00	0,00	0,04	
		<i>Closterium</i> sp1	7,64	2,35	0,04	
		<i>Closterium</i> sp2	0,00	0,14	1,31	
		<i>Gonatozigon pelosum</i>	28,38	5,10	0,00	
		Zygnematales	<i>Spirogyra</i> sp	0,04	0,00	0,04
			<i>Mougeotia</i> sp	15,46	0,14	0,00
			<i>Netrium oblongum</i>	3,55	0,00	0,00
			<i>Netrium digitus</i>	0,04	2,55	0,00
<i>Cylindrocystis</i> sp	2,27		0,00	0,00		

Bacillariophyceae	Thalassionematales	<i>Thalassionema</i> sp	36,93	35,12	14,01
	Cymbellales	<i>Cymbella lanceolata</i>	0,00	0,54	0,00
		<i>Gomphonema affine</i>	0,00	2,17	2,55
		<i>Gomphonema augur</i>	0,00	0,04	0,00
		<i>Gomphonema</i> sp1	0,00	0,39	0,00
	Eunotiales	<i>Eunotia</i> sp1	98,80	9,72	82,99
		<i>Eunotia</i> sp2	5,82	29,30	0,00
		<i>Actinella guianensis</i>	0,00	0,14	0,00
		<i>Actinella brasiliensis</i>	0,04	0,00	0,00
		<i>Actinella</i> sp1	0,00	0,14	0,00
	Surirellales	<i>Surirella tenera</i>	3,82	3,59	0,04
		<i>Surirella smithii</i>	0,14	0,00	0,00
		<i>Surirella linearis</i>	0,00	2,45	1,31
	Naviculales	<i>Frustulia rhomboides</i>	148,28	20,38	20,18
		<i>Pinnularia braunii</i>	3,82	0,14	0,00
		<i>Pinnularia formica</i>	0,00	0,14	0,00
		<i>Pinnularia</i> sp1	0,14	0,14	0,04
		<i>Stauroneis ancep</i>	0,00	0,14	0,00
		<i>Navicula integra</i>	153,57	49,48	29,49
		<i>Navicula</i> sp1	3,82	17,83	3,82
		<i>Navicula</i> sp2	7,64	24,20	3,82
		<i>Navicula</i> sp3	16,56	3,07	0,07
		<i>Navicula</i> sp4	0,00	7,64	0,00
Bacillariales	<i>Nitzschia sigma</i>	8,37	0,00	0,00	
Fragilariophyceae	Fragilariales	<i>Asterionella formosa</i>	36,6	7,59	2,59
		<i>Fragillaria</i> sp	0,00	0,00	3,82
		<i>Synedra</i> sp	0,00	3,27	0,00
Coscinodiscophyceae	Melosirales	<i>Melosira</i> sp	8,55	0,00	0,00
Euglenophyceae	Euglenales	<i>Euglena</i> sp	0,24	0,00	0,04
		<i>Strombomonas</i> sp	5,27	0,00	0,00
Cyanophyceae	Oscillatoriales	<i>Oscillatoria</i> sp	0,00	0,13	0,04
		<i>Formidium</i> sp	5,10	0,00	1,27
	Synechococcales	<i>Pseudanabaena</i> sp	6,37	3,53	0,04
Densidad total			711,95	272,00	176,69
Riqueza específica			55	54	31

valores superiores a 27 °C, como los de esta ciénaga, son característicos de los ambientes acuáticos ubicados en regiones tropicales, es decir, entre 25 y 30 °C (Asprilla, *et al.*, 1998; Roldán & Ramírez, 2008).

La alcalinidad, los sólidos totales disueltos y la conductividad eléctrica estuvieron dentro de los rangos reportados para ecosistemas neotropicales colombianos, con valores menores a 100 mg. l⁻¹, 1.500 µS/cm y 200 mg. l⁻¹, respectivamente (Roldán & Ramírez, 2008). En cuanto a la transparencia, esta se encuentra dentro del rango establecido para las ciénagas en Colombia: entre 0,17 y 1,13 m (Arias, 1985).

En el caso de los nutrientes, los nitritos registraron bajas concentraciones (<0,10 mg. l⁻¹), en tanto que los nitratos, ligeramente altas (>0,91 mg. l⁻¹). Según Wetzel (2001), el nitrógeno en forma de nitritos tiende a ser bajo en los sistemas acuáticos, ya que se transforma rápidamente en nitratos dependiendo de la concentración de oxígeno en el agua, o en formas reducidas como el amonio si las condiciones son de anoxia. Los ortofosfatos presentaron promedios por encima de 0,05 mg. l⁻¹, límite requerido para la vida acuática; la alta variación

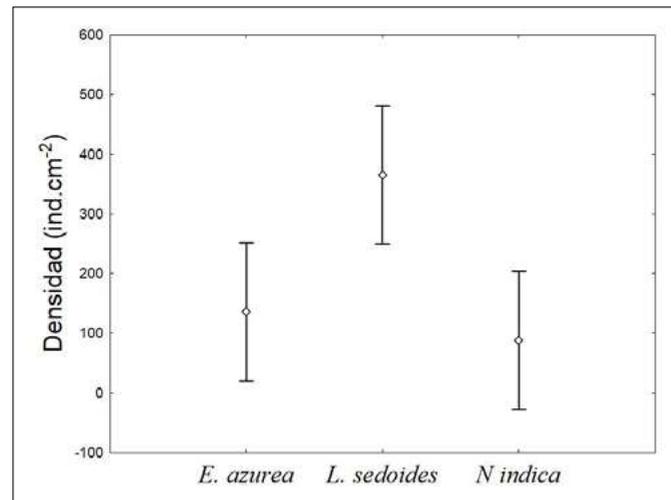


Figura 2. Gráfico de medias para la densidad de organismos fitoperifíticos asociados con tres macrófitas en una ciénaga tropical en el río Atrato (Chocó-Colombia). Las barras verticales denotan un intervalo de confianza de 0,95.

que registra se explicaría por las variaciones en el caudal del río Atrato producto del régimen climático de la zona, el cual se caracteriza por grandes variaciones en la precipitación. En el caso del amonio, los valores estaban por debajo del rango de detección.

Fitoperifiton asociado con las macrófitas

La comunidad perifítica asociada con macrófitas que aquí se reporta es similar a la registrada en otros estudios realizados en ciénagas del país (Osorio-Ávila & Manjarrés-García, 2015; De la Hoz-Barrientos & Osorio-Avila, 2016; Lozano-Peña, *et al.*, 2019), en los que la clase Bacillariophyceae sobresale como la de mayor abundancia. Esta clase predomina en los ambientes de tipo léntico debido a su rapidez para ocupar sustratos en corto tiempo y a la presencia de estructuras especializadas que le permite a los individuos fijarse al sustrato con mayor facilidad y competir con ventaja frente a otros grupos (Fonseca & Rodríguez, 2005; De la Hoz-Barrientos & Osorio-Avila, 2016). La abundancia de la clase Bacillariophyceae se asocia, asimismo, a las condiciones fisicoquímicas de la ciénaga estudiada, ya que la dominancia de este grupo tanto en el fitoperifiton como en el fitoplancton, se relaciona con la baja concentración de nutrientes y el pH ácido (Rivera-Rondón, *et al.*, 2010), lo cual coincide con las condiciones registradas en la ciénaga Plaza Seca durante el tiempo de estudio.

En términos de riqueza, la clase Zygnemaphyceae, principalmente las desmidiáceas, fue la mejor representada. Según Biolo, *et al.* (2015) y Algarte, *et al.* (2017), entre otros, la presencia de macrófitas contribuye considerablemente a aumentar la riqueza de este grupo, ya que estas plantas, además de servir de sustrato para la fijación, también liberan nutrientes como resultado de su proceso de envejecimiento y muerte, además de reducir la turbulencia del agua. Otras características que favorecieron la riqueza de las desmidiáceas en la ciénaga estudiada fueron los valores de temperatura registrados (>26 °C), la baja concentración de nutrientes, la baja conductividad eléctrica (<100µS/cm) y la prevalencia de un pH ligeramente ácido (Rivera-Rondón, *et al.*, 2010).

La densidad, la riqueza específica, la diversidad y la dominancia fueron significativamente diferentes entre las tres macrófitas bajo estudio, resultados similares a los reportados por Montoya-Moreno & Aguirre-Ramírez (2008) en la ciénaga de Patícos, sistema cenagoso de Ayapel, Colombia. Dichas diferencias pueden explicarse por el tipo de colonización de los organismos perifíticos debido a las diferencias en las características morfológicas de las macrófitas, de allí que la influencia de la morfología de las macrófitas

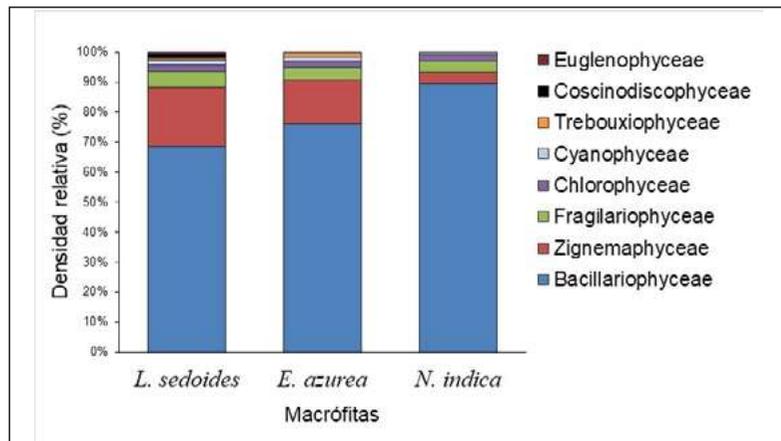


Figura 3. Contribución por clases de la comunidad fitoperifítica asociada con tres especies de macrófitas

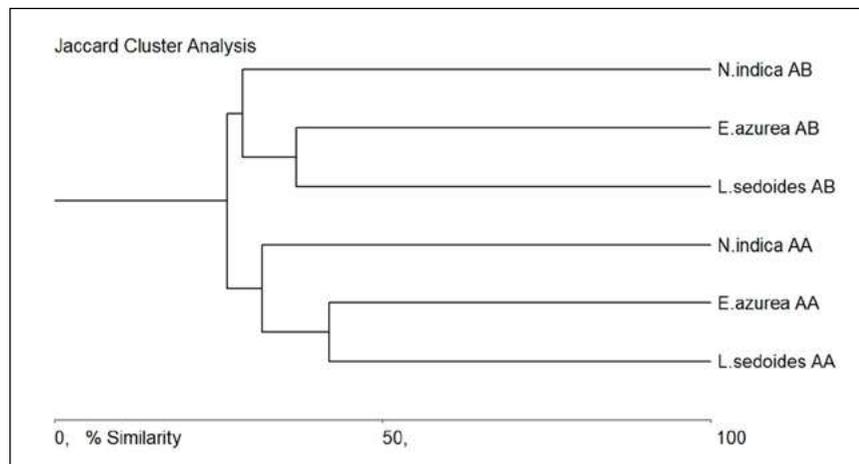


Figura 4. Análisis de agrupamiento de las macrófitas estudiadas en la ciénaga de Plaza Seca (Chocó) con base en el índice de similitud de Jaccard

en los ensambles perifíticos haya sido reportada en diversos estudios que demuestran que esta comunidad es capaz de desarrollar preferencias de sustrato durante la etapa de colonización en las macrófitas (Schneck, *et al.*, 2011; Ferreiro, *et al.*, 2013). Es decir, la arquitectura morfológica de una macrófita en particular puede influir en el desarrollo y estructura del perifiton (Tunca, *et al.*, 2014; Grutters, *et al.*, 2017).

La macrófita *L. sedoides* presentó los valores más altos de densidad, riqueza específica y diversidad, lo que podría asociarse especialmente con su morfología de planta enraizada que desarrolla tallos sumergidos con hojas circulares flotantes en roseta de entre 5 y 20 cm de diámetro capaces de formar grandes bancos monoespecíficos (Moreira-Barbosa, *et al.*, 2014), por lo que ofrece una mayor superficie disponible para la colonización por parte de los organismos del fitoperifiton dada su abundancia en la zona de estudio. Según Pott & Pott (2000), *L. sedoides* crece naturalmente en llanuras de inundación y lagunas permanentes con poca profundidad y suelos limoso-arcillosos, es de amplia distribución natural y se encuentra comúnmente en el Neotrópico, aunque la información sobre su ecología es escasa en la literatura científica.

Eichhornia azurea ocupó el segundo lugar en términos de densidad, riqueza y diversidad de organismos fitoperifíticos. Esta macrófita presenta raíces insertadas en el tallo semejantes a largas cabelleras que se componen de múltiples ramificaciones capaces

de alcanzar longitudes de hasta un metro (**Padial, et al., 2009**), lo que le permite ser un sustrato adecuado para el desarrollo de una significativa comunidad fitoperifítica. En el caso de *N. indica*, los bajos valores de densidad, riqueza y diversidad se asociaron con su morfología, cuyo sistema radicular presenta un área más pequeña, principalmente en los nodos, además de poseer un tallo largo flotante, cilíndrico y sin ramificaciones que alcanza hasta los tres metros de largo (**Marwat, et al., 2009**)

Las diatomeas *N. integra*, *F. rhomboides* y *Eunotia* sp. se encontraron entre las especies de mayor abundancia en las tres macrófitas estudiadas. Los géneros *Frustulia* y *Navicula* producen matrices mucilaginosas que facilitan su fijación al sustrato y son a menudo dominantes en los ambientes acuáticos (**Werum & Lange-Bertalot, 2004**; **Metzeltin & Lange-Bertalot, 2009**). *Eunotia*, por su parte, tiene la facilidad de colonizar los ambientes por su rápido crecimiento, desarrollándose en parches y aumentando progresivamente su densidad (**Ferrari, et al., 2007**). Asimismo, según diversos autores como **Lange-Bertalot (2001)** y **Sala, et al. (2002)**, los géneros *Frustulia* y *Eunotia* son abundantes en ambientes oligotróficos y con pH ácido, lo que coincide con las condiciones registradas en la ciénaga Plaza Seca durante el tiempo del estudio.

Similitud entre macrófitas

En la comunidad fitoperifítica la similitud entre las macrófitas estudiadas fue poca, lo que estaría relacionado con su arquitectura y textura, como lo sugieren los trabajos de **Sultana, et al. (2010)** y **Thomaz & Cunha (2010)**, entre otros. Según **Rodrigues, et al. (2003)**, el desarrollo del fitoperifiton está intrínsecamente relacionado con las características estructurales del sustrato vivo al que esté adherida, de manera que la composición y riqueza del fitoperifiton pueden diferir entre diferentes especies de macrófitas acuáticas (**Wehr, et al., 2015**). Así, macrófitas con diferente estructura morfológica pueden albergar naturalmente diferentes comunidades perifíticas (**Cano, et al., 2016**).

Por otro lado, la marcada influencia del periodo hidrológico sobre la comunidad fitoperifítica estudiada es atribuible al significativo número de morfoespecies exclusivas de alguno de los periodos hidrológicos estudiados. El pulso hidrológico es uno de los factores que regula y estructura las comunidades fitoperifíticas (**Rodrigues & Bicudo, 2001**; **Pereira, et al., 2007**; **Agostinho, et al., 2009**), ya que genera variaciones en profundidad, lo que afecta directamente la irradiación subsuperficial y la abundancia de las plantas acuáticas en las que esta comunidad se desarrolla (**Goldsborough, et al., 2005**).

Conclusiones

El presente estudio constituye una línea base para el conocimiento de las comunidades fito-perifíticas que se desarrollan en ciénagas de zonas bajas tropicales como las del río Atrato en el departamento del Chocó. Las diferencias en densidad, riqueza y composición del fitoperifiton en las macrófitas estudiadas corroboran los hallazgos de otros trabajos en relación con la importancia de la morfología en el desarrollo de esta comunidad biológica. Las diatomeas fueron el grupo dominante en las tres macrófitas debido a sus estructuras y adaptaciones para fijarse al sustrato (pedúnculos, ganchos, sustancias mucilaginosas).

Agradecimientos

La autora agradece al Laboratorio de Limnología, a la Vicerrectoría de Investigaciones y al Centro de Investigación en Biodiversidad y Hábitat “CEIBHA” de la Universidad Tecnológica del Chocó, por su apoyo y colaboración para las salidas de campo y el trabajo de laboratorio, así como a los revisores anónimos por sus comentarios y sugerencias que contribuyeron a mejorar la versión final del manuscrito.

Conflicto de intereses

La autora declara que no existen conflictos de intereses que pongan en riesgo la validez de los resultados presentados.

Referencias

- Abuhatab, Y. A., Geovo, S., Asprilla, S.** (2005). Incidencia de las variaciones fisicoquímicas del agua sobre la colonización del fitoperifiton en un sustrato artificial en la quebrada La Francisca, Quibdó, Chocó - Colombia. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó*. **23** (1): 26-33.
- Agostinho, A.A., Bonecker, C.C., Gomes, L.C.** (2009). Effects of water quantity on connectivity: the case of the upper Paraná River floodplain. *Ecohydrology & Hydrobiology*. **1**: 99-113.
- Algarte, V.M., Siqueira, N.S., Murakami, E.A., Rodrigues, L.** (2009). Effects of hydrological regime and connectivity on the interannual variation in taxonomic similarity of periphytic algae. *Brazilian Journal of Biology*. **62** (2 suppl.): 606-616.
- Algarte, V.M., Siqueira, N.S., Ruwer, D.T., Osorio, N.C., Rodrigues, L.** (2017). Richness of periphytic algae and its relationship with hydrological attributes. *Brazilian Journal of Botany*. **28**: 1-6.
- Andramunio-Acero, C.P., Caraballo-Gracia, P.R., Duque-Escobar, S.R., Solari, L.C.** (2018). Cambios en la estructura de la comunidad perifítica en el sistema de lagos de Yahuaraca, Amazonía colombiana. *Actual. Biol.* **40** (109): 139-161.
- APHA, AWWA, WEF.** (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington, USA: American Public Health Association. 1360 p.
- Arias, P.A.** (1985). Las ciénagas en Colombia. *Divulgación Pesquera*. **22** (3-5): 38-70.
- Asprilla, S., Ramírez, J.J., Roldán, G.** (1998). Caracterización limnológica preliminar de la ciénaga de Jotaudó (Chocó, Colombia). *Revista Actualidades Biológicas*. **20** (69): 87-107.
- Bicudo, E.M., Menezes, M.** (2006). Gêneros de algas de águas continentais do Brasil (Chave de identificação e descrições). 2 ed. São Carlos, Brasil: RiMa Editora. 502 p.
- Biolo, S., Algarte, V.M., Rodrigues, L.** (2015). Composition and taxonomic similarity of the periphytic algal community in different natural substrates in a Neotropical floodplain, Brazil. *African Journal of Plant Science*. **9** (1): 17-22.
- Cano, M.G., Casco, M.A., Claps, M.C.** (2016). Epipelon dynamics in a shallow lake through a turbid-and a clearwater regime. *Journal of limnology*. **75** (2): 355-377.
- Correa, J.D.** (2014). Calidad del agua en humedales del plano de inundación del río Atrato. *Revista Ciencias Ambientales y Sostenibilidad CAS*. **1** (1): 93-109.
- Corporación para el Desarrollo Sostenible de Urabá y Corporación Autónoma Regional para el Desarrollo Sostenible del Chocó.** (2007). Plan de manejo integrado de los humedales del bajo y medio Atrato. Apartadó, Colombia: Corpouraba. 186 p.
- De la Hoz-Barrientos, L.A. & Osorio-Ávila, F.J.** (2016). Ensamble ficoperifítico asociado a macrófitas en una ciénaga tropical colombiana. *Revista Intropica*, **11**: 127-135.
- Duque, H.** (1990). Estratigrafía, paleoceanografía y paleobiogeografía de la cuenca del Atrato y la evolución del Istmo de Panamá. *Boletín Geológico*. **31** (1): 4-45.
- Ferrari, F., Procopiak, L.K., Alencar, Y. B., Ludwig T.A.V.** (2007). Eunotiaceae (Bacillariophyceae) em igarapés da Amazônia Central, Manaus e Presidente Figueiredo, Brasil. *Acta Amazônica*. **37**: 1-16.
- Ferreiro, N., Giorgi, A., Feijoo, C.** (2013). Effects of macrophyte architecture and leaf shape complexity on structural parameters of the epiphytic algal community in a Pampean stream. *Aquatic Ecology*. **47**: 389-401.
- Fonseca, I.A. & Rodríguez, L.** (2005). Comunidade de algas perifíticas em distintos ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná. *Acta Scientiarum*. **27** (1): 21-28.
- Goldsborough, L., McDougal, R., North, A., Azim, M., Verdegem, M., van Dam, A., Beveridge, M.** (2005). Periphyton in freshwater lakes and wetlands. In: Azim, M.E., Verdegem, M.C., van Dam, A.A., Beveridge, M.C. (Eds.). *Periphyton: Ecology, Exploitation, and Management*. Oxfordshire, UK: CABI Publishing. 319p.
- Gopal, B., Junk, W.J., Davis, J.A.** (2000). Biodiversity in Wetlands: Assessment, Function and Conservation, Volume 1. Backhuys Publishers: Leiden, The Netherlands. 353p.
- Grutters, B., Gross, E.M., Donk, E., Bakker, E.S.** (2017). Periphyton density is similar on native and non-native plant species. *Freshwater Biology*. **62**: 906-915.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M.** (2019). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Fecha de consulta: entre julio y diciembre de 2019. Disponible en: <http://www.algaebase.org>
- Hameed, H.A.** (2003). The colonization of periphytic diatom species on artificial substrates in the Ashar Canal, Basrah, Iraq. *Limnología*. **33**: 54-61.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D.** (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. **4**: 1-9.

- Hauer, F.R. & Lamberti, G.A.** (Eds). (2007). *Methods in stream ecology*. 2nd ed. San Diego, USA: Academic Press. 895 p.
- Hinojosa-Garro, D., Mason, C.F., Underwood, G.J.C.** (2010). Influence of macrophyte spatial architecture on periphyton and macroinvertebrate community structure in shallow water bodies under contrasting land management. *Fundamental and Applied Limnology*. **177**: 19-36.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi - IGAC.** (2006). *Chocó: Características geográficas*. Bogotá: Colombia. 234 p.
- Komárek, J., Anagnostidis, K.** (2005). Cyanophyta part 2: Oscillatoriales. In: Büdel, B., Krienitz, L., Gärtner, G., Schagerl, M. (ed.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 19/2*. München, Germany: Spektrum Akademischer Verlag, Elsevier.
- Krammer, K. & Lange-Bertalot, H.** (1991). 2/3 Bacillariophyceae. 2. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Ettl, H., Gerloff, J., Heyning, H., Mollenhauer, D. (eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart, Germany: Gustav Fischer Verlag. 576p.
- Lange-Bertalot, H.** (2001). *Navicula sensu stricto*, 10 genera separated from *Navicula sensu lato*, *Frustulia*. *Diatoms of Europe*. **2**: 1-526.
- Lewis, M.** (2000). Basis for the protection and management of tropical lakes. *Lakes and Reservoirs: Research and Management*. **5**: 35-48.
- Lozano-Peña, S., Vásquez-Moscoso, C.A., Rivera-Rondón, C.A., Zapata, A.M., Ortiz-Moreno, M.L.** (2019). Efecto de la vegetación riparia sobre el fitoperifiton de humedales en la Orinoquía colombiana. *Acta Biológica Colombiana*. **24** (1): 67-85.
- Magurran, A.E.** (1998). *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press. New Jersey. 179 p.
- Marwat, S.K., Khan, M.A., Ahmad, M., Zafar, M.** (2009). *Nymphoides indica* (L.) Kuntze, a new record for Pakistan. *Pak. J. Bot.* **41** (6): 2657-2660.
- Maturana, M., Cuesta, J., Asprilla, S.** (2002). Estructura de la comunidad de ficoperifiton en *Nymphoides* sp. en la ciénaga Plaza Seca, corregimiento de Sanceno, municipio de Quibdó - Chocó, Colombia. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó*. **8**: 21-27.
- McAleece, N., Lambshead, P.J.D., Patterson, G.L.J., Gage, J.D.** (1997). *BioDiversity Pro*. A program for analyzing ecological data. Natural History Museum, London, UK, and the Scottish Association for Marine Science, Oban, Argyll, Scotland, UK. [Beta version].
- Metzeltin, D. & Lange-Bertalot, H.** (2009). Tropical diatoms of South America II. Special remarks on biogeographic disjunction. *Iconographia diatomologica*. **18**: 1-877.
- Millennium Ecosystem Assessment.** (2005). *Ecosystems and human wellbeing: wetlands and water*. Fecha de consulta: 11 de junio de 2020. Disponible en: <http://www.unep.org/maweb/documents/document.358.aspx.pdf>
- Minitab INC 17.1.0.** (2014). *Minitab Statistical Software*. State College, Pennsylvania, USA: Minitab Inc.
- Montoya-Moreno, Y. & Aguirre-Ramírez, N.** (2008). Asociación de algas perifíticas en raíces de macrófitas en una ciénaga tropical colombiana. *Hidrobiología*. **18** (3): 189-198.
- Montoya-Moreno, Y. & Aguirre-Ramírez, N.** (2009). Dinámica del perifiton asociado con macrófitas en la ciénaga de Escobillitas y su relación con el pulso de inundación. *Revista Universidad Tecnológica del Chocó*. **28** (2): 196-202.
- Montoya-Moreno, Y., Aguirre, N., Cano, M.G.** (2013). Estructura del epifiton de diferentes macrófitas acuáticas de un sistema de planos inundables tropicales. *Investigación, Biodiversidad y Desarrollo*. **32** (2): 85-105.
- Moreira-Barbosa, M.V., Taeco-Kobayashi, J., Mayer-Pelicice, F.** (2014). Morphometric and biotic variables as potential predictors of *Ludwigia sedoides* (Humb. & Bonpl.) Hara in a large Amazonian reservoir. *Ann. Limnol. Int. J. Lim.* **50**: 163-171.
- Mormul, R.P., Thomaz, S.M., Silveira, M.J., Rodrigues, L.** (2010). Epiphyton or macrophyte: Which primary producer attracts the snail *Hebetancylus moricandi* American Malacol. Bull. **28**: 127-133.
- Mosquera-Murillo, Z.** (2017). Insectos acuáticos asociados a raíces de *Eichhornia crassipes* (MART) Solms en ciénagas del río Atrato, Chocó-Colombia. *Revista de Ciencias Univalle*. **21** (2): 29-44.
- Mosquera-Murillo, Z.** (2018). Insectos acuáticos asociados a *Eichhornia azurea* (Schwartz) Kunth en ciénagas del río Atrato, Chocó-Colombia. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* **10** (1): 15-24.
- Mosquera-Murillo, Z., Córdoba Argón, K. E.** (2015). Caracterización de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos en tres ciénagas de la cuenca media del río Atrato, Chocó, Colombia. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó Investigación, Biodiversidad y Desarrollo*. **34** (1): 22-35.

- Osorio-Ávila, F. & Manjarrés-García, G.** (2015). Ficoperifiton asociado a macrófitas en la ciénaga Cerro de San Antonio, Magdalena-Colombia. *Intropica*. **10**: 74-83.
- Padial, A.A., Thomaz, S.M., Agostinho, A.A.** (2009). Effects of structural heterogeneity provided by the floating macrophytes *Eichhornia azurea* on the predation efficiency and habitat use of small Neotropical fish *Moenkhausia sanctaefilomenae*. *Hydrobiologia*. **624**: 161-170.
- Parra, O., González, M., Dellarossa, V.** (1983). Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. Concepción, Chile: Editorial de la Universidad de Concepción. 353 p.
- Pereira, S.R.S., Bonecker, C.C., Rodrigues, L.** (2007). Influence of water level on periphytic meiofaunal abundance in six lagoons of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*. **19**: 273-283.
- Pott, V.J., Pott, A.** (2000). Plantas acuáticas do Pantanal. 1ed. Brasília, Brasil: EMBRAPA Comunicação para transferência de Tecnologia. 353 p.
- Prescott, G.W.** (1983). How to know the freshwater algae, third ed., Iowa, USA: W.C. Brown. 293 p.
- Rangel-Ch, J.O., Saba, Y., Alberico, M., Rangel-Ch, J.O.** (2004). Colombia Diversidad Biótica IV: El Chocó Biogeográfico/Costa Pacífica. Bogotá. Colombia: Ed. Universidad Nacional de Colombia. 996 p.
- Ríos, L., Palacios, J., Aguirre, N.** (2008). Variabilidad fisicoquímica del agua en la ciénaga El Eneal, Reserva Natural Sanguaré, municipio de San Onofre-Sucre, Colombia. *Revista de la Facultad de Ingeniería. Universidad de Antioquia*. **46** (1): 39-45.
- Rivera-Rondón, C.A., Zapata, A.M., Pérez, D., Morales, Y., Ovalle, H., Álvarez, J.P.** (2010). Caracterización limnológica de humedales de la planicie de inundación del río Orinoco (Orinoquía, Colombia). *Acta Biológica Colombiana*. **15** (1): 1-16.
- Rodrigues, L. & Bicudo, D.C.** (2001). Similarity among periphyton algal communities in a lentic-lotic gradient of the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Rev. bras. Bot.* **24**: 235-248.
- Roldán, G.** (2003). Bioindicación de la calidad del agua en Colombia. Uso del método BMWP/Col. Antioquia, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia. 170 p.
- Roldán, G. & Ramírez, J.J.** (2008). Fundamentos de Limnología Neotropical. 2ª ed. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia-ACCEFYN-Universidad Católica de Oriente. 442 p.
- Sala, E., Duque, R., Núñez, M., Lamaro, A.** (2002). Diatoms from the Colombian Amazon: some species of the genus *Eunotia* (Bacillariophyceae). *Acta Amazon.* **32** (4): 589-589.
- Salas, Y., Geovo, S., Córdoba, K., Asprilla, S.** (2011). Caracterización de las comunidades perifíticas y de macroinvertebrados acuáticos presentes en el río Pacurita, corregimiento de Pacurita, Quibdó, Chocó-Colombia. *Revista Biodiversidad Neotropical*. **1** (2): 98-104.
- Schneck, F., Schwarzbald, A., Melo, A.S.** (2011). Substrate roughness affects stream benthic algal diversity, assemblage composition, and nestedness. *Journal of the North American Benthological Society*. **30**: 1049-1056.
- Shannon, C. E. & Wiener, W.** (1949). The mathematical theory of communication. Univ. Illinois Press, Urbana, USA. 117 p.
- Simpson, E. H.** (1949). Measurement of diversity. *Nature*. **163**: 689-698.
- Statgraphics Centurion XV.** (2006). Programa de ordenador. Versión Centurion XV. E.U.A: Stat Point, Inc.
- Steinman, A., Abdimalik, M., Ogdahl, M.E., Oudsema, M.** (2016). Understanding planktonic vs. benthic algal response to manipulation of nutrients and light in a eutrophic lake. *Lake and Reservoir Management*. **32** (4): 402-409.
- Sultana, M., Asaeda, T., Azim, M.E., Fujino, T.** (2010). Morphological responses of a submerged macrophyte to epiphyton. *Aquat. Ecol.* **44**: 73-81.
- Thomaz, S.M. & Cunha, E.R.** (2010). The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblage composition and biodiversity. *Acta Limnol. Bras.* **22**: 218-236.
- Tunca, H., Sevindik, T.O., Bal, D.N., Arabaci, S.** (2014). Community structure of epiphytic algae on three different macrophytes at Acarlar floodplain forest (northern Turkey). *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. **32**: 845-857.
- Wehr, J.D., Sheath, R.G., Kocielek, J.P.** (eds) (2015). Freshwater algae of North America: Ecology and classification. Amsterdam, The Netherlands: Academic Press. 1050 p.
- Werum, M. & Lange-Bertalot, H.** (2004). Diatoms in springs. *Iconographia diatomologica*. **13**: 1-417.
- Wetzel, R.G.** (2001). *Limnology: Lake and River Ecosystems*. 3rd ed. San Diego (CA), USA: Academic Press. 1006 p.

Artículo original

Monitoreo fotoacústico de plantas *Musa acuminata* (Musaceae) infectadas con el hongo *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae)

Photoacoustic evaluation of *Musa acuminata* plants (Musaceae) infected with the fungus *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae)

● Fernando Gordillo-Delgado*, ● Mariana Botero-Zuluaga

Grupo de Investigación en Ciencia Aplicada para el Desarrollo de la Ecorregión (GICADE), Instituto Interdisciplinario de las Ciencias. Universidad del Quindío.

Resumen

La técnica fotoacústica permite evaluar el comportamiento de la razón de evolución de oxígeno de las plantas, el cual es un indicador del rendimiento fotosintético. En este estudio se monitoreó este parámetro y el crecimiento de un grupo de plantas de banano Gros Michel (*Musa AAA*), infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, patógeno causante de la marchitez vascular, una enfermedad destructiva que amenaza la sostenibilidad de los cultivares sensibles a ella en las regiones productoras. La infección efectiva de las plantas y el progreso de la marchitez comúnmente se evalúan a partir de la manifestación de los primeros síntomas externos de clorosis en las hojas bajas, a los que se asigna un valor cuantitativo según su gravedad. Aunque en el análisis de la razón de evolución de oxígeno y del crecimiento no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las plantas infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* y las plantas sanas, se demostró que esta técnica permite incluir caracteres fenotípicos relacionados con la actividad fotosintética en la caracterización de los cultivos. Los resultados en cuanto a la afectación de la enfermedad se pueden asociar con las condiciones de cultivo en invernadero y con la etapa asintomática de la enfermedad en la que se hizo la observación.

Palabras clave: Banano; Fotosíntesis; Marchitez por *Fusarium*; Razón de evolución de oxígeno.

Abstract

The photoacoustic technique allows evaluating the behavior of the oxygen evolution ratio of plants, which is an indicator of photosynthetic performance. In this study, we monitored this parameter and the growth of a group of Gros Michel banana plants (*Musa AAA*) infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. This pathogen causes vascular wilt, a destructive disease that threatens the sustainability of susceptible cultivars in producing regions. The effective infection of plants and the progress of wilt are usually evaluated from the moment of the first external symptoms of chlorosis in the lower leaves to which a quantitative value is assigned according to their severity. Although no significant statistical differences between *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* infected plants and healthy plants were evident in the oxygen evolution ratio and growth analyses, we showed that this technique allows including phenotypic characteristics related to photosynthetic activity in the characterization of crops. The results regarding the disease can be associated with greenhouse growing and the asymptomatic stage in which plants were observed.

Keywords: Banana; *Fusarium* wilt; Oxygen evolution rate; Photosynthesis.

Citación: Gordillo-Delgado F, Botero-Zuluaga M. Monitoreo fotoacústico de plantas *Musa acuminata* (Musaceae) infectadas con el hongo *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1073-1082, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1227>

Editor: -Jairo Castaño Zapata

***Correspondencia:**

Fernando Gordillo Delgado;
fgordillo@uniquindio.edu.co

Recibido: 27 de mayo de 2020

Aceptado: 14 de septiembre de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

La técnica fotoacústica (FA) permite evaluar el rendimiento de la evolución de oxígeno (O_2) mediante el sonido que emana de las hojas de las plantas cuando estas se irradian directamente con pulsos de luz y se activa o limita la salida del oxígeno desde los cloroplastos a través de los estomas (Hou & Sakmar, 2010).

En la **figura 1** se muestra un esquema del sistema de medición: la cavidad de una celda FA cerrada se sella con una parte de la hoja viva y se ilumina periódicamente su haz para generar una señal fototérmica y activar simultáneamente el proceso fotosintético, en tanto que el envés es irradiado con luz continua blanca para saturar la fotosíntesis. Debido a que la energía de la luz modulada es absorbida parcialmente por la hoja, periódicamente se generan calor y oxígeno en una delgada capa de aire adyacente a esta con la misma frecuencia de modulación de la luz, lo que altera la presión dentro de la cavidad de la celda fotoacústica (Malkin & Canaani, 1994; Herbert, *et al.*, 2000).

El efecto fotoacústico resulta de la generación de sonido por el cambio periódico de presión; la saturación de la fotosíntesis permite, entonces, separar la componente fototérmica de la fotobárica correspondiente a la producción de oxígeno, para estimar así la razón de evolución de oxígeno (REO) y estudiar su comportamiento en plantas sometidas a cualquier tipo de estrés, enfermedad o tratamiento.

La técnica fotoacústica se aplica en el campo de la biología y la agronomía para medir la actividad fotosintética de algunas plantas; por ejemplo, Han, *et al.* (1999), Barja, *et al.* (2001) Vargas-Luna, *et al.* (2003) y Herbert, *et al.* (2006) hicieron estudios en plantas de espinaca, eucalipto y tomate, así como en hierbas y árboles, en tanto que Zakhidov, *et al.* (2019) analizaron con este método el comportamiento de plantas bajo ambientes soleados y de interior de bosque. En otros estudios con plantas de importancia agronómica, como el frijol, la caña de azúcar, el tomate y el maíz, se han hecho experimentos en individuos afectados por hongos patógenos (Rai, *et al.*, 2001), en simbiosis con micorrizas (Sánchez-Rocha, *et al.*, 2008) y tratados con bacterias promotoras del crecimiento (Gordillo-Delgado, *et al.*, 2016). Asimismo, algunos autores han reportado resultados de la aplicación de la técnica en plantas expuestas a diferentes intensidades de luz (Zakhidov, *et al.*, 2012; Veljović-Jovanović, *et al.*, 2016).

Fusarium oxysporum Schlechtendal (1824) es un hongo filamentoso que habita naturalmente en el suelo, reconoce las raíces de su huésped e ingresa a través de ellas hasta alcanzar los vasos del xilema, donde ocasiona marchitez vascular como resultado

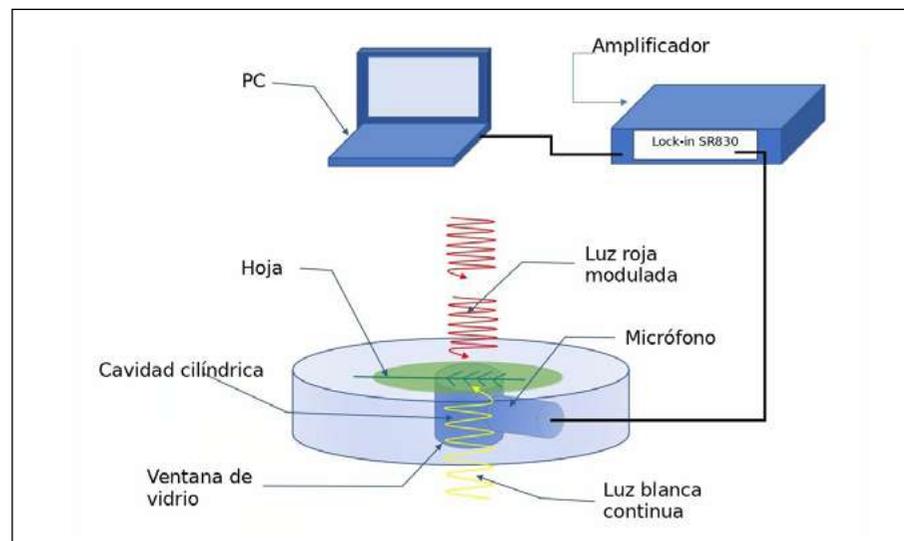


Figura 1. Esquema del sistema de medición de la REO con una celda fotoacústica cerrada

de la reacción de la planta, que bloquea el transporte de agua y nutrientes para evitar la progresión de la infección (De Sain & Rep, 2015; Gordon, 2017). Los síntomas visibles de decoloración, marchitez y necrosis en las hojas de las plantas infectadas por el hongo han sido documentados por varios autores como el producto de la alteración en la apertura de los estomas o de los procesos físicoquímicos de captación y transformación de la energía lumínica por estrés hídrico (Ghag, *et al.*, 2015; Dita, *et al.*, 2018) (Lorenzini, *et al.*, 1997; Wu, *et al.*, 2008; Sing, *et al.*, 2017; Dong, *et al.*, 2016).

Ya que la REO es un indicador del rendimiento fotosintético, su comportamiento puede monitorearse en plantas expuestas a microorganismos patógenos para evaluar los efectos de la infección. En este trabajo se evaluó el comportamiento de la REO y del crecimiento de un grupo de plantas de banano Gros Michel infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC) en función del tiempo.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se obtuvieron vitroplantas de banano Gros Michel, variedad sensible a las razas 1 y 4 de FOC, en la Unidad de Biotecnología de la Universidad Católica de Oriente en Antioquia, las cuales se transportaron luego a la Universidad del Quindío en Armenia donde las plántulas se mantuvieron en condiciones de invernadero a una temperatura promedio de 27 °C y humedad relativa promedio de 60 %; después se sembraron en bolsas plásticas con tierra y arena (proporción 50/50) previamente esterilizada y se regaron cada tres días. Se diseñó un plan de sustentación edáfico y foliar con fertilizante NPK, o triple 15, aplicado en dosis mensuales de 1g/planta durante los primeros tres meses. La dosis del nutriente se duplicó en el cuarto y el quinto mes utilizando una composición de 9 % de nitrógeno (N) amoniacal y 6 % de nítrico, 15 % de fósforo asimilable (P_2O_5), 15 % de potasio soluble en agua (K_2O), 2,2 % de calcio (CaO) y 1,7 % de azufre ($S-SO_4$). Semanalmente se aplicó un complemento foliar por aspersión en cantidades de 0,5 g, valor que se incrementó mensualmente en 0,5 g, el cual se preparó con 1,2 % de nitrógeno (N) amoniacal y 4,13 % de uréico, 0,056 % de calcio (CaO), 0,315 % de magnesio (MgO), 0,450 % de azufre (S), 0,034 % de boro (B), 0,036 % de cobre (Cu), 0,047 % de hierro (Fe), 0,100 % de manganeso (Mn), 0,005 % de molibdeno (Mo) y 0,100 % de zinc (Zn), disueltos en un litro de agua.

Cultivo in vitro del hongo y preparación del inóculo

Se cultivaron aislamientos de dos cepas de FOC raza 1 tropical (R1T) proporcionadas por el Centro de Investigaciones del Banano (Cenibanano) en agar de papa dextrosa (PDA) durante siete días alternando 12 horas de luz y 12 de oscuridad a una temperatura de 26 °C; posteriormente, se prepararon dos suspensiones de esporas en concentraciones de $9,3 \times 10^6$ y $8,4 \times 10^6$ ufc/mL, determinadas por conteo en un hematócmetro de Neubauer.

Inoculación de las plantas

Se seleccionaron 11 plantas de banano de un grupo con doce semanas de crecimiento y se les aplicaron 3 mL de la suspensión con $9,3 \times 10^6$ ufc/mL a la altura del pseudotallo, en tanto que alrededor de las raíces se esparcieron 3 mL de la suspensión con $8,4 \times 10^6$ ufc/mL. Once plantas sanas se escogieron como grupo de control y se les aplicó agua destilada en la misma proporción.

Crecimiento y REO

Durante 20 semanas consecutivas se registró la REO, el área foliar (largo * ancho * 0,8), el número de hojas activas de color verde oscuro totalmente extendidas y de un ancho mayor a 10 cm en su parte media (Cayón, 2001; Aristizábal, 2008), así como la altura y el diámetro del pseudotallo medido a 2 cm del suelo, de cada una de las plantas.

La progresión de los síntomas de marchitez por FOC se evaluó siguiendo la escala modificada de 1 a 5 propuesta por Ploetz, *et al.* (1999), en la que 1 corresponde a ausencia de síntomas, 2 a decoloración, 3 a decoloración y marchitez en las márgenes de las hojas

bajeras con algunos peciolos doblados, 4 a decoloración y marchitez graves en todas las hojas y pequeñez de las hojas jóvenes, y 5 a muerte. Se tuvieron en cuenta las descripciones de la progresión de la enfermedad hechas por **Dong, et al.** (2014).

El monitoreo de la actividad fotosintética se extendió por ocho semanas durante las cuales las plantas infectadas con FOC exhibieron decoloración y necrosis en las hojas bajeras, en tanto que las hojas superiores permanecían asintomáticas. Las medidas se efectuaron semanalmente durante tres días entre las 8:00 y las 10:00 horas y antes de medirlas se dejaban en la oscuridad por cinco minutos aproximadamente. En cada ocasión se tomó una planta diferente y la medición se repitió dos veces con la penúltima hoja emitida, que, por su ubicación, tiene mayor superficie fotosintética expuesta directamente a la luz (**Cayón, 2001**).

Aunque **Dong, et al.** (2014) señalan que la respuesta de las hojas de banano a la infección con FOC varía según su posición en la planta, fue necesario elegir una de ellas por la dificultad que implica el examen de una mayor cantidad; no obstante, siempre se tuvo cuidado de medir este tipo de hoja, con el fin de hacer las comparaciones correspondientes.

En la **figura 1** se muestra el montaje experimental utilizado: con un led se generaron pulsos de luz roja modulada con frecuencia de 17 Hz que se hicieron incidir sobre el haz de la hoja, en tanto que el envés fue irradiado en un período intermedio de 30 segundos con luz blanca continua proveniente de otro led para saturar la fotosíntesis. Las contribuciones fototérmica y fotobárica en función del tiempo se detectan con un micrófono que capta el sonido en la cavidad cilíndrica de la celda fotoacústica. La señal generada, del orden de los microvoltios, se registra en un computador mediante una interfaz conectada a un amplificador Lock-in SR830.

Análisis estadístico

Los datos del crecimiento y del monitoreo fotoacústico de las plantas sanas e infectadas se analizaron en función del tiempo con la prueba de hipótesis t de Student. Bajo la condición de normalidad e igual varianza se compararon los dos grupos, es decir, plantas infectadas y plantas sanas, en términos del valor medio. Así, la hipótesis de partida fue H_0 , es decir, la media de cada parámetro (medidas de crecimiento y REO) era igual en ambos grupos. Esta hipótesis se consideró cierta si los datos seguían una distribución t de Student y la probabilidad (p) de aceptación se relacionaba con los valores centrales de la distribución, para los que p era mayor que 0,05; si p resultaba menor que 0,05, era poco probable que se cumpliera la hipótesis y debía rechazarse. Para comparar la media de los datos de crecimiento dentro de cada grupo se hizo un análisis de varianza (ANOVA) de un factor y medidas repetidas (**Spiegel, 2009**).

Resultados

El comportamiento típico de las curvas obtenidas con la técnica fotoacústica se muestra en la **figura 2a**. La amplitud de la señal fotoacústica es el resultado de llevar la sección irradiada de la hoja a su máximo rendimiento en el proceso de evolución del oxígeno y después saturarlo al irradiarla con la luz blanca continua, lo que afecta principalmente al fotosistema II (PS II) (**Ducruet, et al., 2007; Moreno, et al., 2008**). Esto induce una serie de cambios reversibles, como la absorción y el almacenamiento de fotones en los centros de reacción de las clorofilas, la continuidad de las cascadas de señalización y la hidrólisis del agua que tienen lugar en la membrana tilacoidal (**Herbert, 2006; Järvi, et al., 2013**).

En todos los casos, ante el encendido y apagado de la luz blanca, el tiempo de respuesta de las plantas fue de aproximadamente tres segundos y la amplitud de la señal tuvo un cambio de alrededor de $\pm 6 \mu\text{V}$, como se muestra en la **figura 2a**.

En la **figura 2b** se observa el comportamiento en función del tiempo de la REO de las plantas infectadas con FOC y en las sanas, con una tendencia similar en las nubes de puntos correspondientes. Los valores de REO se estimaron a partir de la curva obtenida en cada medición y se expresaron como el porcentaje de caída de la señal fotoacústica al descontar la componente fotobárica mediante la saturación de la fotosíntesis.

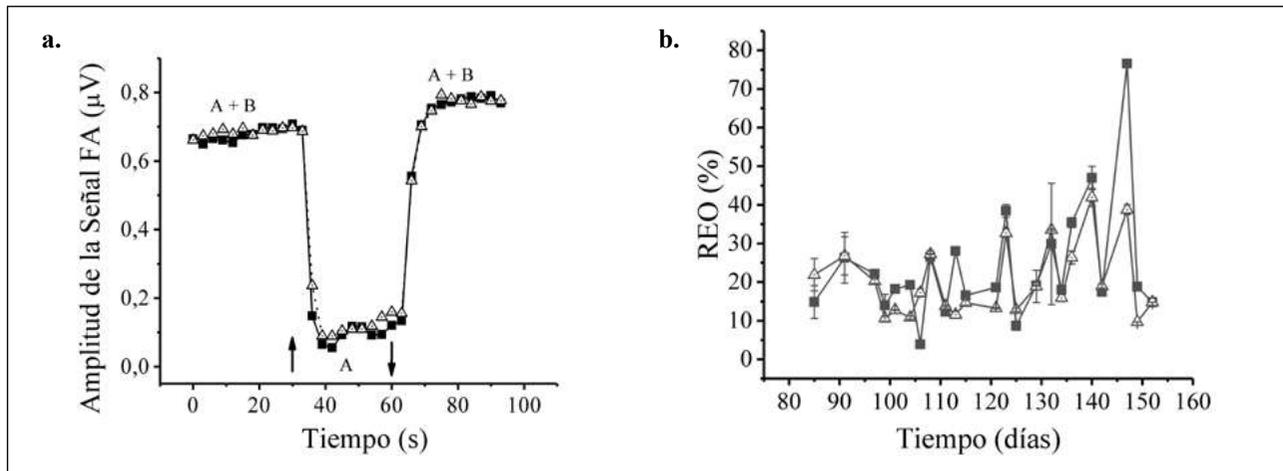


Figura 2. a) Amplitud de la señal fotoacústica con irradiación de luz roja y con luz blanca encendida (\uparrow) y apagada (\downarrow), emitida por las plantas infectadas con FOC (triángulos blancos) y sanas (cuadros negros). **b)** Comportamiento de la REO en función del tiempo. Los datos graficados corresponden a la media aritmética del total de datos recolectados.

En la misma figura se observa que durante el tiempo de monitoreo, la REO tuvo un comportamiento oscilatorio en ambos grupos, con un promedio de 21,2 % en el grupo sano, alcanzando valores entre el 4 y el 76 %, y de cerca de 19,4 % en el grupo infectado, con valores entre el 10 y el 49 %. Con la prueba de hipótesis t de Student se halló un valor de p mayor que 0,05, lo que indica que el comportamiento de la REO de las plantas infectadas con FOC no se diferenció del grupo de control.

En el análisis del crecimiento de las plantas se observó que durante los primeros 50 días de monitoreo aquellas infectadas con FOC presentaron un comportamiento similar a las del grupo sano, seguido de un periodo de 30 días en los que hubo una disminución en los valores de los parámetros de desarrollo. A partir del día 80, el comportamiento de estos datos tendió a igualarse nuevamente a los del grupo sano (**Figura 3**). El grupo infectado con FOC presentó reducciones de 19,8 % del área foliar comparado con el grupo sano debidas a la necrosis del tejido, así como del 1,8 % en la REO y del 1 % o menos en el número de hojas activas emitidas, la altura y el diámetro del pseudotallo. Como se observa en la **figura 3d**, este último se redujo durante la etapa media de la evaluación por la caída de los peciolo de las hojas muertas. En la **figura 4** se muestra la progresión de la enfermedad en las plantas infectadas con FOC.

Según los resultados de la prueba de hipótesis t de Student, la respuesta en el crecimiento de las plantas infectadas tampoco llegó a diferenciarse significativamente del comportamiento observado en el grupo de plantas sanas ($p > 0,05$), aunque en el grupo infectado con FOC se observó una reducción cercana al 20 % del área foliar, asociada con los efectos de la marchitez por acción del hongo en las hojas bajas de las plantas. Los resultados del ANOVA de medidas repetidas indicaron que la media de las variables de crecimiento se diferenciaron significativamente al interior de cada grupo ($p < 0,05$) y el análisis *post hoc*, que compara la medias entre pares de variables, indicó que el área foliar explicaba la varianza de los grupos, con $p < 0,05$ en todos los casos. Ello sugiere que este parámetro se ve influenciado por el proceso natural de pérdida y ganancia de hojas durante el crecimiento de las plantas.

Otros autores han documentado que el patógeno afecta diferencialmente las hojas según su posición en las plantas de variedades de banano sensibles a la infección por FOC (**Dong, et al., 2014, Dong, et al., 2016**), lo que concuerda con la afectación exclusiva de las hojas bajas, en tanto que las hojas superiores se mantuvieron asintomáticas. En la **tabla 1** se presentan los valores de la REO, así como de los parámetros de crecimiento y la significación estadística en la prueba de hipótesis.

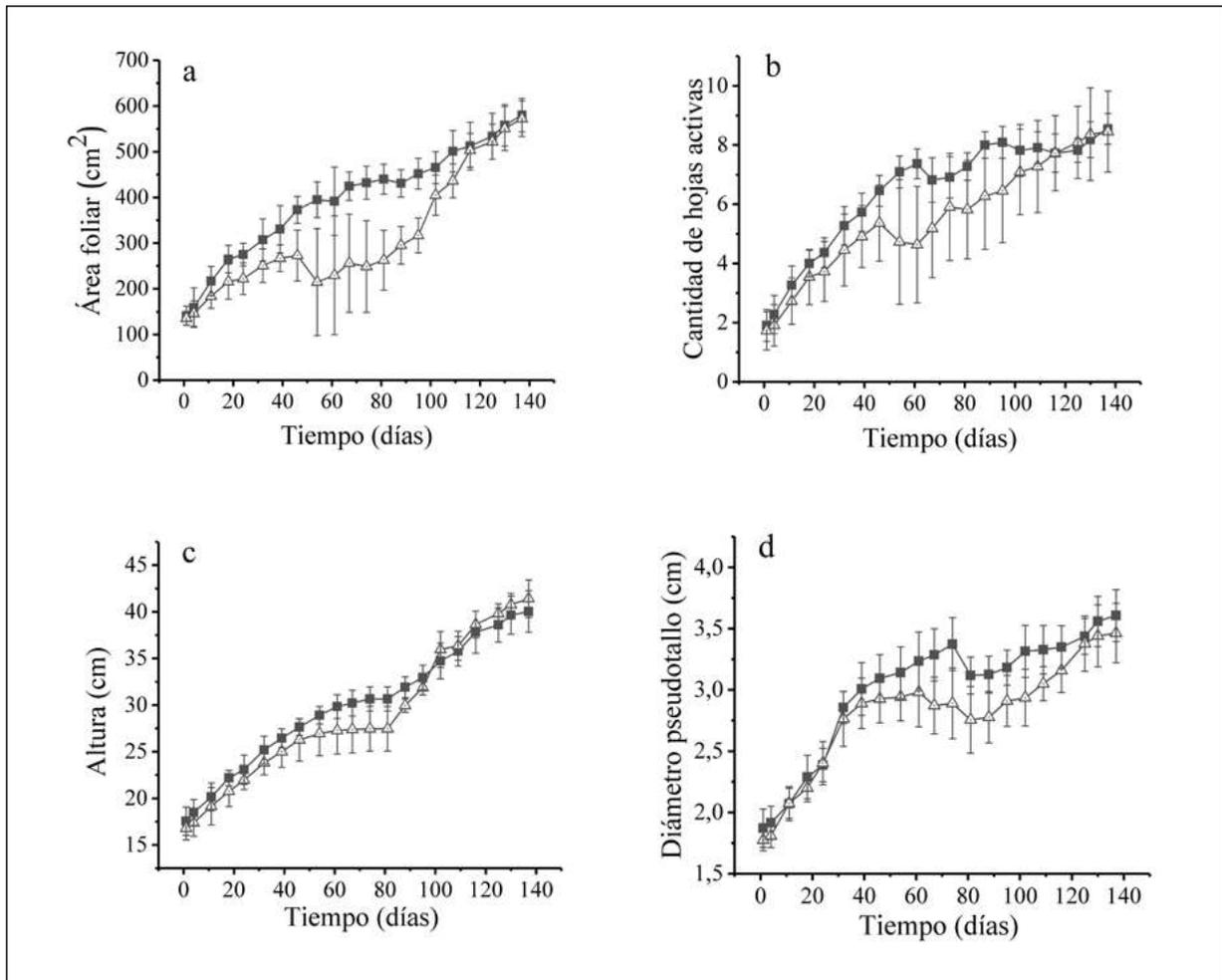


Figura 3. Comportamiento en función del tiempo de las variables de crecimiento de: **a)** área foliar, **b)** número de hojas activas, **c)** altura y **d)** diámetro del pseudotallo de las plantas infectadas (triángulos blancos) y sanas (cuadros negros) durante las 20 semanas de monitoreo en invernadero

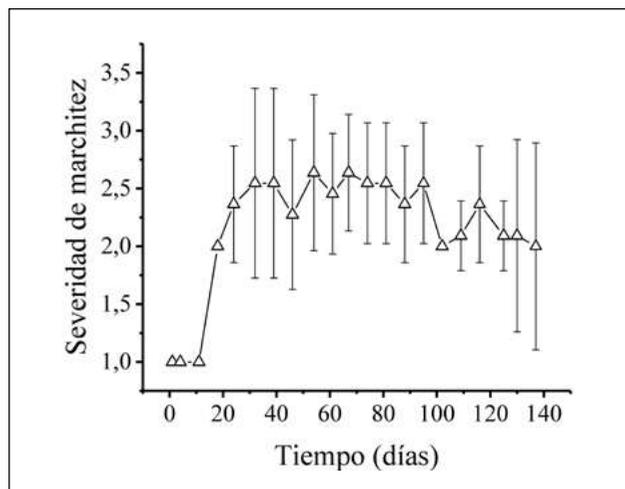


Figura 4. Imágenes correspondientes al seguimiento de los síntomas de decoloración y necrosis en las hojas bajas de las plantas infectadas con FOC durante el tiempo del monitoreo

Tabla 1. Significación estadística en la prueba t de Student de los datos de la REO y de las variables de crecimiento correspondientes a los grupos de plantas de banano infectadas y de control

Parámetros	Grupo infectado con FOC		Grupo sano		Prueba t de Student p
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
REO (%)	19,4	8,7	21,2	9,9	0,504
Área foliar (cm ²)	309,8	133,2	389,6	125,3	0,052
Número de hojas activas	5,4	2	6,3	2	0,166
Altura (cm)	28,7	7,7	29,6	6,8	0,672
Diámetro del pseudotallo (cm)	2,8	0,5	3	0,5	0,215

Discusión

En el banano y otras variedades de interés comercial, como el tomate, la sandía y el pepino, sensibles a la marchitez por *F. oxysporum*, la gravedad de la enfermedad se ha clasificado en dos etapas según la progresión de los síntomas de decoloración y necrosis del tejido y los efectos en la fisiología de las hojas, que inicialmente inducen el cierre estomático por estrés hídrico, lo que lleva a suponer una reducción de la eficiencia de la fotosíntesis y daños estructurales en la maquinaria fotosintética en etapas avanzadas. Esto afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas y la rentabilidad de los cultivos (Ye, *et al.*, 2004; Pshibytko, *et al.*, 2006; Wu, *et al.*, 2008; Singh, *et al.*, 2017).

La integración de la información concerniente a la REO y la del crecimiento de las plantas de banano infectadas con FOC permitió precisar que los procesos que tienen lugar en los cloroplastos para la síntesis de la glucosa (responsable del crecimiento en cualquier parte de la planta) no se vieron afectados por la actividad del patógeno durante el tiempo de medición, lo que estaría relacionado con el hecho de que se estaba en la fase de incubación de la enfermedad; no obstante, se debe tener en cuenta que la observación se hizo a temprana edad y que, probablemente, el método de propagación y de cultivo, así como las condiciones de invernadero, tuvieron que ver en la respuesta al hongo.

Fusarium oxysporum crece en los tejidos de su huésped después de la inoculación sin que se presenten expresiones sintomáticas hasta que pasa la fase de incubación. Aunque no se encontró información sobre la medición de parámetros fotosintéticos en plantas de banano afectadas por la enfermedad, sí se encontraron estudios en plantas de tomate (Marín-Ortiz, *et al.*, 2020). En ese estudio los autores presentan datos de la eficiencia fotoquímica, obtenidos al medir la cantidad de oxígeno producido por las hojas después de ser expuestas a luz de diversas longitudes de onda, los cuales evidenciaron que el rendimiento cuantitativo del sistema PSII de las plantas con marchitez no fue significativamente diferente del correspondiente al control. Por otra parte, el comportamiento de estas medidas en los días posteriores a la infección es comparable con el hallado para la REO en ese estudio.

Cabe resaltar que el comportamiento de la REO de las plantas de banano fue coherente con el de las variables de crecimiento, lo que indica que la técnica fotoacústica puede funcionar como complemento para monitorear el desarrollo de un cultivo, pero es necesario validar el método comparando las mediciones aquellas hechas con otras técnicas como la espectrofotometría de fluorescencia.

En general, con este método los datos de la REO se deben tomar diariamente en un intervalo de tiempo adecuado, ya que la actividad fotosintética de las plantas varía en función de este parámetro y es posible hacer comparaciones entre los comportamientos observados (Gordillo-Delgado, *et al.*, 2019), utilizando, por ejemplo, el análisis de componentes principales y de regresión por mínimos cuadrados parciales, con lo que es posible validar la dependencia de la REO frente a los tratamientos o la variable que se considere.

Los resultados reportados en el presente estudio sirven de prueba para consolidar las bases de la validación en campo de nuevos métodos de diagnóstico y de evaluación de tratamientos de las enfermedades ocasionadas por microorganismos patógenos y condiciones ambientales desfavorables, como las altas temperaturas y la falta de agua (Ashraf & Harris, 2013; Madroño, *et al.*, 2019), que continúan siendo un reto en la investigación agronómica.

Conclusiones

El análisis de los resultados indica que durante el tiempo de estudio la marchitez por FOC no indujo cambios significativos en la REO ni en el crecimiento de las vitroplantas Gros Michel cultivadas en condiciones de aislamiento en invernadero, lo que se explicaría por hallarse estas en la fase asintomática de la enfermedad cuando se hicieron las mediciones. El uso de la técnica fotoacústica tiene potencial para aumentar la capacidad de caracterización de cultivos basada en la medición de este tipo de caracteres fenotípicos relacionados con la actividad fotosintética para determinar el período de incubación de la marchitez vascular al prolongar el periodo de observación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad del Quindío y al Ministerio de Ciencia por el financiamiento a través del Programa “Jóvenes Investigadores e Innovadores” y a Cenibanano por suministrar las muestras del hongo, así como la financiación parcial del “Programa OMICAS: optimización multiescala *in silico* de cultivos agrícolas sostenibles (infraestructura y validación en arroz y caña de azúcar)” de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali, el cual recibió un estímulo del Banco Mundial, el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia, el Ministerio de Educación, el Ministerio de Industria y Turismo de Colombia, y el ICETEX (FP44842-217-2018).

Contribución de los autores

FGD: coordinación de experimentos, análisis de datos, redacción del manuscrito, diseño de esquemas y gráficas; MBZ: experimentos, análisis estadístico y redacción del manuscrito. Los dos autores contribuyeron a la revisión del documento y autorizaron su presentación para publicación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Aristizábal, M. (2008). Evaluación del crecimiento y desarrollo foliar del plátano hondureño enano (Musa AAB) en una región cafetera colombiana. *Agron*, **16** (2): 23-30.
- Ashraf, M. H. P. J. C., Harris, P. J. (2013). Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*. **51** (2): 163-190. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>
- Barja, P. R., Mansanares, A. M., Da Silva, E. C., Magalhães, A. C. N., Alves, P. L. C. A. (2001). Photosynthesis in eucalyptus studied by the Open Photoacoustic technique: Effects of irradiance and temperature. *Acoust Phys*. **47** (1): 16-21. Doi: 10.1134/1.1340073
- Cayón-Salinas, D. G. (2001). Evolución de la fotosíntesis, transpiración y clorofila durante el desarrollo de la hoja de plátano (Musa AAB Simmonds). *Infomusa (FRA)*. **12** (15): 10.
- De Sain, M. & Rep, M. (2015). The role of pathogen-secreted proteins in fungal vascular wilt diseases. *Int J Mol Sci*. **16** (10): 23970-23993. Doi: 10.3390/ijms161023970
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S., Staver, C. P. (2018). Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Front Plant Sci*. **9**: 1468. Doi: 10.3389/fpls.2018.01468
- Dong, X., Xiong, Y., Ling, N., Shen, Q., Guo, S. (2014). Fusaric acid accelerates the senescence of leaf in banana when infected by Fusarium. *World J Microbiol Biotechnol*. **30** (4): 1399-408. Doi: 10.1007/s11274-013-1564-1

- Dong, X., Wang, M., Ling, N., Shen, Q., Guo, S.** (2016). Potential role of photosynthesis-related factors in banana metabolism and defense against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Environ Exp Bot.* **129**: 4-12. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.01.005
- Ducruet, J. M., Peeva, V., Havaux, M.** (2007). Chlorophyll thermofluorescence and thermoluminescence as complementary tools for the study of temperature stress in plants. *Photosynthesis Research.* **93** (1-3): 159-171. Doi: 10.1007/s11120-007-9132-x
- Ghag, S. B., Shekhawat, U. K., Ganapathi, T. R.** (2015). Fusarium wilt of banana: biology, epidemiology and management. *Int J Pest Manag.* **61** (3): 250-63. Doi: 10.1080/09670874.2015.1043972
- Gordillo-Delgado, F., Marín, E., Calderón, A.** (2016). Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. *International Journal of Thermophysics.* **37** (9): 92. Doi: 10.1007/s10765-016-2101-x
- Gordillo-Delgado, F., Zuluaga-Acosta, J., Marín-Gallego, B. J.** (2019). Inoculación de nanopartículas de TiO₂-Ag en semillas de espinaca. *Informador Técnico.* **83**: 90-99. 10.23850/22565035.1659.
- Gordon, T. R.** (2017). *Fusarium oxysporum* and the Fusarium wilt syndrome. *Annu Rev phytopathol.* **55**: 23-39. Doi: 10.1146/annurev-phyto-080615-095919
- Han, T., Vogelmann, T. C., Nishio, J.** (1999). A photoacoustic spectrometer for measuring heat dissipation and oxygen quantum yield at the microscopic level within leaf tissues. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* **48** (2-3): 158-165. Doi: 10.1016/S1011-1344(99)00042-1
- Herbert, S. K., Han, T., Vogelmann, T. C.** (2000). New applications of photoacoustics to the study of photosynthesis. *Photosynth Res.* **66** (1-2): 13-31. Doi: 10.1023/A:1010788504886
- Herbert, S. K., Biel, K. Y., Vogelmann, T. C.** (2006). A photoacoustic method for rapid assessment of temperature effects on photosynthesis. *Photosynth res.* **87** (3): 287-294. Doi: 10.1007/s11120-005-9009-9
- Hou, H. J., Sakmar, T. P.** (2010). Methodology of pulsed photoacoustics and its application to probe photosystems and receptors. *Sensors.* **10** (6): 5642-5667. Doi: 10.3390/s100605642
- Liu, S., Li, J., Zhang, Y., Liu, N., Viljoen, A., Mostert, D., Sheng, O.** (2020). Fusaric acid instigates the invasion of banana by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense TR4. *New Phytol.* **225** (2): 913-929. Doi: 10.1111/nph.16193
- Lorenzini, G., Guidi, L., Nali, C., Ciompi, S., Soldatini, G. F.** (1997). Photosynthetic response of tomato plants to vascular wilt diseases. *Plant Sci.* **124** (2): 143-152. Doi: 10.1016/S0168-9452(97)04600-1
- Järvi, S., Gollan, P. J., Aro, E. M.** (2013). Understanding the roles of the thylakoid lumen in photosynthesis regulation. *Frontiers in Plant Science.* **4**: 434. Doi: 10.3389/fpls.2013.00434
- Madroño, L. J., Corredor-Rozo, Z. L., Escobar-Pérez, J., Velandia-Romero, M. L.** (2019). Next generation sequencing and proteomics in plant virology: how is Colombia doing? *Acta Biológica Colombiana.* **24** (3): 423-438. Doi: 0.15446/abc.v24n3.79486
- Malkin, S. & Canaani, O.** (1994). The use and characteristics of the photoacoustic method in the study of photosynthesis. *Annual review of plant mol biol.* **45** (1): 493-526.
- Marín-Ortiz J. C., Gutiérrez-Toro N., Botero-Fernández V., Hoyos-Carvajal L.M.** (2020). Linking physiological parameters with visible/near-infrared leaf reflectance in the incubation period of vascular wilt disease. *Saudi Journal of Biological Sciences.* **27** (1): 88-99. Doi: 10.1016/j.sjbs.2019.05.007
- Moreno, S. G., Vela, H. P., Álvarez, M. O. S.** (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica.* **27** (4): 119-129.
- Ploetz, R. C., Haynes, J. L., Vázquez, A.** (1999). Responses of new banana accessions in South Florida to Panama disease. *Crop Prot.* **18** (7): 445-449. Doi: 10.1016/S0261-2194(99)00043-5
- Pshibytko, N. L., Zenevich, L. A., Kabashnikova, L. F.** (2006). Changes in the photosynthetic apparatus during Fusarium wilt of tomato. *Russ J Plant Physiol.* **53** (1): 25-31. Doi: 10.1134/S1021443706010031
- Rai, A. K., Mathur, D., Singh, J. P.** (2001). Photoacoustic Spectroscopy, a Nondestructive Method for Sensitive Analysis of Disease in Plants. *Instrum Sci Technol.* **29** (5): 355-366. Doi: 10.1081/CI-100107228
- Sánchez-Rocha, S., Vargas-Luna, M., Gutiérrez-Juárez, G., Huerta-Franco, R., Olalde-Portugal, V.** (2008). Benefits of the Mycorrhizal Fungi in Tomato Leaves Measured by Open Photoacoustic Cell Technique: Interpretation of the Diffusion Parameters. *Int J Thermophy.* **29** (6): 2206-2214. Doi: 10.1007/s10765-008-0411-3

- Singh, V. K., Singh, H. B., Upadhyay, R. S.** (2017). Role of fusaric acid in the development of 'Fusarium wilt' symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant physiol bioch.* **118**: 320-32. Doi: 10.1016/j.plaphy.2017.06.028
- Vargas-Luna, M., Madueño, L., Gutiérrez-Juárez, G., Bernal-Alvarado, J., Sosa, M., González-Solis, J. L., Campos, P.** (2003). Photorespiration and temperature dependence of oxygen evolution in tomato plants monitored by open photoacoustic cell technique. *Rev Sci Instrum.* **74** (1): 706-708. Doi: 10.1063/1.1517753
- Spiegel, M.** (2009). *Estadística*. (4a. ed.) McGraw-Hill Interamericana. <http://crai.referencistas.com:2078/?il=608>
- Veljović-Jovanović, S., Vidović, M., Morina, F., Prokić, L., Todorović, D. M.** (2016). Comparison of photoacoustic signals in photosynthetic and nonphotosynthetic leaf tissues of variegated *Pelargonium zonale*. *Int J Thermophys.* **37** (9): 91. Doi: 10.1007/s10765-016-2092-7
- Wu, H. S., Bao, W., Liu, D. Y., Ling, N., Ying, R. R., Raza, W., Shen, Q. R.** (2008). Effect of fusaric acid on biomass and photosynthesis of watermelon seedlings leaves. *Caryologia.* **61** (3): 258-268. Doi: 10.1080/00087114.2008.10589638
- Ye, S. F., Yu, J. Q., Peng, Y. H., Zheng, J. H., Zou, L. Y.** (2004). Incidence of Fusarium wilt in *Cucumis sativus* L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates. *Plant Soil.* **263** (1): 143-150. Doi: 10.1023/B:PLSO.0000047721.78555.dc
- Zakhidov, E. A., Kokkharov, A. M., Kuvondikov, V. O., Nematov, S. K., Saparbaev, A. A.** (2012). Photoacoustic spectroscopy of thermal relaxation processes of solar energy in the photosynthetic apparatus of plants. *Applied Solar Energy.* **48** (1): 62-66. Doi: 10.3103/S0003701X12010161
- Zakhidov, E. A., Kokkharov, A. M., Kuvondikov, V. O., Nematov, S. K., Tazhibaev, I. I.** (2019). A Low-Frequency Photoacoustic Spectrometer with an RGB Light-Emitting Diode for Evaluating Photosynthetic Activity in Plant Leaves. *Acoust Phys.* **65** (1): 90-95. Doi: 10.1134/S1063771019010172

Original article

Reproductive phenology of three species of *Pristimantis* in an Andean cloud forest

Fenología reproductiva de tres especies de *Pristimantis* en un bosque de niebla andino

Yamile Granados-Pérez¹, Martha Patricia Ramírez-Pinilla^{*1,2}

¹ Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

² Colección Herpetológica y Laboratorio de Biología Reproductiva de Vertebrados, Grupo de Estudios en Biodiversidad, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

Martha Patricia Ramírez Pinilla, inaugural article for admission as a Number Member to the Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Abstract

We studied the reproductive phenology of three coexisting *Pristimantis* species inhabiting an Andean tropical cloud forest in the Cordillera Oriental of Colombia. Populations were constituted mostly by juveniles, numerous adult males, and few reproductive adult females and, therefore, the operational sex ratio was greatly biased to males while the populational sex ratio was not. Mean snout-vent lengths (SVL) were larger in adult females than in males, as well as the minimum size of sexual maturity, which indicates that females became mature or adult at larger body sizes than males and explains the highly biased operational sex ratio. The testes histological analyses revealed the presence of sperm in almost all the collected males indicating that they are a permanent resource for reproduction in the three studied species. Males' abdominal fat bodies showed no significant temporal variation nor a relationship with the rainy season. We observed three patterns of breeding activity: 1) Continuous reproductive activity in *P. miyatai*; 2) reproductive activity during the rainy seasons and juvenile recruitment in the following dry seasons in *P. merostictus*, and 3) reproductive activity mainly during the second semester of the year and juvenile recruitment in the following dry season (*P. uisae*). The analyses of reproductive activity and recruitment of juveniles revealed significant temporal overlap among *Pristimantis* species suggesting that reproductive phenology does not play a significant role in the temporal segregation of these anuran species. Nevertheless, the different breeding patterns could represent a strategy to reduce interspecific froglet overcrowding in the growing microhabitats thus facilitating coexistence among potentially competing taxa.

Keywords: Patterns of breeding activity; Seasonality; Coexistence; Juvenile recruitment; Strabomantidae.

Resumen

Estudiamos la fenología reproductiva en tres especies de *Pristimantis* que coexisten en un bosque de niebla tropical andino en la cordillera Oriental de Colombia. Las poblaciones estaban constituidas principalmente por juveniles, numerosos machos adultos, y pocas hembras adultas reproductivas, por lo que la proporción operacional de sexos estuvo muy sesgada hacia los machos, mas no así la proporción poblacional. La media de la longitud rostro-cloaca fue mayor en las hembras adultas que para los machos adultos, así como el tamaño mínimo de madurez sexual, lo que indica que las hembras maduran con tamaños corporales más grandes que los machos y explica el sesgo en la proporción operacional de sexos. Los análisis histológicos de los testículos revelaron la presencia de esperma en casi todos los machos recolectados, lo que significa que son un recurso permanente para la reproducción en las tres especies estudiadas. Los cuerpos grasos abdominales de los machos no mostraron variaciones temporales significativas, ni una relación con las lluvias. Se observaron tres patrones de actividad reproductiva: 1) actividad reproductiva continua en *P. miyatai*; 2) actividad reproductiva en las estaciones lluviosas y reclutamiento de juveniles en las

Citation: Granados-Pérez Y, Ramírez-Pinilla MP. Reproductive phenology of three species of *Pristimantis* in an Andean cloud forest. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1083-1098, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1191>

Editor: Elizabeth Castañeda

***Corresponding autor:**

Martha Patricia Ramírez Pinilla;
mpiramir@uis.edu.co

Received: April 13, 2020

Accepted: September 15, 2020

Published: December 5, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

siguientes estaciones secas en *P. merostictus*, y 3) actividad reproductiva principalmente durante el segundo semestre del año y reclutamiento de juveniles en la siguiente estación seca (*P. uisae*). Los análisis de la actividad reproductiva y el reclutamiento de juveniles revelaron una superposición temporal entre las especies de *Pristimantis*, lo que sugiere que la fenología reproductiva no juega un papel importante en la segregación temporal de estas especies de anuros. Sin embargo, los diferentes patrones de reproducción podrían representar una estrategia que reduce la aglomeración de ranitas en los microhábitats de crecimiento, facilitando así la coexistencia entre taxones que potencialmente compiten.

Palabras clave: Patrones de actividad reproductiva; Estacionalidad; Coexistencia; Reclutamiento de juveniles; *Pristimantis*.

Introduction

Reproductive patterns in anurans are related to environmental variables (Moreira & Lima, 1991; Donnelly & Guyer, 1994; Bertoluci, 1998), and they differ within tropical and subtropical frog communities. The anuran fauna of 'non-seasonal' tropical environments is composed of a large number of species that reproduce year-round (Crump, 1974; Gascon, 1991; Donnelly, 1999) while the breeding season of most species in seasonal tropical environments is typically associated with the rainy season (Aichinger, 1987; Bertoluci, 1998; Bertoluci & Rodrigues, 2002). However, both reproductive patterns, year-round reproduction and reproductive activity concentrated in the rainy seasons, can be found simultaneously in many tropical frog communities (Rossa-Feres & Jim, 1994; Moreira & Barreto, 1997; Prado, *et al.*, 2000). This strategy might serve to avoid overlapping in time and space and minimize competition among sympatric species (Moreira & Barreto, 1997; Bertoluci & Rodrigues, 2002).

Differences among reproductive patterns can play a significant role in the composition of an assemblage over relatively short time scales. This happens through temporal fluctuations in the structure of populations (Fitzgerald, *et al.*, 1999), or by mechanisms of reproductive isolation that maintain the entity of the species developing variants in their reproductive modes (Duellman, 1967; Crump, 1982). Crump (1982) suggested that the differences in the population structures related to the reproductive season have direct effects on the structure of the community because the duration of the reproductive activity of a species is influenced by the reproductive patterns of other species. Moreover, reproductive phenology is known to be an important factor for the coexistence of sympatric species of Neotropical anuran communities (Bertolucci, 1998; Donnelly & Guyer, 1994; Bertolucci & Rodrigues, 2002).

With more than 500 species, the genus *Pristimantis* is the most diverse amphibian genus with the largest number of endemic species (Frost, 2020). Its great diversity, especially in the northern Andes (Lynch & Duellman, 1997; Hedges, *et al.*, 2008; Meza-Joya & Torres, 2016), is attributed to the use of terrestrial sites for reproduction and the direct development of eggs (Terrarana clade sensu Hedges, *et al.*, 2008). Although continuous reproductive cycles are to be expected in these species considering their relative independence of water bodies (Summers, *et al.*, 2007; Pacheco-Florez & Ramírez-Pinilla, 2014), there are no studies on the reproductive phenology of Terrarana congeneric assemblages, which makes *Pristimantis* species assemblages a very interesting study subject.

We found assemblages of up to ten *Pristimantis* species in the same area within two Andean cloud forests in the Cordillera Oriental of Santander, Colombia, (Arroyo, *et al.*, 2003; Gutiérrez-Lamus, *et al.*, 2004), most of them with similar body sizes and morphology (*unistrigatus* phenetic group) (Arroyo, *et al.*, 2005). Each assemblage included three abundant species, three common species, and few rare species (Arroyo, *et al.*, 2003; Gutiérrez-Lamus, *et al.*, 2004).

Morphological similarity among coexisting animal species may cause potential interactions and lead to competition and niche segregation (Huey & Pianka, 1977). However, pseudocommunity analyses of diet, time of activity, and vertical position in these cloud

forest *Pristimantis* assemblages revealed significant overlap and no guild structure for resources partitioning in the community (Arroyo, *et al.*, 2008; Gutiérrez-Lamus, 2003). In our study, we compared some characteristics and the time of reproductive activities in the three most abundant coexisting *Pristimantis* species from one of the assemblages to determine whether the reproductive phenology and/or the distribution of age-sex classes might segregate the species temporally.

Materials and methods

Study area

The study site was located in La Sierra forest reserve at *Santuario de Fauna y Flora Guanentá - Alto Río Fonce* (national reserve) on the west flank of the Cordillera Oriental in the Colombian Andes, southern Santander department adjacent to the department of Boyacá (73° 15' 7" W, 6° 03' 7" N, 2000 to 2400 m of altitude). The area has a bimodal regime of rains with two peaks (April and October), an average annual rainfall of 1891.3 mm, a mean temperature of 12.1°C, and two types of forests: native and planted oak forests (*Quercus humboldtii*), abundant arborescent ferns, epiphytes, and *Cecropia* sp. trees (Galindo-Tarazona, *et al.*, 2003).

Frog sampling

The frogs we analyzed were the same used in a previous study to determine their microhabitat, diet, time of activity, and assemblage structure (Gutiérrez-Lamus, 2003; Gutiérrez-Lamus, *et al.*, 2004). The specimens were collected during eight months between July 2001 and November 2002 by visual detection of individuals during the day, afternoon, and night. Each month, three different people sampled three trails in the forest from 9:00 to 11:00, 15:00 to 17:00, and 20:00 to 22:00 h. Transects were sampled once a day to avoid disturbances. Each person looked for frogs in the vegetation and hand-collected them removing litter from the ground.

Additionally, in individuals collected in December 2000 sex ratio, sexual dimorphism, and size-fecundity relationships analyses were done. There was an involuntary gap in the samples during the rainy months of April and May. This sampling bias was partially corrected with the collection of the same species for a later study (2004) in a neighboring area with the same type of vegetation and altitude (Cachalú Biological Reserve, 73° 07' 109 09" W, 6° 05' 3' 9" N, 2000-2400 m altitude) (Cortés, *et al.*, 2008).

All collected specimens were euthanized by submersion in 10% ethanol, fixed in 10% formalin, preserved in 70% ethanol, and placed in the herpetological collection of the *Museo de Historia Natural, Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander (UIS-A)*.

Laboratory methods

We measured the snout to vent length (SVL), the head length, the height and width, mouth width, body height and width, and length of the foreleg and hind limbs with a Vernier caliper (± 0.02 mm). We made a mid-ventral incision and recorded the following morphometric data for each sex: In males, we calculated the length of the abdominal fat bodies and the width (a) and length (b) of the left testes to determine their volume using the ovoid spheroid formula: $V = (\pi a^2 b) / 6$ (Wiederhecker, *et al.*, 2002). Then they were fixed in Bouin's solution, embedded in paraffin, sectioned at 5 μ m, and stained with hematoxylin-eosin. The stage of spermatogenesis was determined in each individual by analyzing the histological slides and the stages were classified following Saidapur (1983): Stage I, primary and secondary spermatocytes; stage II, early spermatids; stage III, late spermatids; stage IV, presence of sperm bundles at the luminal border of the seminiferous tubule, and stage V, mature sperm in the seminiferous tubule lumen. In females, we recorded the number and diameter of the largest ovarian follicles and the width and convolution of the oviducts. We classified the reproductive condition of adult females by direct observation as previtellogenic (ovaries without yolked follicles) and vitellogenic (ovaries containing vitellogenic follicles and convoluted oviducts).

Data analyses

We used the monthly summaries of data describing SVL, sex, and reproductive condition for each species to characterize juvenile, adult female, and adult-male age and sex classes. We used age classes to determine sex ratios. We applied G tests to detect significant differences in the composition of the population over time. To establish significant differences in frogs' body-size distribution over time, we conducted a variance analysis (ANOVA) followed by post-hoc tests (Tukey test).

To test for sexual dimorphism in size, we used the following data: SVL, head length, width and height, mouth width, body height and width, the average length of the segments of the hind limbs (femur, tibia-fibula, and tarsal and metatarsal-phalange), and forelegs (humerus, radio-ulna, and carpal-phalange). We used t-tests to analyze the differences between male and female SVLs. For the other variables, we used covariance analyses (ANCOVA) of data transformed to logarithms (base 10). We used the body size (SVL) as a covariate to adjust the data of all other variables. Given the low sample size of adult females, we took a random subsample of 10 to 20 adult males to balance sample sizes between sexes during statistical testing.

The reproductive stage of each specimen served to determine the overall reproductive activity for males and females per month and the whole sampling time, as well as the minimum size of sexual maturity for each population determined by the body size (SVL) of the smallest vitellogenic female and the smallest male with sperm in testis (stages IV-V). To detect intra- and inter-sex variation per month (synchrony) and over time (seasonality) we used G tests.

We calculated linear regressions between testicular volume and abdominal fat bodies with the SVL from every adult male in each species. We obtained the residuals of these regressions to eliminate the effect of body size on the reproductive variables. We conducted a variance analysis (ANOVA) or a Kruskal-Wallis test on the residuals (as appropriate) followed by post hoc tests (Tukey or Nemenyi tests, respectively) to determine significant differences in these variables and discriminate which months were different (Zar, 1996).

We used linear regressions to test for significant relationships among testicular volume, accumulation of abdominal fat bodies, and rainfall. We did not find significant differences between the historical values for the mean precipitation and temperature during the sampling years [precipitation (2001: $t_{0.05,11} = -0.76$, $p = 0.46$ and 2002: $t_{0.05,4} = 0.36$; $p = 0.74$) and temperature (2001: $t_{0.05,11} = -0.31$; $p = 0.76$ and 2002: $t_{0.05,4} = 1.47$; $p = 0.22$)], therefore, we used the historical rainfall data corresponding to monthly precipitation and temperature averages over the last 20 years recorded at the climatological station La Sierra (IDEAM) in municipality of Duitama (Boyacá) located $73^{\circ}10'W$, $5^{\circ}58'N$ at 2700 masl. The low numbers of captured adult females prevented us from using them in the statistical analyses.

We calculated the clutch size as the number of yolked follicles observed in each female. We evaluated the relationship between female and clutch sizes using linear regressions.

Results

We collected 292 adult males, 26 adult females, and 249 juveniles (130 immature females, 38 immature males, and 81 juveniles of undetermined sex) from the three species. Adult females were few in all three species and most of them were reproductive; however, we observed some differences in *P. miyatai* regarding the occurrence of adult females during the sampling (Figure 1). There were significant differences in the number of males from the three species and of *P. merostictus* and *P. uisae* juveniles; in June, one of the driest months of the year, we collected very few individuals of any of the species (Table 1, Figure 1).

The mean SVL of all frogs collected in each sampling event varied significantly among species. In June and July, *P. merostictus* ($F_{8,249} = 23.3$, $p < 0.001$) body sizes were significantly smaller while in September and November, *P. uisae* ($F_{8,155} = 6.8$, $P < 0.001$) body sizes were the largest and *P. miyatai* ($F_{7,132} = 1.6$, $P = 0.044$) registered significantly smaller body sizes in June.

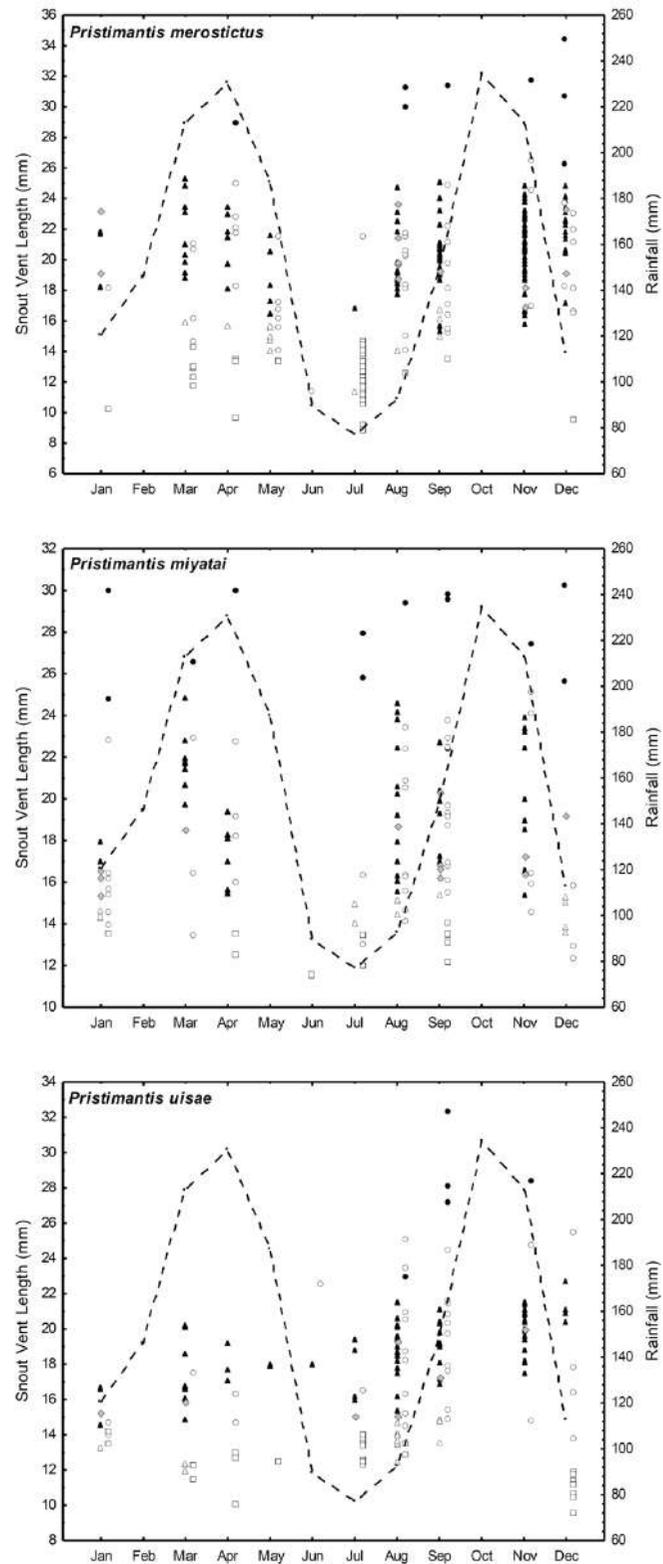


Figure 1. Distributions of age (SVL), sex, and age class of the individuals collected from the populations of *Pristimantis uisae* (a), *P. merostictus* (b), and *P. miyatai* (c). Reproductive adult males (filled triangles); non-reproductive adult males (grey rhombuses); immature males (open triangles); adult females (filled circles); immature females (open circles); and juveniles of undetermined sex (squares). Rainfall pattern (dotted line)

Table 1. Temporal changes in population structure and sexual dimorphism in *Pristimantis merostictus*, *P. uisae*, and *P. miyatai*

Species	Population Structure				Sexual Dimorphism						
	Category	N	G-Test	P	Variable	Sex	Mean±SD	N	R ²	F-Test	Statistic Value
<i>P. merostictus</i>	M	144	$G_{0.05,9}=112.2$	<0.001	SVL	M	19.75±2.16	10			$t_{0.05,16}=9.2$
	F	8	--	--		F	30.28±2.74	8			<0.001
	J	62	$G_{0.05,9}=33.1$	<0.001							
	U-S	45	$G_{0.05,9}=89.0$	<0.001							
<i>P. uisae</i>	M	90	$G_{0.05,9}=63.8$	<0.001	SVL	M	18.26±2.51	10			$t_{0.05,18}=6.6$
	F	5	--	--		F	26.18±2.83	10			<0.001
	J	48	$G_{0.05,9}=39.4$	<0.001							
	U-S	23	$G_{0.05,9}=8.9$	0.5							
<i>P. miyatai</i>	M	58	$G_{0.05,9}=17.2$	<0.05	SVL	M	19.05±2.92	20			$t_{0.05,38}=7.16$
	F	13	--	--		F	25.66±2.92	20			<0.001
	J	58	$G_{0.05,9}=14.3$	0.1	Tibio-	M	10.06±1.41	20	0.94	$F_{2,37}=326.8$	$F_{1,37}=6.8$
	U-S	13	--	--	fibula	F	13.79±1.42	20		$P<0.0001$	<0.010
					Humerus	M	3.68±0.47	20	0.85	$F_{2,37}=109.8$	$F_{1,37}=6.5$
	F	5.02±0.58	20		$P<0.0001$	0.015					

M: Adult males; F: Adult females; J: Juveniles; U-S: froglets with undetermined sex. Measurements given in mm. No significant variables in sexual dimorphism were omitted.

Juvenile recruitment

We recorded 63 *Pristimantis* froglets with very small body sizes (6 to 10 mm SVL) corresponding to 20% of all the juveniles in the sampling. We found significant differences in their occurrence ($G_{0.05,7} = 25.17$; $p < 0.001$), and they were most abundant in the driest months (December and July). We did not include them in the analyses because it is not possible to differentiate among species when body sizes are so small (Lynch, pers. comm.).

We found somewhat bigger froglets, enough to identify their species, but we were not able to assign their sex given the minimal size of their gonads (juveniles of undetermined sex). We found *P. merostictus* smallest froglets during the two dry seasons (July and December), and *P. miyatai*'s ones in June, July, and September. We registered *P. uisae* froglets' highest abundance in December after finding females with yolked follicles during the second rainy season of the year (Figures 1 and 2).

Pristimantis merostictus, *P. miyatai*, and *P. uisae* juveniles' body size showed a significant monthly variation (*P. merostictus*, $F_{7,96} = 11.9$, $P < 0.001$, *P. miyatai*, $F_{7,61} = 2.44$, $P = 0.03$, and *P. uisae*, $F_{8,155} = 6.8$, $P < 0.001$). Most of the froglets and juveniles were captured in the litter during mornings or afternoons.

Sexual dimorphism

In all three *Pristimantis* species, the mean SVL in adult females was greater than in males indicating a marked sexual dimorphism in body size (Table 1). We also observed sexual dimorphism in *E. miyatai* for tibia-fibula and humerus lengths, which was always longer in females regardless of their body size.

Sexual maturity and reproductive activity

Females from the three species reached reproductive maturity at larger body sizes than males, which may affect the population and operational sex ratios because immature females were more frequently found than adult females (Table 2).

Males' reproductive activity seemed to be year-round in the three species. We did find few adult non-reproductive males (stages I-III), indicating that spermatogenesis may be discontinuous in these species (**Figures 1 and 2**). The occurrence of reproductive males varied within the sampling months for the three species. *P. merostictus* ($G_{0.05^*9} = 70.7$, < 0.001 , $N = 132$) and *P. miyatai* ($G_{0.05^*9} = 34.2$, < 0.001 , $N = 46$) males were almost absent in June and July, the driest season of the year; conversely, *P. uisae* ($G_{0.05^*9} = 31$, < 0.001 , $N = 82$) males were found in all the sampling months, though more abundantly in the second semester of the year, during the transition from the driest season to the second rainy season and in its course when reproductive females are found. However, reproductive males from all three species are a permanent and available resource for females.

We found a positive relationship between body size and testis volume. Only *P. merostictus* showed significant variation in the testicular volume from month to month when we removed the effect of body size on testis volume (**Table 3a**). In all three species, testicular volume was significantly related to precipitation (**Table 3a**).

Interestingly, we found ovarian follicles dispersed in the interstitial tissue in the testes of some *P. merostictus* and *P. uisae* individuals in whose seminiferous tubules and ducts there was abundant free sperm indicating they were reproductive males; 3% of *P. merostictus* and 6% of *P. uisae* adult males had ovarian follicles in the testes.

Females' reproductive activity seemed to differ in the three species. In *P. miyatai* females, we observed vitellogenic ovaries during all sampling months indicating a continuous reproductive activity. *P. merostictus* reproductive females seemed to appear for few months during the rainy seasons while *P. uisae* ones only during the second rainy season.

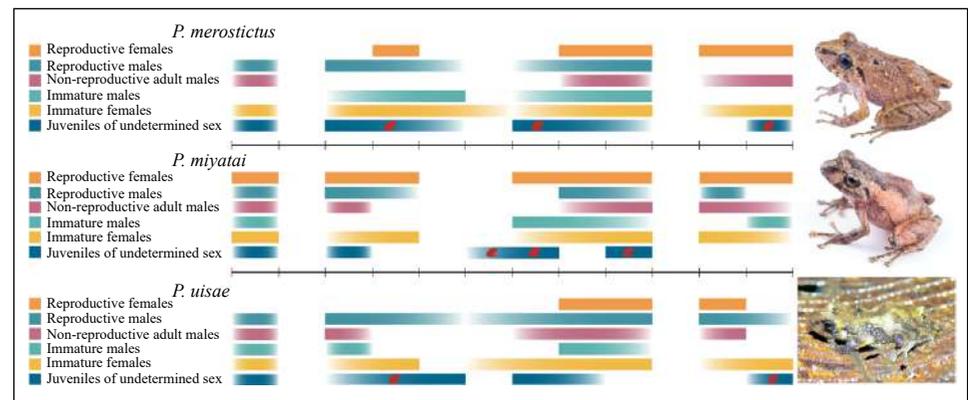


Figure 2. Reproductive events during the year for three species of *Pristimantis*. Colors in each bar are more intense when the abundance of this category is higher in the sampling months. The red froglets in the bar of juveniles of undetermined sex indicate the month in which the smallest froglets were found.

Table 2. Sex ratio and minimum size at maturity (MSM) in the studied species. The operational sex ratio corresponds to the number of adult males per number of adult females. The population sex ratio includes adults and juveniles of each sex.

Species	N					Sex ratio		MSM (mm)	
	Adult		Juveniles			Population	Operational	Males	Females
	Males	Females	Males	Females	Undetermined	♂ : ♀	♂ : ♀		
<i>P. merostictus</i>	144	8	12	50	45	3 : 1	18 : 1	15	26.28
<i>P. miyatai</i>	58	13	13	45	13	1 : 1	5 : 1	15.34	22.36
<i>P. uisae</i>	90	5	13	35	23	3 : 1	18 : 1	14.58	22.92

Table 3. Variation over time and precipitation in the adjusted testis volume (a) and the abdominal fat bodies (b) in adult males and their relationship with body size (SVL)

(a)		SVL		Time	Precipitation			
Species	N	r ²	P	P	r ²	P		
<i>P. merostictus</i>	135	0.17	< 0.001	0.001	0.07	< 0.001		
<i>P. miyatai</i>	60	0.68	< 0.001	0.88	0.06	0.04		
<i>P. uisae</i>	94	0.52	< 0.001	0.26	0.03	0.05		
(b)		SVL		Time	Testis volume		Precipitation	
Species	N	r ²	P	P	r ²	P	r ²	P
<i>P. merostictus</i>	136	0.024	0.04	0.32	0.095	<0.001	0.002	0.3
<i>P. miyatai</i>	65	0.08	0.02	0.26	0.027	0.12	0.011	0.2
<i>P. uisae</i>	94	0.18	0.001	0.36	0.146	<0.001	0.001	0.3

During the first rainy season of the year, between April and May 2004, in a forest next to our study site, we sampled *P. miyatai*, and *P. merostictus* juveniles of different body sizes, abundant mature males, and some mature females, which suggests that they were reproductively active during this season. On the contrary, we only collected *P. uisae* juveniles and mature males (**Figure 1**).

This information, together with that of juvenile recruitment, allowed us to estimate the reproductive time of each species: in *P. miyatai* reproduction was continuous; *P. merostictus*, had two reproductive seasons at the beginning of each peak of rains as we collected small body juveniles during the following dry months, and *P. uisae* smallest juveniles appeared after finding vitellogenic females in the middle and at the end of the second rainy season suggesting that they have only one reproductive season per year. We found some *P. uisae* and *P. miyatai* non-reproductive adult females and, simultaneously, vitellogenic females suggesting reproductive intrasexual asynchrony between females of both species.

Clutch size

Size-fecundity relationships were difficult to establish due to the small sample of adult females. In *P. miyatai* (31 ± 14.07 eggs/clutch) and *P. uisae* (37.4 ± 4.62 eggs/clutch) the SVL was not related with fecundity ($r^2 = 0.026$, $F_{1,8} = 0.21$, $P = 0.66$, and $r^2 = 0.65$, $F_{1,3} = 0.28$, $P = 0.21$, respectively), whereas in *P. merostictus* (41.71 ± 8.93 eggs/clutch) there was a positive relationship between clutch size and body size ($r^2 = 0.65$, $F_{1,5} = 11.93$, $P = 0.018$).

Abdominal fat bodies

We observed a positive relationship between the abdominal fat bodies of adult males and their body size (SVL) in the three species. We did not find any significant variation in fat body size during the sampling period in any of the species. There was a significant relationship between abdominal fat bodies and testicular volume in *P. merostictus* and *P. uisae*. The influence of rainfall on these reserves was not evident in any of the species (**Table 3b**).

Reproductive overlap

Pristimantis miyatai showed continuous reproductive activity as reproductive females and juveniles were collected during all study months with the greatest similarity between *P. merostictus* and *P. uisae*. In both species, female reproductive activity occurred during the rainy seasons and juvenile recruitment in the following dry months. However, *P. uisae* reproduction activity occurred mainly during the second rainy season of the year.

Discussion

Sex-ratio

We collected few adult females while reproductive males were more easily found because of their calling activity; this is particularly true for *P. uisae* males given that they call during the morning, afternoon, and night. However, males of the other *Pristimantis* species did not vocalize regularly nor in organized choruses, and all of them were collected without hearing them before. Additionally, possible differences in the use of the microhabitat by adults from both sexes could hamper the sampling of adult females. For example, **Chinchilla-Lemus, et al.** (2019) found significant differences between *P. bacchus* sexes in their use of the microhabitat with males preferring the stem of the bushes above 81 cm while adult females mostly used the leaf litter because of the substrate temperature. Therefore, the detectability of the males might be higher than that of females.

There may be other explanations for sex ratio differences in adult frogs. In the *Pristimantis* species under study, males reached their minimum-size sexual maturity at smaller body sizes than females, so the age and body size at which females and males reached sexual maturity differ with females requiring more time than males to mature. Thus, it is very common to collect small frogs of approximately the same body size composed by adult and reproductive males, as well as immature females.

On the other hand, some authors have suggested that species with prolonged breeding seasons have lower operational sex ratios and intersexual reproductive asynchrony (**Wells**, 1977; **Arak**, 1983; **Howard & Kluge**, 1985). The operational sex ratios found in the species of this assemblage were strongly male-biased as it was also observed for *P. bacchus* by **Chinchilla-Lemus, et al.** (2019). On average, males were three to 18 times more abundant than females in the sampling and mature males were reproductively active almost all the time, adult females were fewer and asynchronous in their reproductive activity. Population sex ratios, however, were higher than operational sex ratios suggesting that few females reached the body size at sexual maturity. This was also evident when we observed many more immature females than immature males in the three species, and in the overlap in body sizes of adult males and immature females. The fact that females must reach a larger size may answer to the fact that they have to live longer to reach the category of a mature adult. If the survival of the sexes is the same, there should be more mature males than mature females.

Sexual dimorphism in body size

Morphometric comparison of males and females in the three analyzed *Pristimantis* species showed that females attained greater SVL than males. We found similar results for other species in the genus (e.g., *P. bacchus*, **Chinchilla-Lemus, et al.**, 2019). Sexual dimorphism in body size is common in frogs; according to **Shine** (1979), females are larger than males in 90% of the species of frogs and toads. **Woolbright** (1983) explained the general phenomenon of small male body size in anurans as the suite of constraints associated with reproductive behaviors in males, which require energy that would otherwise be used in growth.

This might also be due to differences in growth rates between sexes. In this sense, **Arendt** (1997) argued that the conditions that select for large size may actually select for slow growth rates and that if an increment in growth rate requires additional energy and materials, less energy would be available for reproduction. Moreover, studying *Lithobates catesbeianus* **Howard** (1981) suggested that the precocious maturity of males and stronger predation pressure on larger males explained this phenomenon. Thus, in females, fecundity may be favored by slow growth rates, and in males, rapid growth may be favored when predation is size-dependent. However, these hypotheses must be evaluated for *Pristimantis* species.

Relationship between body size and clutch size

Many studies have shown that larger females produce larger clutches or eggs and that this relationship is favored by natural selection (**Salthe & Duellman**, 1973; **Crump**, 1974;

Howard & Kluge, 1985). Although a significant positive relationship between SVL and the number of yolked follicles was only observed in *P. merostictus*, it is very common in Terrarana species (*Eleutherodactylus jonhstonei*) (Bourne, 1997; Ortega, et al., 2005), in *E. coqui* (Townsend & Stewart, 1994), and *Craugastor bransfordii* (Donnelly, 1999; Wake, 1978). Thus, we can suppose that sexual dimorphism in body size in these species relates to the delayed maturity in females to favor the increase of the clutch size with larger body sizes, as well as to the time required for the allocation of energy for oocytes growth.

Juvenile recruitment

An important percentage of the collected frogs were small froglets unidentifiable at the species level that might correspond to neonates of our three species but also to other sympatric *Pristimantis* species such as *P. bacchus*, *P. lynchi*, or *P. lutitus*. Their body sizes ranged between 6 and 10 mm SVL and most of them were captured during the two dry seasons of the year. With an egg diameter of 3 to 4 mm, recently born froglets (less than 6 mm SVL) are usually absent in captures as their very small size makes them difficult to detect at sight and they can be hidden in the humid leaf litter where they were probably born. Post-hatching development and growth rates in froglets in these and other *Pristimantis* species are unknown; however, we can infer that their initial growth is fast and that the smaller specimens we collected had recently been born and they represented the recruitment of the *Pristimantis* populations in the area.

Our findings indicate that populations' age structure changed with time in *P. merostictus*, *P. miyatai*, and *P. uisae*, juveniles being more abundant than adults. Although, unlike the other two species, there were no differences in the occurrence of *P. miyatai* juveniles during the sampling months (Table 2), we inferred that froglets incorporated into the population during dry seasons grew until males reached sexual maturity, around six months later, when small reproductive adult males were more abundant (Figure 1).

Most of the *Pristimantis* adult males were initially considered as juveniles following the original description of the species where adult males have larger body sizes and very small testes and, in some species, there is a lack of vocalization. Accordingly, histological studies of the testes of these small-size species are necessary to avoid errors in the determination of the actual reproductive condition and minimal size at maturity.

Reproductive phenology

Males *P. merostictus*, *P. miyatai*, and *P. uisae* individuals were reproductive during all the sampling months. However, spermatogenesis appeared to be discontinuous since we observed that few adult males reinitiated their sperm production (stages I-III) when most of the males were reproductive?. Similarly, in some adult males from other Terrarana species a short testicular regression has been observed, although at population level there are reproductive males during the entire year (*Geobatrachus walkeri*, Pacheco-Flórez & Ramírez-Pinilla, 2014).

Testicular volume did not vary significantly through the months of study for *P. miyatai* and *P. uisae* while in *P. merostictus* there was a significant temporal variation, but histological analyses showed a continuous reproductive activity. This suggests that variation in testicular volume in this species is associated with the occurrence of mature females ready to mate, given that the month with the highest testicular volume was August when we captured vitellogenic females with large follicles. A similar observation was made for *Geobatrachus walkeri* by Pacheco-Flórez & Ramírez-Pinilla (2013).

Some of our *Pristimantis* male frogs had ovotestes which have been documented in other species such as *Acris crepitans* (Reeder, et al., 1998) and *Telmatobius pisanoi* (Montero & Pisanó, 1990) while some experimental studies with environmental contaminants have shown ovotestes and other gonadal abnormalities like hermaphroditism and multiple gonads (Hayes, et al., 2002). Our hypothesis is that the testicular anomaly we observed may respond to the use of agro-industrial chemicals near the study area but their potential effects on the sexuality of these species need to be examined in detail.

Abdominal fat bodies are special reserves for gonadal development (**Brenner**, 1969; **Morton**, 1981; **Tsiora & Kyriakopoulou-Sklavounou**, 2001, 2002) and their size reflects nutritional conditions (**Jørgensen, et al.**, 1986). The actual role of abdominal fat bodies in gametogenesis in tropical frogs has been discussed (**Saidapur & Hoque**, 1996; **Huang, et al.**, 1997), and, as we observed, abdominal fat bodies in *P. miyatai* did not show any relationship with testicular size while in *P. merostictus* and *P. uisae* they were positively correlated with testes volume. These interspecific differences could be a species-dependent physiological variation. Otherwise, the lack of temporal variation and, therefore, of the influence of rainfall on this trait in males might respond to a high and permanent food availability in the area. In this sense, the study of **Gutiérrez-Lamus** (2003) showed that the frogs were active and well-fed all year-round. Besides, spermatogenesis is a process that does not require much energy, and, possibly, abdominal fat bodies in males are mainly required for calling, mate selection, mating, etc. (**Girish & Saidapur**, 2000) more than having a testicular function.

Chinchilla-Lemus, et al. (2019) found that a high proportion of non-breeding adult females are found in the forest litter but we found few adult females in this condition. In other Terrarana species, all adult females collected throughout the year were reproductive (*Eleutherodactylus johnstonei*, **Ortega, et al.**, 2005; *Geobatrachus walkeri*, **Pacheco-Flórez & Ramírez-Pinilla**, 2013). The presence of adult females with ovaries but no yolked follicles may indicate that once a *Pristimantis* female inhabiting cloud forests oviposits, it takes a long time before it develops a new group of yolked follicles ready for ovulation and oviposition, especially when their clutch sizes are relatively high. Besides, some species such as *P. bacchus* exhibit maternal care of the egg clutch (**Chinchilla-Lemus & Meneses-Pelayo**, 2016). In contrast, female individuals of *Andinobates virolinesis* (Dendrobatidae) females, another terrestrial small frog found in a similar precipitation regime in a nearby locality, are reproductive year-round with a clutch size of only one egg per oviposition event but producing several continuous clutches with short inter-clutch intervals. Additionally, the males give parental care to clutch and tadpoles so females can optimize their egg production all the time (**Valderrama-Vernasa, et al.**, 2010). These contrasting strategies in female reproductive activity in small terrestrial frogs are linked to their reproductive mode to face similar rainy regimes in these forests.

Although males seem to be permanently ready to mate, females define the reproductive activity in the population. Apparently, there is a relationship between reproduction and the seasonal distribution of rains for *Pristimantis* females. In our study, we proposed three seasonal patterns of breeding activity for the most abundant species in this anuran assemblage: Continuous reproductive activity (*P. miyatai*); reproductive activity during the two rainy seasons and recruitment in the following dry seasons (*P. merostictus*), and reproductive activity mainly during the second season of rains and juvenile recruitment in the following dry season (*P. uisae*). Although *P. bacchus* is also part of our assemblage (**Gutiérrez-Lamus, et al.**, 2004), we found very few individuals. However, in an isolated population of this species living in a very small forest fragment further north, where it is the most common, with a rainfall regime similar to that of our site but a less drastic and prolonged dry season at midyear and a much more drastic dry season in December-February, **Chinchilla-Lemus, et al.** (2019) found a different pattern as males and females' reproductive activity was continuous for 10 months (January to October) and ceased during the two driest months with the maximum recruitment of juveniles in the transition from the driest season to the first rainy season (February to April). Thus, rainfall patterns seem to be an important factor in the breeding activity defining reproductive patterns. For some Terrarana species, rainfall also seems to be a key factor defining reproductive patterns. For example, in two populations of *Eleutherodactylus johnstonei* in Barbados (**Ovaska**, 1991), the reproduction peaked in the early wet season, and in *Oreobates discoidalis* in Argentina (**Vaira**, 2002), it was seasonal in response to the rainfall regime.

Rainfall may not directly affect reproduction in terrestrial frogs and other resources indirectly associated with reproduction, such as food, might also influence its timing. In *C. bransfordii* in Costa Rica, **Donnelly** (1999) found that reproduction was continuous, although **Watling & Donnelly** (2002) suggested that the abundance of juveniles during the dry season indicated an important period of juvenile recruitment for this species sustained by higher food availability. This could be related to the seasonal rhythm in the food supply that characterizes tropical zones due to seasonal changes in rainfall (**Janzen & Schoener**, 1968; **Jetz, et al.**, 2003). In the Neotropical region, some studies have indicated that arthropod abundance in the leaf litter is high during dry seasons and the dry to wet season transition (**Toft**, 1980; **Watling & Donnelly**, 2002). Likewise, **Watling & Donnelly** (2002) suggested a link between food availability and the timing of reproduction in litter frogs in the tropics because many anurans time their reproduction in such a way that recruitment of juveniles occurs during the season of peak arthropod leaf litter abundance. **Gutiérrez-Lamus** (2003) found a high percentage of litter arthropods (isopods, collembolans, and diplopods) in the stomach contents of juveniles and most adults of our three *Pristimantis* species suggesting that they get some food from the ground. In this sense, it would be useful to study the distribution and abundance of arthropods and the effects of ontogeny on the consumption of these prey items in our study area.

Reproductive overlap

In Neotropical anuran communities, studies have shown that reproductive phenology is an important factor explaining the coexistence of sympatric species (**Donnelly & Guyer**, 1994; **Bertoluci**, 1998; **Bertoluci & Rodrigues**, 2002). When studying the phenology of calling activity and reproduction of a Neotropical anuran community, **Gottsberger & Gruber** (2004) found that temporal partition was apparent among different anuran groups according to their reproductive mode. For *Pristimantis* species they found that the calling activity was irregularly distributed over the study period and concluded that within the anuran groups (frogs with similar reproductive mode), the temporal patterns of this activity were very similar.

Assemblages of *Pristimantis* species in cloud forests in the northern part of the Cordillera Oriental vary in composition depending on geography and altitude. However, the third most abundant species are *P. miyatai* and *P. merostictus* while the rare and less common species differ among sites (**Arroyo, et al.**, 2003; **Suárez-Badillo & Ramírez-Pinilla**, 2004; **Gutiérrez-Lamus, et al.**, 2004). These two species are abundant in most of the cloud forests in the northern part of the Cordillera Oriental and they are considered generalist species as regards their microhabitat, diet, and habitat because they are abundant in different types of forests (native, non-native, and oak forests) (**Lynch**, 1994; **Gutiérrez-Lamus, et al.**, 2004; **Arroyo, et al.**, 2004, 2008; **Cortés, et al.**, 2008). Our hypothesis is that this differential abundance of *Pristimantis* species among frog assemblages is related to and a consequence of the different patterns of their reproductive phenology.

We found that species overlap body size-wise during most part of their lives was similar to that in another study in the Colombian Cordillera Oriental (**Arroyo, et al.**, 2003). Additionally, our reproduction analyses revealed that *Pristimantis* populations' breeding times coincide because the recruitment of most of the juveniles occurred during the driest months of the year. **Lima & Moreira** (1993) have found that relationships among species may depend more on the interaction among individuals of different sizes than on the relationships among heterospecific adults. In this sense, it would be important to evaluate the ontogenetic change in the use of resources such as the microhabitat, diet, and daily activity regimes because the ontogeny could be related to the segregation of these species.

Reproductive activity, age structure, and recruitment of juveniles revealed a significant temporal overlap among the three *Pristimantis* species. We concluded that reproductive phenology does not play an important role in the temporal segregation of these species. However, the different breeding activity patterns could represent a strategy to reduce multi-specific froglets overcrowding the site of growth and to facilitate the coexistence among potentially competing taxa.

Acknowledgments

We thank the *Laboratorio de Biología Reproductiva de Vertebrados*, *Dirección de Investigaciones de la Facultad de Ciencias* and the *Grupo de Estudios en Biodiversidad* at *Universidad Industrial de Santander* for the financial support for this project. The *Unidad Administrativa de Parques Nacionales Naturales, regional Nororiental*, for the collecting permits, and L. Gutiérrez-Lamus, J. Muñoz, S. Arroyo, M. Barón, and D. Zárate, for their help in the capture of the frogs. We are grateful to J. D. Lynch for his kind and disinterested collaboration in the determination of the collected material. We also thank V. Serrano-Cardozo and D. Miranda-Esquivel for their important comments on the manuscript, and E. Meneses-Pelayo for providing two of the included photographs, and J.P. Ramirez for providing the photograph of *P. uisae*.

Author contributions

Both authors contributed to the conception, design, analysis, and interpretation of the data and they participated in the drafting of the article and the review of the final manuscript.

Conflicts of interest

None to declare

References

- Aichinger, M. (1987). Annual activity patterns of anurans in a seasonal Neotropical environment. *Oecologia*. **71**: 583-592. Doi: 10.1007/BF00379302
- Arak, A. (1983). Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. In P. Bateson. (Ed.). *Mate Choice* (181-210). Cambridge, England: Cambridge University Press.
- Arendt, J. D. (1997). Adaptive intrinsic growth rates: an integration across taxa. *Q. Rev. Biol.* **72**: 149-438 177. <http://www.jstor.org/stable/3036336?origin=JSTOR-pdf>
- Arroyo, S., Jerez, A., Ramírez-Pinilla, M. P. (2003). Anuros de un bosque de niebla de la Cordillera Oriental de Colombia. *Caldasia*. **25**: 1-15. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/39406/41297>
- Arroyo, S. B., Sánchez, P. M., Ramírez-Pinilla, M. P., Suárez, H. A., Miranda-Esquivel, D. R. (2005). Morphometric analysis to differentiate taxonomically seven species of *Eleutherodactylus* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from an Andean cloud forest of Colombia. *Zootaxa*. **1018**: 1-14. Doi: 10.11646/zootaxa.1018.1.1
- Arroyo, S.B., Serrano-Cardozo, V.H., Ramírez-Pinilla, M.P. (2008). Diet, microhabitat and time of activity in a *Pristimantis* (Anura, Strabomantidae) assemblage. *Phyllomedusa*. **7**: 109-119. Doi: 10.11606/issn.2316-9079.v7i2p109-119
- Bertoluci, J. (1998). Annual patterns of breeding activity in Atlantic rainforest anurans. *J. Herpetol.* **32**: 607-611. Doi: 10.2307/1565223
- Bertoluci, J. & Rodrigues, M. (2002). Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic rainforest anurans at Boracéia, Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*. **23**: 161-167. Doi: 10.1163/156853802760061804
- Bourne, G. R. (1997). Reproductive behavior of terrestrial breeding frog *Eleutherodactylus johnstonei* in Guyana. *J. Herpetol.* **3**: 221-229. Doi: 10.2307/1565390
- Brenner, F. J. (1969). The role of temperature and fat deposition in hibernation and reproduction in two species of frogs. *Herpetologica*. **25**: 105-113. <https://www.jstor.org/stable/3890953>
- Chinchilla-Lemus, W. & Meneses-Pelayo, E. (2016). *Pristimantis bacchus* (Wine Robber Frog). Parental care and clutch size. *Herpetological Review*. **47** (4): 646. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/39364>
- Chinchilla-Lemus, W., Serrano-Cardozo, V. H., Ramírez-Pinilla, M. P. (2019). Reproductive activity, microhabitat use, and calling sites of *Pristimantis bacchus* (Anura: Craugastoridae). *Amphibia-Reptilia*. **41** (1): 1-11. Doi: 10.1163/15685381-20191200
- Cortés, A., Ramírez-Pinilla, M.P., Suárez, H.A. Tovar, E. (2008). Edge effects on richness, abundance and diversity of frogs in Andean cloud forest fragments. *South American Journal of Herpetology*. **3**: 213-222. Doi: 10.2994/1808-9798-3.3.213
- Crump, M. L. (1974). Reproductive strategies in a tropical anuran community. *Misc. Publ. Mus. Nat. Hist. Univ. Kansas*. **61**: 1-68.

- Crump, M. L.** (1982). Amphibian reproductive ecology on the community level. In N. J. Scott, Jr. (Ed.). *Herpetological Communities* (21-36). Wildlife Research Report.
- Donnelly, M. A.** (1999). Reproductive phenology of *Eleutherodactylus bransfordii* in Northeastern Costa Rica. *J. Herpetol.* **33**: 624-631. Doi: 10.2307/1565579
- Donnelly, M. A. & Guyer, C.** (1994). Patterns of reproduction and habitat use in an assemblage of Neotropical hylid frogs. *Oecologia.* **98**: 291-302. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00324217>
- Duellman, W. E.** (1967). Courtship isolating mechanisms in Costa Rican hylid frogs. *Herpetologica.* **23**: 169-183. <https://www.jstor.org/stable/3890854>
- Fitzgerald, L. A., Cruz, F. B., Perotti, G.** (1999). Phenology of a lizard assemblage in the dry Chaco of Argentina. *J. Herpetol.* **33**: 526-535. Doi: 10.2307/1565568
- Flores, G. & Rodríguez, L. O.** (1997). Two new species of the *Eleutherodactylus conspicillatus* Group (Anura: Leptodactylidae) from Perú. *Copeia.* **1997**: 388-394. Doi: 10.2307/1447759
- Frost, D.R.** (2020). Amphibian Species of the World 6.0, an Online Reference v. 6.0. Accessed on: 7-04-2020. Available at: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/Amphibia/Anura/Brachycephaloidea/Craugastoridae/Ceuthomantinae/Pristimantis>
- Galindo-Tarazona, R., Betancur, J., Cadena-M, J. J.** (2003). Estructura y composición florística de cuatro bosques andinos del Santuario de Flora y Fauna Guanentá-Alto Río Fonce, Cordillera Oriental colombiana. *Caldasia.* **25**: 313-335. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/39393>
- Gascon, C.** (1991). Population- and community-level analyses of species occurrences of Central Amazonian rainforest tadpoles. *Ecology.* **72**: 1731-1746. Doi: 10.2307/1940972
- Girish, S. & Saidapur, S. K.** (2000). Interrelationship between food availability, fat body, and ovarian cycles in the frog, *Rana tigrina*, with a discussion on the role of fat body in anuran reproduction. *J. Exp. Zool.* **286**: 487-492. Doi: 10.1002/(SICI)1097-010X(20000401)286:5<487::AID-JEZ6>3.0.CO;2-Z
- Gottsberger, B. & Gruber, E.** (2004). Temporal partitioning of reproductive activity in a Neotropical anuran community. *J. Trop. Ecol.* **20**: 271-280. Doi: 10.1017/S0266467403001172
- Gutiérrez-Lamus, D. L.** (2003). Composición de especies, dieta y microhábitat de los anuros presentes en dos tipos de bosque dentro del Santuario de Fauna y Flora Guanentá, Alto Río Fonce. Undergraduate Thesis, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. <http://tangara.uis.edu.co:8080/visualizadorTesis/?parametros=110370>
- Gutiérrez-Lamus, D. L., Serrano-Cardozo, V. H., Ramírez-Pinilla, M. P.** (2004). Composición y abundancia de anuros en dos tipos de bosque (natural y cultivado) en la Cordillera Oriental Colombiana. *Caldasia.* **26**: 245-264. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/39364>
- Hayes, T. B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A., Vonk, A.** (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* **99**: 5476-5480. Doi: 10.1073/pnas.082121499
- Hedges, S.B., Duellman, W.E., Heinicke, M.P.** (2008). New World direct-developing frogs (Anura: Terrarana): molecular phylogeny, classification, biogeography, and conservation. *Zootaxa.* **1737**: 1-182. Doi: 10.11646/zootaxa.1737.1
- Howard, R. D.** (1981). Sexual dimorphism in bullfrogs. *Ecology.* **62**: 303-310. Doi: 10.2307/1936704
- Howard, R. D. & Kluge, A. G.** (1985). Proximate mechanisms of sexual selection in wood frogs. *Evolution.* **39**: 260-277. Doi: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb05665.x
- Huang, W., Lin, J., Yu, J. Y.** (1997). Male reproductive cycle of the toad *Bufo melanostictus* in Taiwan. *Zool. Sci.* **14**: 497-503. Doi: 10.2108/zsj.14.497
- Huey, R. B. & Pianka, E. R.** (1977). Seasonal variation in thermoregulatory behavior and body temperature of diurnal Kalahari lizards. *Ecology.* **58**: 1066-1075. Doi: 10.2307/1936926
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).** (2002). Sistema de Información Nacional Ambiental. Estación La Sierra. <http://www.ideam.gov.co>
- Janzen, D. H. & Schoener, T. W.** (1968). Differences in insect abundance and diversity between wetter and drier sites during a tropical dry season. *Ecology.* **49**: 96-110. Doi: 10.2307/1933565
- Jetz, W., J. Steffen, Linsenmair, K. E.** (2003). Effects of light and prey availability on nocturnal, lunar and seasonal activity of tropical nightjars. *Oikos.* **103**: 627-639. Doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12856.x
- Jørgensen, C. B., Shakuntala, K., Vijayakumar, S.** (1986). Body size, reproduction and growth in a tropical toad, *Bufo melanostictus*, with a comparison of ovarian cycles in tropical and temperate zone anurans. *Oikos.* **46**: 379-389. Doi: 10.2307/3565838

- Lima, A.P. & Moreira, G.** (1993). Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding niche of *Colostethus stepheni* (Dendrobatidae). *Oecologia*. **95**: 93-102. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00649512>
- Lynch, J.D. & Duellman, W.E.** (1997). Frogs of the genus *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae) in western Ecuador: systematics, ecology and biogeography. *The University of Kansas Natural History Museum, Special Publications*. **23**: 1-236. <https://www.biodiversitylibrary.org/page/7745358#page/7/mode/1up>
- Meza-Joya, F. L. & Torres, M.** (2016). Spatial diversity patterns of *Pristimantis* in the Tropical Andes. *Ecology and Evolution*. **6** (7): 1901-1913. Doi: 10.1002/ece3.1968
- Montero, R. & Pisanó, A.** (1990). Ciclo espermatogénico de dos especies de *Telmatobius* del Noroeste Argentino. *Amphibia-Reptilia*. **11**: 97-110. Doi: 10.1163/156853890X00500
- Moreira, G. & Barreto, L.** (1997). Seasonal variation in nocturnal calling activity of a savanna anuran community in Central Brazil. *Amphibia-Reptilia*. **18**: 49-57. Doi: 10.1163/156853897X00305
- Moreira, G. & Lima, A.** (1991). Seasonal patterns of juvenile recruitment and reproduction in four species of leaf litter frogs in Central Amazonia. *Herpetologica*. **47**: 295-300.
- Morton, M.** (1981). Seasonal changes in total body lipid and liver weight in the Yosemite toad. *Copeia*. **1981**: 234-238. Doi: 10.2307/1444067
- Ortega, J. E., Serrano-Cardozo, V. H., Ramírez-Pinilla, M. P.** (2005). Reproduction of an Introduced Population of *Eleutherodactylus johnstonei* at Bucaramanga, Colombia. *Copeia*. **2005**: 642-648. <https://www.jstor.org/stable/4098573>
- Ovaska, C.** (1991). Reproductive phenology, population structure and habitat use of frog *Eleutherodactylus johnstonei* in Barbados, West Indies. *J. Herpetol.* **25**: 424-430. Doi: 10.2307/1564764
- Pacheco-Flórez, V. & Ramírez-Pinilla, M.P.** (2014). Ecología reproductiva de *Geobatrachus walkeri* (Anura: Strabomantidae). *Revista de Biología Tropical*. **62**: 183-199. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v62n1/a16v62n1.pdf>
- Prado, C. P., Uetanabaro, M., Lopes, F. S.** (2000). Reproductive strategies of *Leptodactylus chaquensis* and *L. podicipinus* in the Pantanal, Brazil. *J. Herpetol.* **34**: 135-139. <https://www.jstor.org/stable/1565249>
- Reeder, A. L., Foley, G. L., Nichols, D. K., Hansen, L. G., Wikoff, B., Faeh, S., Eisold, J., Wheeler, M. B., Warner, R., Murphy, J. E., Beasley, V. R.** (1998). Forms and prevalence of intersexuality and effects of environmental contaminants on sexuality in cricket frogs (*Acris crepitans*). *Environ. Health Perspec.* **106**: 261-266. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106261>
- Rossa-Feres, D. C. & Jim, J.** (1994). Distribuição sazonal em comunidades de anfíbios anuros na região de Botacatu, São Paulo. *Rev. Bras. Biol.* **54**: 323-334.
- Saidapur, S. K.** (1983). Patterns of testicular activity in Indian amphibians. *Indian Rev. Life Sci.* **3**: 157-184.
- Saidapur, S. K. & Hoque, B.** (1996). Long-term effects of ovariectomy on abdominal fat body and body masses in the frog *Rana tigrina* during the recrudescence phase. *J. Herpetol.* **30**: 70-73. <https://www.jstor.org/stable/1564709>
- Salthe, S. N. & Duellman, W. E.** (1973). Quantitative constraints associated with reproductive mode in anurans. In J.L. Vial. (Ed.). *Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research in Major Problems* (229-249). Missouri, USA: University of Missouri Press.
- Shine, R.** (1979). Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. *Copeia*. **1979**: 297-306. Doi: 10.2307/1443418
- Suárez-Badillo, H. A. & Ramírez-Pinilla, M. P.** (2004). Anuros del gradiente altitudinal de la estación experimental y demostrativa El Rasgón (Santander, Colombia). *Caldasia*. **26**: 395-416. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/cal/article/view/39328>
- Summers, K., McKeon, C. S., Heying, H., Hall, J., Patrick, W.** (2007). Social and environmental influences on egg size evolution in frogs. *Journal of Zoology*. **271**: 225-232.
- Toft, C. A.** (1980). Feeding ecology of thirteen syntropic species of anurans in a seasonal tropical environment. *Oecologia*. **45**: 131-141. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00346717>
- Townsend, D. S. & Stewart, M. M.** (1994). Reproductive ecology of the Puerto Rican frog *Eleutherodactylus coqui*. *J. Herpetol.* **28**: 34-40. Doi: 10.2307/1564677
- Tsiora, A. & Kyriakopoulou-Sklavounou, P.** (2001). Male reproductive cycle of the water frog *Rana epeirotica* in northwestern Greece. *Amphibia-Reptilia*. **22**: 291-302. Doi: 10.1163/156853801317050089
- Tsiora, A. & Kyriakopoulou-Sklavounou, P.** (2002). Female reproductive cycle of the water frog *Rana epeirotica* in northwestern Greece. *Amphibia-Reptilia*. **23**: 269-280. Doi: 10.1163/15685380260449153

- Vaira, M.** (2002). Anurans of a subtropical montane forest in northwestern Argentina: ecological survey and a proposed list of species of conservation concern. *Biodivers. Conserv.* **11**: 1047-1062. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1015861002878>
- Valderrama-Vernaza, M., Serrano-Cardozo, V. H., Ramírez-Pinilla, M. P.** (2010). Reproductive activity of the Andean frog *Ranitomeya virolinensis* (Anura: Dendrobatidae). *Copeia*. 2010 (2): 211-217. Doi: 10.1643/CE-09-161
- Wake, M. H.** (1978). The reproductive biology of *Eleutherodactylus jasperi* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae), with comments on the evolution of live-bearing systems. *J. Herpetol.* **12**: 121-133. Doi: 10.2307/1563398
- Watling, J. & Donnelly, M. D.** (2002). Seasonal patterns of reproduction and abundance of leaf litter frogs in a Central American rainforest. *J. Zool.* **258**: 269-276. Doi: 10.1017/S0952836902001371
- Wells, K. D.** (1977). The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Beh.* **25**: 660-693. Doi: 10.1016/0003-3472(77)90118-X
- Wiederhecker, H. C., Pinto, A. C. S., Colli, G. R.** (2002). Reproductive ecology of *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) in the highly seasonal Cerrado biome of central Brazil. *J. Herpetol.* **36**: 82-91. <https://doi.org/10.2307/1565806>
- Woolbright, L. L.** (1983). Sexual selection and size dimorphism in Anuran Amphibia. *Am. Nat.* **121**: 110-119. <https://www.jstor.org/stable/2461048>
- Zar, H. H.** (1996). *Biostatistical Analysis*. 3rd. ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Artículo original

Modelamiento por homología *in silico* de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa unida a membrana en *Pseudomonas fluorescens*

In silico modeling by homology of membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase in *Pseudomonas fluorescens*

Julia Rosa Chalarca-Vélez*, Duverney Gaviria

Programa de Microbiología, Universidad Libre, Pereira, Colombia

Resumen

Entre las aplicaciones del modelamiento por homología están la predicción de ligandos, el análisis de mutaciones, y las actividades catalíticas. Normalmente, el uso de varios moldes produce modelos más precisos en la medida en que capturan mejor las variantes estructurales entre todas las posibles conformaciones de las proteínas de una familia. El modelamiento comparativo es una estrategia útil cuando no se tiene información en las bases de datos y se quiere hacer un ensayo experimental relacionado con la estructura y el funcionamiento de una proteína. En el presente trabajo se analizó estructural y funcionalmente la quinoproteína glucosa deshidrogenasa unida a la membrana (*membrane-bound PQQ-dependent glucose dehydrogenase, mGDH, PQQ mGDH*) en *Pseudomonas fluorescens*, reconocida como un microorganismo promotor del crecimiento vegetal y una de cuyas funciones es la solubilización de fosfatos inorgánicos catalizados mediante PQQ mGDH. Esta es la primera enzima que participa en la oxidación directa de la glucosa transformando la D-glucosa a D-gluconato, proceso que es el inicio en la producción de ácidos orgánicos implicados en la solubilización de fosfatos inorgánicos. A pesar de la gran cantidad de estudios con esta enzima, no se ha reportado la determinación de su estructura tridimensional de la enzima quinoproteína glucosa deshidrogenasa (PQQ-GDH) en la bacteria *P. fluorescens*. En este estudio se comparó la secuencia de la proteína con las reportadas en las bases de datos para otras especies del género *Pseudomonas* y se propuso un modelo tridimensional de la enzima PQQ mGDH en *P. fluorescens* mediante el modelamiento por homología para caracterizar su estructura secundaria, el dominio catalítico, y el sitio de unión al cofactor pirroloquinolina quinona (PQQ), así como los dominios funcionales presentes en la proteína.

Palabras clave: Bioinformática; Modelamiento por homología; Quinoproteína.

Abstract

Homology modeling is used for ligand prediction, mutation analysis, and catalytic activities. The use of several templates produces more precise models to better capture the structural variants among all the possible conformations of the proteins in a family. Comparative modeling is a useful strategy when there is no information reported in databases and there is a need for an experimental trial related to the structure and functioning of a protein. In the present study, we analyzed the structure and function of the membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase (PQQ mGDH) in *Pseudomonas fluorescens*, known to be a plant-growth-promoting microorganism, one of whose functions is the solubilization of inorganic phosphates catalyzed by the PQQ mGDH, which is the first enzyme that participates in the direct oxidation of glucose by transforming D-glucose to D-gluconate. This process is the beginning of the production of organic acids involved in the solubilization of inorganic phosphates. Despite the large number of studies on this enzyme, none determines the three-dimensional structure of the PQQ-GDH enzyme in *P. fluorescens*. In our study, we compared the protein sequence with those reported in the databases for other species of

Citación: Chalarca-Vélez JR, Gaviria D. Modelamiento por homología *in silico* de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa unida a membrana en *Pseudomonas fluorescens*. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1099-1112, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1154>

Editor: Luis Fernando Echeverri

***Correspondencia:**

Julia Rosa Chalarca V;
juliar-chalarcav@unilibre.edu.co

Recibido: 11 de marzo de 2020

Aceptado: 30 de septiembre de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Pseudomonas using a three-dimensional model of PQQ mGDH in *P. fluorescens* based on homology modeling to characterize the secondary structure of the protein, the catalytic domain, the binding site for the cofactor pyrroloquinoline quinone (PQQ), as well as the functional domains present in this protein.

Keywords: Bioinformatics; Homology modelling; Quinoprotein.

Introducción

El fósforo (P) es uno de los elementos esenciales en el desarrollo y crecimiento de las plantas y representa aproximadamente el 0,2 % del peso seco de una planta. Se ha establecido que, después del nitrógeno, es el segundo entre los nutrientes minerales que comúnmente limitan el crecimiento de los cultivos (Alori, *et al.*, 2017). Las plantas adquieren el fósforo del suelo como ortofosfato inorgánico (Pi), cuya concentración es controlada por procesos químicos y biológicos que lo fijan y liberan a través de complejas interacciones entre el suelo, los microorganismos que en él viven y las raíces de las plantas (Lidbury, *et al.*, 2016). La solubilización de fosfato mineral es una actividad esencial de muchas rizobacterias con la cual promueven el crecimiento vegetal; entre los géneros mejor estudiados están *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Erwinia* y *Agrobacterium*. El mecanismo de su funcionamiento mejor caracterizado es la liberación de ácidos orgánicos en el espacio extracelular para retener los cationes divalentes (por ejemplo, Ca²⁺) a partir de las formas de fosfato mineral poco solubles, como la hidroxapatita o el fosfato tricálcico, y, así, liberar el fósforo en una forma adecuada para la absorción por parte de la planta (An & Moe, 2016).

Hasta ahora, las bacterias que solubilizan el fósforo (PSB) de forma más eficientes reportadas son las Gram negativas, las cuales utilizan la oxidación directa de la glucosa para producir ácido glucónico (GA) (Figura 1S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/1154/2924>).

Hasta la fecha se han identificado dos tipos de quinoproteína glucosa deshidrogenasa (PQQ-GDH) (EC 1.1.5.2): una unida a la membrana celular interna (mGDH) y la otra presente en forma soluble (sGDH), las cuales muestran actividad en el periplasma de bacterias Gram negativas. La mGDH se ha encontrado en muchas bacterias Gram negativas, como las *Gluconobacter*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, en tanto que la sGDH es menos común y se ha reportado solo en *A. calcoaceticus* (An & Moe, 2016). La conversión de glucosa en GA es catalizada por una glucosa deshidrogenasa unida a la membrana periplásmica (mGDH) que forma un complejo con el cofactor pirroloquinolina quinona (PQQ) (Ben Farhat, *et al.*, 2013) codificado, a su vez, por un operón que en *P. fluorescens* consta de 11 genes (Krishnaraj & Goldstein, 2002; Goldstein, *et al.*, 2003). La PQQ es un compuesto que es sintetizado en fase estacionaria y funciona como un cofactor termoestable y soluble en agua. Se detectó inicialmente en bacterias metilotróficas y pertenece a la familia de cofactores del tipo o-quinona; las enzimas a las que se unen este tipo de cofactores se han designada como quinoproteínas porque poseen un sitio de unión para alguno de los miembros de la familia o-quinona. La PQQ es el único cofactor de esta familia que se une de manera no covalente a las enzimas como glucosa, metanol, sorbitol y glicerol deshidrogenasas (Vera-Cardoso, *et al.*, 2017).

Se ha establecido que *P. fluorescens* tiene una gran capacidad para solubilizar el fósforo, lo que sucede a través de dos vías: la producción de ácidos orgánicos (cítrico, oxálico, glucónico) que modifican el pH del suelo favoreciendo la solubilización del fósforo inorgánico y liberando el fosfato al suelo a través de las fosfatasa, enzimas hidrolasas (monoesterasas y diesterasas fosfóricas) que actúan sobre las uniones ésteres liberando los grupos fosfatos de la materia orgánica. Ambas vías generan la mayor cantidad del fosfato disponible para ser absorbido por las raíces de las plantas (Pérez, *et al.*, 2015). Otro aspecto destacable en *P. fluorescens* es la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento, entre ellas las hormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas); además, también producen aminoácidos específicos para el crecimiento vegetal. Su producción es posible siempre que se adecúe a la concentración de organismos en el sistema radicular y que en el suelo haya suficiente cantidad de materia orgánica (Pérez, *et al.*, 2015).

Uno de los principales objetivos de la biología estructural y de la química computacional es conocer con exactitud la estructura de las proteínas (Babnigg & Joachimiak, 2010; Hamilton & Huber, 2008). Para ello se recurre a métodos proteómicos que facilitan el aislamiento, purificación y cristalización de las proteínas, y al análisis mediante métodos de difracción de rayos X o de resonancia magnética nuclear (RMN) (Asahi, *et al.*, 2010; Sánchez-Garcés, *et al.*, 2012). Sin embargo, hay algunas dificultades para obtener proteínas cristalizadas en cantidades suficientemente grandes y de buena calidad para los posibles ensayos de difracción de rayos X (Chapman, *et al.*, 2011). En consecuencia, todavía no se ha determinado la estructura tridimensional de la mayoría de las proteínas (Yamamoto, *et al.*, 2010), lo que brinda la oportunidad para ensayar diferentes métodos que permitan conocer las estructuras de las proteínas de interés biológico para aplicarlas en procesos de agroecología. En los últimos años se ha avanzado notablemente en los métodos de cálculo de la química computacional orientados al modelamiento y evaluación de las proteínas, con lo que se han podido analizar *in silico* sus interacciones como alternativa viable para ahorrar tiempo en el diseño de experimentos con mejores expectativas de éxito y disminuir costos en materiales y reactivos (Wen, *et al.*, 2011). El término “modelamiento por homología”, también conocido como comparativo o basado en plantilla (*template-based modelling*, TBM), consiste en modelar la estructura en 3D de una proteína utilizando a manera de molde otra estructura ya determinada experimentalmente. La estructura de la proteína es de gran ayuda en el estudio de su función, su dinámica, las interacciones con los ligandos y con otras proteínas.

En el presente estudio se propuso una estrategia para modelar y analizar mediante métodos bioinformáticos la estructura tridimensional de la enzima PQQ- mGDH en *P. fluorescens* caracterizando su estructura secundaria e identificando sus dominios funcionales y estructurales, así como su interacción con el cofactor PQQ.

Metodología

Búsqueda de la secuencia de la proteína PQQ- mGDH en Pseudomonas fluorescens

Se usó la plataforma del NCBI (*Protein*) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=>) para buscar la proteína de interés, obtener su secuencia y, posteriormente, hacer el modelamiento por homología. Para ello, se tomó como referencia el genoma de la bacteria *P. fluorescens* F113, y se determinó en esta la secuencia correspondiente a la enzima PQQ- mGDH.

Alineamiento por pares y múltiple

Con la secuencia ya identificada, se hizo un alineamiento apareado con la herramienta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para detectar secuencias homólogas. Se extrajeron las secuencias correspondientes a otras especies del género y con estos datos se hizo un alineamiento múltiple con la aplicación del programa Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) (Madeira, *et al.*, 2019), con el fin de establecer el grado de diversidad e inferir si la estructura que se pretendía modelar podría aplicarse a las otras especies.

Modelamiento de la estructura tridimensional de la PQQ- mGDH de Pseudomonas fluorescens

A partir de la secuencia proteica de la PQQ- mGDH de *P. fluorescens* se hizo el modelamiento por homología con la aplicación de acceso libre Geno3D (https://geno3dprabi.ibcp.fr/cgi-bin/geno3d_automat.pl?page=/GENO3D/geno3d_home.html) (Combet, *et al.*, 2002). Para la visualización de todas las estructuras tridimensionales se utilizó el programa RasMol (Sayle, 1995).

Evaluación y validación de la estructura tridimensional de la PQQ- mGDH de Pseudomonas fluorescens

La validación de los modelos se evaluó con los programas BIOVIA™ (<https://www.3dsbiovia.com/>) (Dassault Systèmes BIOVIA™, 2019), ProSA-Web ([1101](https://prosa.</p></div><div data-bbox=)

services.came.sbg.ac.at/prosa.php) y Verify 3D (http://nihserver.mbi.ucla.edu/Verify_3D/) (Lüthy, *et al.*, 1992). Todos los modelos generados por GENO3D se organizaron en el servidor Q-Mean (<http://swissmodel.expasy.org/qmean/cgi/index.cgi>) (Benkert, *et al.*, 2009).

Análisis de los dominios de la estructura secundaria de la PQQ- mGDH de *Pseudomonas fluorescens*

La estructura secundaria de la PQQ- mGDH se predijo mediante la aplicación PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) (McGuffin, *et al.*, 2000), la cual utiliza un método muy preciso para la predicción de la estructura secundaria a partir de secuencias de aminoácidos.

Determinación de los dominios proteicos

Los dominios proteicos de la secuencia PQQ- mGDH en *P. fluorescens* se determinaron mediante la herramienta de búsqueda MOTIFsearch (<https://www.genome.jp/tools/motif/>).

Resultados y discusión

Caracterización fisicoquímica de la enzima

A partir de la secuencia proteica identificada para PQQ- mGDH de *P. fluorescens* (802aa) en la plataforma Expasy (https://web.expasy.org/compute_pi/), se determinó su peso molecular (86.107,29 Da) y su punto isoeléctrico (5,74), los cuales se acercan a los reportados por Cozier, *et al.* (1999), con pesos moleculares para esta molécula cercanos a los 8,7kDa y un punto isoeléctrico de 6,0.

Alineamiento por pares y múltiple

La secuencia de la proteína correspondió a la referencia WP_014339995.1 del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), es decir, la de la quinoproteína unida a membrana de la familia glucosa/quinato/shikimato deshidrogenasa [*Pseudomonas fluorescens*]. El alineamiento en BLAST permitió la identificación de múltiples especies de *Pseudomonas*, de las cuales se seleccionaron ocho que presentaban un valor de E de 0, una identidad de >88 % y una cobertura de secuencia del 100 %. Las secuencias identificadas fueron: *P. putida* (WP_033044460.1), *P. siryngae* (WP_052966207.1), *P. chlororaphis* (WP_047737089.1), *P. corrugata* (WP_024780902.1), *P. mediterranea* (WP_047701274.1), *P. frederiksbergensis* (WP_039591463.1), *P. brassicacearum* (WP_153388849.1), *P. kilonensis* (WP_0460648 50.1), *P. thivervalensis* (AXA56945.1), y *P. fluorescens* (WP_150701985.1); con estas secuencias se hizo el alineamiento múltiple. El árbol filogenético (Figura 1) fue útil para asociar la relación de dichas especies mediante una representación gráfica en la cual se observa especialmente la agrupación entre *P. putida* y *P. fluorescens*. Con este porcentaje de identidad (>88 %), el resultado del modelamiento podría extrapolarse a estas otras especies.

Modelamiento de la estructura tridimensional de la PQQ- mGDH de *Pseudomonas fluorescens*

Con base en los resultados del programa GENO3D para la secuencia de *P. fluorescens*, se estableció que la mejor secuencia para el modelamiento por homología correspondía a la quinohemoproteína alcohol deshidrogenasa (1kv9) en *P. putida* HK5 (Figura 2). Esta molécula presentó la mayor similitud con la secuencia PQQ-mGDH de *P. fluorescens*, con un valor de E de 1×10^{-133} y una desviación media de 5,393140 ángstroms.

A partir de este análisis se generaron 10 modelos (Tabla 1) que se muestran superpuestos en la figura 3a, en la que se observa que la desviación entre los modelos es baja. En la figura 3b se observa el modelo más ajustado (modelo 10); además, se resaltan los ocho dominios del propulsor beta (triángulos punteados). En la figura 3c se muestra la molécula completa y se resaltan las estructuras secundarias de la arquitectura del dominio del propulsor beta, típico de este tipo de enzimas.

Los valores de correlación entre los diez modelos evaluados se determinaron mediante la desviación de la raíz cuadrada media (DRCM) con valores en ángstroms (Tabla 2).

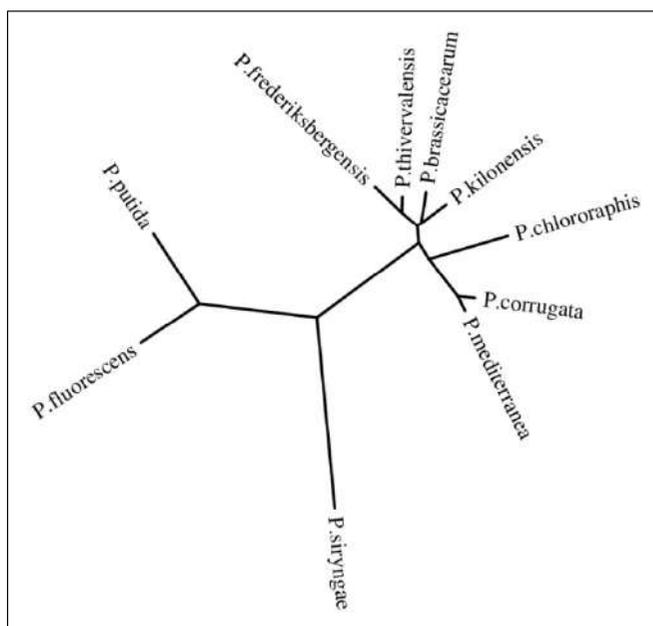


Figura 1. Árbol filogenético producto del alineamiento en Clustal omega de las secuencias de *Pseudomonas* reportadas para PQQ- mGDH utilizando los criterios descritos y a partir de los datos del alineamiento de Clustal Omega en la aplicación MABL (<https://www.phylogeny.fr/>)

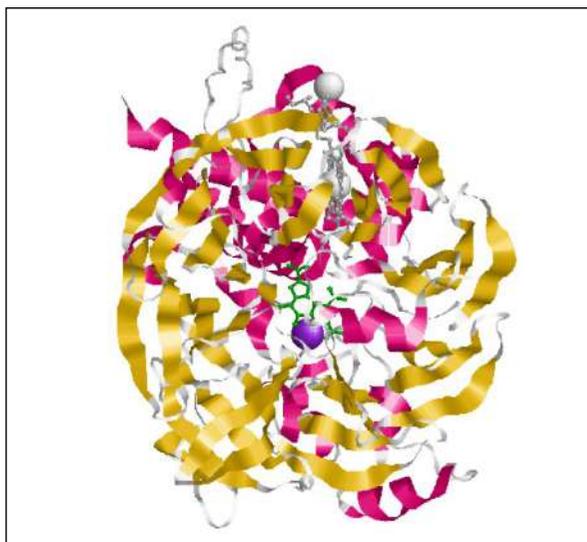


Figura 2. Motivo de unión al cofactor PQQ (propulsor beta). Se muestran los aminoácidos con los que interactúan: en verde se ve la molécula de PQQ en la quinohemoproteína alcohol deshidrogenasa en *P. putida* y en púrpura el HK5 unido a un átomo de calcio.

Evaluación y validación de la estructura tridimensional de la PQQ- mGDH de Pseudomonas fluorescens

Los resultados correspondientes al gráfico de Ramachandran, en el que se observan los aminoácidos presentes en la región de valores permitidos y no permitidos para las diferentes estructuras secundarias y la distribución de los valores Psi/Phi para el modelo de homología de la PQQ- mGDH de *P. fluorescens* obtenidos con el programa BIOVIA™ (Dassault Systèmes BIOVIA™, 2019) (Figura 4).

Tabla 1. Comparación de la calidad de los modelos producidos por el servidor Geno3D. Todos los modelos utilizaron la misma plantilla (1kv9). Las columnas representan los valores de energía en Kcal/mol, el porcentaje de residuos que se encuentra en la región nuclear y el de los residuos no permitidos en el diagrama de Ramachandran. Los valores de energía indican la fiabilidad y la precisión de la estructura.

Nombre del modelo	Molde	Energía del modelo Kcal/mol	Porcentaje de residuos en la región del núcleo del diagrama de Ramachandran	Porcentaje de residuos no permitidos en el diagrama de Ramachandran
Modelo 1	1KV9	-24225,00	54,4	5,6
Modelo 2	-	-24397,60	53,8	6,3
Modelo 3	-	-24164,20	49,6	4,6
Modelo 4	-	-24275,50	53,8	5,6
Modelo 5	-	-24100,20	54,8	6,2
Modelo 6	-	-24477,20	46,3	4,8
Modelo 7	-	-23913,40	50,8	4,0
Modelo 8	-	-14910,00	30,8	8,1
Modelo 9	-	-24241,30	51,5	5,6
Modelo 10	-	-24492,60	55,6	5,0

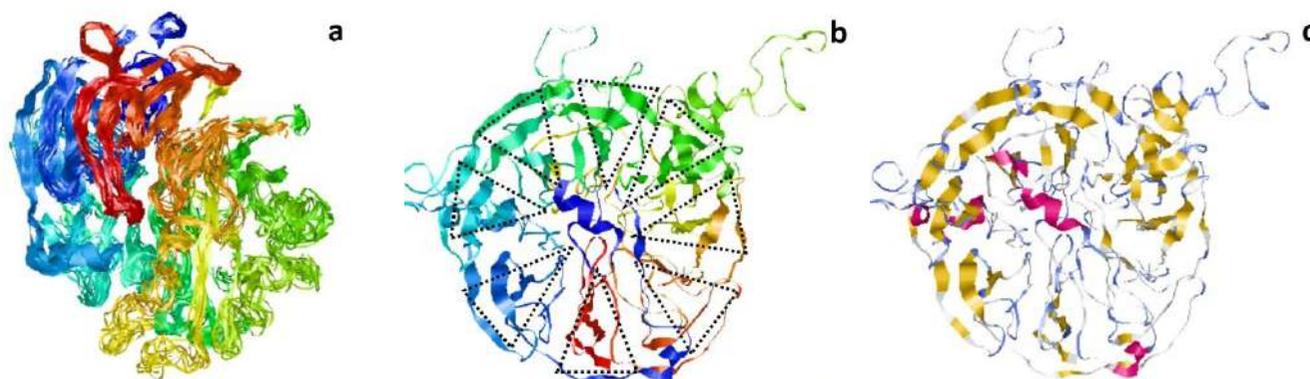


Figura 3. Modelos computacionales generados a partir del modelamiento por homología de la PQQ- mGDH en *P. fluorescens*. Se muestra en a) la superposición de los 10 modelos generados, en b) el modelo con los mejores valores (modelo 10) y en c) el detalle de las estructuras secundarias identificadas (color rosa: hélices alfa; color amarillo: hojas beta y en azul claro se muestran los plegamientos aleatorios (*random coils*)).

Tabla 2. Ajuste estructural entre los modelos (DRCM en ángstroms); desviación media: 5,393140A

	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 4	Modelo 5	Modelo 6	Modelo 7	Modelo 8	Modelo 9	Modelo 10
Modelo 1	0	1,36	1,39	1,38	1,52	1,41	1,61	20,88	1,39	1,48
Modelo 2	1,36	0	1,53	1,53	1,53	1,47	1,60	20,84	1,44	1,49
Modelo 3	1,39	1,53	0	1,50	1,45	1,38	1,56	20,88	1,44	1,53
Modelo 4	1,38	1,53	1,50	0	1,63	1,43	1,73	20,94	1,53	1,63
Modelo 5	1,52	1,53	1,45	1,63	0	1,44	1,56	21,08	1,47	1,60
Modelo 6	1,41	1,47	1,38	1,43	1,44	0	1,55	21,04	1,40	1,54
Modelo 7	1,61	1,60	1,56	1,73	1,56	1,55	0	21,02	1,54	1,49
Modelo 8	20,88	20,84	20,88	20,94	21,08	21,04	21,02	0	21,03	21,00
Modelo 9	1,39	1,44	1,44	1,53	1,47	1,40	1,54	21,03	0	1,47
Modelo 10	1,48	1,49	1,53	1,63	1,60	1,54	1,49	21,00	1,47	0

El diagrama de Ramachandran (**Ramachandran, et al., 1963**) del modelo 10 de la PQQ- mGDH de *P. fluorescens* reveló que la mayor cantidad de residuos, 88,5 %, se localizó en el cuadrante superior izquierdo (región más favorable), que corresponde a las estructuras de hojas beta paralelas, hojas beta antiparalelas y giros; las estructuras secundarias sumaron un 55,6 % de los residuos totales (**Figura 4**). Además, se observa un cúmulo de residuos hacia el cuadrante inferior izquierdo que representa la región adicional permitida y en el que se encontraron los residuos principales que tienden a formar hélices alfa, los cuales sumaron un 30 % del total (**Figura 4**). Este tipo de distribución de estructuras secundarias es típico del dominio propulsor beta, el cual es preponderante en este tipo de enzimas. El 5 % de los aminoácidos totales se ubicó en las regiones no permitidas y, además, se observó que 520 residuos eran diferentes a la glicina-prolina; el número de glicinas, representado en los triángulos, fue de 67, y el número de prolinas fue de 53, para un total de 642 aminoácidos.

Con el fin de predecir la estructura secundaria propuesta para la secuencia de la PQQ- mGDH en *P. fluorescens* y confirmar los resultados observados en el diagrama de Ramachandran se utilizó la aplicación PSIPRED (UCL Department of Computer Science: Bioinformatics Group), análisis que evidenció que la enzima PQQ mGDH de *P. fluorescens* contiene 14 tramos de aminoácidos con tendencia a formar hélices alfa y 38 tramos de aminoácidos con tendencia a formar hojas beta. (**Figura 2S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1154/2924>).

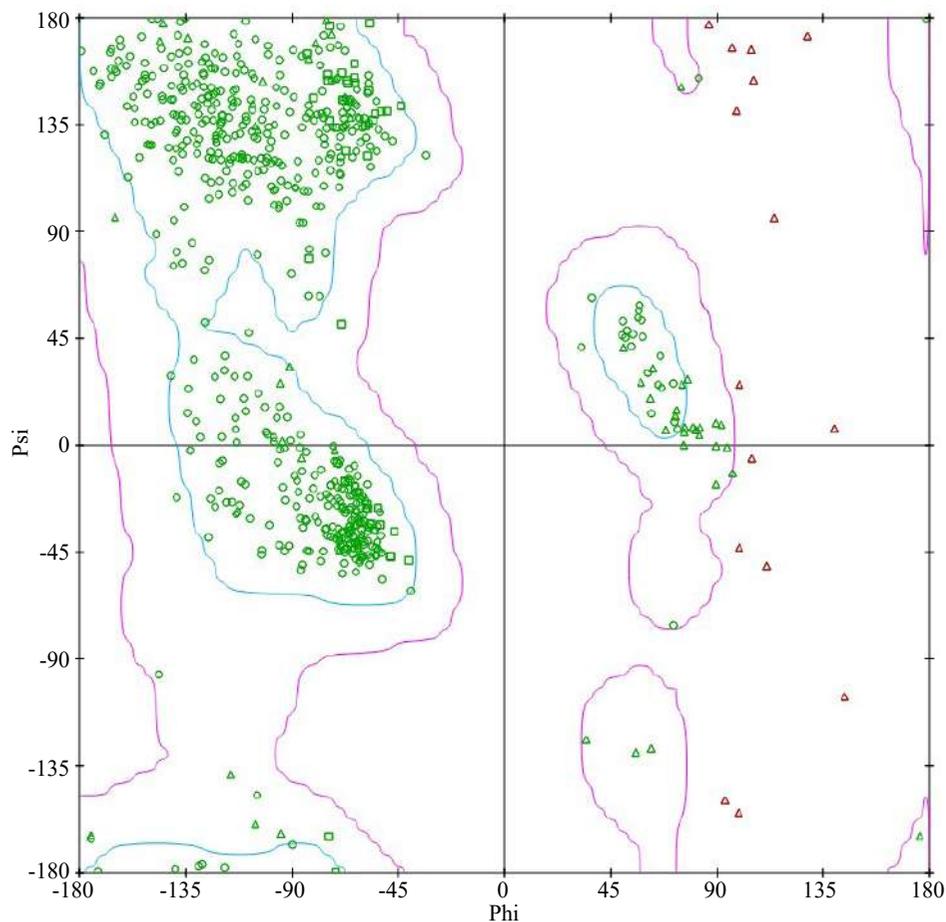


Figura 4. Diagrama de Ramachandran arrojado por el programa BIOVIA™ en el que se observa la presencia de cada uno de los aminoácidos de la secuencia en las regiones permitidas y no permitidas para las diferentes estructuras secundarias en la PQQ- mGDH de *Pseudomonas fluorescens*.

Como parte del dominio preponderante de las PQQ- DH se conocen cinco clases de propulsores beta con ejes de pseudo-simetría de cuatro, cinco, seis, siete u ocho hojas beta (Pons, *et al.*, 2012). En cuanto al propulsor beta de la PQQ mGDH en *P. fluorescens*, se han identificado ocho dominios de propulsores beta con cuatro hojas beta antiparalelas en cada uno de ellos (Pons, *et al.*, 2012), y se ha establecido que las hojas primera y cuarta son casi perpendiculares entre sí (Kuriyan, *et al.*, 2013) (Figura 3b). Debido a su estructura y plasticidad, las interacciones entre proteína y proteína que se forman son aquellas entre las caras superior, inferior, central y lateral del propulsor beta (Chen, *et al.*, 2011). La función de la hélice puede variar según el número de hojas (Pons, *et al.*, 2012), caso en el que los propulsores beta de cuatro hojas funcionan principalmente como proteínas de transporte y, debido a su estructura, tienen una conformación favorable para la unión del sustrato (Chen, *et al.*, 2011). A diferencia de los propulsores beta más grandes, el propulsor beta de cuatro hojas generalmente no puede hacer la catálisis por sí mismo, y requiere un cofactor para llevar a cabo dichas funciones. En el caso de la GDH, tanto la soluble como la que se une a la membrana, el cofactor utilizado es la pirroloquinolina quinona (PQQ).

En este modelamiento se estableció que la PQQ- mGDH de *P. fluorescens* presentaba cuatro hojas para cada uno de los dominios del propulsor beta, cuya estructura se estabiliza principalmente a través de interacciones hidrófobas de las láminas beta, en tanto que la estabilidad adicional puede provenir de enlaces de hidrógeno formados entre las láminas beta de los extremos C y N-terminales; además, se ha reportado la presencia de un enlace disulfuro (Pons, *et al.*, 2012). Sin embargo, en este caso (modelo 10), la PQQ- mGDH de *P. fluorescens* no estableció, al parecer, un puente disulfuro, ya que las cisteínas más cercanas se encontraron a más de 6 ángstroms entre sí.

Con el fin de validar el modelo 10, se hizo un análisis de validación estructural utilizando la aplicación Prosa-Web (Wiederstein & Sippl, 2007; Sippl, M.J., 1993). El puntaje Z para la calidad del modelo total fue de -5,46, el cual se encontró en el rango de las conformaciones nativas (Figura 5a). Además, para el análisis de la calidad local del modelo se midió la energía basada en conocimiento (Figura 5b) determinando la presencia de los picos correspondientes a las regiones de paso a través de la membrana de la proteína. Asimismo, se hizo un análisis con la herramienta Verify 3D, el cual confirmó los resultados

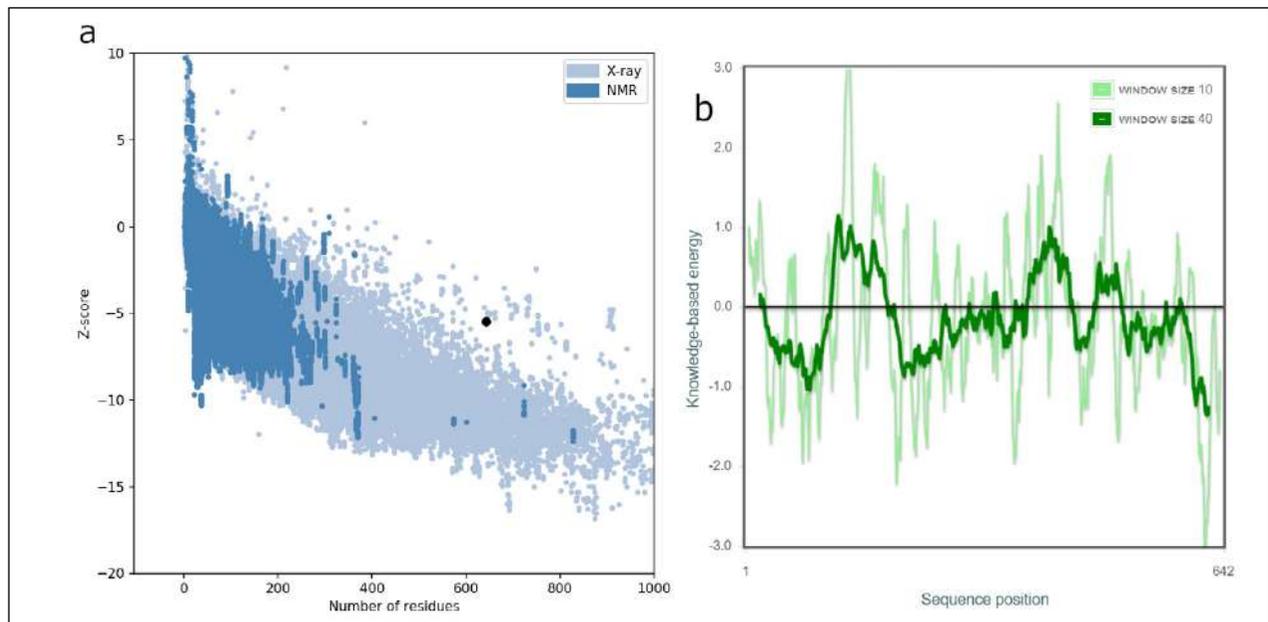


Figura 5. Análisis de validación de la estructura tridimensional del modelo propuesto (modelo 10) llevado a cabo en la aplicación Prosa-Web. **a)** Calidad total del modelo según el puntaje Z. **b)** Calidad local del modelo a través de la medición de la energía basada en conocimiento.

obtenidos con la aplicación Prosa-web determinándose que el 85,36 % de los aminoácidos tenía un valor mayor a 0,2, con lo cual se verificó que la estructura era de alta calidad y había coherencia entre la secuencia y la estructura modelada (datos no mostrados), con lo cual quedó validado el modelo para la enzima PQQ- mGDH de *P. fluorescens* (**Figura 6**).

Dependiendo de su estabilidad, las PQQ mGDH pueden clasificarse como tipo I y tipo II. Las de tipo I se consideran de menor estabilidad que las de tipo II y han sido identificadas en *E. coli* y *Pseudomonas* sp, en tanto que las de tipo II se han encontrado en los géneros *Acinetobacter* y *Gluconobacter* (**Anthony, 2001**). En la medida en que el enlace disulfuro es una interacción que estabiliza estructuralmente las proteínas, la imposibilidad de que se forme este en la molécula modelada se podría asociar con el hecho de que las PQQ mGDH de *P. fluorescens* pertenecen al tipo I, de baja estabilidad.

PQQ e interacciones moleculares con PQQ- mGDH

La pirroloquinolina quinona (PQQ) es el grupo prostético de las quinoproteínas deshidrogenasas que catalizan la oxidación de alcoholes y azúcares aldosas en el periplasma de las bacterias Gram negativas, y se aisló primero de GDH y MDH (**Anthony & Zatman, 1967b; Hauge, 1964**). Esta molécula es fácilmente liberada de las enzimas por desnaturalización; después de su purificación se demostró que era un compuesto ácido, altamente polar, con una fluorescencia verde muy característica (**Anthony & Zatman, 1967a**). Posteriormente, su estructura fue dilucidada por cristalografía de rayos X y se la denominó metoxatina (**Salisbury, et al., 1979**). Su nombre completo es 2,7,9-tri-carboxi-1H-pirrol [2,3-f] quinolina-4,5-dione, y su nombre corto es pirroloquinolina quinona (PQQ) (**Figura 3S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1154/2924>).

Su química y su función en las deshidrogenasas fue demostrada por **Duine** (1991) y **Duine & Jongejan** (1989), quienes la describieron en detalle y demostraron que una característica clave de su estructura es la orto-quinona en las posiciones C4 y C5 del anillo de quinolina, que se reduce a quinol durante la catálisis. La PQQ forma muy fácilmente aductos en la posición C5, que pueden ser mecanismos importantes en la medición e iden-

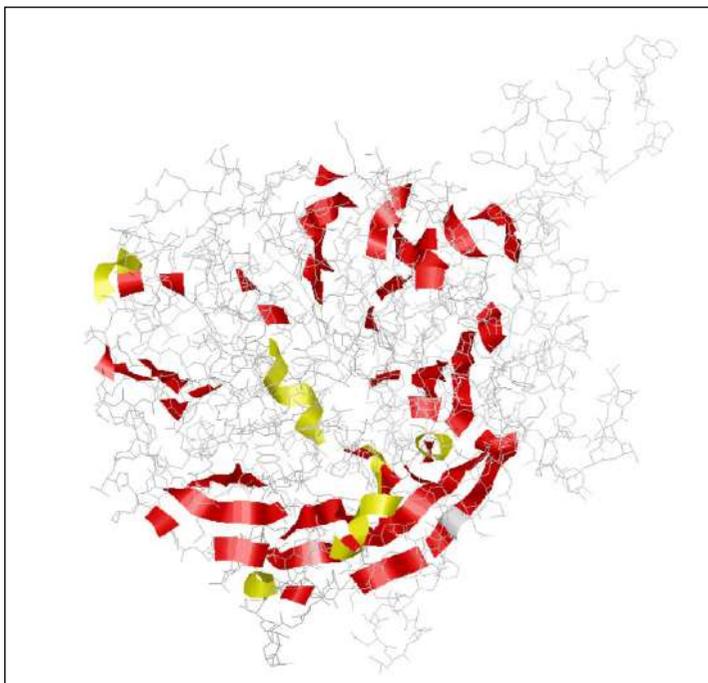


Figura 6. Modelo final propuesto para la enzima PQQ- mGDH de *P. fluorescens*. En rojo se muestran las hojas beta y en amarillo, las hélices que constituyen el dominio propulsor beta.

tificación. El potencial redox de punto medio a un pH de 7 de la PQQ aislada es de aproximadamente 190 mV, pero es probable que esto se vea influenciado por su entorno en las deshidrogenasas. Una característica importante de la PQQ es su capacidad de acomplejar cationes divalentes en solución (Good, *et al.*, 2016; Itoh, *et al.*, 1998). Los compuestos modelo que los contienen pueden catalizar reacciones de oxidación (Itoh, *et al.*, 1998; Itoh, *et al.*, 2000), y hoy está claro que es probable que todas las enzimas que contienen PQQ tengan una acomplejada con un ion metálico divalente en su sitio activo.

En la aplicación del PDBsum (<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=index.html>) se identificaron los residuos que interaccionan con el cofactor PQQ para la molécula quinohemoproteína alcohol deshidrogenasa de *P. putida* utilizando con código de acceso 1kv9, entre los que se encuentran Glu (59), Arg (111), Thr (155), Gly (171), Ala (172), Thr (230), Lys (322), Asn (382), Trp (383), Val (525) y un átomo de Ca (802) (Figura 7).

Con el fin de determinar los aminoácidos que interaccionan con la PQQ en la molécula PQQ mGDH de *P. fluorescens*, se hizo un alineamiento en BLAST identificando las posiciones de los aminoácidos mostrados en la figura 7 y la figura 4S, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1154/2924>. Al analizar las posiciones de los aminoácidos de unión a la PQQ para las dos secuencias de *P. fluorescens* y *P. putida*, se verificó que el 50 % de los aminoácidos (en verde en la Figura) fue idéntico en las dos secuencias (modelo/molde; T-155 R-111, E-59 W-383, K-322), que un 20 % (en azul) estaban conservados (modelo/molde: S/A-172, D/N-382), un 20 % (en rojo) cambió totalmente (modelo/molde: V/G-171, N/T-230) y un 10 % no pudo ser identificado (Figura 5S, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1154/2924>). Estos resultados corroboraron cuáles eran los aminoácidos involucrados en la interacción con la molécula de PQQ y cuáles los cambios que se presentaban en *P. fluorescens* con referencia a *P. putida*.

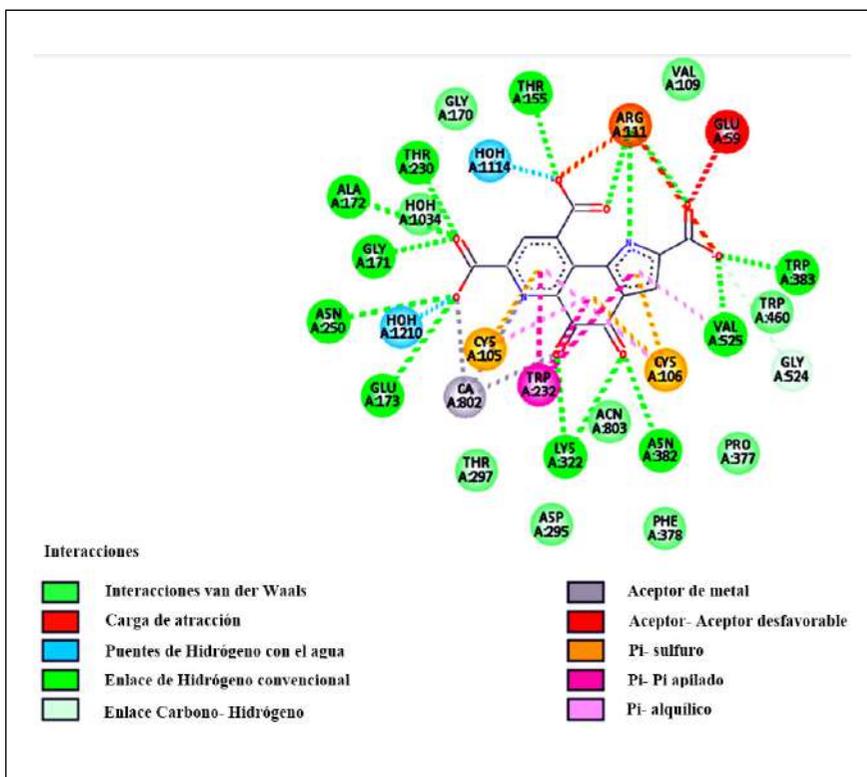


Figura 7. Interacciones de los aminoácidos con la PQQ.

Evaluación de los dominios presentes en la secuencia de la PQQ mGDH en P. fluorescens

La búsqueda de los dominios se hizo en la plataforma MOTIF Search (<https://www.genome.jp/tools/motif/>) utilizando 0,85 como límite para el valor de E. Los resultados se muestran en la **tabla 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1154/2924>.

Es importante resaltar que se tomaron en cuenta los dominios de interés para el modelamiento de la enzima, pero que también se identificaron algunos significativos de características generales de la proteína. Por ejemplo, la repetición del propulsor beta de la PQQ, que es uno de los más importantes y un tipo de arquitectura de proteínas con conformación beta caracterizada por cuatro a ocho láminas beta antiparalelas dobladas y dispuestas alrededor de un eje central. El sitio activo de la enzima se encuentra a menudo en la hendidura formada en el centro del propulsor por bucles que conectan los sucesivos dominios de cuatro láminas. En este caso, la repetición fue de una lámina beta (**Pons, et al., 2012**). Se identificaron también dominios directamente relacionados, como el PQQ, así como dominios de unión y de transporte a diversos monosacáridos, y dominios transmembrana. Asimismo, se determinaron algunas otras características en la molécula, como los dominios de holinas y el de transporte de aminoácidos, y resultó interesante encontrar dominios en proteínas que se activan en respuesta a las bajas temperaturas en las bacterias (**Tabla 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1154/2924>).

La caracterización estructural de esta molécula es importante porque su actividad es primordial en los procesos de solubilización del fósforo que hacen que *P. fluorescens* sea una importante promotora del crecimiento vegetal. Además de esta actividad promotora, las PQQ GDH se han aplicado en diversos campos, por ejemplo, para protocolos de análisis (**Kim, et al., 2016**), la producción de biocombustibles (**Sakamoto, et al., 2015**), y las aplicaciones biotecnológicas (**Laurinavicius, et al., 2008**) y de diagnóstico. También se ha estudiado la participación del grupo PQQ en el metabolismo del cristalino ocular y su relación con la formación de las cataratas inducidas con hidrocortisona en embriones de pollo y se ha establecido que este reprime su formación al inhibir las enzimas tirosinasa y aldosa reductasa implicadas en este padecimiento (**Ameyama, et al., 1991**; **Hiraoka, et al., 1996**; **McIntire, 1998**; **Nishigori, et al., 1989**).

Conclusiones

El modelamiento por homología es una herramienta *in silico* valiosa para la determinación de la estructura 3D de una proteína cuya estructura real no se ha obtenido, hasta donde se sabe, mediante difracción de rayos X ni resonancia magnética nuclear (RMN), por lo que constituye un primer paso hacia la investigación con métodos experimentales. Se sientan, además, las bases para el diseño de una metodología menos especulativa y útil para obtener datos sobre el funcionamiento de la proteína con fines biotecnológicos. Los resultados del análisis bioinformático de modelamiento por homología indicaron que la enzima PQQ- mGDH de *P. fluorescens* presenta homología con la enzima de *P. putida*, lo que sugiere que es un microorganismo promotor del crecimiento vegetal útil en los procesos de solubilización del fósforo disponible en el suelo y de aquellos minerales cuya solubilización requiera el ataque de ácidos orgánicos producidos por las bacterias, por ejemplo, la posterior asimilación del potasio por parte de la planta. Tales hipótesis computacionales proporcionan una plataforma para posteriores estudios sobre su potencial de promoción del crecimiento vegetal en microorganismos y sus mecanismos de acción.

Información suplementaria

Ver la información suplementaria en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1154/2924>

Contribución de los autores

Todos los autores participaron activamente en la búsqueda y análisis de los datos y en la discusión de los resultados, así como la validación de la información para la preparación y revisión del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con respecto a los resultados de la presente investigación.

Referencias

- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, **8**: 971. Doi: 10.3389/fmicb.2017.00971
- Ameyama, M., Matsushita, K., Shinagawa, E., & Adachi, O. (1991). Biochemical and physiological functions of pyrroloquinoline quinone. *Vitamins and Hormones*, **46**: 229-270. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1660640>
- An, R., & Moe, L. A. (2016). Regulation of Pyrroloquinoline Quinone-Dependent Glucose Dehydrogenase Activity in the Model Rhizosphere-Dwelling Bacterium *Pseudomonas putida* KT2440. *Applied and Environmental Microbiology*, **82** (16): 4955-4964. Doi: 10.1128/aem.00813-16
- Anthony, C. (2001). Pyrroloquinoline quinone (PQQ) and quinoprotein enzymes. *Antioxidants and Redox Signaling*, **3** (5): 757-774. Doi: 10.1089/15230860152664966
- Anthony, C., & Zatman, L. (1967a). The microbial oxidation of methanol. The prosthetic group of the alcohol dehydrogenase of *Pseudomonas* sp. M27: a new oxidoreductase prosthetic group. *Biochemical Journal*, **104** (3): 960-969. Doi: 10.1042/bj1040960
- Anthony, C., & Zatman, L. J. (1967b). The microbial oxidation of methanol. The prosthetic group of the alcohol dehydrogenase of *Pseudomonas* sp. M27: a new oxidoreductase prosthetic group. *The Biochemical Journal*, **104** (3): 960-969. Doi: 10.1042/bj1040960
- Asahi, Y., Noiri, Y., Igarashi, J., Asai, H., Suga, H., Ebisu, S. (2010). Effects of N-acyl homoserine lactone analogues on *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation. *Journal of Periodontal Research*, **45** (2): 255-261. Doi: 10.1111/j.1600-0765.2009.01228.x
- Babnigg, G., & Joachimiak, A. (2010). Predicting protein crystallization propensity from protein sequence. *Journal of Structural and Functional Genomics*, **11** (1): 71-80. Doi: 10.1007/s10969-010-9080-0
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., Noble, W. S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Research*, **37**: W202-W208. Doi: 10.1093/nar/gkp335
- Ben Farhat, M., Fourati, A., Chouayekh, H. (2013). Coexpression of the pyrroloquinoline quinone and glucose dehydrogenase genes from *Serratia marcescens* CTM 50650 conferred high mineral phosphate-solubilizing ability to *Escherichia coli*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **170** (7): 1738-1750. Doi: 10.1007/s12010-013-0305-0
- Benkert, P., Künzli, M., Schwede, T. (2009). QMEAN server for protein model quality estimation. *Nucleic Acids Research*, **37** (suppl_2): W510-W514. Doi: 10.1093/nar/gkp322
- Chapman, H. N., Fromme, P., Barty, A., White, T. a, Kirian, R. a, Aquila, A., Spence, J. C. H. (2011). Femtosecond X-ray protein nanocrystallography - Supplementary Information. *Nature*, **470** (7332): 73-77. Doi: 10.1038/nature09750
- Chen, C. K.-M., Chan, N.-L., Wang, A. H.-J. (2011). The many blades of the β -propeller proteins: conserved but versatile. *Trends in Biochemical Sciences*, **36** (10): 553-561. Doi: 10.1016/j.tibs.2011.07.004
- Combet, C., Jambon, M., Deleage, G., Geourjon, C. (2002). Geno3D: automatic comparative molecular modelling of protein. *Bioinformatics*, **18** (1): 213-214. Doi: 10.1093/bioinformatics/18.1.213
- Cozier, G. E., Salleh, R. A., Anthony, C. (1999). Characterization of the membrane quinoprotein glucose dehydrogenase from *Escherichia coli* and characterization of a site-directed mutant in which histidine-262 has been changed to tyrosine. *The Biochemical Journal*, **340** (Pt 3): 639-647. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10359647>
- Dassault Systèmes BIOVIA. (2019). Discovery studio. San Diego: Dassault Systemes.
- Duine, J. A. (1991). Quinoproteins: enzymes containing the quinonoid cofactor pyrroloquinoline quinone, topaquinone or tryptophan-tryptophan quinone. *European Journal of Biochemistry*, **200** (2): 271-284. Doi: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb16183.x
- Duine, J. A. & Jongejan, J. A. (1989). Quinoproteins, enzymes with pyrrolo-quinoline quinone as cofactor. *Annual Review of Biochemistry*, **58**: 403-426. Doi: 10.1146/annurev.bi.58.070189.002155

- Goldstein, A., Lester, T., Brown, J.** (2003). Research on the metabolic engineering of the direct oxidation pathway for extraction of phosphate from ore has generated preliminary evidence for PQQ biosynthesis in *Escherichia coli* as well as a possible role for the highly conserved region of quinoprote. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*. **1647** (1-2): 266-271. Doi: 10.1016/S1570-9639(03)00067-0
- Good, N. M., Vu, H. N., Suriano, C. J., Subuyuj, G. A., Skovran, E., Martínez-Gómez, N. C.** (2016). Pyrroloquinoline quinone ethanol dehydrogenase in *Methylobacterium extorquens* AM1 extends lanthanide-dependent metabolism to multicarbon substrates. *Journal of Bacteriology*. **198** (22): 3109-3118. Doi: 10.1128/JB.00478-16
- Hamilton, N. & Huber, T.** (2008). An introduction to protein contact prediction. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.). **453**: 87-104. Doi: 10.1007/978-1-60327-429-6_3
- Hauge, J. G.** (1964). Glucose Dehydrogenase of Bacterium with a Novel Prosthetic Group * an Enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*. **239** (11): 3630-3639. <http://www.jbc.org/>
- Hiraoka, T., Clark, J. I., LI, X. Y., Thurston, G. M.** (1996). Effect of selected anti-cataract agents on opacification in the selenite cataract model. *Experimental Eye Research*: **62** (1): 11-19. Doi: 10.1006/exer.1996.0002
- Itoh, S., Kawakami, H., Fukuzumi, S.** (1998). Model studies on calcium-containing quinoprotein alcohol dehydrogenases. Catalytic role of Ca²⁺ for the oxidation of alcohols by coenzyme PQQ (4,5-dihydro-4,5-dioxo-1H-pyrrolo[2,3-f]quinoline-2, 7,9-tricarboxylic acid). *Biochemistry*. **37** (18): 6562-6571. Doi: 10.1021/bi9800092
- Itoh, Shinobu, Kawakami, H., Fukuzumi, S.** (2000). Development of the active site model for calcium-containing quinoprotein alcohol dehydrogenases. *Journal of Molecular Catalysis - B Enzymatic*. **8** (1-3): 85-94. Doi: 10.1016/S1381-1177(99)00070-3
- Kim, H.-W., Wang, J.-Y., Lee, J.-Y., Park, A.-K., Park, H., Jeon, S.-J.** (2016). Biochemical and structural characterization of quinoprotein aldose sugar dehydrogenase from *Thermus thermophilus* HJ6: Mutational analysis of Tyr156 in the substrate-binding site. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **608**: 20-26. Doi: 10.1016/j.abb.2016.08.022
- Krishnaraj, P. U. & Goldstein, A.** (2002). Cloning of a *Serratia marcescens* DNA fragment that induces quinoprotein glucose dehydrogenase-mediated gluconic acid production in *Escherichia coli* in the presence of stationary phase *Serratia marcescens*. *FEMS Microbiology Letters*. **205** (2): 215-220. Doi: 10.1016/s0378-1097(01)00472-4
- Kuriyan, J., Konforti, B., Wemmer, D.** (2013). *The molecules of life: physical and chemical principles*. Garland Science. 1032 p. New York.
- Laurinavicius, V., Kurtinaitiene, B., Stankeviciute, R.** (2008). Behavior of PQQ glucose dehydrogenase on Prussian blue-modified carbon electrode. *Electroanalysis*. **20** (13): 1391-1395. Doi: 10.1002/elan.200804216
- Lidbury, I. D. E. A., Murphy, A. R. J., Scanlan, D. J., Bending, G. D., Jones, A. M. E., Moore, J. D., Wellington, E. M. H.** (2016). Comparative genomic, proteomic and exoproteomic analyses of three *Pseudomonas* strains reveals novel insights into the phosphorus scavenging capabilities of soil bacteria. *Environmental Microbiology*. **18** (10): 3535-3549. Doi: 10.1111/1462-2920.13390
- Lüthy, R., Bowie, J. U., Eisenberg, D.** (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature*. **356** (6364): 83-85. Doi: 10.1038/356083a0
- Madeira, F., Park, Y. mi, Lee, J., Buso, N., Gur, T., Madhusoodanan, N., López, R.** (2019). The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019. *Nucleic Acids Research*. **47** (W1): W636-W641. Doi: 10.1093/nar/gkz268
- McGuffin, L. J., Bryson, K., Jones, D. T.** (2000). The PSIPRED protein structure prediction server. *Bioinformatics*. **16** (4): 404-405. Doi: 10.1093/bioinformatics/16.4.404
- McIntire, W. S.** (1998). Newly discovered redox cofactors: possible nutritional, medical, and pharmacological relevance to higher animals. *Annual Review of Nutrition*. **18**: 145-177. Doi: 10.1146/annurev.nutr.18.1.145
- Nishigori, H., Yasunaga, M., Mizumura, M., Lee, J. W., Iwatsuru, M.** (1989). Preventive effects of pyrroloquinoline quinone on formation of cataract and decline of lenticular and hepatic glutathione of developing chick embryo after glucocorticoid treatment. *Life Sciences*. **45** (7): 593-598. Doi: 10.1016/0024-3205(89)90044-1
- Pérez, S., Coto, O., Echemendía, M., Ávila, G.** (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? *Rev. Protección Veg.* **30** (3): 225-234.
- Pons, T., Gómez, R., China, G., Valencia, A.** (2012). Beta-propellers: Associated Functions and their Role in Human Diseases. *Current Medicinal Chemistry*. **10** (6): 505-524. Doi: 10.2174/0929867033368204

- Ramachandran, G. N., Ramakrishnan, C., Sasisekharan, V.** (1963). Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *Journal of Molecular Biology*. **7**: 95-99. Doi: 10.1016/S0022-2836(63)80023-6
- Sakamoto, H., Uchii, T., Yamaguchi, K., Koto, A., Takamura, E.-I., Satomura, T., ... Suye, S.-I.** (2015). Construction of a biocathode using the multicopper oxidase from the hyperthermophilic archaeon, *Pyrobaculum aerophilum*: towards a long-life biobattery. *Biotechnology Letters*. **37** (7): 1399-1404. Doi: 10.1007/s10529-015-1819-z
- Salisbury, S. A., Forrest, H. S., Cruse, W. B. T., Kennard, O.** (1979). A novel coenzyme from bacterial primary alcohol dehydrogenases [13]. *Nature*. **280**: 843-844. Doi: 10.1038/280843a0
- Sánchez-Garcés, M. A., Álvarez-Camino, J. C., Corral-Pavón, E., González-Martínez, R., Alves-Marques, J., Párraga-Manzol, G., Gay-Escoda, C.** (2012). Revisión bibliográfica de Implantología Bucofacial del año 2010: Segunda parte. *Avances En Periodoncia e Implantología Oral*. **24** (2): 77-94. Doi: 10.4321/s1699-65852012000200003
- Sayle, R.** (1995). RASMOL: biomolecular graphics for all. *Trends in Biochemical Sciences*. **20** (9): 374-376. Doi: 10.1016/S0968-0004(00)89080-5
- Sippl, M. J.** (1993). Recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. **17** (4): 355-362. Doi: 10.1002/prot.340170404
- Takeda, K., Ishida, T., Yoshida, M., Samejima, M., Ohno, H., Igarashi, K., Nakamura, N.** (2019). Crystal Structure of the Catalytic and Cytochrome b Domains in a Eukaryotic Pyrroloquinoline Quinone-Dependent Dehydrogenase. *Applied and Environmental Microbiology*. **85** (24): 1-13. Doi: 10.1128/AEM.01692-19
- Vera-Cardoso, B. C., Muñoz-Rojas, J., Munive, J. A., Marín-Cevada, V., Flores-Encarnación, M., & Ricardo, C.** (2017). Pirroloquinolinaquinona (PQQ) y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). De la biosíntesis a los fenotipos. *Alianzas & Tendencias*. **2** (1): 22-29.
- Wen, Z. T., Nguyen, A. H., Bitoun, J. P., Abranches, J., Baker, H. V., & Burne, R. A.** (2011). Transcriptome analysis of LuxS-deficient *Streptococcus mutans* grown in biofilms. *Molecular Oral Microbiology*. **26** (1): 2-18. Doi: 10.1111/j.2041-1014.2010.00581.x
- Wiederstein, M., & Sippl, M. J.** (2007). ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*. **35**: 407-410. Doi: 10.1093/nar/gkm290
- Yamamoto, M., Hirata, K., Hikima, T., Kawano, Y., Ueno, G.** (2010). Protein micro-crystallography with a new micro-beam beamline. *Yakugaku Zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. **130** (5): 641-648. Doi: 10.1248/yakushi.130.641
- Zdobnov, E. M. & Apweiler, R.** (2001). InterProScan - An integration platform for the signature-recognition methods in InterPro. *Bioinformatics*. **17** (9): 847-848. Doi: 10.1093/bioinformatics/17.9.847

Original article

Prospective use of fruit byproducts in Colombia according to their antioxidant capacity

Uso prospectivo de subproductos de frutas en Colombia según su capacidad antioxidante

● Ciliana Flórez-Montes^{1*}, ● Óscar Marino Mosquera-Martínez²,
● Andrés Felipe Rojas-González¹

¹Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia

²Escuela de Tecnología Química, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia.

Abstract

Currently, the use of agro-industrial waste represents a viable alternative for obtaining valuable compounds that, in the case of biorefineries, is an opportunity for improvement. In this context, the aim of our study was to determine the flavonoid content and the antioxidant capacity of 30 byproducts from fruit processing in Colombia and propose possible applications. We analyzed the antioxidant capacity of the ethanolic extracts from each byproduct using the ferric reducing antioxidant power (FRAP) and the reducing power of antioxidant activity (RPAA) assays, as well as the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) test. We found that tree tomato peels and stem and peach peels had a high flavonoid content, with values greater than $8,271.82 \pm 702.70$ μg quercetin per gram of dry sample. We also found that mango ($22,676.57 \pm 759.71$ $\mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$, $3,692.38 \pm 92.67$ $\mu\text{g GAE/g S}_{\text{db}}$), soursop ($22,117.13 \pm 754.94$ $\mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$, $4,858.79 \pm 156.71$ $\mu\text{g GAE/g S}_{\text{db}}$, $14,713.39 \pm 757.95$ $\mu\text{g TE2/g S}_{\text{db}}$), grape ($17,027.85 \pm 765.11$ $\mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$, $13,395.15 \pm 659.31$ $\mu\text{g TE2/g S}_{\text{db}}$), peach peels ($17,910.21 \pm 1,424.33$ $\mu\text{g TE2/g S}_{\text{db}}$) and seeds ($4,316.46 \pm 112.00$ $\mu\text{g GAE/g S}_{\text{db}}$, $20,093.32 \pm 1,317.93$ $\mu\text{g TE2/g S}_{\text{db}}$), and grape stalk ($3,552.26 \pm 31.63$ $\mu\text{g GAE/g S}_{\text{db}}$) showed a high antioxidant capacity in the different tests performed. Our results demonstrate that fruit byproducts have potential use in the pharmaceutical, food, and cosmetic industry due to their flavonoids content and their high antioxidant capacity.

Keywords: Antioxidant capacity; Biorefinery; Flavonoids; Green economy.

Resumen

Hoy en día el aprovechamiento de residuos agroindustriales representa una alternativa viable para la obtención de compuestos valiosos, lo que en el caso de las biorrefinerías representa una oportunidad para mejorar. En ese contexto el objetivo de este estudio fue determinar el contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante de 30 subproductos del procesamiento de frutas en Colombia, con el fin de proponer un posible uso. La capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de cada subproducto se analizó mediante las pruebas FRAP, RPAA y ORAC. Se encontró que las cáscaras de tomate de árbol y durazno, y el vástago del tomate de árbol mostraban un alto contenido de flavonoides, con valores superiores a $8.271,82$ μg de quercetina por gramo de muestra seca. También se encontró que las cáscaras de mango ($22.676,57 \pm 759,71$ $\mu\text{g ET1/g M}_{\text{bs}}$, $3.692,38 \pm 92,67$ $\mu\text{g EAG/g M}_{\text{bs}}$), guanábana ($22.117,13 \pm 754,94$ $\mu\text{g ET1/g M}_{\text{bs}}$, $4.858,79 \pm 156,71$ $\mu\text{g EAG/g M}_{\text{bs}}$, $14.713,39 \pm 757,95$ $\mu\text{g ET2/g M}_{\text{bs}}$), uva ($17.027,85 \pm 765,11$ $\mu\text{g ET1/g M}_{\text{bs}}$, $13.395,15 \pm 659,31$ $\mu\text{g ET2/g M}_{\text{bs}}$) y durazno ($17.910,21 \pm 1.424,33$ $\mu\text{g ET2/g M}_{\text{bs}}$), y las semillas ($4.316,46 \pm 112,00$ $\mu\text{g EAG/g M}_{\text{bs}}$, $20.093,32 \pm 1.317,93$ $\mu\text{g ET2/g M}_{\text{bs}}$) y el escobajo de la uva ($3.552,26 \pm 31,63$ $\mu\text{g EAG/g M}_{\text{bs}}$) mostraron una alta capacidad antioxidante en las diferentes pruebas realizadas. Los resultados de este estudio demuestran que los subproductos de frutas tienen un uso potencial en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética por su contenido de flavonoides y su alta capacidad antioxidante.

Palabras clave: Capacidad antioxidante; Biorrefinería; Flavonoides; Economía verde.

Citation: Flórez-Montes C, Mosquera-Martínez ÓM, Rojas-González AF. Prospective use of fruit byproducts in Colombia according to their antioxidant capacity. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1113-1125, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1241>

Editor: Sonia Moreno Guáqueta

***Corresponding autor:**

Ciliana Flórez-Montes;
cflorezm@unal.edu.co

Received: June 18, 2020

Accepted: October 2, 2020

Published: December 5, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

Introduction

Currently, intensified agro-industrial processes have increased the generation of waste from raw materials in the cultivation stage to product commercialization. Colombia, a country with an extensive agro-industrial activity, generates around 6.1 million tons of fruit with the subsequent impact, as well as the added value of byproducts that can improve the benefits per year in this field (Martínez & Quintero, 2017). Agro-industrial waste, mostly the lignocellulosic biomass (Patiño, 2014), has a negative impact on the environment due to its high concentration of organic matter and inadequate final disposal (Díaz, 2011). Therefore, the use of this type of waste represents a challenge in the way of mitigating environmental consequences (Tafur, *et al.*, 2006). Today, agro-industrial waste is used mainly for power generation and the production of animal concentrates (Cardona, *et al.*, 2012).

Lignocellulosic biomass is composed of cellulose, hemicellulose, lignin, ash, and extractives (Abril & Navarro, 2012). The bioactive compounds, i.e., the secondary metabolites of plants, are present in the extractives and are of great interest to the food and pharmaceutical industries for their health benefits (Helkar, *et al.*, 2016). Phenolic compounds represent an important group of bioactives with the ability to inhibit or delay the oxidation of other molecules due to the presence of the hydroxyl group in its structure (Chen, *et al.*, 2013). The antioxidant activity of phenolic compounds protects the organism from reactive oxygen species and free radicals associated with chronic and degenerative diseases such as cancer, diabetes, cardiovascular disorders, liver damage, aging processes, and Alzheimer's (Chen, *et al.*, 2013).

Phenolic compounds can be extracted using different solvents such as water, hexane, ethyl-acetate, ethanol, or methanol, the latter being one of the most frequently used for the subsequent quantification of total phenolic compounds (Kumar, *et al.*, 2017). The quantification of these compounds, as well as the determination of their antioxidant capacity, is done by spectrophotometric or colorimetric methods (Grupta, 2015). The antioxidant capacity is measured by the antioxidant molecules present in a certain organic material. Most of the tests used to determine it measure the ability of antioxidant compounds to react with a given free radical, or the potential they have to reduce complexes formed by ions and a reagent (Valenzuela, 2015).

The methods for measuring the antioxidant capacity differ in the oxidizing agent (capture of electrons or hydrogens), the substrate used, the evaluation time, the sensitivity, the selectivity, and the interactions of the sample with the reaction medium. Some of the most common methods include flavonoids quantification, ferric reducing antioxidant power (FRAP) and total peroxy radical trapping antioxidant parameter (TRAP) determination, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and the 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) assays, as well as the reducing power of antioxidant activity (RPAA) and the oxygen radical absorption capacity (ORAC) determination, among others (Grupta, 2015; Schaich, *et al.*, 2015).

Colombia is an agricultural country with high consumption of fruits both by the general population and agro-industries and, therefore, the generation of fruit byproducts is also high. Some of the most frequently consumed fruits in the country are soursop, lulo, mango, tree tomato, tangerine, orange, lemon, grape, pineapple, arazá, peach, papaya, peach palm, banana, passion fruit, and sapote. Previous studies have shown that fruit byproducts have structural compounds with a high antioxidant capacity. According to Ghosh, *et al.* (2019), orange and mango peels have FRAP values in a range between 17.48 ± 0.38 to $568.92 \pm 4.03 \mu\text{M Fe (III) / mg}$, and their flavonoid content can vary between 1.59 ± 0.02 and $6.83 \pm 0.09 \text{ mg}$ of quercetin per gram of dry sample depending on the solvent used for extraction. Grape residues, characterized by having a high antioxidant capacity, have a flavonoid content between 3.26 and 6.71 mg of quercetin per gram of dry sample (Zeinab, *et al.*, 2019) while their ORAC value is between 347 and 660 μM trolox per gram of dry sample (Ferreira, *et al.*, 2019).

Extracts from citrus fruit byproducts have been found to be an important source of compounds like ferulic acid, 5-hydroxyvaleric acid, vanillic acid, 2-oxybenzoic acid, hesperidin, and naringin. These extracts have applications in the pharmaceutical, cosmetic, and food industries and they have been incorporated into products such as vitamin C tablets, antiseptic mouthwash, ointments, shampoo, perfumes, sunscreen, juices, sauces, and jams, among others (Mahato, *et al.*, 2019). On the other hand, grape seed has been used to obtain over-the-counter dietary extracts and supplements rich in gallic acid, hydroxybenzoic, and cinnamic acid derivatives, quercetin, kaempferol, (+)-catechin, (-)-epicatechin, galocatechin, procyanidins, vitamin E, carotenoids, and phytosterols (Lucarini, *et al.*, 2018).

In the present study, we evaluated the bioactive potential of thirty fruit byproducts (peels, seeds, stem, and stalk) by determining the total flavonoids present in them and analyzing their antioxidant capacity using the FRAP, RPAA, and ORAC methods to define their potential use for obtaining compounds with added value.

Materials and methods

Obtention and pretreatment of byproducts

We selected the byproducts from the fruits with the highest production in Caldas and Valle del Cauca departments. We obtained them from supermarkets and fruit processing industries in these two departments. We selected 30 byproducts from peels (16), seeds (12), stems (1), and stalks (1). In **table 1**, we present the selected fruits along with their scientific name, the byproducts used, and the nomenclature for each of them. Once obtained and separated, the byproducts were stored at a temperature of -20 °C until use. Subsequently, the byproducts were thawed at room temperature for one hour and cut manually to reduce their size. Finally, they were dried at 45 °C for 60 hours in a Terrigeno D8 muffle and grounded to a particle size of 1 mm or less using a disk crusher.

Extraction of phenolic compounds

For the extraction of the bioactive compounds, we weighed 250 mg of the dry byproduct in a centrifuge tube and added 1 ml of 60% ethanol EMSURE®. The tube with the sample was vortexed for one minute and centrifuged at 10,000 rpm for 15 minutes in an Eppendorf centrifuge 5424C, and then we obtained the supernatant and the precipitate. The supernatant was recovered in a 2 mL centrifuge microtube and we added 500 µL of ethanol 60 % to the precipitate, stirred the mix in the vortex and centrifuged under the same conditions mentioned above. The supernatants were bound, and we added ethanol 60 % until we completed a volume of 2 mL (Ruales, *et al.*, 2015). The ethanolic extracts we obtained were used in flavonoids for the determination with FRAP, RPAA, and ORAC.

Flavonoids determination

We determined flavonoids following the methodology described by Kim, *et al.* (2003): We took 20 µL of the sample, 115 µL of water, and 7.5 µL of NaNO₂ 5% (EMSURE®), we homogenized them, and then we allowed their reaction for 5 minutes. After, we added 30 µL of 2.5% AlCl₃ (Sigma-Aldrich), homogenized, and allowed the reaction for 6 minutes. Finally, we added 50 µL of 1 M NaOH (EMSURE®) and 50 µL of water, homogenized, and measured the absorbance at 500 nm 5 minutes later. We used a reference substance of quercetin (Sigma-Aldrich) and distilled water as a photometric target: For this analysis, we used a Multiskan GO UV/Vis microplate spectrophotometer (Thermo Scientific). The result of the test was expressed in equivalent micrograms of quercetin per gram of dry-based sample (µg QE/g S_{db}).

Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) determination

The ferric reducing antioxidant potential was determined following the methodology described by Benzie & Devaki (2018). To measure the ferric reducing potential, we prepared the FRAP reagent, which consisted of a mixture of 300 mM acetate buffer, 10

Table 1. Selected waste for the study

Fruit	Scientific name	Waste	Nomenclature
Soursop	<i>Annona muricata</i>	Peel	Soursop-P
		Seed	Soursop-S
Passion fruit	<i>Passiflora edulis</i>	Peel	Passion fruit-P
Lulo	<i>Solanum quitoense</i>	Peel	Lulo-P
Sugar mango	<i>Mangifera indica</i>	Peel	Mango-P
Tree tomato	<i>Solanum betaceum</i>	Peel	Tree tomato-P
		Seed	Tree tomato-S
		Stem	Tree tomato-St
Arrayana tangerine	<i>Citrus reticulata</i>	Peel	Tangerine-P
		Seed	Tangerine-S
Valencia orange	<i>Citrus X sinensis</i>	Peel	Orange-P
		Seed	Orange-S
Tahití lemon	<i>Citrus × latifolia</i>	Peel	Lemon-P
		Seed	Lemon-S
Isabella grape	<i>Vitis labrusca</i>	Peel	Grape-P
		Seed	Grape-S
		Stalk	Grape-St
Honey gold pineapple	<i>Ananas comosus</i>	Peel	Pipeapple-P
Arazá	<i>Eugenia stipitata</i>	Peel	Arazá-P
		Seed	Arazá-S
Peach	<i>Prunus persica</i>	Peel	Peach-P
		Seed	Peach-S
Melona papaya	<i>Carica papaya</i>	Peel	Papaya-P
		Seed	Papaya-S
peach palm	<i>Bactris gasipaes</i>	Peel	peach palm-P
		Seed	peach palm-S
Banana passion fruit	<i>Passiflora tarminiana</i>	Peel	Banana passion fruit-P
		Seed	Banana passion fruit-S
Zapote	<i>Quararibea cordata</i>	Peel	Zapote-P
		Seed	Zapote-S

mM TPTZ (Sigma-Aldrich), and 20 mM FeCl₃ (Sigma-Aldrich) in a 10:1:1 ratio. First, we took 150 µL of the FRAP reagent and incubated it for one minute at 37 °C, then we homogenized it and measured the absorbance at 600 nm. Subsequently, we added 20 µL of the sample, homogenized it, and allowed it to react for 8 minutes. Finally, we measured the absorbance at 600 nm and used trolox (Sigma-Aldrich) as the standard substance and distilled water as a photometric target. For this test, we used a microplate spectrophotometer Multiskan GO UV/Vis (Thermo Scientific). Our results were expressed as the equivalent micrograms of trolox per gram of dry-based sample (µg TE1/g S_{db}).

Determination of the reducing potential of antioxidant activity (RPAA)

We determined the reducing potential of antioxidant activity following the methodology described by **Ballester** (2016). For the RPAA test, we took 100 µL of the sample, 100 µL of 0.2 M phosphate buffer, and 100 µL of 1% potassium ferricyanide (Sigma-Aldrich).

The mixture was placed in a 50°C water bath (Mettler® WNB14) for 20 minutes, then we added 100 µL of 10% trichloroacetic acid (PanReac) and centrifuged in an Eppendorf centrifuge 5414D for 10 minutes at 6500 rpm. Finally, we took 100 µL of the mixture, and we added 100 µL of water and 20 µL of 0.1% iron chloride (III) (Sigma-Aldrich), homogenized, allowed to stand for 10 minutes, and then measured the absorbance at 700 nm. We used gallic acid (Sigma-Aldrich) as the reference substance and distilled water as a photometric target. For this test, we used a microplate spectrophotometer Multiskan GO UV/Vis (Thermo Scientific). Our results are expressed as an equivalent in micrograms of gallic acid per gram of dry-based sample ($\mu\text{g GAE/g S}_{\text{db}}$).

Determining oxygen radical absorption capacity (ORAC)

We determined the oxygen radical absorption capacity following the methodology described by **Ou, et al.** (2001). To determine the oxygen radical absorption capacity, we took 20 µL of the sample and we added 120 µL of 120 nM fluorescein (Sigma-Aldrich), and then we incubated for 15 minutes at 37°C in the absence of light. Subsequently, we added 60 µL of 40 mM AAPH (Sigma-Aldrich) and the fluorescein intensity was read every minute for 2 hours using 538 and 485 nm emission and excitation filters. For this analysis, we used trolox (Sigma-Aldrich) as the reference substance. We used the phosphate buffer as a photometric target and positive control of the test in a microplate fluorimeter (Fluoroskan™ Ascent, Thermo Scientific). The result was expressed as the equivalent micrograms of trolox per gram of dry-based sample ($\mu\text{g TE2/g S}_{\text{db}}$).

Statistical analysis

We performed all the analyses in triplicate; the values reported are presented as average values along with their standard deviations. For the statistical analysis, we made correlations between the analyzed variables based on Pearson's correlation coefficient (R) and the probability ($p < 0.05$) to detect relationships between them. Statistical analyses were performed using Microsoft Excel®.

Results and discussion

Flavonoids determination

Figure 1 presents the results obtained from flavonoids for every byproduct. We found that the flavonoids contents were in a range of $135.17 \pm 7.89 \mu\text{g QE/g S}_{\text{db}}$, in arazá peel, up to $9,966.55 \pm 269.59 \mu\text{g QE/g S}_{\text{db}}$, in tree tomato peel. We established that tree tomato and peach peels, and the tree tomato stem, had high flavonoid contents. Considering the high flavonoid contents in these byproducts, we can assert that they could be used in the pharmaceutical, food, and cosmetic industries (**Carullo, et al.**, 2018).

According to different reports, orange and mango peels have a flavonoids content of 3.22 ± 0.06 and 6.83 ± 0.09 mg of quercetin per gram of dry sample, respectively (**Ghosh, et al.**, 2019). These data are higher compared to the results found in the present study (0.43 ± 0.02 mg QE/g S_{db} for orange peel and 1.48 ± 0.03 mg QE/g S_{db} for mango peel), which may be related to the fact that the cited authors used pure ethanol to carry out two extractions during four hours, which could influence the concentration of flavonoids obtained in the extracts. On the other hand, **Suleria, et al.** (2020) reported flavonoid values of 1.06 ± 0.07 , 0.04 ± 0.01 , 1.02 ± 0.08 , and 1.47 ± 0.07 mg of quercetin per gram of dry sample for papaya, passion fruit, peach, and pineapple peels, respectively. These values are similar to those reported in the present study for papaya peel (1.28 ± 0.06 mg QE/g S_{db}), however, they are lower than those found for passion fruit (0.86 ± 0.06 mg QE/g S_{db}), peach (8.57 ± 0.12 mg QE/g S_{db}), and pineapple peels (2.06 ± 0.08 mg QE/g S_{db}), which suggests that, despite the short extraction time, it is possible to obtain extracts with a high content of flavonoids.

Taking into account that with a quercetin daily intake of approximately 50 mg, anti-inflammatory and antioxidant effects are obtained (**Li, et al.**, 2016), byproducts extracts from tree tomato stems and peach and tree tomato peels should be analyzed to identify if quercetin is present in them and could contribute to the quercetin amount recommended for daily consumption as food additives or dietary supplements (**Patel, et al.**, 2018).

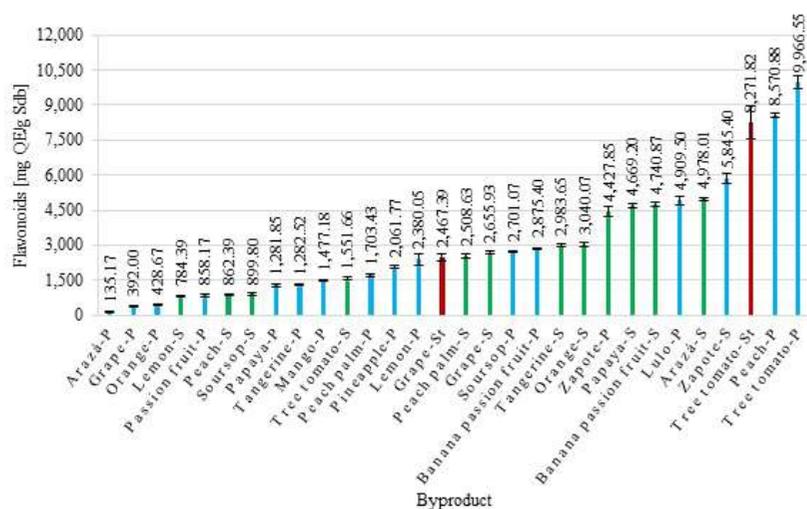


Figure 1. Flavonoids content

Determining the ferric reducing antioxidant potential (FRAP)

Figure 2 shows the results obtained from the ferric reducing antioxidant potential (FRAP) assay for every byproduct. FRAP values were between $715.95 \pm 36.07 \mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$ for papaya seeds and $22,676.57 \pm 759.71 \mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$ for mango peels. The Figure also shows that, in general, the peels have a higher FRAP value compared to the seeds, which may be related to the percentage of extractants present in them (Helkar, *et al.*, 2016) and indicates that the extractable compounds in fruit peels have a high antioxidant capacity.

On the other hand, we observed that grape, soursop, and mango peels had greater FRAP values compared to fruits that stand out for having a high antioxidant capacity, such as raspberry and blackberry, with FRAP values of $9,828.89$ and $9,999.09 \mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$, respectively (Ruiz-Torrallba, *et al.*, 2018). This indicates that these byproducts have a high potential for obtaining valuable compounds that can be used as additives in the food and pharmaceutical industries (Ainswort & Gillespie, 2007).

Viganó, *et al.* (2020) reported a FRAP value of approximately $18.00 \text{ mg TE1/g S}_{\text{db}}$ for an extract of passion fruit bagasse obtained by the pressurized liquid technique at $65 \text{ }^\circ\text{C}$ using 75% ethanol as solvent. In the present study, we obtained a FRAP value of $1.24 \pm 0.06 \text{ mg TE1/g S}_{\text{db}}$ for passion fruit peels, which corresponds to approximately one-fourteenth of the value reported by these authors. Such low value demonstrates the importance of using unconventional extraction techniques to obtain extracts with higher quality and antioxidant capacity. Likewise, Diep, *et al.* (2020) reported a FRAP value of $21,199.56 \pm 2,785.73 \mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$ for an extract of tree tomato peel obtained by using 50% methanol as solvent, i.e., 2.30 times higher compared to that obtained experimentally in this work ($9,198.04 \pm 103.64 \mu\text{g TE1/g S}_{\text{db}}$).

Table 2 shows Pearson's correlation coefficients (R) between the flavonoid content and the FRAP, RPAA, and ORAC tests. When comparing the FRAP test results with the data obtained for flavonoid content, it is clear that the relationship between them is very low, with an R of 0.0936 indicating that the byproducts antioxidant capacity can come from other antioxidant compounds different to flavonoids, such as terpenes, steroids, amino acids, or tannins (Alabri, *et al.*, 2014; López, 2017). Mango peels, with the highest antioxidant capacity measured by the FRAP test, have a low flavonoid content, but it is expected to present other types of antioxidant compounds such as carotenoids, vitamins, and anthocyanins (Banerjee, *et al.*, 2018; Singh, *et al.*, 2013). On the other hand, tree tomato peels have a high content of flavonoids while its antioxidant capacity is low, so we can infer that flavonoids and other antioxidant compounds present in this byproduct do not have such a good antioxidant capacity compared with other byproducts

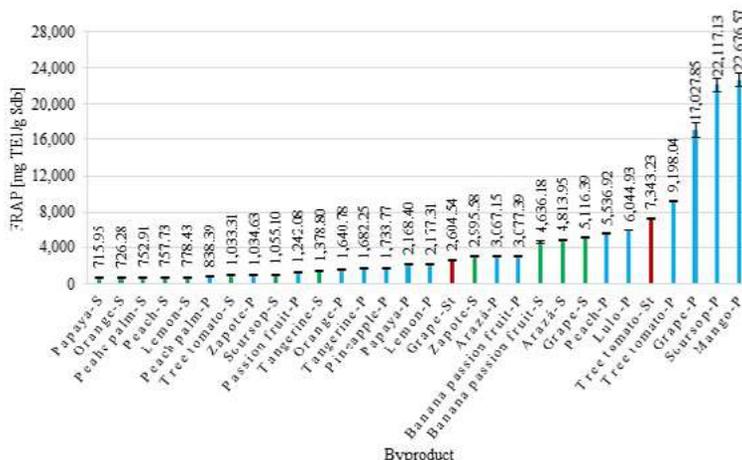


Figure 2. Ferric reducing antioxidant potential

Table 2. Pearson’s correlation coefficients (R) between flavonoid content and the FRAP, RPAA, and ORAC tests

Method	R
FRAP	0.0936 ^{ns}
RPAA	0.1365*
ORAC	0.3179*

ns= not significant; * significant with p <0.05

such as those in mango, soursop, and grape peels. Therefore, it is necessary to perform an HPLC-MS analysis to identify the specific metabolites present in each of the extracts and their concentrations.

Determining the reducing potential of antioxidant activity (RPAA)

The results of the reducing potential of antioxidant activity test are presented in figure 3. We found that they were in a range of $29.02 \pm 0.67 \mu\text{g GAE/g S}_{db}$ for the peach palm peels and of up to $4,858.79 \pm 156.71 \mu\text{g GAE/g S}_{db}$ for the soursop peels. The figure shows that for most of the byproducts generated by the same fruit the values obtained by means of the RPAA test were higher in peels than in seeds. As mentioned earlier, in general, the analyzed peels have a greater percentage of extractants compared to the seeds, so that the compounds extracted from the peels have potential use in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries (López, 2017). Byproducts such as soursop and mango peels and grape seeds and stalks have an antioxidant capacity with a high reducing power of free radicals and, therefore, they could be used to obtain compounds with beneficial effects on human health.

The results from the RPAA test had a very low directly proportional relationship with the flavonoid content in the byproducts with a correlation coefficient (R) of 0.1365. We can infer, then, that flavonoids were present in byproducts contributing to their antioxidant capacity and that the byproducts’ composition had other secondary metabolites (Mosquera, et al., 2015). The soursop peel, the byproduct with the highest RPAA value, had low flavonoid contents given that there are other compounds in its structure such as vitamin C, as well as syringic and protocateic acids (Aguilar-Hernández, et al., 2019; Akomalafe & Ajayi, 2015), which are good electron donors and can inhibit the Fe³⁺/ferricyanide complex (Ajila, et al., 2007). Likewise, we observed that byproducts such as mango peels, grape seeds, and grape stalks had a high antioxidant capacity as measured

by the RPAA test and low flavonoid content. Furthermore, some byproducts such as peach palm peels and lemon seeds had low values for both flavonoid content and antioxidant capacity. However, it is important to identify and quantify the metabolites present in the extracts to corroborate the correlation between the flavonoid contents and the antioxidant capacity found by the RPAA test.

Determining the oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

Figure 4 shows the results obtained from the oxygen radical absorbance capacity test for each one of the byproducts following the method described. We observed that the ORAC value varied from $375.22 \pm 21.92 \mu\text{g TE}_2/\text{g S}_{\text{db}}$ for tangerine seeds to $20,093.32 \pm 1,317.93 \mu\text{g TE}_2/\text{g S}_{\text{db}}$ for grape seeds. Byproducts such as grape seeds and peach peels showed a high antioxidant capacity measured by the ORAC test. In general, fruit peels had a greater ORAC value compared to seeds given the content of extractive compounds present in them. However, grape seeds had the highest ORAC value, which was expected taking into account previous results on their antioxidant capacity reported in the literature (Ferreyra, et al., 2019).

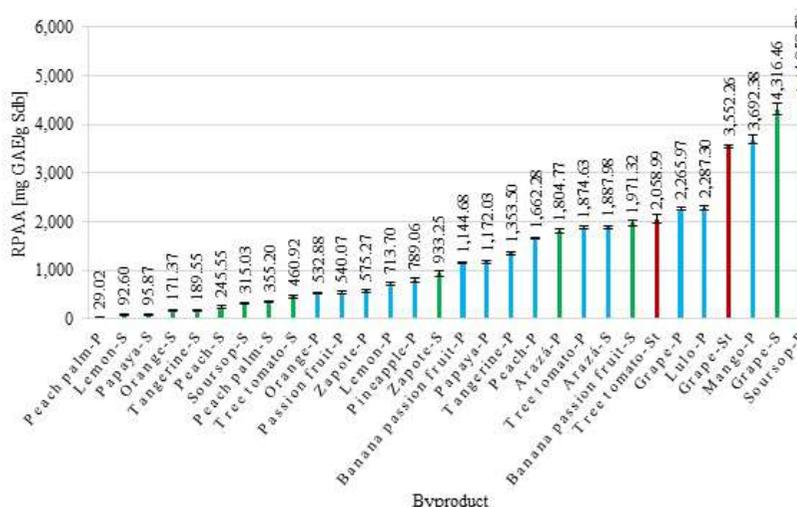


Figure 3. Antioxidant determination of the reducing potential

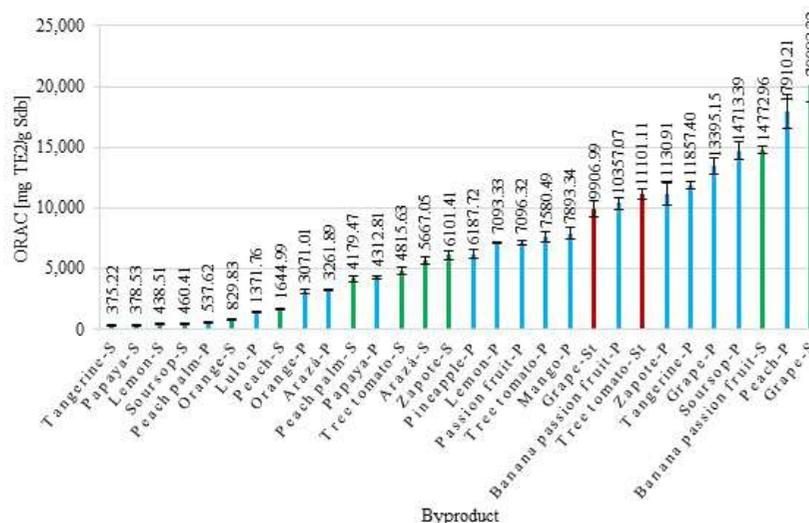


Figure 4. Oxygen radical absorbance capacity

The ORAC test results are widely used to measure the antioxidant capacity of foods since it indicates the ability of a substance to inhibit the pyroxyl radical, which is the most frequent free radical in human biology (Prior, 2015). According to Prior (2015), it is advisable to consume foods that provide an ORAC value greater than 125,000 μg trolox. In this sense, extracts from grape, soursop and peach peels, and banana passion fruit and grape seeds could contribute 10% of the amount of antioxidants recommended for daily consumption. Considering these results, we can say that these byproducts are a potential source of antioxidant compounds capable of inhibiting lipid oxidation reactions and they can be used to obtain extracts with potential use in the food and pharmaceutical industries (Gupta, 2015).

Grape byproducts registered an ORAC value between 86,850.63 and 165,191.40 μg TE₂/g S_{db} (Ferreira, et al., 2019), which differ from our results: $9,906.99 \pm 0.06$ for grape stalks, $13,395.15 \pm 659.31$ for grape peels, and $20,093.32 \pm 1,317.93$ for grape seeds. This difference is related to the fact that Ferreira, et al. (2019) carried out the extractions using acetone as a solvent in an ultrasonic washer at 50 Hz and 60 °C for 60 min. Therefore, it is necessary to evaluate other operating conditions varying the extraction technique, the solvents, and the extraction time to optimize the process and obtain better quality extracts.

The flavonoid content and the values obtained for each of the byproducts in the ORAC test evidenced a low directly proportional relationship between them with an $R=0.3179$. As we already mentioned, this is due to the presence of other antioxidant compounds in fruit byproducts such as tannins, phenolic acids, and isoprenoids (Alabri, et al., 2014; López, 2017). We found that grape seeds were the byproduct with the greatest capacity to absorb oxygen radicals, however, its flavonoid content is not as high compared to byproducts such as tree tomato seeds. Several studies have reported the presence of antioxidant compounds such as gallic acid, catechin, epicatechin, and proanthocyanidins in grape seeds (Abhijit, et al., 2018; Yadav, et al., 2018), which suggests that these compounds are responsible for the absorption of oxygen radicals in this byproduct. Therefore, it is necessary to identify and quantify the metabolites present in the extracts to find the correlation between specific compounds and the antioxidant capacity registered in the ORAC test.

Prospective use of fruit byproducts

The use of agro-industrial byproducts for the production of value-added compounds has become a challenge for industries that discard a large amount of byproducts such as peels and seeds every day since these have a negative impact on the environment due to their organic load besides the impact on the economy of the company given the costs associated with adequate storage, transport, and disposal (Vargas & Pérez, 2018). In Colombia, this type of byproducts is mainly used as a raw material for energy generation (Peñaranda, et al., 2017). However, agro-industrial byproducts can be used to produce valuable bioactive compounds (Bosco, et al., 2017).

In the specific case of the coffee-growing areas, in addition to their main agricultural product, the coffee, there are other fruit crops such as passion fruit, lulo, blackberry, banana, and tree tomato, among others (Cardona, et al., 2012), which produce a large number of byproducts from the moment of the crop through its distribution, processing, and consumption. The possibility of using them offers a great opportunity to implement the concept of biorefinery where each of the process's output streams generates other products of interest that can be marketed, like bioactive compounds and chemicals, as well as profits for the industry and benefits for the environment (Kiss, et al., 2016), which is advantageous since it would reduce the number of byproducts inadequately disposed of reducing the costs associated with their disposal (Vargas & Pérez, 2018). These byproducts can be used to obtain bioactive compounds that are highly valued in the market due to their great health benefits (López, 2017).

In the last years, the beneficial effects of flavonoids, such as the anticipated cardioprotective action and the antiviral, antimicrobial, anti-inflammatory, anticarcinogenic, and antiallergic potential have been extensively studied (Lesjak, et al., 2018; Patel, et

al., 2018). Quercetin, one of the most common flavonoids, stands out for its protective function against diseases such as osteoporosis, some melanoma types, pulmonary and cardiac diseases, as well as against aging and inflammatory processes (Carullo, *et al.*, 2018; Patel, *et al.*, 2018). It has a catechol and an OH group in its structure, which confers it an optimal configuration to be the most potent eliminator of reactive oxygen species, inhibiting the action of substances such as peroxy nitrite and the hydroxyl radicals, and avoiding the peroxidation of fats (Patel, *et al.*, 2018).

It is necessary, then, to quantify the quercetin content of fruit byproducts such as tree tomato and peach peels and tree tomato stems to eventually use them in the pharmaceutical industry for the treatment of various diseases.

On the other hand, byproducts such as mango, soursop, grape, and peach peels and grape seeds and stalks have a high antioxidant capacity attributed to the presence of compounds different from flavonoids such as gallic, syringic, and protocateic acids (Aguilar-Hernández, *et al.*, 2019), catechins, epicatechin, proanthocyanidins (Abhijit, *et al.*, 2018), anthocyanins, carotenoids (Ajila, *et al.*, 2007), terpenes (Aquilani, *et al.*, 2018), steroids, amino acids, tannins (Singh, *et al.*, 2013), and vitamins (Akomalafe & Ajayi, 2015). These fruit byproducts can be treated and processed to obtain antioxidant-rich extracts for their use in the production of functional foods (Rohm, *et al.*, 2015), multivitamin supplements (Helkar, *et al.*, 2016), nutraceuticals (Kumar, *et al.*, 2017), and anti-inflammatory and anti-diabetes medications (Saleem, *et al.*, 2019). However, it is vitally important to identify and quantify the metabolites present in the extracts to establish specific applications according to the benefits of each of the antioxidant compounds and evaluate the toxicity of the extracts to ensure their safety and measure the biological activity of the extracts through *in vitro* tests to guarantee their quality.

Conclusions

Based on our results, the byproducts with the highest flavonoid content were tree tomato and peach peels, and tree tomato stems, which can be used to obtain anti-inflammatory medications. Likewise, byproducts such as mango, soursop, grape, and peach peels, as well as grape seeds and stalk, had the highest antioxidant capacity, which makes them eligible as raw material for the food and pharmaceutical industries.

We also found that there was no direct relationship between the content of flavonoids and the antioxidant capacity of the byproducts based on Pearson's correlation coefficient. This must be corroborated by analyzing the composition of the extracts to identify other metabolites other than flavonoids such as phenolic acids, catechins, anthocyanins, terpenes, steroids, amino acids, tannins, carotenoids, and vitamins, which are good antioxidants.

Our results open the way for future studies to optimize the obtention of extracts by analyzing the influence of the technique, the operating conditions, and the solvent used. On the other hand, it is important to evaluate the composition of the extracts to identify different metabolites and their concentration and perform toxicity tests to guarantee their safety as raw materials for the food and pharmaceutical industries.

Contribution of the authors

All the authors participated in the development of the study, the gathering of data and analysis of the results, as well as in the drafting of the manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

- Abhijit, S., Tripathi, S. J., Bhagya, V., Rao, S., Subramanyam, M. V., Devi, S. A. (2018). Antioxidant action of grape seed polyphenols and aerobic exercise in improving neuronal

- number in the hippocampus is associated with decrease in lipid peroxidation and hydrogen peroxide in adult and middle-aged rats. *Experimental Gerontology*. **101**: 101-112. Doi: 10.1016/j.exger.2017.11.012
- Abril, A. J. & Navarro, E. A.** (2012). Etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Andalucía, Spain: Aleta Ediciones. p. 102.
- Aguilar-Hernández, G., García-Magaña, M. L., Vivar-Vera, M. A., Sayago-Ayerdi, S. G., Sánchez-Burgos, J. A., Morales-Castro, J., Anaya-Esparza, L. M., Montalto, E.** (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Annona muricata*. By-Products and Pulp. *Molecules*. **904** (24): 1-15. Doi: 10.3390/molecules24050904
- Ainsworth, E.A. & Gillespie, K.M.** (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*. **2** (4): 875-877. Doi: 10.1038/nprot.2007.102
- Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, S. G., Prasada, U. J. S.** (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*. **105**: 982-988. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.04.052
- Akomalafe, S. F. & Ajayi, O. B.** (2015). A comparative study on antioxidant properties, proximate and mineral compositions of the peel and pulp of ripe *Annona muricata* (L.) fruit. *International Food Research Journal*. **22** (6): 2381-2388.
- Alabri, T. H. A., Musalami, A. H. S. A., Hossain, M. A., Weli, A. M., Al-Riyami, Q.** (2014). Comparative study of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial capacities of fresh and dry leaves crude plant extracts of *Datura metel* L. *Journal of King Saud University – Science*. **26**: 237-243. Doi: 10.1016/j.jksus.2013.07.002
- Aquilani, C., Sirtori, F., Flores, M., Bozzi, R., Lebre, B., Pugliese, C.** (2018). Effect of natural antioxidants from grape seed and chestnut in combination with hydroxytyrosol, as sodium nitrite substitutes in *Cinta senese* dry-fermented sausages. *Meat Science*. **145**: 389-398. Doi: 10.1016/j.meatsci.2018.07.019
- Ballester, J.** (2016). Hidrólisis de proteínas sarcoplásmicas y generación de péptidos bioactivos durante la elaboración de jamón curado. Master's thesis of Science and Food Engineering, Valencia: Universitat Politècnica de Valencia.
- Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., Patti, A. F., Arora, A.** (2018). A hydrocolloid based biorefinery approach to the valorization of mango peel waste. *Food Hydrocolloids*. **77**: 142-151. Doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.09.029
- Benzie, I. F. F. & Devaki, M.** (2018). The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. In R. Apak, E. Capanoglu, F. Shahidi (Ed.), *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications* (pp. 77-106). New Jersey, United States: John Wiley & Sons Ltd. Doi: 10.1002/9781119135388
- Bosco, F., Casale, A., Gribaudo, G., Molle, C., Malucelli, G.** (2017). Nucleic acids from agro-industrial wastes: A green recovery method for fire retardant applications. *Industrial Crops and Products*. **108**: 208-218. Doi: 10.1016/j.indcrop.2017.06.035
- Cardona, C. A., Orrego, C. E., Tamayo, J. A.** (2012). ARCANO, una oportunidad para el desarrollo de la agroindustria en el departamento de Caldas. Manizales, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales. p. 139
- Carullo, G., Badolato, M., Aiello, F.** (2018). Bioavailability and biochemistry of quercetin and applications to health and diseases. In R. Roos, V.R. Preedy, S. Zidabi (Ed.), *Polyphenols: Mechanisms of action in human health and disease* (pp. 361-371). Amsterdam, Netherlands: Elsevier Inc. Doi: 10.1016/C2016-0-04277-8
- Chen, Z., Bertin, R., Froidi, G.** (2015). EC₅₀ estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry*. **138** (1): 414-20. Doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.001
- Díaz, A. L.** (2011). Biodegradación de residuos de frutas y vegetales provenientes de supermercados usando la técnica de aireación forzada. *Kuxulkab - Revista de divulgación*. **17** (33): 4-7. Doi: 10.19136/kuxulkab.a17n33.355
- Diep, T., Pook, C., Yoo, M.** (2020). Phenolic and Anthocyanin Compounds and Antioxidant Activity of Tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.). *Antioxidants*. **9** (2): 1-20. Doi: 10.3390/antiox9020169
- Ferreira, S. G., Antonioli, A., Borrini, R., Fontana, A.** (2020). Bioactive compounds and total antioxidant capacity of cane residues from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **100** (1): 376-383. Doi: 10.1002/jsfa.10065
- Ghosh, S., Kumar, J., Kumar, A.** (2019). Comparative evaluation of *in vitro* antioxidant activities and high-performance liquid chromatography fingerprinting of fruit peels collected from food processing industry wastes. *Pharmacognosy Research*. **11** (4): 346-351.

- Grupta, D.** (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **6** (2): 546-566. Doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66
- Helkar, P. B., Sahoo, A. K., Patil, N. J.** (2016). Review: Food industry by-products used as a functional food ingredients. *International Journal of Waste Resources*. **6** (3):1-6. Doi: 10.4172/2252-5211.1000248
- Kim, D. O., Jeong, S. W., Lee, C. Y.** (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*. **81** (3): 321-6. Doi: 10.1016/S0308-8146(02)00423-5
- Kiss, A. A., Lange, J. P., Schuur, B., Brilman, D. W. F., van der Ham, A. G. J., Kersten, S. R. A.** (2016). Separation technology—Making a difference in biorefineries. *Biomass and Bioenergy*. **95**: 296-309. Doi: 10.1016/j.biombioe.2016.05.021
- Kumar, K., Yadav, A. N., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, S.** (2017). Food waste: a potential bioresource for extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. *Bioresources and Bioprocessing*. **4** (18): 1-14. Doi: 10.1186/s40643-017-0148-6
- Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintac, D., Majkic, T., Bekvalac, K., Orcic, D., Mimica-Dukic, N.** (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods*. **40**: 68-75. Doi: 10.1016/j.jff.2017.10.047
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., Liu, H., Yin, Y.** (2016). Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*. **167** (8): 1-14. Doi: 10.3390/nu8030167
- López, A.** (2017). Caracterización de compuestos bioactivos en productos y subproductos vegetales mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masa. Doctoral thesis of Chemistry, Granada: Universidad de Granada.
- Lucarini, M., Durazzo, A., Romani, A., Campo, M., Lombardi-Boccia, G., Cecchini, F.** (2018). Bio-based compounds from grape seeds: A biorefinery approach. *Molecules*. **23** (8): 1-12. Doi: 10.3390/molecules23081888
- Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R., Cho, M.H.** (2019). Modern extraction and purification techniques for obtaining high purity food-grade bioactive compounds and value-added co-products from citrus wastes. *Foods*. **8** (11): 1-81. Doi: 10.3390/foods8110523
- Martínez, M. M. & Quintero, J. C.** (2017). Estado actual de los desperdicios de frutas y verduras en Colombia. In 4to Congreso Internacional AmTIC 2017 (pp. 194-201). Popayán.
- Mosquera, O. M., González, L. M., Cortes, Y. J., Camargo, J. C.** (2015). Caracterización fitoquímica, determinación del contenido de lignina y la actividad antioxidante de los culmos de *Guadua angustifolia* KUNTH. *Revista Facultad de Ciencias Básicas – Universidad Militar Nueva Granada*. **11** (2): 124-135. Doi: 10.18359/rfcb.1301
- Ou, B., Hampsch-woodill, M., Prior, R. L.** (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **49**: 4619-4626. Doi: 10.1021/jf010586o
- Patel, R. V., Mistry, B. M., Shinde, S. K., Syed, R., Singh, V., Shin, H. S.** (2018). Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **115**: 889-904. Doi: 10.1016/j.ejmech.2018.06.053
- Patño, P. E.** (2014). Biomasa residual vegetal: tecnologías de transformación y estado actual. *Innovaciencia*. **2** (1): 45-52.
- Peñaranda, L. V., Montenegro, S. P., Giraldo, P. A.** (2017). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, **8** (2): 141-150. Doi: 10.22490/21456453.2040
- Prior, R. L.** (2015). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*. **18**: 797-810. Doi: 10.1016/j.jff.2014.12.018
- Rohm, H., Brennan, C., Turner, C., Günther, E., Campbell, G., Hernando, I., Struck, S., Kantogiorgos, V.** (2015). Adding value to fruit processing waste: innovative ways to incorporate fibers from berry pomace in baked and extruded cereal-based foods—A SUSFOOD Project. *Foods*. **4**: 690-697. Doi: 10.3390/foods4040690
- Ruales, A. V.** (2015). Evaluación del potencial energético y bioactivo de los residuos generados por la producción y transformación de la uva. (Tesis de Maestría). Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Manizales.
- Ruiz-Torrallba, A., Guerra-Hernández, E. J., García-Villanova, B.** (2018). Antioxidant capacity, polyphenol content and contribution to dietary intake of 52 fruits sold in Spain. *CyTA-Journal of Food*. **16** (1): 1131-1138. Doi: 10.1080/19476337.2018.1517828

- Saleem, M., Tanvir, M., Akhtar, M. F., Iqbal, M., Saleem, A.** (2019). Antidiabetic Potential of *Mangifera indica* L. cv. Anwar Ratol Leaves: Medicinal Application of Food Wastes. *Medicina*. **353** (55): 1-9. Doi: 10.3390/medicina55070353
- Schaich, K. M., Tian, X., Xie, J.** (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of functional foods*. **14**: 111-125.
- Singh, D. S., Siddiq, M., Greiby, I., Dolan, K. D.** (2013). Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*. **141**: 2649-2655. Doi: 10.1016/j.foodchem.2013.05.053
- Suleria, H. A. R., Barrow, C. J., Dunshea, F. R.** (2020). Screening and Characterization of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Capacity in Different Fruit Peels. *Foods*. **9** (9): 1-26. Doi: 10.3390/foods9091206
- Tafur, R., Toro, J. C., González, H., García, R., Reyes, E., Bolaños, A., Méndez, A.** (2006). Diagnóstico y análisis de los recursos para la fruticultura en Colombia. Cali: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. p. 88.
- Valenzuela, P. D.** (2015). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *Ugni molinae* turcz. Thesis of Pharmaceutical chemist, Santiago de Chile: Universidad de Chile.
- Vargas, Y. A. & Pérez, L. I.** (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. **14** (1): 1-14.
- Viganó, J., de Paula Assis, B. F., Náthia-Neves, G., dos Santos, P., A. Meireles, M. A., Carvalho, P., Martínez, J.** (2020). Extraction of bioactive compounds from defatted passion fruit bagasse (*Passiflora edulis* sp.) applying pressurized liquids assisted by ultrasound. *Ultrasonics – Sonochemistry*. **64**: 1-8. Doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.104999
- Yadav, K., Kumar, R., Mandal, S., Saha, P., Mann, B.** (2018). Evaluation of total phenol content and antioxidant properties of encapsulated grape seed extract in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. **71** (1): 96-104. Doi: 10.1111/1471-0307.12464
- Zeinab, M. H., Osheba, A. S., Khallaf, M. F., Abdel, A. A.** (2019). Assessment of grape seeds as a source of antioxidant compounds. *AUJAS*. **27** (1): 501-509.

Artículo original

Áreas para la observación astronómica a través del procesamiento digital de imágenes nocturnas en Python

Areas for astronomic observation through the digital night image processing with Python

Mariluz Graterol-Ruiz

Núcleo Universitario “Rafael Rangel” de la Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela

Resumen

La observación de las estrellas es un derecho que la humanidad ha ido perdiendo debido a la contaminación lumínica. En este contexto, el objetivo del presente estudio fue localizar áreas para la observación astronómica a través del procesamiento digital de imágenes nocturnas en Python mediante un algoritmo utilizado en astronomía y la convolución discreta, con lo que se pudieron obtener las localidades con cielos oscuros. En conclusión, se ofrece una herramienta para localizar cielos oscuros en el estado Trujillo (Venezuela).

Palabras clave: Procesamiento; Convolución discreta; Astronomía; Python; Luminarias.

Abstract

Stargazing is a right that humanity has been losing due to light pollution. In this context, my objective was to locate areas for astronomical observation through digital night image processing with Python by implementing an algorithm used in astronomy and discrete convolution to obtain the locations with dark skies. As a result, I was able to provide a tool to locate dark skies in Trujillo state (Venezuela).

Keywords: Processing; Discrete convolution; Astronomy; Python; Luminaires.

Introducción

La observación astronómica a través de los siglos permitió al ser humano comprender la complejidad del universo y determinar la posición que ocupa el planeta Tierra en el cosmos. No obstante, esta importante actividad ha perdido espacios en la enseñanza de la astronomía y entre los aficionados a dicha ciencia y se ha limitado a una actividad al alcance únicamente de los profesionales dedicados a la astrofísica en observatorios especializados. Según la Declaración sobre la defensa del cielo nocturno y el derecho a la luz de las estrellas (2007), ello se debe, en parte, a que la calidad del cielo nocturno y, por lo tanto, el acceso a la luz de las estrellas, se está deteriorando en muchas zonas debido a la contaminación lumínica.

Gómez, *et al.* (2010) definen la contaminación lumínica como “La introducción, directa o indirectamente de luz artificial en el medio ambiente, cuyos efectos a escala mundial acarrear impactos medioambientales, energéticos, daño a los ecosistemas y degradación del cielo nocturno”. Sin embargo, a pesar de estas alteraciones, la contaminación lumínica no se encuentra incluida en las normativas del ambiente en la mayoría de los países. Tal como lo señala Rodríguez (2009), “Los peligros de la contaminación lumínica no han sido alertados casi en ningún país, aunque astrónomos y ecologistas llevan advirtiendo sobre sus consecuencias desde los años ‘70”.

El resultado es que las emisiones de luz artificial aumentan progresivamente en los países latinoamericanos, con excepción de Chile. En otros países como Venezuela, no hay una ley cuyo objetivo sea controlar este tipo de contaminación a nivel nacional, por

Citación: Graterol-Ruiz M. Áreas para la observación astronómica a través del procesamiento digital de imágenes nocturnas en Python. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1126-1136, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1125>

Editor: Elizabeth Castañeda

***Correspondencia:**

Mariluz Graterol Ruiz;
practicageologia2012@gmail.com;

Recibido: 14 de diciembre de 2019

Aceptado: 30 de junio de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

consiguiente, según Della (2009), las ciudades de Venezuela están perdiendo la visibilidad de las estrellas lenta pero constantemente, ya que las lámparas convencionales emiten más del 30 % del flujo luminoso directamente al cielo nocturno.

Específicamente en el estado Trujillo, la imagen satelital nocturna capturada por el satélite SUOMI (NPP) (Figura 1) muestra espacialmente las áreas que emiten luz artificial debido al alumbrado público. Frente a este problema, en el presente estudio localicé áreas para la observación astronómica a través del procesamiento digital de imágenes nocturnas en Python.

Se seleccionó específicamente el estado Trujillo (Venezuela) como área de estudio (Figura 1) por las siguientes razones: primero, es necesario que los estudiantes de las carreras de Física Matemática y Educación con mención de Geografía y Ciencias de La Tierra del Núcleo Universitario “Rafael Rangel” (NURR) de la Universidad de Los Andes en este estado realicen observaciones astronómicas como parte de su formación académica; segundo, en el NURR se adelanta un proyecto destinado a la divulgación de la astronomía en el cual participan estudiantes del nivel medio en actividades observacionales, y, por último, hay un creciente grupo de aficionados a la astronomía en el área de estudio que requieren espacios propicios para desarrollar actividades de observación nocturna.

En consecuencia, era esencial un estudio local que permitiera orientar sobre las áreas idóneas para la observación de los objetos celestes, ya que, solo se había hecho un estudio en 1960 para ubicar el Observatorio Astronómico Nacional (OAN) de Llano del Hato, estado Mérida, cuya comisión fue presidida por el físico y matemático Francisco J. Duarte (Stock, 1981) y que, por orden presidencial, Decreto 1.658, permitió la ejecución en 1991 del “Plan de ordenamiento y reglamento de uso del área de protección de la obra pública Observatorio Astronómico Nacional de Llano del Hato” (Patiño, 2015). En dicho

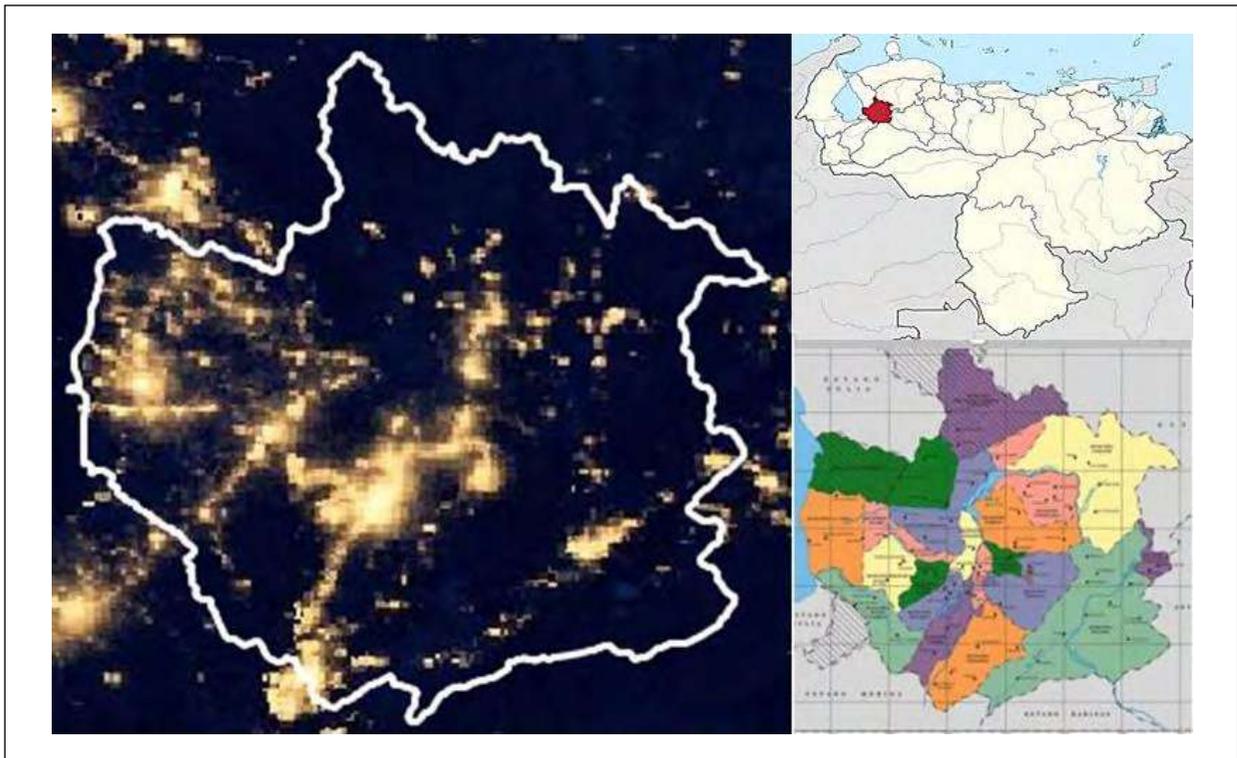


Figura 1. Localización relativa del área de estudio. El estado Trujillo (Venezuela) se localiza entre los paralelos 9° y 10° de latitud Norte y entre los meridianos 71° y 70° de longitud Oeste. Imagen satelital capturada por el satélite Suomi (NPP). Fuente: NASA Worldview. (2019), imágenes de la aplicación Worldview de la NASA (<https://worldview.earthdata.nasa.gov>) del Sistema de Datos e Información del Sistema de Observación de la Tierra de la NASA (EOSDIS)

documento se establece un conjunto de normas para controlar la contaminación lumínica, pero no se ha hecho en Venezuela un estudio de esta naturaleza, de ahí la relevancia de proporcionar una herramienta para encontrar las áreas con cielos oscuros en el estado Trujillo (Venezuela).

Según el **Instituto Nacional de Estadística (INE)** (2013), el estado Trujillo tiene una superficie de 7.400 Km² y se localiza geográficamente entre los paralelos 9° y 10° de latitud Norte, y entre los meridianos 71° y 70° de longitud Oeste. Ubicado en el occidente de Venezuela, limita al norte con los estados Zulia y Lara, al sur con Mérida y Barinas, al este con Portuguesa y Lara y al oeste con Zulia y Mérida. Su capital es la ciudad de Trujillo y su relieve es muy accidentado, ya que el 69 % de su superficie está constituido por espacios montañosos y reducidos valles intramontanos, el 17 % corresponde a la transición entre relieves accidentados y áreas bajas circundantes y un 14 % está representado por una extensa área plana.

La cordillera de Trujillo y la prolongación de la Sierra del Norte dan origen a dos valles: el valle alto del río Motatán y el valle del río Momboy, ambos separados por una fila con alturas superiores a los 2.000 m s.n.m., en tanto que en un profundo surco en dirección suroeste-noreste se ubica el valle del río Boconó, dominado por alturas superiores a los 3.000 m s.n.m. (INE, 2013). En cuanto a la actividad económica, Trujillo es un estado eminentemente agrícola, aunque también ganadero y, debido a sus paisajes, tiene un importante desarrollo turístico.

Imagen satelital nocturna del estado Trujillo capturada por el satélite SUOMI (NPP)

El satélite Suomi (NPP) de la Asociación Nacional de Órbita Polar (*National Polar-orbiting Partnership* - NPP) fue lanzado y colocado en órbita heliosincrónica a 824 kilómetros (512 millas) sobre la superficie terrestre por la NASA (*National Aeronautics and Space Administration*), la NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*), y el Departamento de Defensa de los Estados Unidos el 28 de octubre del 2011. La imagen nocturna de la Tierra con mayor resolución capturada por el SUOMI (NPP) fue difundida en el 2012 en una conferencia de prensa organizada en la ciudad de San Francisco (Estados Unidos). Según **Carlowicz** (2012), los investigadores que lideran el grupo de observación de la Tierra en el Centro Nacional de Datos Geofísicos, lograron la imagen nocturna, gracias a que el satélite Suomi (NPP) realiza un barrido de polo a polo observando el planeta en franjas verticales aproximadamente a la 1:30 a.m. y a la 1:30 p.m. hora local. Cabe destacar, que el Suomi (NPP) tiene un espectrorradiómetro VIIRS (Visible Infrared Imaging Radiometer Suite) que detecta fotones de luz en 22 bandas de longitud de onda diferentes y las recoge de manera similar al dispositivo acoplado a la carga de una cámara digital. A diferencia de una cámara de película, que captura una fotografía en una exposición, el VIIRS produce una imagen escaneando repetidamente un lugar específico en millones de píxeles, cada uno de los cuales representa aproximadamente 742 metros (0,46 millas) de ancho. Pero el Suomi (NPP) va un paso más allá, porque sobre la marcha ejecuta un modo de ganancia baja, media o alta para garantizar que no se sature ningún píxel y pueda representarse con precisión la cantidad de luz emitida. Por otro lado, todas las mediciones del VIIRS están completamente calibradas, lo que proporciona a los científicos la precisión requerida para diversos estudios.

Con este avanzado instrumento se pudo capturar la imagen nocturna del estado Trujillo (Venezuela) con una resolución y precisión sin precedentes (**Figura 1**). Es importante aclarar que las imágenes satelitales nocturnas muestran la distribución geográfica de las fuentes de luz artificial en la superficie de la Tierra y no sus efectos en la atmósfera (**Cinzano, et al.**, 2001). Es decir, muestra la concentración de luminarias en los centros urbanos, mas no la dispersión de la luz en la atmósfera.

No obstante, según el experto en teledetección del programa de la Estación Espacial Internacional **Stefanov** (2012), estas imágenes son útiles porque permiten a los científicos hacer un seguimiento del crecimiento urbano y suburbano, mapear las zonas urbanas y compararlas con las rurales, y estudiar las islas de calor, entre otras aplicaciones. Además,

la luz artificial de las ciudades sirve a los planificadores y los grupos ecologistas en la selección de sitios para observatorios astronómicos y en la supervisión del desarrollo humano en los parques y refugios de vida silvestre (Carlowicz, 2012).

Materiales y métodos

La localización de las áreas para la observación astronómica se efectúa mediante el procesamiento digital de imágenes (PDI) entendido como el conjunto de técnicas y procesos para descubrir o hacer resaltar la información contenida en una imagen usando como herramienta una computadora. Su objetivo es procesar digitalmente las señales en dos o tres dimensiones (Domínguez, 1996) reduciendo el ruido en la imagen nocturna, paso indispensable para clasificar la intensidad de la iluminación y determinar las áreas para la observación astronómica.

Para materializar el PDI se establecieron tres etapas: primero se hizo un proceso previo para ‘binarizar’ la imagen, es decir, pasar la imagen de color RGB a escala de grises; segundo, se procesó la imagen mediante la librería Photutils de Python para determinar las fuentes con menor y mayor intensidad de iluminación y localizar así las áreas para la observación astronómica en la imagen resultante de la convolución discreta, y tercero, se aplicó la convolución discreta y se localizaron las áreas para la observación astronómica.

Binarización de la imagen

Una imagen en escala de grises puede definirse como una función bidimensional, $f(m, n)$, donde m y n son coordenadas espaciales (planas) y la amplitud de f es proporcional a la intensidad luminosa (nivel de gris) en cualquier par de coordenadas (m, n) en ese punto (González & Woods, 2002). Cada imagen está conformada “por píxeles que se representan a escala de grises o color RGB. En una imagen en escala de grises, cada píxel tiene un valor entre 0 y 255, donde cero corresponde al color negro y 255 al color blanco” (Taquiá, 2017). Una imagen de color RGB, en cambio, “es una matriz $m \times n \times p$, aquí m y n tienen el mismo significado que las imágenes a escala de grises, y p representa el plano que para RGB puede ser rojo (R), verde (G) y azul (B).” (Albornoz & Morales, 2010).

Sabiendo esto, se descargó la imagen nocturna en color RGB del estado Trujillo desde la página web Worldview Earthdata NASA, con una resolución de 250 m por píxel, en formato TIFF y georreferenciada y dimensiones de 538 x 536, es decir, que la imagen está estructurada por una matriz de píxeles con 538 filas y 536 columnas. A continuación, la imagen nocturna de color se ingresó en Python para transformarla a la escala de grises (binarización).

Procesamiento de la imagen para determinar las áreas con menor y mayor intensidad de iluminación

En la etapa del procesamiento se implementó un método utilizado en astronomía para detectar estrellas en una imagen. El procesamiento de la imagen nocturna se llevó a cabo utilizando la librería Photutils y un paquete de Astropy para la detección y la fotometría de fuentes astronómicas (Bradley, *et al.*, 2019). Naturalmente, así como las estrellas emiten luz, las luminarias lo hacen por medio de la bombilla y ello permite hacer el mismo análisis de la imagen nocturna. Sin embargo, para identificar las áreas con menor y mayor intensidad de iluminación se efectúan cambios en el algoritmo original, con el fin de adaptarlo al procesamiento de la imagen nocturna en escala de grises.

Cabe señalar que Photutils es una librería de Python que admite varios algoritmos utilizados en el procesamiento de imágenes en astronomía. Entre los algoritmos adicionales para identificar fuentes luminosas implementados en este estudio, se encuentran los siguientes: el DAOSTarFinder, diseñado por Stetson (1987), cuyo propósito es encontrar las luminarias en la imagen con un FWHM específico (*Full Width Half Maximum*), es decir, la anchura a media altura que presenta un pico de emisión. En el procesamiento de la imagen nocturna el FWHM indica el diámetro de cada fuente en píxeles, y el algoritmo de búsqueda de picos ubica los picos locales en una imagen que estén por encima de un valor específico determinado mediante un umbral. A continuación se utiliza una *box size*

en Python para que defina la región alrededor de cada pixel. Si hay varios pixeles dentro de una región con intensidades idénticas, se devuelven las coordenadas de todos ellos. Para localizar en la imagen estas áreas se ingresa el algoritmo *centroid_funcse*, que este permite calcular un centroide en cada fuente detectada.

Convolución discreta

La convolución discreta “es la base de algunos procesamientos comunes, como el filtrado de imágenes; aquí el valor del pixel de salida se calcula mediante la suma ponderada de los píxeles vecinos.” (Esqueda & Palafox, 2005) y su finalidad más importante es reducir el ruido representado por “todos aquellos píxeles cuyo nivel de intensidad es muy diferente al de sus vecinos y cuyo origen puede estar tanto en el proceso de adquisición de la imagen como en el de transmisión o inclusive, durante la reproducción.” (Álvarez, et al., 2010). Según González & Woods (2002), este proceso se explica matemáticamente con la ecuación (1).

$$g(x,y) = h(x,y) * f(x,y) = \frac{1}{MN} \sum_{m=0}^{M-1} \sum_{n=0}^{N-1} f(m,n) h(x - m, y - n) \quad (1),$$

donde $h(x,y)$ son coordenadas espaciales planas del pixel, x es la dirección horizontal de la columna, y es la dirección vertical de la fila, y h es una máscara de convolución que elimina el contenido de alta frecuencia en la imagen, como el ruido y los bordes. Se aclara que “en el caso de las imágenes, los bordes y demás cambios bruscos de los niveles de gris están relacionados con las componentes de alta frecuencia, mientras que los factores de iluminación y color tienen que ver con las frecuencias bajas” (Forero & Arias, 2001). Por otro lado, el $*$ denota convolución, $f(x,y)$ es la imagen original y M y N representan las dimensiones de la vecindad involucrada en el procesamiento.

Así, la convolución discreta se traduce en la sumatoria de la multiplicación de todos los pixeles de la imagen con el correspondiente valor del coeficiente de h para obtener una imagen cuya salida es definida por $g(x,y)$ (Giral, et al., 2014), y para procesar la imagen nocturna se definen h 5×5 elementos. Para entender el mecanismo de la convolución discreta Esqueda & Palafox (2005) explican lo siguiente:

Paso 1. Ingreso de la imagen en escala de grises y selección de la máscara de convolución (Figura 2).

Paso 2. Rotación de 180° la máscara de convolución; aquí no se percibe la rotación porque todos los números son iguales (Figura 2).

Paso 3. Para calcular el valor de cada pixel (señal de salida), se sobrepone la máscara de tal forma que quede sobre el elemento de interés (Figura 3).

Paso 4. Se multiplica cada peso (valor) de la máscara rotada por el pixel de la imagen que se encuentra “bajo” la máscara.

Paso 5. Se suman los productos individuales que se encontraron en el paso 4 para determinar el valor del pixel de salida (color gris) y el del pixel procesado:

$$1 \times 1/25 + 2 \times 1/25 + 24 \times 1/25 + 8 \times 1/25 + \dots + 45 \times 1/25 = 20$$

1	2	6	12	24	15	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
8	10	2	28	20	22	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
4	6	8	26	28	16	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
16	14	26	30	32	38	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
34	36	40	42	45	36	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
10	12	15	18	19	23	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25

Figura 2. Matriz de imagen hipotética y máscara de convolución h 5×5 ($1/25$), lo que significa que tiene cinco columnas y cinco filas ($5 \times 5 = 25$). Fuente: elaboración propia.

1 1/25	2 1/25	6 1/25	12 1/25	24 1/25	15
8 1/25	10 1/25	2 1/25	28 1/25	20 1/25	22
4 1/25	6 1/25	8 1/25	26 1/25	28 1/25	16
16 1/25	14 1/25	26 1/25	30 1/25	32 1/25	38
34 1/25	36 1/25	40 1/25	42 1/25	45 1/25	36
10	12	15	18	19	23

Figura 3. El pixel seleccionado para calcular la señal de salida es el sombreado en color gris. Fuente: elaboración propia

Este sería el nuevo valor del pixel después de la convolución discreta y así sucesivamente se procesa toda la imagen. Para efectos del procesamiento de la imagen nocturna, la máscara implementada es h 5×5 y la librería de Python que realiza la convolución discreta es la OpenCV, desarrollada por Intel® Corporation en junio de 2000 en conjunto con un grupo de reconocidos investigadores (**Gutiérrez, et al.**, 2013). Esta biblioteca se utiliza en el procesamiento de imágenes porque proporciona un entorno de trabajo que facilita la manipulación de matrices, funciones que se utilizan en el procesamiento de la imagen nocturna, ya que se debe ejecutar la manipulación de las matrices tanto de la imagen como de la máscara h 5×5 .

Resultados y discusión

Terminada la primera etapa de procesamiento previo para binarizar la imagen, es decir, pasarla de color RGB a escala de grises con el objetivo de localizar las áreas para la observación astronómica en la zona de estudio, se ejecutó la segunda etapa destinada al procesamiento de la imagen nocturna mediante la librería Photutils para determinar las fuentes con menor y mayor intensidad de iluminación en la imagen nocturna ya binarizada.

Entre las modificaciones realizadas al algoritmo propuesto por la librería de Photutils, con el fin de adaptarlo al análisis de la imagen nocturna, se aplicaron las siguientes: cambios en la orientación de la imagen, pues el algoritmo original hace el procesamiento de una imagen enrevesada que, para efecto del procesamiento de imágenes con objetos celestes, no tendría problema dada la naturaleza del cielo nocturno, pero para efecto de la superficie terrestre sí supondría cambios significativos porque la imagen sale invertida y no coincide con los centros urbanos del estado. Además, se establecieron centroides abiertos para marcar las fuentes (en este caso las bombillas de las luminarias) con menor intensidad de iluminación y centroides cerrados para las fuentes con mayor intensidad de iluminación, con lo que se obtuvo el resultado observado en la **figura 4**.

Como resultado de la etapa 3 se aplicó la convolución discreta y se localizaron las áreas para la observación astronómica ingresando la imagen binarizada a Python con el propósito de hacer el procesamiento (convolución discreta) mediante la ejecución de OpenCV en la imagen nocturna. El resultado obtenido se aprecia en la **figura 5**. Además, se hizo un acercamiento a las imágenes de entrada (**Figura 5A**) y de salida (**Figura 5B**) (convolución discreta).

La mejora de la imagen nocturna se logra mediante la máscara h 5×5 , la cual se mueve por toda la matriz de la imagen calculando el valor de cada pixel a partir de los pixeles vecinos y reduciendo los patrones de ruido que impiden detectar cambios significativos entre pixeles y clasificar la intensidad de la iluminación. Generada la convolución en Python, se construye el histograma de la imagen resultante (**Figura 6, tabla 1**) para luego clasificar las áreas según la intensidad de iluminación.

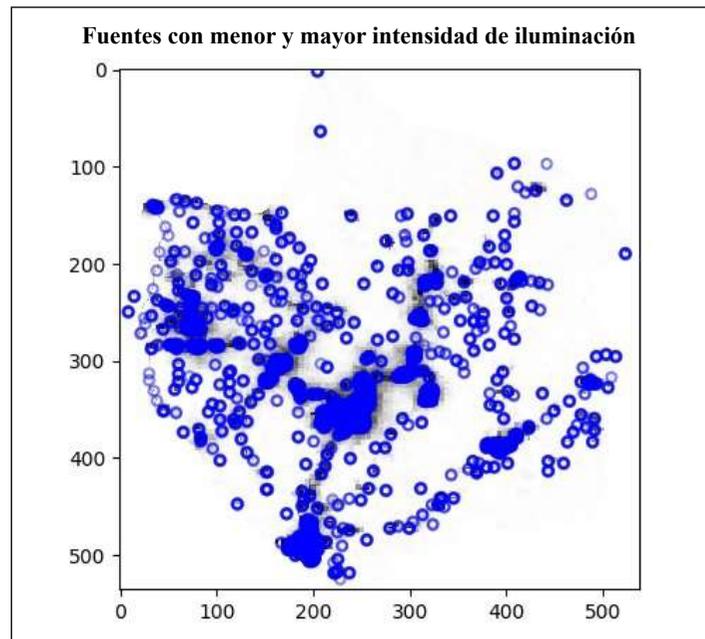


Figura 4. Se observan en el estado Trujillo (Venezuela) las fuentes con menor intensidad de iluminación indicadas por centroides abiertos y las fuentes con mayor intensidad, por centroides cerrados.

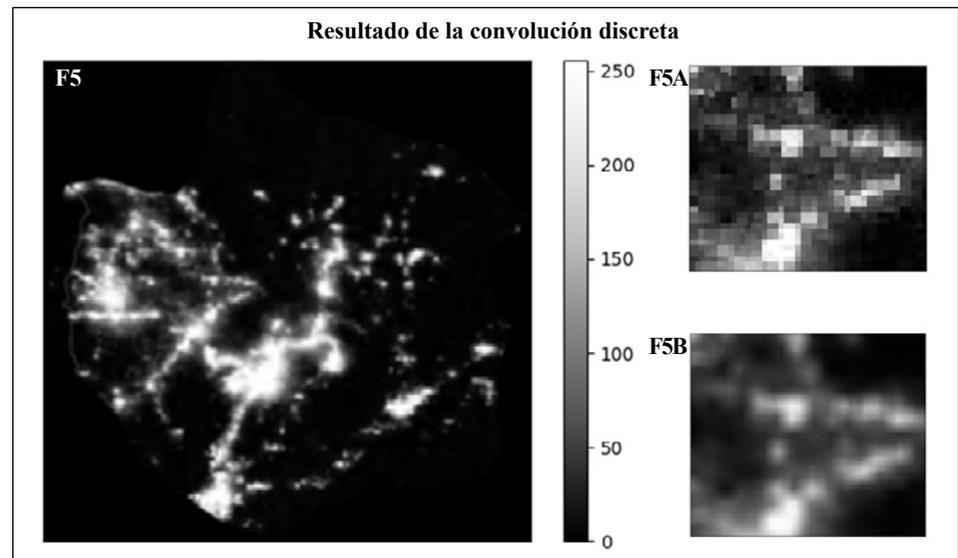


Figura 5. En F5 se observa el resultado de la convolución discreta en la imagen nocturna del estado Trujillo (Venezuela). Es apreciable un aumento considerable en la calidad visual (reducción del ruido) en la F5B, pues con el acercamiento de la imagen, los píxeles son más homogéneos con respecto a los de la imagen de entrada F5A (imagen binarizada).

Para finalizar las etapas del procesamiento de la imagen satelital nocturna en Python, se localizaron las áreas con cielos oscuros (menor concentración de luminarias) (**Figura 7**). Asimismo, se definieron los límites del área de estudio perteneciente al estado Trujillo. La imagen muestra el resultado de la convolución discreta en 3D.

En la **tabla 2** se presentan las localidades con cielos oscuros, así como el número de habitantes según el censo nacional de población y vivienda (2011).

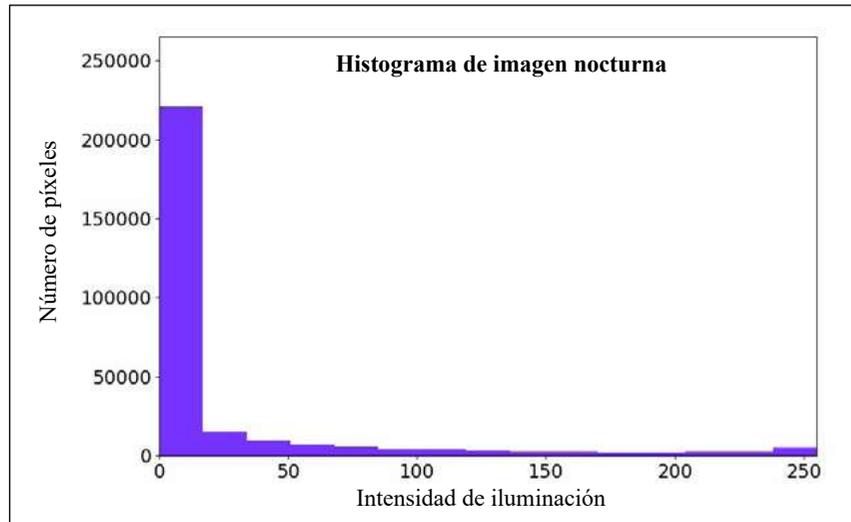


Figura 6. Distribución de los distintos tonos. En el eje vertical está la cantidad de píxeles en la imagen nocturna (265.194), y en el eje horizontal, los valores de luminosidad con los tonos negros a la izquierda del eje horizontal y los blancos al lado derecho. Aquí los tonos oscuros superan a los claros. Con base en este histograma se clasifican los píxeles según la intensidad de la iluminación (**Tabla 1**).

Tabla 1. Clasificación de píxeles según la intensidad de la iluminación

Intensidad de iluminación	Niveles
[0-51]	Mínima
[51-102]	Baja
[102-153]	Media
[153-204]	Moderada
[204-255]	Fuerte
[255]	Extrema

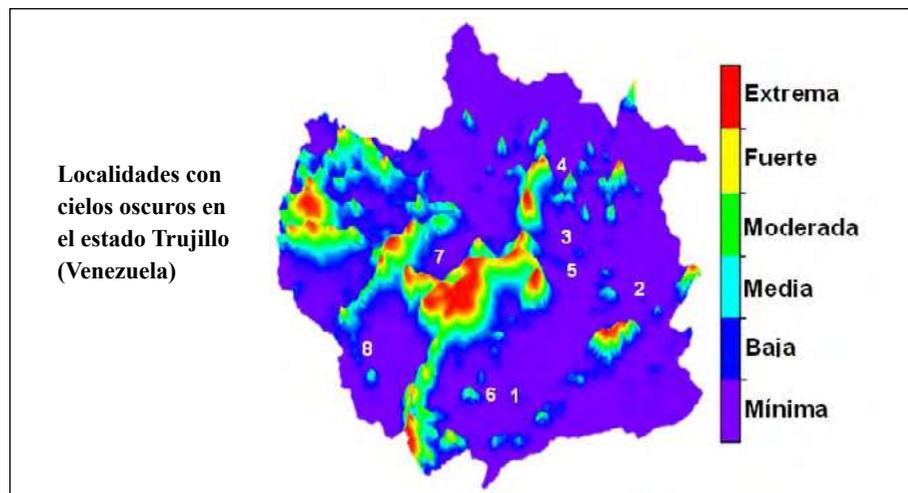


Figura 7. El color rojo en la imagen corresponde a las áreas con mayor concentración de luminarias, así que los observadores deben desplazarse hasta las áreas donde esta es mínima. Estas áreas se localizaron utilizando los resultados del procesamiento realizado con el algoritmo de Photutils.

Tabla 2. Áreas con cielos oscuros en el estado Trujillo (Venezuela)

Localidades	Coordenadas centrales	Habitantes
1. Cabimbú	9° 10' 29"N, 70° 29' 39"O	2.837
2. San Miguel	9° 22' 04"N, 70° 14' 21"O	3.515
3. Santa Ana	9° 27' 56"N, 70° 20' 11"O	7.593
4. Silos de Monay	9° 37' 23"N, 70° 26' 01"O	4.171
5. Mocoy	9° 23' 12"N, 70° 24' 37"O	4.143
6. La Quebrada	9° 09' 14"N, 70° 34' 40"O	6.952
7. Sabana de Mendoza	9° 26' 09"N, 70° 46' 28"O	9.525
8. Monte Carmelo	9° 11' 17"N, 70° 48' 45"O	6.002

En la **tabla 2** se ve que las áreas seleccionadas para la observación astronómica están pobladas. Aunque la imagen nocturna permite ubicar las fuentes de luz instaladas por los humanos para alumbrar avenidas, el perímetro de fábricas y otros espacios, el número de habitantes no condiciona el número de luminarias, es decir, no existe una normativa que estipule la cantidad de luminarias por número de habitantes. Esto resulta relevante en el estudio por la posibilidad de encontrar cielos oscuros en zonas pobladas.

Un ejemplo particular de esto es el caso del Observatorio Astronómico Nacional, localizado en el estado Mérida, parroquia La Toma, que según el Censo nacional de población y vivienda (2011) tiene una población de 2.208 habitantes, pero es un sitio adecuado para la observación astronómica. En otras palabras, las observaciones astronómicas son viables en zonas pobladas siempre que la concentración y disposición de las luminarias permitan conservar la calidad del cielo nocturno.

Los resultados obtenidos con los métodos utilizados en el estudio evidencian la contaminación lumínica como un problema real. No obstante, cabe señalar que el procesamiento de las imágenes nocturnas tiene limitaciones porque solo se puede determinar la distribución de las luminarias más no la dispersión de la luz en la atmósfera, lo que sí se observa en el mapa lumínico modelado por **Cinzano, et al.** (2001). A pesar de esta limitación, el procesamiento empleado constituye una herramienta valorativa para generar conciencia entre los aficionados y profesionales de la astronomía sobre el problema de la contaminación lumínica en países latinoamericanos.

Conclusiones

En este estudio se comprobó que el procesamiento digital de la imagen satelital nocturna con el lenguaje de programación Python constituye una herramienta para determinar las áreas con menor y mayor concentración de luminarias. Por otro lado, se logró realizar la convolución discreta, con el fin de reducir el ruido en la imagen y clasificar así los niveles de intensidad luminosa, así como ubicar las localidades con cielos oscuros en el estado Trujillo (Venezuela).

Se concluyó que en las siguientes localidades existe la mayor concentración de luminarias (cielos degradados): Trujillo, Pampanito, San Rafael de Carvajal, Valera, Sabana grande El Dividive, La ceiba, Candelaria, Monay, Boconó, La Mesa de Esnujaque, La platera y Campo Elías.

El algoritmo de Photutils y la convolución discreta pueden implementarse en futuros proyectos de instalación de observatorios, ya que se podrán determinar las áreas con menor y mayor concentración de luminarias, lo que es importante, pues antes de contar con las imágenes nocturnas era necesario invertir recursos humanos y económicos en expediciones que recorrieran la superficie terrestre en busca de cielos oscuros. Con el procesamiento de imágenes hoy es posible ubicar a distancia las áreas idóneas para la observación y determinar con precisión las posibles localidades que se visitarán para hacer los estudios requeridos en el momento de instalar observatorios especializados en astrofísica.

Por último, la contaminación lumínica en el estado Trujillo (Venezuela) se debe principalmente a que, por su disposición, las luminarias alumbran el cielo y no la superficie terrestre, lo que degrada el cielo nocturno, y constituye un derroche energético y una intrusión en hábitats naturales, entre otros. Por ello, es necesario continuar haciendo este tipo de estudios para alertar sobre las consecuencias de la contaminación lumínica y proponer normas orientadas a la preservación del cielo nocturno.

Agradecimientos

Al Consejo de desarrollo científico, humanístico, tecnológico y de las artes, por el financiamiento otorgado para desarrollar el proyecto identificado con el código NURR-H-572-15-04-B.

Conflicto de intereses

La autora declara que no tiene conflicto de intereses.

Referencias

- Albornoz, J. & Morales, A.** (2010). Aplicación de secuencias de filtros de imágenes enfocados a la resolución de laberintos con robots Lego Mindstorms. Trabajo de grado, 1-88. Ingeniería de ejecución en informática. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. http://opac.pucv.cl/pucv_txt/txt-1500/UCF1511_01.pdf
- Álvarez, Y., Barbará, E., Rodríguez, O.** (2010). Filtrado digital en el procesamiento de imágenes empleando Matlab. Convención científica de ingeniería y arquitectura, 1-9. La Habana. Fecha de consulta: 15 de enero, 2018. https://www.researchgate.net/publication/308787583_filtrado_digital_en_el_procesamiento_de_imagenes_empleando_MATLAB
- Bradley, L., Sip, B., Robitaille, T., Tollerud, E., Deil, C., Barbary, K., Moritz, H., Cara, M., Busko, I., Conseil, S., Droettboom, M., Bostroem, A., Bray, E., Andersen, L., Wilson, T., Craig, M., Barentsen, G., Pascual, S., Donath, A., Greco, J., Perren, G., Lim, P. Kerzendorf, W.** (2019). Paquete de Astropy para detección y fotometría de fuentes astronómicas. <https://photutils.readthedocs.io/en/stable/index.html#getting-started>
- Carlowicz, M.** (2012). Out of the Blue and Into the Black. Fecha de consulta: 15 de enero, 2018. Disponible en: <http://earthobservatory.nasa.gov/Features/IntotheBlack/>
- Censo nacional de población y vivienda.** (2011). Trujillo. Fecha de consulta: 14 de mayo, 2020. Disponible en: www.ine.gov.ve/documentos/Demografia/CensodePoblacionyVivienda/pdf/trujillo.pdf
- Censo nacional de población y vivienda.** (2011). Mérida. Fecha de consulta: 14 de mayo, 2020. Disponible en: <http://www.ine.gov.ve/documentos/Demografia/CensodePoblacionyVivienda/pdf/merida.pdf>
- Cinzano, P. Falchi, F., Elvidg, C.** (2001). El primer Atlas Mundial del brillo artificial del cielo nocturno. Fecha de consulta: 15 de enero, 2018. Disponible en: http://www.mma.gob.cl/1304/articles-52016_Capitulo_10.pdf
- Fundación StarLight La Palma.** (2007). Declaración sobre la defensa del cielo nocturno y el derecho a la luz de las estrellas. Fecha de consulta: 15 de enero, 2018. Disponible en: https://fundacionstarlight.org/es/cmsAdmin/uploads/o_1cgtplm31cfe1olgv4nl811iosa.pdf
- Della, F.** (2009). Contaminación lumínica. Fecha de consulta: 15 de enero, 2018. Disponible en: http://www.cida.gob.ve/cida_home/images/stories/imgCida/astrologia_al_alcance/diario_picobolivar/pdf/articulo29_06_09.pdf
- Domínguez, A.** (1996). Procesamiento digital de imágenes. Perfiles Educativos. 72: 1-11. <https://www.redalyc.org/pdf/132/13207206.pdf>
- Esqueda, J. & Palafox, L.** (2005). Fundamentos de procesamiento de imágenes. México: Universidad Autónoma de Baja California. p. 28-29.
- Forero, M. & Arias, E.** (2001). Estudio del Efecto de las Máscaras de Convolución en Imágenes Mediante el Uso de la Transformada de Fourier. Revista Ingeniería e Investigación. 48: 46-51. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/ingevn/article/view/21357/22316>
- Giral, D. Romero, R., Martínez, F.** (2014). Procesamiento paralelo en FPGA para convolución de imágenes usando Matlab. Tecnura. 19: 1-20. <http://www.scielo.org.co/pdf/tecn/v19n43/v19n43a10.pdf>
- Gómez, F. Sanhuesa, P., Díaz, J.** (2010). Guía práctica de iluminación de exteriores. Oficina de

- protección de la calidad del cielo del norte de Chile 1-22. Fecha de consulta: ¿? Disponible en: <http://opcc.cl/guia-practica-de-iluminacion-de-exterioros/>
- González, R. & Woods, R.** (2002). *Digital Image Processing*. United States of America: Prentice-Hall. p. 1-205.
- Gutiérrez, L. Calvo, A., Quintero, E.** (2013). Caracterización del Ruido Presente en las Imágenes Astronómicas del Observatorio de la Universidad Tecnológica de Pereira. *Scientia et Technica*. **18**: 575-582. Disponible en: <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/8663/5551>
- Instituto Nacional de Estadística (INE).** (2013). Trujillo. Fecha de consulta: 12 de mayo, 2020. Disponible en: <http://www.ine.gov.ve/documentos/see/sintesisestadistica2013/estados/trujillo/documentos/SituacionFisica.htm>
- NASA Worldview.** (2019). Imagen satelital nocturna del Planeta Tierra y estado Trujillo, Venezuela. Earth at Night. Fecha de consulta: 12 de septiembre, 2019. Disponible en: https://earthdata.nasa.gov/labs/worldview/?map=24.484375,14.05078125,50.75,62.14453125&products=baselayers.VIIRS_CityLights_2012~overlays.sedac_bound&switch=geographic
- NASA Worldview.** (2019). Imagen Nocturna. Fecha de consulta: 19 de septiembre de 2019. Disponible en: <https://worldview.earthdata.nasa.gov>
- Pañi, W. & Lojano, M.** (2011). Mapa lumínico del área urbana de la ciudad de cuenca. Fecha de consulta: 20 de marzo, 2018. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/682/1/te315.pdf>
- Patiño, J.** (2015). Movimientos ambientalistas en Mucuchies, municipio Rangel del estado Mérida – Venezuela (1991 – 1999). Trabajo de grado. Magister Scientiae en estudios sociales y culturales, Universidad de Los Andes. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/45785/tesisfinalcompleta5.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodríguez, M.** (2009). La ley catalana de ordenación ambiental del alumbrado para la protección del medio nocturno. Fecha de consulta: 5 de febrero, 2019. Disponible en: www10.gencat.net/eapc_revistadret/revistes/revista.2007.../adjunt
- Stefanov, W.** (2020). All clear on the western front. Fecha de consulta: 19 de marzo, 2014. Disponible en: <https://earthobservatory.nasa.gov/images/147094/all-clear-on-the-western-front>
- Stetson, P.** (1987). Daophot: a computer program for crowded-field stellar photometry. *Publications of the Astronomical Society of the Pacific*. **99**: 191-222. <https://iopscience.iop.org/article/10.1086/131977/pdf>
- Stock, J.** (1981). Astronomía en Venezuela. *Revista Mexicana de Astronomía y Astrofísica*. **6**: 13-16. <http://adsabs.harvard.edu/full/1981RMxAA...6...13S>
- Taquía, J.** (2017). El procesamiento de imágenes y su potencial aplicación en empresas con estrategia digital. *Interfases*. **10**: 11-20. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6230450.pdf>

Artículo original

Nueva propuesta de edades para el registro sedimentario de las formaciones Bocas y Jordán y su relación con el desarrollo de la actividad magmática del Grupo Plutónico de Santander (Cordillera Oriental, Colombia)

A new proposal on ages of the sedimentary record of Bocas and Jordan formations and their relationship with the development of the magmatic activity of the Santander Plutonic Group (Eastern Cordillera, Colombia)

✉ Carlos M. Alarcón*, ✉ Jairo Clavijo-Torres, ✉ Luis C. Mantilla-Figueroa,
✉ Juan Guillermo Rodríguez

Escuela de Geología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia

Resumen

Los estudios del registro geológico del Jurásico en los Andes Septentrionales de Colombia apuntan a que en este lapso se desarrolló de forma simultánea la actividad magmática, el metamorfismo y la sedimentación en este sector de la corteza. En el Macizo de Santander (Cordillera Oriental de Colombia) han quedado registrados vestigios de esta actividad magmática cuyos remanentes actuales se reconocen en mayor medida por la presencia de cuerpos ígneos plutónicos (Grupo Plutónico de Santander). Los nuevos estudios paleontológicos en lodolitas de la Formación Bocas han permitido la identificación preliminar de las especies de conchostracos *Shipingia hebaozhaiensis*, *Euestheria buravasi* y *Laxitextella multireticulata* de una edad correspondiente al Triásico Tardío. La geocronología U/Pb en circones ígneos de una ignimbrita y una toba riolítica de la Formación Jordán indica edades de acumulación de $199,37 \pm 0,34$ Ma y $198,49 \pm 0,33$ Ma, lo que posibilita asignar su edad al Jurásico Temprano. Estos nuevos resultados sugieren que los registros de la actividad volcánica en la Formación Jordán son coetáneos con el desarrollo y la génesis del Grupo Plutónico de Santander (de edad ~202-195 Ma).

Palabras claves: Andes del norte; Macizo de Santander; Formación Jordán; Formación Bocas; Grupo Plutónico de Santander.

Abstract

The geological information of the Jurassic record in the Northern Andes of Colombia indicates that during this time, magmatic activity, metamorphism, and sedimentation developed simultaneously. In the Santander Massif (Eastern Cordillera of Colombia), vestiges of this magmatic activity can be recognized by the presence of igneous plutonic bodies (Santander Plutonic Group). New paleontological studies in rocks from the sedimentary record of the Bocas Formation allowed for preliminary identification of conchostracans species: *Shipingia hebaozhaiensis*, *Euestheria buravasi*, and *Laxitextella multireticulata* of the Late Triassic age. U/Pb geochronology in ignimbrite and rhyolitic tuff of the Jordan Formation yielded ages of 199.37 ± 0.34 Ma and 198.49 ± 0.33 Ma defining an Early Jurassic age for this unit. These results indicate that the lithological record of volcanic origin within the Jordan Formation is contemporary with the development and genesis of the Santander Plutonic Group (age ~ 202-195 Ma).

Keywords: Northern Andes; Santander Massif; Jordan Formation; Bocas Formation; Santander Plutonic Group.

Citación: Alarcón CM, Clavijo-Torres J, Mantilla-Figueroa LC, Rodríguez JG. Nueva propuesta de edades para el registro sedimentario de las formaciones Bocas y Jordán y su relación con el desarrollo de la actividad magmática del Grupo Plutónico de Santander (cordillera Oriental, Colombia). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1137-1151, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1208>

Editor: Germán Alonso Bayona Chaparro

***Correspondencia:**

Carlos M. Alarcón;
cmag_1996@hotmail.com

Recibido: 10 de mayo de 2020

Aceptado: 20 de julio de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

El registro de los eventos geológicos del Triásico Tardío-Jurásico Temprano en el sistema orogénico de los Andes Septentrionales permite suponer una historia compleja en un escenario con desarrollo principalmente de plutonismo, actividad volcánica y sedimentación (Bayona, *et al.*, 2020). Varios modelos de desarrollo espacio-temporal del magmatismo y la sedimentación se han propuesto: 1) la formación de fisuras intracontinentales como resultado de un tectonismo extensivo que estuvo acompañado, a su vez, por actividad magmática (Mojica & Kammer, 1995; Cediél, *et al.*, 2003); 2) la migración lateral de arcos magmáticos generados en una zona de subducción (Cochrane, *et al.*, 2014; Spikings, *et al.*, 2015; Bustamante, *et al.*, 2017; Rodríguez, *et al.*, 2018); 3) la generación de arcos magmáticos y su posterior desplazamiento a lo largo de la margen occidental de Gondwana (Bayona, *et al.*, 2006; Bayona, *et al.*, 2010; Toussaint, 1995), o la acreción de arcos magmáticos marginales (Rodríguez, *et al.*, 2018). Uno de los retos actuales es la reconstrucción de la historia geológica del Jurásico en los Andes del norte, no solo desde el punto de vista geoquímico y geocronológico de las rocas plutónicas y volcánicas, sino porque deben entenderse de forma integral las relaciones del magmatismo con la formación de cuencas y la acumulación de sucesiones sedimentarias. Como lo sugieren Bayona, *et al.* (2020), es importante reanudar los estudios paleontológicos y geocronológicos de los registros sedimentarios para mejorar su temporalidad, aunque sin dejar de lado las interpretaciones sedimentológicas de los ambientes de depósito.

Durante finales del Triásico Tardío e inicios del Jurásico Temprano en el Macizo de Santander se registró un evento magmático representado por rocas plutónicas (mayoritariamente localizadas al este de la falla de Bucaramanga) denominadas Grupo Plutónico de Santander (Ward, *et al.*, 1973). También hay registros sedimentarios interestratificados minoritariamente con rocas volcánicas y volcanoclásticas que representan la Formación Bocas (relacionada con el Pérmico y el Jurásico Temprano) y la Formación Jordán (relacionada con el Jurásico Temprano-Medio). Hoy sigue siendo tema de debate la temporalidad de estas dos unidades debido a la falta de datos geocronológicos y paleontológicos.

El objetivo de este trabajo fue hacer una síntesis y avanzar en el conocimiento de las formaciones Bocas y Jordán mediante un análisis bioestratigráfico y de geocronología U/Pb en circones de rocas volcánicas, con el fin de establecer la temporalidad tanto de las unidades como de sus registros de actividad volcánica.

Contexto geológico

Las rocas ígneas, metamórficas y sedimentarias de edad situada en el Jurásico en los Andes del norte se encuentran expuestas en una franja de dirección NO-SE que se extiende desde Ecuador y Colombia hasta los límites con Venezuela (Mojica & Kammer, 1995; Spikings, *et al.*, 2015; Bayona, *et al.*, 2020). En los Andes colombianos las rocas ígneas plutónicas del Jurásico Inferior se dividen en dos cinturones subparalelos: el primero, ubicado en el Macizo de Santander, con edades comprendidas entre los 202 y 195 Ma (Mantilla, *et al.*, 2013; Van der Lelij, 2016); el segundo, desarrollado sobre la Cordillera Central, la Serranía de San Lucas y la Sierra Nevada de Santa Marta, donde se estableció entre los 194 y 180 Ma (Leal-Mejía, 2011; Quandt, *et al.*, 2018; Leal-Mejía, *et al.*, 2019; Shaw, *et al.*, 2019). Los resultados de los datos geoquímicos de los intrusivos en los dos cinturones indican que hacían parte de arcos magmáticos relacionados con la subducción de la placa oceánica protopacífica debajo de la margen occidental de Gondwana (Sillitoe, *et al.*, 1982; Aspden, *et al.*, 1987; Dörr, *et al.*, 1995; Van der Lelij, 2016; Spikings, *et al.*, 2015; Zuluaga & López, 2019).

Como evidencia adicional del magmatismo del Jurásico Temprano, se encuentran espesas sucesiones de rocas volcánicas y volcanoclásticas de composiciones intermedias y félsicas interestratificadas con rocas sedimentarias, que han quedado registradas en unidades del Valle Superior del Magdalena (Formación Saldaña) (Bayona, *et al.*, 1994; Mojica, *et al.*, 1996; Rodríguez, *et al.*, 2016), del Valle Medio del Magdalena (Formación

Noreán) (**Clavijo, et al., 2008; Correa, et al., 2019**), la Serranía de San Lucas (Formación Noreán) (**Clavijo, et al., 2008; Leal-Mejía, 2011**), la Serranía de Perijá (Formación La Quinta) (**Maze, 1984**), las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta (Formación Guatapurí) (**Tschanz, et al., 1974; Quandt, et al., 2018**) y la península de la Guajira (Riodacita de Ipapure-Cerro La Teta) (**Zuluaga, et al., 2015**). Todas las unidades referenciadas comprenden edades entre 194 y 173 Ma.

Las rocas volcánicas del Jurásico Temprano están asociadas principalmente con unidades de ambientes continentales que se acumularon en cuencas extensionales (**Mojica, et al., 1996; Sarmiento-Rojas, et al., 2006**), aunque es posible que el registro sedimentario se haya iniciado a finales del Triásico, en depresiones tectónicas desarrolladas localmente (**Mojica & Kammer, 1995**).

En nuevas investigaciones se ha determinado la presencia de metabasitas y metapelitas de edad Jurásica dentro del Complejo Cajamarca en la Cordillera Central colombiana como resultado de un metamorfismo y deformación relacionada con la colisión de un terreno (**Blanco-Quintero, et al., 2014**) y en una reciente publicación, **Zuluaga & López (2019)** mencionan el desarrollo de un evento metamórfico regional de baja presión en el Macizo de Santander.

Geología del macizo de Santander

El Macizo de Santander forma el margen suroeste del bloque de Maracaibo y es la continuación norte de la Cordillera Oriental de Colombia (**Cediel & Cáceres, 2000; Van der Lelij, 2016; Velandia, et al., 2020**) donde esta se divide en dos para formar los Andes de Mérida en Venezuela y, al noreste, la Serranía de Perijá. Se han diferenciado tres unidades metamórficas del basamento cristalino del Macizo de Santander en la Cordillera Oriental colombiana, el Neis de Bucaramanga, los Esquistos del Silgará y el Ortoneis, las cuales registran los principales eventos de metamorfismo regional que han afectado a este sector de los Andes Septentrionales, y que están relacionadas con las orogenias Grenvilliana y Famatiniana (localmente orogenia Quetame-Caparonensis), respectivamente (**Cordani, et al., 2005; Restrepo-Pace & Cediel, 2010; Mantilla, et al., 2013; Mantilla-Figueroa, et al., 2016a**). Este basamento metamórfico es intruido por granitoides Silúricos (Granito de Durania) y los grandes batolitos del Grupo Plutónico de Santander (**Material suplementario, figura 1S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1208/2925>**), que presentan un rango temporal desde el Triásico Tardío hasta el Jurásico Temprano (**Goldsmith, et al., 1971; Ward, et al., 1973; Dörr, et al., 1995; Van der Lelij, 2016; Mantilla, et al., 2013; Zuluaga & López, 2019; Rodríguez, et al., 2020**).

El registro sedimentario del Triásico Tardío-Jurásico Temprano en la estribación occidental del Macizo de Santander está representado por las formaciones Bocas y Jordán, las cuales representan un registro continuo de sedimentación continental lacustre con desarrollo de actividad volcánica sinsedimentaria (**Alarcón & Rodríguez, 2019**).

La propuesta más reciente sobre la edad de la Formación Bocas es planteada por **Van der Lelij (2016)** como Pérmica con base en una datación U/Pb en un dique riolítico (250,7±4,3 Ma) que corta la unidad al SO del municipio El Playón y el reporte de plantas del género *Glossopteris* sp. por **Mojica, et al. (1996)**. Previamente se había asignado una edad Triásica a la Formación Bocas en su localidad tipo por **Ward, et al. (1973)** basada en las morfologías de ostrácodos y del Jurásico Temprano (**Remy, et al., 1975**), que se sustenta en fósiles de helechos de la especie *Phlebopteris branneri* y restos polínicos del género *Classopollis* sp.

La Formación Bocas presenta vestigios de actividad volcánica hacia el norte de Bucaramanga, donde se han reportado capas de tobas y flujos de basalto, así como en su localidad tipo, donde se han distinguido capas epiclásticas constituidas por fragmentos de basaltos, riolitas y tobas riolíticas (**Rabe, 1977**).

Para la Formación Jordán se han propuesto diferentes edades basadas en su posición estratigráfica en el Jurásico Temprano (**Ward, et al., 1973**), el Jurásico Temprano-Medio (**Royero & Clavijo, 2001**) y el Jurásico Medio (**Rabe, 1977; Bayona, et al., 2006**), lo que

se explica porque nunca se han realizado dataciones radiométricas ni se han encontrado fósiles guía dentro de la unidad, con excepción de trazas fósiles características de ambientes continentales y lacustres (Alarcón & Rodríguez, 2019) que solo han aportado a su interpretación ambiental.

Diversos autores han reportado la presencia de rocas volcánicas dentro de la Formación Jordán, hacia la zona sur de la Mesa de Los Santos, las cuales se caracterizan por tobos de composición félsica de poca continuidad lateral interestratificadas con lodolitas y areniscas rojizas (Dickey, 1941; Langenheim, 1959; Téllez, 1964; Cediel, 1968; Suárez & Díaz, 2016; Alarcón & Rodríguez, 2019). Ayala-Calvo, *et al.* (2005) han reportado basaltos con amígdalas en la base de la Formación Jordán al sur del municipio de Rionegro.

Las formaciones Bocas y Jordán se encuentran en discontinuidad estratigráfica con la suprayacente Formación Girón, de edad en el Jurásico Tardío (Rabe, 1977; Horton, *et al.*, 2015) y en el Jurásico Tardío a Cretácico Temprano (Pons, 1982), que se caracteriza por un potente espesor (± 3000 m) de areniscas, capas sedimentarias tojas, areniscas conglomeráticas y conglomerados. La Formación Girón infrayace en continuidad estratigráfica a la Formación Los Santos (Laverde & Clavijo, 1985; Etayo-Serna, 1989) de edad Berriasiana (Etayo-Serna & Rodríguez, 1985).

Métodos analíticos

Geocronología U/Pb en circones

Las dataciones se realizaron en el laboratorio del *Department of Geology, Washington State University*, en Pullman, Washington, utilizando un espectrómetro de masas con multicolectores y acoplamiento de plasma inducido (MC-ICP-MS), que a su vez está acoplado a un sistema de ablación láser. Todo el sistema mencionado se referencia en la literatura especializada mediante las siglas LA-MC-ICPMS (*laser ablation multicollector inductively coupled plasma mass spectrometry*). Los cristales analizados se seleccionaron de forma aleatoria de todos los circones extraídos en cada una de las dataciones. Para la ablación de los circones (previamente recolectados mediante la molienda de la roca y su concentración), se utilizó un láser que opera a una longitud de onda de 193 nm. El material obtenido de la ablación fue transportado con gas helio a la fuente de plasma. El espectrómetro, configurado para analizar simultáneamente los isótopos de U, Th, y Pb, toma las medidas en modo estático usando detectores Faraday para ^{238}U y ^{232}Th , un canal para conteo de iones de ^{204}Pb , y colectores Faraday para ^{208}Pb . El punto donde se realiza la ablación tiene una profundidad de ~ 15 micrones y un diámetro de ~ 35 micrones. En cada análisis los errores en la determinación de las relaciones $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ y $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ producen una incertidumbre en la medida de $\sim 1\%$ (2-sigma). Los detalles de la metodología de todo el proceso analítico usado para datar los circones se reportan en el estudio de Chang, *et al.* (2006). En cuanto a los estándares de laboratorio, se usaron muestras de circones conocidas y previamente datadas con otros métodos como las de: 1) Peixe (circones de Brasil con una edad de 564 ± 4 Ma); 2) Temora (circones de Australia con edades SHRIMP de $416,8 \pm 1,8$ Ma); 3) 91500 (circones de Canadá con edades $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ y $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ de $1065,4 \pm 0,3$ Ma); 4) AS57 (circones de Estados Unidos con edades ID-TIMS de 1099 ± 3 Ma), y 5) MCC12-515E (circones de Estados Unidos con edades 1779 ± 4 Ma). Una descripción más detallada de las características de la instrumentación utilizada y los procesos de análisis y medición puede consultarse en los estudios de Gehrels, *et al.* (2006, 2008). Las constantes de desintegración utilizadas fueron las reportadas en Steiger & Jäger (1977), y para la corrección de ^{204}Pb se usó el modelo de Stacey & Kramers (1975). El procesamiento y análisis de datos geocronológicos se hizo mediante el programa IsoplotR (Vermeesch, 2018) e Isoplot 3.0 (Ludwig, 2003). No se consideraron en la interpretación de la edad los resultados de circones con discordancias mayores al 10 %, ya que estos se califican como circones con pérdidas de plomo en su estructura cristalina.

Bioestratigrafía

Los fósiles de conchostracos de la Formación Bocas fueron identificados con ayuda de fotografías estereomicroscópicas e imágenes de SEM (*Scanning Electron Microscope*) por el doctor Oscar Gallego, investigador del CONICET (Gallego, *et al.*, 2019). Se recolectaron aproximadamente 80 especímenes de conchostracos en niveles de lodolitas carbonosas del conjunto inferior de la Formación Bocas (ver la sección de “Estratigrafía física y relaciones de campo de la Formación Bocas”) en su localidad tipo, con el fin de identificar taxonómicamente las especies o géneros presentes. Para la determinación de los rangos bioestratigráficos se utilizó la biozonación de Kozur & Weems (2010).

Análisis petrográfico

En el estudio se incluye una breve descripción petrográfica de las tobas en la localidad tipo de la Formación Jordán, clasificados según el diagrama de Schmid (1981). Se presenta, además, una descripción petrográfica de un basalto ubicado entre el tope y la base de las formaciones Bocas y Jordán sobre la vía Bucaramanga-Rionegro. El objetivo fue conocer las características texturales y composicionales de las distintas rocas de origen volcánico en estas unidades (Material suplementario, tabla 1S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1208/2925>). Se contó un mínimo de 200 puntos distribuidos en toda la sección delgada.

Resultados

A continuación, se describe la estratigrafía, las características litológicas y la información petrográfica de las formaciones Bocas y Jordán y se reportan nuevos datos bioestratigráficos y de geocronología U/Pb en circones para la determinación de sus edades de sedimentación.

Estratigrafía física y relaciones de campo

Formación Bocas. En el área de su sección tipo, a lo largo de la carretera norte de Bucaramanga (Ward, *et al.*, 1973), el conjunto inferior esta unidad, de aproximadamente 580 m de espesor, se caracteriza por una sucesión de lodolitas oscuras y areniscas gris verdosas, algunas ligeramente calcáreas, que se interestratifican hacia la parte media con capas de lodolitas carbonosas y un nivel de calizas de color gris oscuro. El conjunto superior, de aproximadamente 200 m, se diferencia del conjunto basal por tamaños de grano generalmente más gruesos y colores más claros. Se caracteriza por areniscas de grano fino y muy fino gris verdosas, feldespáticas, ligeramente calcáreas alternadas con limolitas ligeramente calcáreas y, esporádicamente, con horizontes conglomeráticos calcáreos. La Formación Bocas yace en discontinuidad estratigráfica sobre las calizas Pérmicas de la Formación Diamante en el sitio denominado Puente Tierra, y se encuentra en contacto concordante con la suprayacente Formación Jordán al sur del corregimiento de Bocas. Es común encontrar fósiles de conchostracos y ostrácodos en los niveles de limolitas y lodolitas de color oscuro del conjunto inferior, así como restos de plantas carbonizadas (helechos), algunas con buena preservación.

Rocas volcánicas en el tope de la Formación Bocas y la base de la Formación Jordán en el sector de Rionegro. Sobre la vía principal que conduce de Bucaramanga a Rionegro se pueden observar escasos flujos de lava de composición máfica que se interestratifican en el conjunto superior de la Formación Bocas y en la base de la Formación Jordán. Se trata de flujos de basaltos con textura amigdalar, algunos de los cuales muestran evidencias de mezcla con el sedimento (peperitas). Los flujos son más frecuentes en la parte superior de la Formación Bocas, pero el cuerpo de mayor dimensión se encuentra entre el tope y la base de las formaciones Bocas y Jordán, donde se pueden observar en una zona de estructuras circulares semejantes a lavas almohadilladas (Moore, 1965). En el afloramiento las rocas almohadilladas tienen formas entre elípticas y subredondeadas, con diámetros medios de 20 a 30 cm, y exhiben una textura porfirítica y amigdalar en muestra de mano, en tanto que en la sección delgada presentan una textura porfirítica e intergranular, definida por microfenocristales de plagioclasa (Figura 1 E-F). En los intersticios de las plagioclasas se

observan relictos de cristales de clinopiroxenos cloritizados, epidotas, opacos y vidrio. Las amígdalas tienen un tamaño promedio de 3 a 5 mm y son entre redondeadas y ovaladas, y están rellenas principalmente por epidotas, zeolitas y carbonatos.

Formación Jordán. En su sección tipo, ubicada en el escarpe sur de la Mesa de los Santos (Cediel, 1968), la Formación Jordán tiene un espesor aproximado de 500 m (Suárez & Díaz, 2016) que consiste en intercalaciones monótonas de limolitas, areniscas de grano fino y muy fino de color marrón rojizo y, en menor proporción, rocas volcanoclásticas.

El material piroclástico corresponde a tobas de composición riolítica clasificadas como líticas, de cristales y vítreas (**Material suplementario, tabla 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1208/2925>). Las tobas tienen una textura fragmental con cantidades variables de fragmentos de cristales y de líticos (**Figura 1 A-B**). La matriz varía de vítrea a criptocristalina por desvitrificación. Es posible observar una textura de flujo en la matriz, a veces con presencia de fiames que marcan una textura eutaxítica característica de las ignimbritas (**Figura 1 C-D**). Los fragmentos de cristales juveniles son principalmente de feldespato potásico, plagioclasa, cuarzo y, en menor proporción, de moscovita, biotita y opacos (magnetita). Los fragmentos de líticos juveniles corresponden a rocas volcánicas félsicas (riolitas y tobas riolíticas) y, de manera subordinada, a líticos accidentales metamórficos de esquistos moscovíticos y cuarcitas foliadas; estos fragmentos metamórficos son similares a las litologías presentes en la unidad Esquistos del Silgará.

Este componente volcánico explosivo félsico dentro de la unidad se encuentra restringido y su distribución en el área es relativamente pequeña, concentrándose principalmente en su localidad tipo y en zonas adyacentes a la Mesa de Los Santos. Hacia el norte de Bucaramanga, en los afloramientos del valle del Río de Oro y sobre la vía al municipio de Matanza, las rocas volcánicas primarias desaparecen y solo se observan algunas facies epiclásticas. La Formación Jordán se encuentra en continuidad estratigráfica con la infrayacente Formación Bocas y en discordancia con la Formación Girón, sobre el valle del Río de Oro. Hacia el cañón de los ríos Chicamocha y Sogamoso, se observa en su contacto con la suprayacente Formación Los Santos una discordancia angular que varía entre 10° y 30° (Alarcón & Rodríguez, 2019).

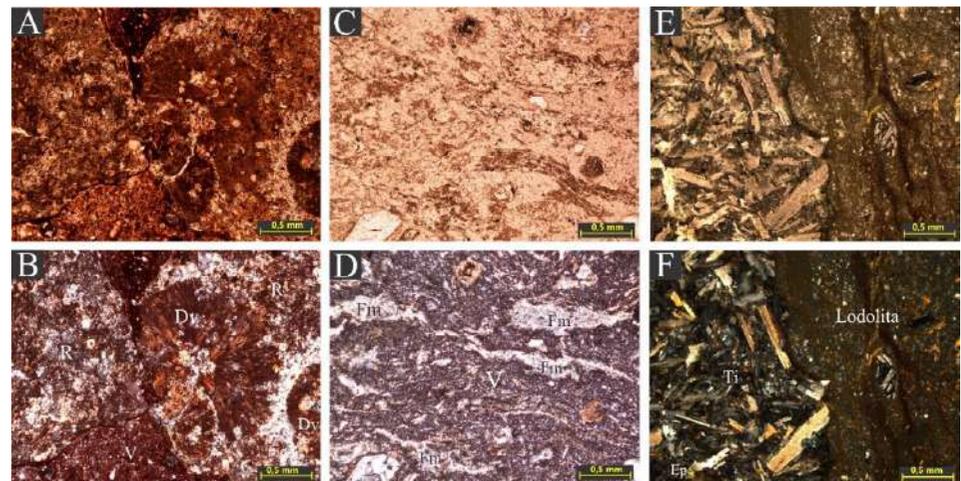


Figura 1. Microfotografías de secciones delgadas en nicols paralelos y cruzados de rocas volcánicas de las formaciones Bocas y Jordán. Dv: desvitrificación; V: matriz vítrea; Fm: fiame; R: Lítico riolítico; Ep: epidota; Ti: textura intergranular en basalto. (**A-B**) Líticos de riolita con alteración esferulítica en toba de la Formación Jordán, muestra CRJ-01-01. (**C-D**) Fiames de ignimbrita riolítica de la Formación Jordán, muestra CRJ-05-01. (**E-F**) Basalto con textura intergranular entre el contacto de las formaciones Bocas y Jordán sobre la vía a Rionegro; se puede apreciar la mezcla con rocas sedimentarias (muestra FBJ-01-01).

Bioestratigrafía en la Formación Bocas. Se recolectaron 80 especímenes de conchostracos en niveles de lodolitas carbonosas de la parte media, conjunto inferior, de la Formación Bocas (7°13'29,20"N 73°8'54,80"O). Los conchostracos tienen una larga trayectoria de aplicaciones en la bioestratigrafía, desde **Petzold & Lane** (1988) hasta los recientes trabajos de **Geyer & Kelber** (2018). En los ambientes continentales se hallan los artrópodos más comunes, que son los fósiles continentales con la mayor resolución temporal para el periodo Triásico. En algunos intervalos su resolución es tan alta como la de los ammonoideos y conodontos en ambientes marinos (**Kozur & Weems**, 2010).

Desde el punto de vista sistemático, esta asociación con los conchostracos de la Formación Bocas se determinó preliminarmente como compuesta de las especies *Laxitextella multireticulata* **Reible** (1962), cuyo biocrón abarca el Triásico Tardío desde el límite Ladiniano-Carniano al Carniano temprano (zona de *Laxitextella multireticulata* del Carniano temprano) (Cordevoliano) de las cuencas germánicas y norteamericanas (**Kozur & Weems**, 2010). También se registra una forma similar a *Wannerestheria* sp., que podría ser *W. pennsylvanica*, reportada para el Carniano tardío (¿Zona de *W. pennsylvanica* y zona de *Howellisaura? ovata*) del Supergrupo Newark (Estados Unidos) de **Kozur & Weems** (2010). También se estableció la presencia de *Euestheria? buravasi* **Kobayashi** (1975) (zona de *Palaeolimnadia schwanbergensis*) Noriano temprano y la zona de *Euestheria buravasi*–*Euestheria* n. sp. **Kozur & Weems** (2010), además de *Shipingia hebaozhaiensis* **Shen** (1976), a la que se le adjudica una edad del Noriano medio (zona de *Shipingia hebaozhaiensis*) (**Gallego, et al.**, 2019).

Según la asociación de conchostracos registrada, los biocrones y las biozonas donde se reportan y mencionan estas especies, la edad del conjunto inferior de la Formación Bocas representa el Triásico Tardío desde el Carniano al Noriano (**Figura 2**).

Geocronología U/Pb en tobas de la Formación Jordán. La particularidad de la Formación Jordán de presentar capas de tobas interestratificadas permite determinar la edad magmática a partir de dataciones radiométricas U/Pb en circones volcánicos. Las dos rocas

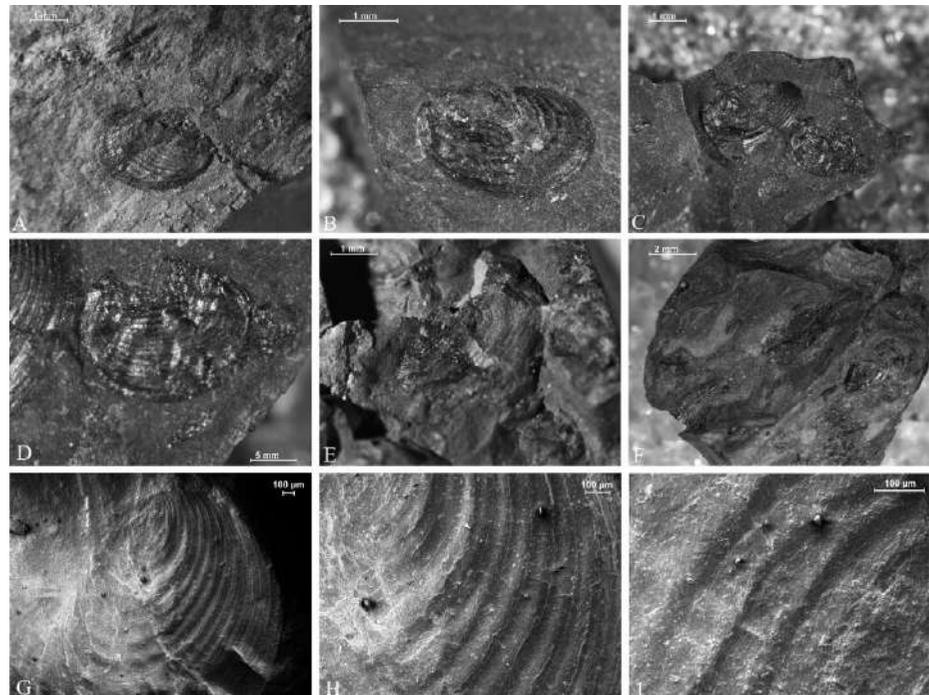


Figura 2. Fotografías estereomicroscópicas de conchostracos de la Formación Bocas. (A-B) *Shipingia hebaozhaiensis*. (C-D) *Euestheria buravasi*. (E-F) *Laxitextella multireticulata*. (G-H-I) Imágenes en SEM en las que se observa la textura de la conchilla y los detalles en las líneas de crecimiento.

datadas corresponden a una ignimbrita de composición félsica (CRJ-05-01) y una toba de caída (CRJ-03-01) (**Material suplementario. Tabla 1S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1208/2925>). Las rocas se encuentran ubicadas hacia la parte inferior-media de la Formación Jordán en su localidad tipo (**Alarcón & Rodríguez, 2019**).

En las dos muestras se analizó una gran cantidad de circones para identificar la edad magmática, así como posibles xenocristales o edades heredadas producto del material asimilado durante la génesis y el ascenso del magma (**Material suplementario. Tabla 2S**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1208/2925>). Los circones de las dos muestras presentan morfologías similares. Los circones son prismáticos, alargados, con bordes y puntas bien definidas, y algunas veces se encontraron cristales ligeramente más cortos. En menor cantidad también se observaron cristales redondeados, que son morfologías características de los circones detríticos heredados. Los análisis se hicieron en los núcleos y los bordes de los cristales.

Los circones seleccionados para la interpretación de la edad magmática tenían relaciones Th/U de entre 0,4 y 2,5, características de una procedencia magmática (**Rubatto, 2002**), así como morfologías prismáticas con bordes bien definidos. Los resultados de las muestras CRJ-05-01 y CRJ-03-01 se graficaron en el diagrama de concordia de Wetherill (las elipses de error son graficadas a $\pm 2\sigma$) y se calculó una edad media ponderada de $199,37 \pm 0,34$ Ma y $198,49 \pm 0,33$ Ma, respectivamente, interpretadas como la edad de la actividad magmática coetánea a la sedimentación de la formación Jordán (**Figura 3**).

Las poblaciones de edades del Paleozoico Inferior, Neoproterozoicas y Mesoproterozoicas, en las dos muestras datadas coinciden con las firmas de las edades reportadas para el basamento metamórfico del Macizo de Santander (**Cordani, et al., 2005; Van der Lelij, 2016; Mantilla-Figueroa, et al., 2016a; Mantilla-Figueroa, et al., 2016b**). Estas poblaciones se interpretan como circones heredados de estas unidades metamórficas (**Figura 3**).

Discusión

Edad de la Formación Bocas

Se destaca el trabajo bioestratigráfico realizado por **Remy, et al. (1975)** en la localidad tipo de la Formación Bocas, en el que se propone una edad correspondiente al Jurásico Temprano para la unidad con base en los fósiles de plantas de la especie *Phlebopteris branneri*

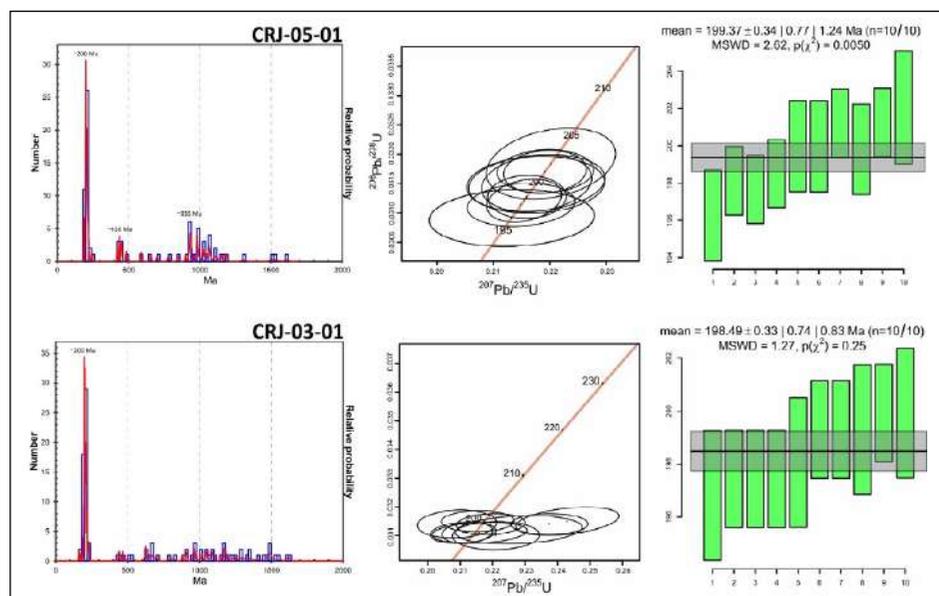


Figura 3. Histogramas de probabilidad relativa y edad media ponderada para las dataciones U/Pb en tobas de la Formación Jordán

y los restos de microflora del género *Classopollis* sp. En la actualidad, los rangos de edad para esta especie de planta y género de polen se han reinterpretado. *P. branneri* se reporta para el Triásico Tardío-Jurásico Temprano (Schweitzer, 1978; Vaez-Javadi, 2006; Weber, 2008), el Jurásico Temprano (Wesley, 1966), el Jurásico Medio (Hill & Van Konijnenburg-van Cittert, 1973) y el Jurásico Superior (Pons, 1982). El género *Classopollis* sp. se ha reportado desde el Triásico Tardío hasta el Turoniano (Taylor & Alvin, 1984; Kddo, 2018). La reinterpretación actual de los rangos bioestratigráficos evidencia que los taxones identificados no son lo suficientemente resolutivos para determinar una edad específica en la Formación Bocas.

Con base en los resultados obtenidos en las dataciones radiométricas de las rocas volcánicas de la Formación Jordán y la asociación de conchostracos determinada en el conjunto inferior, se propone una edad de Triásico Superior para la Formación Bocas. Las edades obtenidas en las tobas de la Formación Jordán se encuentran muy cerca del límite del Triásico-Jurásico, $201,3 \pm 0,2$ Ma (Cohen, et al., 2020), lo que impone una edad prejurásica para las rocas infrayacentes a la Formación Jordán. Sumado a esto, la identificación de las especies de conchostracos en el conjunto inferior indica una edad correspondiente al Carniano-Noriano. Estas nuevas evidencias restringen la edad de la Formación Bocas al Triásico Tardío, entre el Carniano y el Rhaetiense (Figura 4).

La edad Pérmica planteada por Van der Lelij (2016) para la Formación Bocas se sustenta en una datación U/Pb de la muestra 10VDL58, con una edad de $250,7 \pm 4,3$ Ma, determinada en un dique riolítico en el SO del municipio El Playón. Esta datación se asoció con el reporte incorrecto del género *Glossopteris* sp. en la Formación Bocas en el estudio de Mojica, et al. (1996), según se constata en la siguiente cita:

Algunos hallazgos fosilíferos logrados en las últimas décadas han permitido, en algunos casos, una mejor delimitación temporal de las formaciones. Entre ellos se cuentan los de Glossopteris sp. y Classopollis sp. (REMY, et al., 1975), que señalan una edad jurásica para la Fm. Bocas... ”.

La equivocación de Mojica, et al. (1996) en cuanto al género *Glossopteris* sp. se debe posiblemente al gran volumen de información que manejaron en su publicación. Es importante aclarar que el género *Glossopteris* sp. no fue reportado por Remy, et al. (1975), quienes, en cambio, sí identificaron la especie *P. branneri*. Este reporte incorrecto del género *Glossopteris* sp. fue adoptado por Van der Lelij (2016) y llevó a la conclusión de una edad Pérmica para la Formación Bocas porque *Glossopteris* fue un género de planta muy común en este periodo (McLoughlin, et al., 1997). Debe tenerse en cuenta la relevancia del dato geocronológico reportado por Van der Lelij (2016), ya que indica la posible existencia de registros sedimentarios y volcánicos diferentes y anteriores a la Formación Bocas que no han sido diferenciados hasta el momento. En la zona hoy se llevan a cabo trabajos bioestratigráficos que en un futuro pueden ayudar a esclarecer las edades de estos registros.

Relaciones entre el plutonismo, la actividad volcánica y la sedimentación durante los 202-195 Ma en el Macizo de Santander

Las interpretaciones de Van der Lelij (2016) sobre el ambiente tectónico de formación del Grupo Plutónico de Santander se basan en un magmatismo de arco desarrollado entre los 202 y los 195 Ma. Estos plutones se caracterizan por una afinidad calcoalcalina alta en potasio y anomalías negativas de Nb y Ti, al igual que bajos contenidos de Nb e Y que son típicos del magmatismo en zonas de subducción. Por otra parte, Zuluaga & López (2019) propusieron que, dado el carácter elongado de estos plutones, la génesis y el emplazamiento de los pulsos magmáticos fueron controlados por una dinámica transtensiva en la corteza, asociada con una convergencia oblicua en la zona de subducción. Este factor en la corteza promueve el adelgazamiento cortical y favorece un alto régimen térmico en la corteza superior, probablemente relacionado con la fusión por descompresión (Zuluaga & López, 2019).

La extensión simultánea a la actividad magmática propuesta por Zuluaga & López (2019) pudo generar cuencas durante la formación y el emplazamiento del Grupo Plutónico de Santander. Las edades obtenidas en ese estudio fluctuaron entre $199,37 \pm 0,34$ Ma y

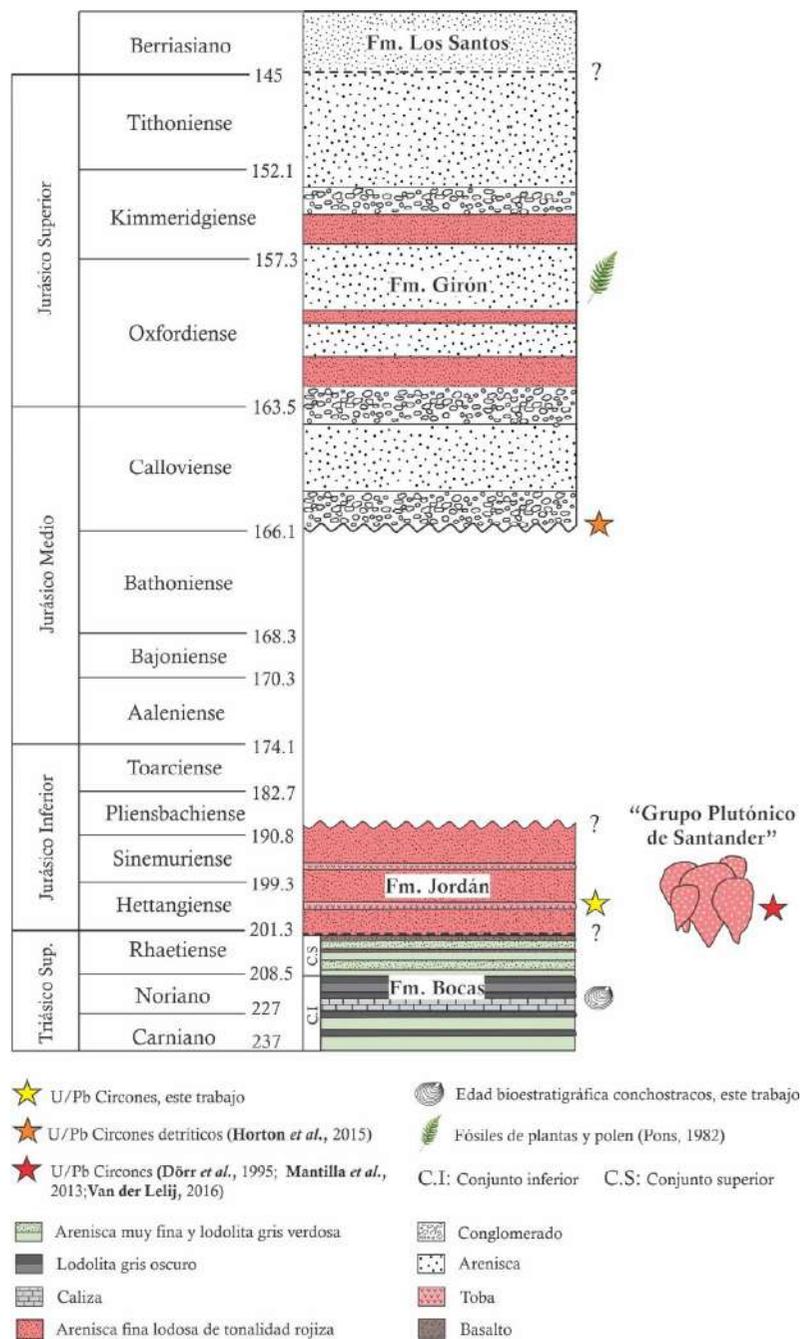


Figura 4. Propuestas de edades para las unidades del Triásico superior y del Jurásico en el Macizo de Santander

198,49± 0,33 Ma para las tobas de la Formación Jordán, las cuales son similares a las de los intrusivos. Esto apunta a que, posiblemente, la actividad volcánica se produjo en el mismo evento magmático y coetáneamente con la sedimentación fluvio-lacustre de la Formación Jordán (**Figura 4**).

La limitada extensión lateral y los potentes espesores de los cuerpos de ignimbritas dentro de la Formación Jordán, indican que las corrientes de densidad piroclástica producidas durante las etapas de actividad volcánica estaban fuertemente controladas por la paleotopografía (**Walker, 1983**), lo que impedía una mayor extensión de estos productos

volcánicos. Los edificios volcánicos se encontraban posiblemente emplazados sobre el basamento metamórfico del Macizo de Santander como se infiere de la cantidad de líticos metamórficos accidentales encontrados en las ignimbritas y tobas. Los ambientes sedimentarios lacustres de las formaciones Bocas y Jordán (Alarcón & Rodríguez, 2019) crearon cuerpos de agua con la suficiente extensión donde los flujos de lava entraron en contacto bajo el agua, tal como lo demuestra la presencia de abundantes amígdalas en los basaltos (Moore & Schilling, 1973) localizados en la vía Bucaramanga-Rionegro.

El registro sedimentario del Triásico Superior representado por la Formación Bocas demuestra que existieron depresiones que sirvieron de espacio de acomodación para su sedimentación simultáneamente con la actividad volcánica incipiente previa al evento magmático de finales del Triásico Tardío y comienzos de Jurásico Temprano (202-195 Ma) en el Macizo de Santander. El origen de las cuencas más antiguas y la actividad volcánica serán objeto de estudio en el futuro, ya que no se tienen datos suficientes para relacionar su origen y contexto.

Conclusiones

Los datos geocronológicos aportados en este estudio para las rocas volcánicas de la Formación Jordán apuntan a que la actividad volcánica registrada en la unidad coincidió con el evento magmático que dio origen a los granitoides del Grupo Plutónico de Santander, el cual se manifestó entre finales del Triásico Tardío e inicios del Jurásico Temprano. La extensión ocurrida durante la formación y el emplazamiento del Grupo Plutónico de Santander abre la posibilidad de que se generaran cuencas y simultáneamente se acumularan los registros continentales fluvio-lacustres (Alarcón & Rodríguez, 2019) representados en la Formación Jordán.

Con base en los resultados obtenidos en las dataciones radiométricas de las rocas volcánicas de la Formación Jordán, la bioestratigrafía de los conchostracos y la actualización de los rangos bioestratigráficos de la flora reportada por Remy, *et al.* (1975), se propone una edad correspondiente al Triásico tardío para la Formación Bocas, desde el Carniano al Rhaetiense.

Información suplementaria

Ver la información suplementaria en <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1208/2925>

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander (UIS), especialmente a su Escuela de Geología, y a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la UIS, por todo el apoyo brindado a lo largo del proyecto 2343 (“Proveniencia y máxima edad estratigráfica del registro sedimentario Paleozoico aflorante en el Bloque de Pamplona, Macizo de Santander”). Un agradecimiento muy especial a los doctores Oscar Gallego y Mateo Monferrán del CONICET (Argentina), por su gran colaboración durante el estudio de los conchostracos, así como a los revisores y al comité editorial de la revista de la ACCEFYN por sus comentarios y sugerencias para mejorar el manuscrito.

Contribución de los autores

CMA concibió el estudio. JCT y LCM participaron en la escritura del documento y su análisis. JGR acompañamiento y toma de datos en campo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Alarcón, C. M. & Rodríguez, J. G. (2019). Estratigrafía, facies y paleoambiente de sedimentación de la Formación Jordán: un registro fluvio-lacustre con incidencia de actividad volcánica. Tesis de pregrado. Universidad Industrial de Santander. 130 p.

- Aspden, J. A., McCourt, W. J., Brook, M.** (1987). Geometrical control of subduction-related magmatism: the Mesozoic and Cenozoic plutonic history of Western Colombia. *Journal of the Geological Society*. **144** (6): 893-905. Doi: 10.1144/gsjgs.144.6.0893
- Ayala-Calvo, R., Veloza-Fajardo, G., Bayona, G., Gómez-Casallas, M., Rapalini, A., Costanzo-Álvarez, V., Aldan, M., Cortés, M.** (2005): Paleomagnetismo y Mineralogía Magnética en las unidades del Mesozoico de Bucaramanga y el Macizo de Floresta.- *Geología Colombiana*. **30**: 49-66.
- Bayona, G., García, D., Mora, P.** (1994). La Formación Saldaña: producto de la actividad de estratovolcanes continentales en un dominio de Retro-arco. Etayo-Serna, F. *Estudios Geológicos del Valle Superior del Magdalena*, pp. I-1-I-21, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Bayona, G., Rapalini, A., Costanzo-Álvarez, V.** (2006). Paleomagnetism in Mesozoic rocks of the northern Andes and its implications in Mesozoic tectonics of northwestern South America. *Earth, planets and space*. **58** (10): 1255-1272. Doi: 10.1186/BF03352621
- Bayona, G., Jiménez, G., Silva, C., Cardona, A., Montes, C., Roncancio, J., Cordani, U.** (2010). Paleomagnetic data and K–Ar ages from Mesozoic units of the Santa Marta Massif: A preliminary interpretation for block rotation and translations. *Journal of South American Earth Sciences*, **29** (4): 817-831. Doi: 10.1016/j.jsames.2009.10.005
- Bayona, G., Bustamante, C., Nova, G., Salazar-Franco, A.M.** (2020). Jurassic evolution of the northwestern corner of Gondwana: Present knowledge and future challenges in studying Colombian Jurassic rocks. In: Gómez, J. & Pinilla-Pachon, A.O. (editors), *The Geology of Colombia, Volume 2 Mesozoic*. Servicio Geológico Colombiano, Publicaciones Geológicas Especiales, 36, 37 p. Bogotá. Doi: 10.32685/pub.esp.36.2019.05
- Blanco-Quintero, I. F., García-Casco, A., Toro, L. M., Moreno, M., Ruiz, E. C., Vinasco, C. J., Morata, D.** (2014). Late Jurassic terrane collision in the northwestern margin of Gondwana (Cajamarca Complex, eastern flank of the Central Cordillera, Colombia). *International Geology Review*. **56** (15): 1852-1872. Doi: 10.1080/00206814.2014.963710
- Bustamante, C., Archanjo, C. J., Cardona, A., Bustamante, A., Valencia, V. A.** (2017). U-Pb Ages and Hf Isotopes in zircons from parautochthonous Mesozoic terranes in the Western margin of Pangea: Implications for the terrane configurations in the Northern Andes. *The Journal of Geology*. **125** (5): 487-500. Doi: 10.1086/693014
- Cediel, F.** (1968). El Grupo Girón, una molasa mesozoica de la Cordillera Oriental. *Boletín Geológico INGEOMINAS*. **16** (1-3): 5-96.
- Cediel, F. & Cáceres, C.** (2000). *Geological map of Colombia, Scale 1:1.000.000*, (3rd. ed.). Geotec Ltd Ed., Bogotá, Colombia.
- Cediel, F., Shaw, R.P., Cáceres, C.** (2003). Tectonic assembly of the northern Andean Block. In: Bartolini, C., Buffler, R.T. & Blickwede, J. (editors). *The circum-Gulf of Mexico and the Caribbean: Hydrocarbon habitats, basin formation, and plate tectonics*. American Association of Petroleum Geologists. *Memoir*. **79**: 815-848.
- Chang, Z., Vervoort, J. D., McClelland, W. C., Knaack, C.** (2006). U-Pb dating of zircon by LA-ICP-MS. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*. **7** (5). Doi: 10.1029/2005GC001100
- Clavijo, J., Mantilla, L., Pinto, J., Bernal, L., Pérez, A.** (2008). Evolución geológica de la Serranía de San Lucas, norte del Valle Medio del Magdalena y noroeste de la Cordillera Oriental. *Boletín de Geología*. **30** (1): 45-62.
- Cochrane, R., Spikings, R., Gerdes, A., Winkler, W., Ulianov, A., Mora, A., Chiaradia, M.** (2014). Distinguishing between in-situ and accretionary growth of continents along active margins. *Lithos*. **202**: 382-394. Doi: 10.1016/j.lithos.2014.05.031
- Cohen, K.M., Finney, S.C., Gibbard, P.L., Fan, J.-X.** (2020). The ICS International Chronostratigraphic Chart. *Episodes*. **36**: 199-204.
- Cordani, U., Cardona, A., Jimenez, D., Liu, D., Nutman, A.** (2005). Geochronology of Proterozoic basement inliers in Colombian Andes: tectonic history of remnants of a fragmented Grenville Belt. In: Vaughan, A., Leat, P., Pankhurst, R., (Eds). *Terrane processes at margins of Gondwana*. Geological Society, London, Special Publications. **246**: 329-346. Doi: 10.1144/GSL.SP.2005.246.01.13
- Correa-Martínez, A.M., Rodríguez, G., Arango, M.I., Zapata-García, G.** (2019). Petrografía, geoquímica y geocronología U-Pb de las rocas volcánicas y piroclásticas de la Formación Noreán al NW del Macizo de Santander, Colombia. *Boletín de Geología*. **41** (1): 29-54. Doi: 10.18273/revbol.v41n1-2019002
- Dickey, P.A.** (1941). Pre-Cretaceous sediments in Cordillera Oriental of Colombia. *American Association of Petroleum Geologist Bulletin*. **25**: 1789-1795.

- Dörr, W., J. R. Grosser, G. I. Rodríguez, U. Kramm.** (1995). Zircon U-Pb age of the Páramo Rico tonalite-granodiorite, Santander Massif (Cordillera Oriental, Colombia) and its geotectonic significance. *Journal of South American Earth Sciences*. **8**: 187-194. Doi: 10.1016/0895-9811(95)00004-Y
- Etayo-Serna, F., & Rodríguez, G.** (1985). Edad de la Formación Los Santos. En Etayo-Serna, F. & Laverde-Montaño, F. Proyecto Cretácico (XXVI-1 - XXVI-13). Bogotá, Colombia: Publ. Geol. Esp. de Ingeominas (16).
- Etayo-Serna, F.** (1989). Análisis facial del inicio del avance marino del Cretácico en la región SW del Macizo de Santander. V Congreso Colombiano de Geología. Guía de Excursión Técnica. 41 p.
- Gallego, O.F., Tourani, A., Benaouiss, N., Alarcón-Gómez, C. M., Monferrán, M. D., Desojo, J.** (2019). Comparisons of two Triassic “conchostracan” associations from Morocco and Colombia. Reunión de comunicaciones de la Asociación Paleontológica Argentina. La Plata, Argentina. 163 p.
- Gehrels, G., Valencia, V. A., Pullen, A.** (2006). Detrital Zircon Geochronology by Laser-Ablation Multicollector ICPMS at the Arizona Laserchron Center, in Emergin Opportunities, Paleontological Society Short Course, Philadelphia, P. 67-76.
- Gehrels, G. E., Valencia, V. A., Ruiz, J.** (2008). Enhanced precision, accuracy, efficiency, and spatial resolution of U-Pb ages by laser ablation–multicollector–inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*. **9** (3).
- Geyer, G. & Kelber, K. P.** (2018). Spinicaudata (“Conchostraca,” Crustacea) from the Middle Keuper (Upper Triassic) of the southern Germanic Basin, with a review of Carnian–Norian taxa and suggested biozones. *PalZ*. **92** (1): 1-34.
- Goldsmith, R., Marvin, R.F., Mehnert, H.H.** (1971). Radiometric ages in the Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombian Andes: United States Geological Survey Professional Paper. **750**: 44-49.
- Hill, D. & Van Konijnenburg van Cittert, J.H.A.** (1973). Species of plant fossils collected from the Middle Jurassic plant bed at Hasty Bank, Yorkshire. *Naturalist*. **925**: 59-63.
- Horton, B.K., Anderson, V.J., Caballero, V., Saylor, J.E., Nie, J., Parra, M., Mora, A.** (2015). Application of detrital zircon U-Pb geochronology to surface and subsurface correlations of provenance, paleodrainage, and tectonics of the Middle Magdalena Valley Basin of Colombia: *Geosphere*. **11** (6): 1790-1811. Doi: 10.1130/GES01251.1
- Kddo, Y. H.** (2018). New Classopollis species from Triassic-Jurassic boundary in northern Iraq. *Iraqi National. Journal of Earth Science*. **18** (2): 49-60.
- Kobayashi, T.** (1975). Upper Triassic Estherids in Thailand and the Conchostracan development in Asia in the Mesozoic era: *Geol. and Palaeont. Southeast Asia, Tokyo Univ. Press*. **16**: 57-90.
- Kozur, H. W. & Weems, R. E.** (2010). The biostratigraphic importance of conchostracans in the continental Triassic of the northern hemisphere. Geological Society, London, Special Publications. **334** (1): 315-417. Doi: 10.1144/SP334.13
- Langenheim, R. L.** (1959). Preliminary report on the stratigraphy of the Giron formation in Santander and Boyaca. *Boletín de Geología, Universidad Industrial de Santander*. **3**: 35-50.
- Laverde, F. & Clavijo, J.** (1985). Análisis facial de la Formación Los Santos, según el corte de “Tu y Yo” (Zapatoca). En Etayo-Serna, F., & Laverde-Montaño, F. Proyecto Cretácico (VI-1 – VI-9). Bogotá, Colombia: Publ. Geol. Esp. de Ingeominas (16).
- Leal-Mejía, H.** (2011). Phanerozoic Gold Metallogeny in the Colombian Andes: A tectono-magmatic approach. Ph.D. Thesis, Universitat de Barcelona, 989 p.
- Leal-Mejía, H., Shaw, R. P., Draper, J. C. M.** (2019). Spatial-temporal migration of granitoid magmatism and the Phanerozoic tectono-magmatic evolution of the Colombian Andes. In *Geology and Tectonics of Northwestern South America* (pp. 253-410). Springer, Cham.
- Ludwig, K. R.** (2003). *Isoplot 3.0 d A Geochronological Toolkit for Microsoft Excel*. Berkeley, Calif: Special Publication, vol. 4. Berkeley Geochronology Center.
- Mantilla, F.L.C., Bissig, T., Valencia, V., Craig, H.** (2013). The magmatic history of the Vetas-California mining district; Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombia. *Journal of South American Earth Sciences*. **45**: 235-249. Doi: 10.1016/j.jsames.2013.03.006
- Mantilla-Figueroa, L.C., García-Ramírez, C.A., Valencia, V.A.** (2016a). Propuesta de escisión de la denominada ‘Formación Silgará’ (Macizo de Santander, Colombia), a partir de edades U-Pb en circones detríticos. *Boletín de Geología*. **38** (1): 33-50. Doi: 10.18273/revbol.v38n1-2016002
- Mantilla-Figueroa, L. C., García-Ramírez, C. A., Valencia, V. A.** (2016b). Nuevas evidencias que soportan la escisión de la Formación Silgará y propuesta de un nuevo marco estratigráfico

- para el basamento metamórfico del Macizo de Santander (Cordillera Oriental de Colombia). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **40** (155): 320-336. Doi: 10.18257/raccefyn.303
- Maze, W.** (1984). Jurassic La Quinta Formation in the Sierra de Perijá, northwestern Venezuela: Geology and tectonic environment of red beds and volcanic rocks. In W. Bonini, R. Hargraves, R. Shagam (Ed.). *The Caribbean-South American Plate Boundary and Regional Tectonics* (263-282). McLean, USA: Geological Society of America, v. 162.
- McLoughlin, S., Lindström, S., Drinnan, A. N.** (1997). Gondwanan floristic and sedimentological trends during the Permian–Triassic transition: new evidence from the Amery Group, northern Prince Charles Mountains, East Antarctica. *Antarctic Science*. **9** (3): 281-298.
- Mojica, J. & Kammer, A.** (1995): Eventos Jurásicos en Colombia.- *Geol. Colombiana*. **19**: 165-172.
- Mojica, J., A. Kammer, G. Ujueta.** (1996). El Jurásico del sector noroccidental de Suramérica y guía de la excursión al Valle Superior del Magdalena (Nov. 1–4/95), regiones de Payandé y Prado, departamento del Tolima, Colombia. *Geología Colombiana*. **21**: 3-40.
- Moore, J. G.** (1965). Petrology of deep sea basalt near Hawaii. *American Journal of Science*. **263** (1): 40-52.
- Moore, J.G. & Schilling, J.G.** (1973). Vesicles, water and sulphur in Reykjanes Ridge basalts. *Contributions to Mineralogy and Petrology*. **41**: 105-118.
- Petzold, D. D. & Lane, N. G.** (1988). Stratigraphic distribution and paleoecology of Pennsylvanian conchostracans (Crustacea: Branchiopoda) on the east side of the Illinois Basin. *Journal of Paleontology*. **Vol?**: 799-808.
- Pons, D.** (1982). Etude paleobotanique et palynologique de la Formation Giron (jurassique moyencrétacé inférieur) dans la région de Lebrija, Departamento de Santander, Colombie. *Nat. Savantes Brest. Sci. Jasc.* **1**: 53-78.
- Quandt, D., Trumbull, R. B., Altenberger, U., Cardona, A., Romer, R. L., Bayona, G., Guzmán, G.** (2018). The geochemistry and geochronology of Early Jurassic igneous rocks from the Sierra Nevada de Santa Marta, NW Colombia, and tectono-magmatic implications. *Journal of South American Earth Sciences*. **86**: 216-230. Doi: 10.1016/j.jsames.2018.06.019
- Rabe, E.** (1977). Zur Stratigraphie des ostandinen Raumes von Kolumbien. *Giessener Geologische Schriften*. N. 11, 223 p., 21. Fig., 4 pl. Giessen.
- Reible, P.** (1962). Die Conchostraken (Branchiopoda, Crustacea) der Germa – nischen Trias. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhand – lungen*. **114**: 169-244.
- Remy, W., Remy, R., Pfefferkorn, H.W., Volkheimer, W. Rabe, E.** (1975). Neueinstufung der Bocas-Folge (Bucaramanga, Kolumbien) in den Unteren Jura anhand einer Phlebopteris branneri und classopollis Flora. *Argumenta Paleobotánica*. **4**: 55-77.
- Restrepo-Pace, P.A. & Cediél, F.** (2010). Northern South America basement tectonics and implications for paleocontinental reconstructions of the Americas. *Journal of South American Earth Sciences*. **29**: 764-771. Doi: 10.1016/j.jsames.2010.06.002
- Rodríguez, G., Arango, M.I., Zapata, G., Bermúdez, J.G.** (2016). Catálogo de unidades litoestratigráficas de Colombia, Formación Saldaña. Cordilleras Central y Oriental Tolima, Huila, Cauca y Putumayo. Servicio Geológico Colombiano, 91 p. Medellín.
- Rodríguez, G., Arango, M. I., Zapata, G., Bermúdez, J. G.** (2018). Poretectonic characteristics, geochemistry, and U-Pb geochronology of Jurassic plutons in the Upper Magdalena Valley-Colombia: Implications on the evolution of magmatic arcs in the NW Andes. *Journal of South American Earth Sciences*. **81**: 10-30. Doi: 10.1016/j.jsames.2017.10.012
- Rodríguez-García, G., Correa-Martínez, A.M., Zapata-García, G., Arango-Mejía, M.I., Obando-Eraza, G., Zapata-Villada, J.P., Bermúdez, J.G.** (2020). Diverse Jurassic magmatic arcs of the Colombian Andes: Constraints from petrography, geochronology, and geochemistry. In: Gómez, J. & Pinilla-Pachón, A.O. (editors), *The Geology of Colombia, Volume 2 Mesozoic*. Servicio Geológico Colombiano, Publicaciones Geológicas Especiales 36, 54 p. Bogotá. Doi: 10.32685/pub.esp.36.2019.04
- Royero G. J. M & Clavijo J.** (2001). Mapa Geológico generalizado departamento de Santander. Escala 1: 400.000. Informe Ingeominas. 92 p.
- Rubatto, D.** (2002). Zircon trace element geochemistry: distribution coefficients and the link between U–Pb ages and metamorphism. *Chemical Geology*. **184**: 123-138. Doi: 10.1016/S0009-2541(01)00355-2
- Sarmiento-Rojas, L. F., Van Wess, J. D., & Cloetingh, S.** (2006). Mesozoic transtensional basin history of the Eastern Cordillera, Colombian Andes: Inferences from tectonic models. *Journal of South American Earth Sciences*. **21** (4): 383-411. Doi: 10.1016/j.jsames.2006.07.003

- Sillitoe, R. H., Jaramillo, L., Damon, I. E., Shtiquillah, M., Escovar, R.** (1982). Setting, characteristics, and age of the Andean porphyry copper belt in Colombia: *Economic Geology*. **77**: 1837-1850. Doi: 10.2113/gsecongeo.77.8.1837
- Schmid, R.** (1981). Descriptive nomenclature and classification of pyroclastic deposits and fragments. *Geologische Rundschau*. **70** (2): 794-799.
- Schweitzer, H.J.** (1978). Die räto-jurassischen Floren des Iran und Afghanistans. 5. *Todites princeps*, *Thaumatopteris brauniana* und *Phleboteris polypodioides*. *Palaeontogr. Abt. B*. **168**: 17-60.
- Shaw, R. P., Leal-Mejía, H., Draper, J. C. M.** (2019). Phanerozoic metallogeny in the Colombian Andes: a tectono-magmatic analysis in space and time. In *Geology and Tectonics of Northwestern South America* (pp. 411-549). Springer, Cham. Doi: 10.1007/978-3-319-76132-9_6
- Spikings, R., Cochrane, R., Villagomez, D., Van der Lelij, R., Vallejo, C., Winkler, W., Beate, B.** (2015). The geological history of northwestern South America: from Pangaea to the early collision of the Caribbean Large Igneous Province (290–75 Ma). *Gondwana Research*. **27** (1): 95-139. Doi: 10.1016/j.gr.2014.06.004
- Stacey, J.S. & Kramers, J.D.** (1975). Approximation of terrestrial lead isotope evolution by a two-stage model. *Earth and Planetary Science Letters*. **26**: 207-221.
- Steiger, R. H. & Jäger, E.** (1977). Subcommittee on Geochronology: Convention on the use of decay constants in Geo- and Cosmochronology. *Earth and Planetary Science Letters*. **36**: 359-362.
- Suárez, C. & Díaz, F.** (2016). Estudio petrográfico y estratigráfico de la Formación Jordán en su localidad tipo sobre el escarpe sur de la Mesa de Los Santos y cañón del río Chicamocha, Santander. Tesis de pregrado. Universidad Industrial de Santander. 170 p.
- Taylor, T. N. & Alvin, K. L.** (1984). Ultrastructure and development of Mesozoic pollen: *Classopollis*. *American Journal of Botany*. **71** (4): 575-587. Doi: 10.2307/2443333
- Tellez, N.** (1964). Geología de la Mesa de Barichara. *Boletín de Geología*. **18**: 12-21.
- Toussaint, J.F.** (1995). Evolución geológica de Colombia: 2 Triásico– Jurásico. Universidad Nacional de Colombia, 94 p. Medellín.
- Tschanz, C. M., Marvin, R. F., Cruz, J., Mehnert, H. H., Cebula, G. T.** (1974). Geologic evolution of the Sierra Nevada de Santa Marta, Northeastern Colombia: *GSA Bulletin*. **85**: 273-284. Doi:10.1130/0016-7606(1974)85<273:GEOTSN>2.0.CO;2
- Vaez-Javadi, F.** (2006). Plant fossil remains from the Rhaetian of Shemshak Formation, Narges-Chal Area, Alborz, NE Iran. *Riv. Ital. Paleontol. Stratigr.* **112**: 397-416.
- Van Der Lelij, R., Spikings, R., Ulianov, A., Chiaradia, M., Mora, A.** (2016). Palaeozoic to Early Jurassic history of the northwestern corner of Gondwana, and implications for the evolution of the Iapetus, Rheic and Pacific Oceans. *Gondwana Research*. **31**: 271-294. Doi: 10.1016/j.gr.2015.01.011
- Velandia, F., García-Delgado, H., Zuluaga, C. A., López, J. A., Bermúdez, M. A.** (2020). Present-day structural frame of the Santander Massif and Pamplona Wedge: The interaction of the Northern Andes. *Journal of Structural Geology*. 104087. Doi: 10.1016/j.jsg.2020.104087
- Vermeesch, P.** (2018). IsoplotR: a free and open toolbox for geochronology. *Geoscience Frontiers*. **9**: 1479-1493.
- Walker, G. P.** (1983). Ignimbrite types and ignimbrite problems. *Journal of volcanology and geothermal research*. **17** (1-4): 65-88.
- Ward, D., Goldsmith, R., Cruz, B., Jaramillo, C., Restrepo, H.** (1973). Geología de los Cuadrángulos H-12, Bucaramanga y H-13, Pamplona, departamento de Santander. U.S. Geological Survey e INGEOMINAS. *Boletín Geológico*. **XXI** (1-3): 1-132.
- Ward, D., Goldsmith, R., Jimeno, A., Cruz, J., Restrepo, H., Gómez, E.** (1977). Geologic Map of the Bucaramanga Quadrangle (H12), Colombia. US Geological Survey.
- Weber, R.** (2008). *Phleboteris* (Matoniaceae) en el Triásico y Jurásico de México. *Univ. Nac. Autónoma Méx. Inst. Geol. Bol.* **115**: 85-115.
- Wesley, A.** (1966). The fossil flora of the Grey Limestones of Veneto, Northern Italy, and its relationships to the other European floras of similar age. *Palaeobotanist*. **14**: 124-130.
- Zuluaga, C., Pinilla, A., Mann, P.** (2015). Jurassic silicic volcanism and associated Continental-arc Basin in northwestern Colombia (southern boundary of the Caribbean plate), in C. Bartolini and P. Mann, eds., *Petroleum geology and potential of the Colombian Caribbean Margin: AAPG Memoir*. **108**: 137-160. Doi: 10.1306/13531934M1083640
- Zuluaga, C. A. & López, J. A.** (2019). Ordovician orogeny and Jurassic low-lying orogen in the Santander Massif, northern Andes (Colombia). In *Geology and Tectonics of Northwestern South America*. 195-250. Springer, Cham. Doi: 10.1007/978-3-319-76132-9_4

Review article

The arithmetic of Coxeter permutahedra La aritmética de los permutaedros de Coxeter

Federico Ardila^{1,2,*}, Matthias Beck^{1,3}, Jodi McWhirter^{1,4}

¹San Francisco State University, San Francisco, California, USA

²Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia

³Freie Universität, Berlin, Germany

⁴Washington University in St. Louis, Missouri, USA

Federico Ardila, Inaugural article for admission as a Corresponding Member to the Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Abstract

Ehrhart theory measures a polytope P discretely by counting the lattice points inside its dilates $P, 2P, 3P, \dots$. We compute the Ehrhart theory of four families of polytopes of great importance in several areas of mathematics: the standard Coxeter permutahedra for the classical Coxeter groups A_n, B_n, C_n, D_n . A central tool, of independent interest, is a description of the Ehrhart theory of a rational translate of an integer projection of a cube.

Keywords: Polytope; Ehrhart theory; Coxeter group; Permutahedron; Tree; Lambert function.

Resumen

La teoría de Ehrhart mide un polítopo P discretamente, contando los puntos enteros dentro de sus dilataciones $P, 2P, 3P, \dots$. En este artículo calculamos la teoría de Ehrhart de cuatro familias de polítopos de gran importancia en varias áreas de la matemática: los permutaedros de Coxeter de los grupos clásicos de Coxeter A_n, B_n, C_n, D_n . Una herramienta central, de interés independiente, es la descripción de la teoría de Ehrhart de una traslación racional de una proyección entera de un cubo.

Palabras clave: Polítopo; Teoría de Ehrhart; Grupo de Coxeter; Permutaedro; Árbol; Función de Lambert.

1 Introduction

1.1 Measuring combinatorial polytopes

Measuring is one of the central questions in mathematics: How do we quantify the size or complexity of a mathematical object? In the theory of polytopes, it is natural to measure a shape by means of its volume or its surface area. Computing these quantities for a highdimensional polytope P is a difficult task **Bárány & Füredi** (1987); **Dyer & Frieze** (1988), and one approach has been to discretize the question. One places the polytope P on a grid and asks: How many grid points does P contain? How many grid points do its dilates $2P, 3P, 4P, \dots$ contain? This approach is illustrated in figure 1 for four polygons.

Ehrhart (1962) showed that when the polytope P has integer (or rational) vertices, then there is a polynomial (or quasipolynomial) $\text{ehr}_P(x)$ such that the dilate tP contains exactly $\text{ehr}_P(t)$ grid points for any positive integer t . He also showed that the leading coefficient of $\text{ehr}_P(x)$ equals the (suitably normalized) volume of P , and the second leading coefficient equals half of the (suitably normalized) surface area. Therefore the *Ehrhart (quasi)polynomial* (which we will define in detail in Section 2.1 below) is a more precise measure of size than

Citation: Ardila F, Beck M, McWhirter J. The arithmetic of Coxeter permutahedra. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1152-1166, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1189>

Editor: Jorge Cossio

***Corresponding author:**
Federico Ardila; federico@sfsu.edu

Received: April 4, 2020

Accepted: July 14, 2020

Published: December 5, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

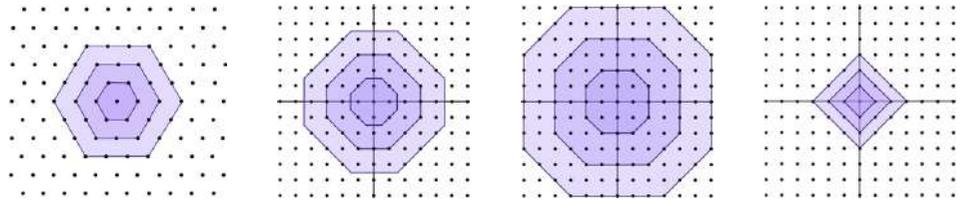


Figure 1. The first three dilates of the standard Coxeter permutahedra $\Pi(A_2)$, $\Pi(B_2)$, $\Pi(C_2)$, and $\Pi(D_2)$. Their t th dilates contain $1 + 3t + 3t^2$, $(1 + 4t + 7t^2$ for t even and $2t + 7t^2$ for t odd), $1 + 6t + 14t^2$, and $1 + 2t + 2t^2$ lattice points, respectively.

these two quantities. Ehrhart theory is devoted to measuring polytopes in this way, computing continuous quantities discretely (see, e.g., **Fukuda** (2008). Electronically available at http://www.ifor.math.ethz.ch/~fukuda/cdd_home/cdd.html).

Combinatorics studies the possibilities of a discrete situation; for example, the possible ways of reordering, or **permuting** the numbers $1, \dots, n$. In most situations of interest, the number of possibilities of a discrete problem is tremendously large, so one needs to find intelligent ways of organizing them. Geometric combinatorics offers an approach: model the (discrete) possibilities of a problem with a (continuous) polytope. A classic example is the **permutahedron** Π_n , a polytope whose vertices are the $n!$ permutations of $\{1, 2, \dots, n\}$. (Figure 2 shows the permutahedron Π_4 .) One can answer many questions about permutations using the geometry of this polytope. In this way, the general strategy of geometric combinatorics is to model discrete problems continuously.

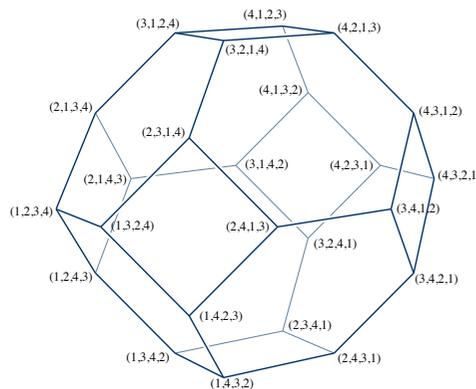


Figure 2. The permutahedron Π_4 organizes the 24 permutations of $\{1, 2, 3, 4\}$.

Combining these two forms of interplay between the discrete and the continuous, it is natural to begin with a discrete problem, model it in terms of a continuous polytope, and then measure that polytope discretely. **Stanley** (1991) pioneered this line of inquiry, with the following beautiful theorem.

Theorem 1.1 (**Stanley** (1991)). *The Ehrhart polynomial of the permutahedron Π_n is*

$$\text{ehr}_{\Pi_n}(t) = a_{n-1}t^{n-1} + a_{n-2}t^{n-2} + \dots + a_1t + a_0,$$

where a_i is the number of graphs with i edges on the vertices $\{1, \dots, n\}$ that contain no cycles. In particular, the normalized volume of the permutahedron Π_n is the number of trees on $\{1, \dots, n\}$, which equals n^{n-2} .

1.2 Our results: measuring classical Coxeter permutahedra

The permutahedron Π_n is one of an important family of highly symmetric polytopes: the reduced, crystallographic **standard Coxeter permutahedra**; see Section 2.3 for a precise definition and some Lie theoretic context. These polytopes come in four infinite families A_{n-1}, B_n, C_n, D_n ($n \geq 1$) called the **classical types**, and five exceptions E_6, E_7, E_8, F_4 , and G_2 . The standard Coxeter permutahedra of the classical types are the following polytopes in \mathbb{R}^n :

$$\begin{aligned}\Pi(A_{n-1}) &:= \text{conv}\{\text{permutations of } \frac{1}{2}(-n+1, -n+3, \dots, n-3, n-1)\}, \\ \Pi(B_n) &:= \text{conv}\{\text{signed permutations of } \frac{1}{2}(1, 3, \dots, 2n-1)\}, \\ \Pi(C_n) &:= \text{conv}\{\text{signed permutations of } (1, 2, \dots, n)\}, \\ \Pi(D_n) &:= \text{conv}\{\text{evenly signed permutations of } (0, 1, \dots, n-1)\}.\end{aligned}$$

Here a **signed permutation** of a sequence S is obtained from a permutation of S by introducing signs to the entries arbitrarily; the **evenly signed permutations** are those that introduce an even number of minus signs. Figure 1 shows the standard Coxeter permutahedra $\Pi(A_2), \Pi(B_2), \Pi(C_2)$, and $\Pi(D_2)$, as well as their second and third dilates. Note that the evenly signed permutations of $\{0, 1\}$ are $(+0, +1), (+1, +0), (-0, -1), (-1, -0)$.

The goal of this paper is to understand the Ehrhart theory of these four families of polytopes. Our main results are the following. Theorem 4.3 generalizes Stanley's Theorem 1.1, offering combinatorial formulas for the Ehrhart quasipolynomials of the Coxeter permutahedra $\Pi(A_{n-1}), \Pi(B_n), \Pi(C_n)$, and $\Pi(D_n)$ in terms of the combinatorics of forests. Theorems 5.2 and 5.3 then give explicit formulas: they compute the exponential generating functions of those Ehrhart quasipolynomials, in terms of the Lambert W function. Proposition 3.1 is an intermediate step that may be of independent interest: it describes the Ehrhart theory of a rational translate of an integral zonotope. This result was used in **Ardila, et al.** (To appear.) to compute the equivariant Ehrhart theory of the permutahedron.

We remark that each of these zonotopes can be translated to become an integral polytope, and the Ehrhart polynomials of these integral translates were computed in **Ardila, et al.** (2015); see also **De Concini & Procesi** (2008); **Deza, et al.** (2018) for related work.

2 Preliminaries

2.1 Ehrhart theory

A **rational polytope** $P \subset \mathbb{R}^d$ is the convex hull of finitely many points in \mathbb{Q}^d . We define

$$\text{ehr}_P(t) := \left| tP \cap \mathbb{Z}^d \right|,$$

for positive integers t . **Ehrhart** (1962) famously proved that this lattice-point counting function evaluates to a **quasipolynomial** in t , that is,

$$\text{ehr}_P(t) = c_d(t)t^d + c_{d-1}(t)t^{d-1} + c_0(t)$$

where $c_0(t), \dots, c_d(t) : \mathbb{Z} \rightarrow \mathbb{Q}$ are periodic functions in t ; their minimal common period is the **period** of $\text{ehr}_P(t)$. Ehrhart also proved that the period of $\text{ehr}_P(t)$ divides the least common multiple of the denominators of the vertex coordinates of P . In particular, if P is an **integral** polytope, then $\text{ehr}_P(t)$ is a polynomial.

All the polytopes we will consider in this paper are half integral. Therefore the periods of their Ehrhart quasipolynomials will be either 1 or 2. For more on Ehrhart quasipolynomials, see, e.g., **Beck & Robins** (2015).

2.2 Zonotopes

A **zonotope** is the Minkowski sum $\mathcal{Z}(A)$ of a finite set $A = \{[a_1, b_1], \dots, [a_n, b_n]\}$ of line segments in \mathbb{R}^d ; that is,

$$\begin{aligned} \mathcal{Z}(A) &:= \sum_{j=1}^n [a_j, b_j] \\ &= \left\{ \sum_{j=1}^n c_j : c_j \in [a_j, b_j] \text{ for } 1 \leq j \leq n \right\}. \end{aligned}$$

Equivalently, zonotopes are precisely the projections of cubes. For a finite set of vectors $U \subset \mathbb{R}^d$ we define

$$\mathcal{Z}(U) := \sum_{u \in U} [0, u].$$

Shephard(1974) showed that the zonotope $\mathcal{Z}(A)$ may be decomposed as a disjoint union of translates of the half-open parallelepipeds

$$\square \mathbf{I} := \sum_{u \in \mathbf{I}} [0, u]$$

spanned by the linearly independent subsets \mathbf{I} of $\{b_j - a_j : 1 \leq j \leq n\}$. This decomposition contains exactly one parallelepiped for each independent subset. Figure 3 displays such a **zonotopal decomposition** of a hexagon.

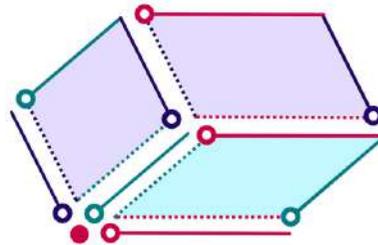


Figure 3. A decomposition of a hexagon into half-open parallelepipeds.

A useful feature of this decomposition is that lattice half-open parallelepipeds are arithmetically quite simple: $\square \mathbf{I}$ contains exactly $\text{vol}(\square \mathbf{I})$ lattice points, where $\text{vol}(\square \mathbf{I})$ denotes the **relative volume** of $\square \mathbf{I}$, measured with respect to the sublattice $\mathbb{Z}^d \cap \text{aff}(\square \mathbf{I})$ in the affine space spanned by the parallelepiped. This implies the following result.

Proposition 2.1. (Stanley (1991)) *Let $U \subset \mathbb{Z}^d$ be a finite set of vectors. Then the Ehrhart polynomial of the integral zonotope $\mathcal{Z}(U)$ is*

$$\text{ehr}_{\mathcal{Z}(U)}(t) = \sum_{\substack{W \subset U \\ \text{lin. indep.}}} \text{vol}(W) t^{|W|}$$

where $|W|$ denotes the number of vectors in W and $\text{vol}(W)$ is the relative volume of the parallelepiped generated by W .

2.3 Lie combinatorics

Assuming familiarity with the combinatorics of Lie theory **Humphreys**(1990) (for this section only), we briefly explain the geometric origin of the polytopes that are our main objects

of study. Finite **root systems** are highly symmetric configurations of vectors that play a central role in many areas of mathematics and physics, such as the classification of regular polytopes **Coxeter** (1973) and of semisimple Lie groups and Lie algebras **Humphreys** (1978). The finite crystallographic root systems can be completely classified; they come in four infinite families:

$$\begin{aligned} A_{n-1} &:= \{ \pm(\mathbf{e}_i - \mathbf{e}_j) : 1 \leq i < j \leq n \}, \\ B_n &:= \{ \pm(\mathbf{e}_i - \mathbf{e}_j), \pm(\mathbf{e}_i + \mathbf{e}_j) : 1 \leq i < j \leq n \} \cup \{ \pm \mathbf{e}_i : 1 \leq i \leq n \}, \\ C_n &:= \{ \pm(\mathbf{e}_i - \mathbf{e}_j), \pm(\mathbf{e}_i + \mathbf{e}_j) : 1 \leq i < j \leq n \} \cup \{ \pm 2\mathbf{e}_i : 1 \leq i \leq n \}, \\ D_n &:= \{ \pm(\mathbf{e}_i - \mathbf{e}_j), \pm(\mathbf{e}_i + \mathbf{e}_j) : 1 \leq i < j \leq n \} \end{aligned}$$

and five exceptions: $E_6, E_7, E_8, F_4,$ and G_2 . For each of the four infinite families A_{n-1}, B_n, C_n, D_n of root systems Φ , we can let the **positive roots** Φ^+ be those obtained by choosing the plus sign in each \pm above.

Let Φ be a finite root system of rank d and W be its Weyl group. Let $\Phi^+ \subset \Phi$ be a choice of positive roots. The **standard Coxeter permutahedron of Φ** is the zonotope

$$\begin{aligned} \Pi(\Phi) &:= \sum_{\alpha \in \Phi^+} \left[-\frac{\alpha}{2}, \frac{\alpha}{2} \right] \\ &= \text{conv} \{ w \cdot \rho : w \in W \} \end{aligned}$$

where $\rho := \frac{1}{2}(\sum_{\alpha \in \Phi^+} \alpha)$. These polytopes, and their deformations, are fundamental objects in the representation theory of semisimple Lie algebras **Humphreys** (1978), in many problems in optimization **Ardila, et al.** (2020), and in the combinatorics of (signed) permutations, among other areas.

For the classical root systems A_{n-1}, B_n, C_n, D_n , the standard Coxeter permutahedra are precisely the polytopes $\Pi(A_{n-1}), \Pi(B_n), \Pi(C_n), \Pi(D_n)$ introduced in Section 1.2.

3 Almost integral zonotopes and their Ehrhart theory

The arithmetic of zonotopes described in Section 2.2 becomes much more subtle when the zonotope is not integral. However, we can still describe it for **almost integral zonotopes** $\mathbf{v} + \mathcal{Z}(\mathbf{U})$, which are obtained by translating an integral zonotope $\mathcal{Z}(\mathbf{U})$ by a rational vector \mathbf{v} . They satisfy the following analog of Stanley’s Proposition 2.1.

Proposition 3.1. *Let $\mathbf{U} \in \mathbb{Z}^d$ be a finite set of integer vectors and $\mathbf{v} \in \mathbb{Q}^d$ be a rational vector. Then the Ehrhart quasipolynomial of the almost integral zonotope $\mathbf{v} + \mathcal{Z}(\mathbf{U})$ equals*

$$\text{ehr}_{\mathbf{v} + \mathcal{Z}(\mathbf{U})}(t) = \sum_{\substack{\mathbf{W} \subseteq \mathbf{U} \\ \text{lin. indep.}}} \chi_{\mathbf{W}}(t) \text{vol}(\mathbf{W}) t^{|\mathbf{W}|}$$

where

$$\chi_{\mathbf{W}}(t) := \begin{cases} 1 & \text{if } (t\mathbf{v} + \text{span}(\mathbf{W})) \cap \mathbb{Z}^d \neq \emptyset, \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases}$$

Proof. The zonotope $t(\mathbf{v} + \mathcal{Z}(\mathbf{U}))$ can be subdivided into lattice translates of the half-open parallelepipeds $t(\mathbf{v} + \square \mathbf{W})$ for the linearly independent subsets $\mathbf{W} \subseteq \mathbf{U}$. Let us count the lattice points in $t(\mathbf{v} + \square \mathbf{W})$; there are two cases:

1. If $t\mathbf{v} + \text{span}(\mathbf{W})$ does not intersect \mathbb{Z}^d then $|t(\mathbf{v} + \square \mathbf{W}) \cap \mathbb{Z}^d| = 0$.
2. If $t\mathbf{v} + \text{span}(\mathbf{W})$ contains a lattice point $\mathbf{u} \in \mathbb{Z}^d$, then it also contains the lattice points $\mathbf{u} + \mathbf{w}$ for all $\mathbf{w} \in \mathbf{W}$, so $\Lambda := (t\mathbf{v} + \text{span}(\mathbf{W})) \cap \mathbb{Z}^d$ is a $|\mathbf{W}|$ -dimensional lattice. Since

$t\mathbf{v} + \text{span}(\mathbf{W})$ can be tiled by integer translates of the half-open parallelepiped $t(\mathbf{v} + \square \mathbf{W})$, and that linear space contains the lattice Λ , each tile must contain $\text{vol}(t \cdot \square \mathbf{W})$ lattice points. Therefore

$$|t(\mathbf{v} + \square \mathbf{W}) \cap \mathbb{Z}^d| = \text{vol}(t \cdot \square \mathbf{W}) = \text{vol}(\square \mathbf{W})t^{|\mathbf{W}|}$$

and the desired result follows. □

In **Ardila, et al.** (To appear.), Proposition 3.1 is used to describe the equivariant Ehrhart theory of the permutahedron and prove a series of conjectures due to **Stapledon** (2011) in this special case.

4 Classical root systems, signed graphs and Ehrhart functions

We will express the Ehrhart quasipolynomials of the classical Coxeter permutahedra in terms of the combinatorics of signed graphs. These objects originated in the social sciences and have found applications also in biology, physics, computer science, and economics; they are a very useful combinatorial model for the classical root systems. See **Zaslavsky** (1998) for a comprehensive bibliography.

4.1 Signed graphs as a model for classical root systems

A **signed graph** $G = (\Gamma, \sigma)$ consists of a graph $\Gamma = (V, E)$ and a signature $\sigma \in \{\pm\}^E$. The underlying graph Γ may have multiple edges, loops, **halfedges** (with only one endpoint), and **loose edges** (with no endpoints); the latter two have no signs. For the applications we have in mind, we may assume that G has no loose edges and no repeated signed edges; we do allow G to have two parallel edges with opposite signs.

A signed graph $G = (\Gamma, \sigma)$ is **balanced** if each cycle has an even number of negative edges. An unsigned graph can be realized by a signed graph all of whose edges are labelled with +; it is automatically balanced.

Continuing a well-established dictionary **Zaslavsky** (1981), we encode a subset $S \subseteq \Phi^+$ of positive roots of one of the classical root systems $\Phi \in \{A_{n-1}, B_n, C_n, D_n : n \geq 1\}$ in the signed graph G_S on n nodes with

- a positive edge ij for each $\mathbf{e}_i - \mathbf{e}_j \in S$,
- a halfedge at j for each $\mathbf{e}_j \in S$, and
- a negative edge ij for each $\mathbf{e}_i + \mathbf{e}_j \in S$,
- a negative loop at j for each $2\mathbf{e}_j \in S$.

The **Φ -graphs** are the signed graphs encoding the subsets of Φ^+ . More explicitly, a signed graph is an **A_{n-1} -graph** (or simply a **graph**) if it contains only positive edges, a **B_n -graph** if it contains no loops, a **C_n -graph** if it contains no halfedges, and a **D_n -graph** if it contains neither halfedges nor loops. For a Φ -graph G , we let $\Phi_G \subseteq \Phi^+$ be the corresponding set of positive roots of Φ .

It will be important to understand which subsets of Φ^+ are linearly independent; to this end we make the following definitions.

- A (signed) **tree** is a connected (signed) graph with no cycles, loops, or halfedges.
- A (signed) **halfedge-tree** is a connected (signed) graph with no cycles or loops, and a single halfedge.
- A (signed) **loop-tree** is a connected (signed) graph with no cycles or halfedges, and a single loop.
- A (signed) **pseudotree** is a connected (signed) graph with no loops or halfedges that contains a single cycle (which is unbalanced).

- A **signed pseudoforest** is a signed graph whose connected components are signed trees, signed halfedge-trees, signed loop-trees, or signed pseudotrees.
<https://es.overleaf.com/project/5fd18252974026462556094e>
- A **Φ -forest** is a signed pseudoforest that is also Φ -graph for each of the root systems $\Phi \in \{A_{n-1}, B_n, C_n, D_n : n \geq 1\}$.
- A **Φ -tree** is a connected Φ -forest for $\Phi \in \{A_{n-1}, B_n, C_n, D_n : n \geq 1\}$.

In particular the A_{n-1} -pseudoforests are the forests on $[n] := \{1, 2, \dots, n\}$. For a signed pseudoforest G , we let $tc(G)$, $hc(G)$, $lc(G)$, and $pc(G)$ be the number of tree components, halfedge-tree components, loop-tree components, and pseudotree components, respectively.

In this language, we recall and expand on results by **Zaslavsky** (1982) and **Ardila, et al.** (2015) on the arithmetic matroids of the classical root systems. Recall that for a linearly independent set $\mathbf{W} \subset \mathbb{Z}^n$, we write $\text{vol}(\mathbf{W})$ for the relative volume of the parallelepiped $\mathcal{L}(\mathbf{W})$ generated by \mathbf{W} .

Proposition 4.1. *Ardila, et al. (2015); Zaslavsky (1982) Let $\Phi \in \{A_{n-1}, B_n, C_n, D_n\}$ be a root system. The independent subsets of Φ^+ are the sets Φ_G for the Φ -forests G on $[n]$. For each such G ,*

$$|\Phi_G| = n - tc(G) \quad \text{and} \quad \text{vol}(\Phi_G) = 2^{pc(G)+lc(G)}.$$

4.2 Ehrhart quasipolynomials of standard Coxeter permutahedron of classical type

We also define the **integral Coxeter permutahedron**

$$\Pi^{\mathbb{Z}}(\Phi) := \sum_{\alpha \in \Phi^+} [0, \alpha].$$

This is a translate of the standard Coxeter permutahedron $\Pi(\Phi)$ which is an integral polytope for all Φ . Its Ehrhart theory was computed in **Ardila, et al.** (2015). This is sometimes, but not always, the same as the Ehrhart theory of $\Pi(\Phi)$, as we will see in this section, particularly in Theorem 4.3.

It follows from the description in Section 1.2 that the standard Coxeter permutahedron $\Pi(\Phi)$ is an integral polytope precisely for $\Phi \in \{A_{n-1} : n \geq 1 \text{ odd}\} \cup \{C_n : n \geq 1\} \cup \{D_n : n \geq 1\}$. It is shifted $\frac{1}{2}\mathbf{1} := \frac{1}{2}(\mathbf{e}_1 + \dots + \mathbf{e}_n)$ away from being integral for $\Phi \in \{A_{n-1} : n \geq 2 \text{ even}\} \cup \{B_n : n \geq 1\}$.

Proposition 4.2. *Let $\Phi \in \{A_{n-1} : n \geq 2 \text{ even}\} \cup \{B_n : n \geq 1\}$. For a Φ -forest G , the affine subspace $\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G)$ contains lattice points if and only if every (signed or unsigned) tree component of G has an even number of vertices.*

Proof. Let G_1, \dots, G_k be the connected components of G , on vertex sets V_1, \dots, V_k , respectively. Along the decomposition $\mathbb{R}^n = \mathbb{R}^{V_1} \oplus \dots \oplus \mathbb{R}^{V_k}$, we have

$$\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G) = \sum_{i=1}^k \frac{1}{2}\mathbf{1}_{V_i} + \text{span}(\Phi_{G_i})$$

where $\mathbf{1}_V := \sum_{i \in V} \mathbf{e}_i$ for $V \subseteq [n]$. Therefore $\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G)$ contains a lattice point in \mathbb{Z}^n if and only if $\frac{1}{2}\mathbf{1}_{V_i} + \text{span}(\Phi_{G_i})$ contains a lattice point in \mathbb{Z}^{V_i} for every $1 \leq i \leq k$. For this reason, it suffices to prove the proposition for Φ -trees.

For every labeling $\lambda \in \mathbb{R}^{E(G)}$ of the edges of G with scalars, we will write

$$\mathbf{v}_G(\lambda) := \frac{1}{2}\mathbf{1} + \sum_{s \in E(G)} \lambda_s \mathbf{s}. \tag{4.1}$$

We need to show that for a Φ -tree G , there exists $\lambda \in \mathbb{R}^{E(G)}$ with $\mathbf{v}_G(\lambda) \in \mathbb{Z}^n$ if and only if G is not a (signed or unsigned) tree with an odd number of vertices. We proceed by cases.

(i) **Trees:** Let $G = ([n], E)$ be a tree. If

$$\mathbf{v}_G(\lambda) := \frac{1}{2}\mathbf{1} + \sum_{ij \in E(G)} \lambda_{ij} (\mathbf{e}_i - \mathbf{e}_j) \tag{4.2}$$

is a lattice point for some choice of scalars $\lambda = (\lambda_{ij})_{ij \in E}$, then the sum of the coordinates of $\mathbf{v}_G(\lambda)$ —which ought to be an integer—equals $\frac{1}{2}n$. Therefore n is even.

Conversely, suppose n is even. For each edge $e = ij$ of G , let

$$\lambda_{ij} = \begin{cases} 0 & \text{if } G - e \text{ consists of two subgraphs with an even number of vertices each, and} \\ \frac{1}{2} & \text{if } G - e \text{ consists of two subgraphs with an odd number of vertices each.} \end{cases}$$

We claim that $\mathbf{v}_G(\lambda)$, as defined in (4.2), is an integer vector. To see this, consider any vertex $1 \leq m \leq n$ and suppose that when we remove m and its adjacent edges, we are left with subtrees with vertex sets V_1, \dots, V_k . Then

$$\mathbf{v}_G(\lambda)_m \equiv \frac{1}{2} + \frac{1}{2}(\text{number of } 1 \leq i \leq k \text{ such that } |V_i| \text{ is odd}) \pmod{1},$$

and this is an integer since $\sum_{i=1}^k |V_i| = n - 1$ is odd.

We conclude that for a tree G , the affine subspace $\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G)$ contains lattice points if and only if G has an even number of vertices, as desired.

(ii) **Signed trees:** Given a subset $S \subseteq B_n = \{\pm\mathbf{e}_i \pm \mathbf{e}_j : 1 \leq i < j \leq n\} \cup \{\pm\mathbf{e}_i : 1 \leq i \leq n\}$, we define the **vertex switching** S_m of S at a vertex $1 \leq m \leq n$ to be obtained by changing the sign of each occurrence of \mathbf{e}_m in an element of S . Notice that the effect of this transformation on the expression

$$\frac{1}{2}\mathbf{1} + \sum_{\mathbf{s} \in S} \lambda_s \mathbf{s}$$

is simply to change the m th coordinate from $\frac{1}{2} + a$ to $\frac{1}{2} - a$; this does not affect integrality.

Similarly, define the **edge switching** $S_{\mathbf{b}}$ of S at $\mathbf{b} \in S$ to be obtained by changing the sign of \mathbf{b} in S . Notice that

$$\frac{1}{2}\mathbf{1} + \sum_{\mathbf{s} \in S} \lambda_s \mathbf{s} = \frac{1}{2}\mathbf{1} + \sum_{\mathbf{s} \in S_{\mathbf{b}}} \lambda'_s \mathbf{s}$$

where λ' is obtained from λ by switching the sign of λ_s .

We conclude that vertex and edge switching a subset $S \subseteq B_n$ does not affect whether $\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(S)$ intersects the lattice \mathbb{Z}^n . Now, it is known **Zaslavsky** (1982) that for any balanced signed graph G there is an ordinary graph H such that Φ_G can be obtained from Φ_H by vertex and edge switching. In particular—as can also be checked directly—any signed tree G can be turned into an unsigned tree H in this way. Invoking case (i) for the tree H , we conclude that for a signed tree G , $\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G)$ contains lattice points if and only if G has an even number of vertices.

(iii) **Signed halfedge-trees:** Let G be a signed halfedge tree. We need to show that $\frac{1}{2}\mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G)$ contains a lattice point. Let h be the halfedge. There are two cases:

a. If n is even, we can label the edges \mathbf{s} of $G^- := G - h$ with scalars $\lambda_{\mathbf{s}}$ in such a way that $\mathbf{v}_{G^-}(\lambda|_{G^-}) \in \mathbb{Z}^n$, in view of (ii). Setting the weight of the halfedge $\lambda_h = 0$ we obtain $\mathbf{v}_G(\lambda|_G) = \mathbf{v}_{G^-}(\lambda|_{G^-}) \in \mathbb{Z}^n$, as desired.

b. If n is odd, let G^+ be the signed tree obtained by turning the halfedge h into a full edge h^+ , going to a new vertex $n + 1$. Using (ii), we can label the edges \mathbf{s} of G^+ with scalars $\lambda_{\mathbf{s}}$ such that $\mathbf{v}_{G^+}(\lambda|_{G^+}) \in \mathbb{Z}^{n+1}$. Setting the weight of the halfedge h in G to be $\lambda_h = \lambda_{h^+}$, we obtain that $\mathbf{v}_G(\lambda|_G)$ is obtained from $\mathbf{v}_{G^+}(\lambda|_{G^+})$ by dropping the last coordinate; therefore $\mathbf{v}_G(\lambda|_G) \in \mathbb{Z}^n$ as desired.

(iv) **Signed pseudotrees:** Let G be a signed pseudotree. We need to find scalars $\lambda_{\mathbf{s}}$ such that $\mathbf{v}_G(\lambda)$ is a lattice vector. Assume, without loss of generality, that its unique (unbalanced) cycle C is formed by the vertices $1, \dots, m$ in that order. Let T_1, \dots, T_k be the subtrees of G hanging from cycle C ; say T_i is rooted at the vertex a_i , where $1 \leq a_i \leq m$, and let \mathbf{s}_i be the edge of T_i connected to a_i . We find the scalars $\lambda_{\mathbf{s}}$ in three steps.

1. Thanks to (ii), for each tree T_i with an even number of vertices, we can label its edges \mathbf{s} with scalars $\lambda_{\mathbf{s}}$ such that

$$\mathbf{v}_{T_i}(\lambda|_{T_i}) \in \mathbb{Z}^{V_i}.$$

2. For each tree T_i with an odd number of vertices, we can label the edges \mathbf{s} of $T_i - \mathbf{s}_i$ with scalars $\lambda_{\mathbf{s}}$ such that $\mathbf{v}_{T_i - \mathbf{s}_i}(\lambda|_{T_i - \mathbf{s}_i}) = \frac{1}{2} \mathbf{1}_{V_i - a_i} + \sum_{\mathbf{s} \in E(T_i) - \mathbf{s}_i} \lambda_{\mathbf{s}} \mathbf{s} \in \mathbb{Z}^{V_i - a_i}$. Setting $\lambda_{\mathbf{s}_i} = 0$, we obtain

$$\mathbf{v}_{T_i}(\lambda|_{T_i}) \in (\frac{1}{2} \mathbf{e}_{a_i} + \mathbb{Z}^{V_i}).$$

3. It remains to choose the scalars $\lambda_{12}, \dots, \lambda_{m1}$ corresponding to the edges of the cycle C . Since $E(G)$ is the disjoint union of $E(C)$ and the $E(T_i)$ s, we have

$$\mathbf{v}_G(\lambda) = \mathbf{v}_C(\lambda|_C) + \sum_{i=1}^k \mathbf{v}_{T_i}(\lambda|_{T_i}) + \mathbf{u}, \quad \text{where} \quad \mathbf{u} = \frac{1}{2} \left(\mathbf{1} - \mathbf{1}_{[m]} - \sum_{i=1}^k \mathbf{1}_{V_i} \right) \in \mathbb{R}^m$$

is supported on the vertices $[m] = \{1, \dots, m\}$ of the cycle C . Therefore, $\mathbf{v}_G(\lambda) \in \mathbb{Z}^n$ if and only if we have $\mathbf{v}_C(\lambda|_C) + \mathbf{t} \in \mathbb{Z}^m$, where $\mathbf{t} := \mathbf{u} + \frac{1}{2} \sum_{i: |V_i| \text{ even}} \mathbf{e}_{a_i}$. We rewrite this condition as

$$\lambda_{12}(\mathbf{e}_1 - \sigma_1 \mathbf{e}_2) + \lambda_{23}(\mathbf{e}_2 - \sigma_2 \mathbf{e}_3) + \dots + \lambda_{m1}(\mathbf{e}_m - \sigma_m \mathbf{e}_1) + \mathbf{t} \in \mathbb{Z}^m, \quad (4.3)$$

where σ_i is the sign of edge connecting i and $i + 1$ in C ; this is equivalent to the following system of equations modulo 1:

$$\lambda_{12} \equiv \lambda_{m1} \sigma_m - t_1, \quad \lambda_{23} \equiv \lambda_{12} \sigma_1 - t_2, \quad \dots, \quad \lambda_{m1} \equiv \lambda_{m-1,m} \sigma_{m-1} - t_m \pmod{1}. \quad (4.4)$$

Solving for λ_{12} gives $\lambda_{12} \equiv \sigma_1 \cdots \sigma_m \lambda_{m1} + a$ for a scalar a . Since the cycle C is unbalanced, $\sigma_1 \cdots \sigma_m = -1$, so this equation has the solution $\lambda_{12} \equiv a/2 \pmod{1}$ ¹. Using (4.4), we can then successively compute the values of $\lambda_{23}, \dots, \lambda_{m1}$, guaranteeing that (4.3) holds. In turn, this produces a lattice point $\mathbf{v}_G(\lambda) \in \frac{1}{2} \mathbf{1} + \text{span}(\Phi_G)$, as desired. \square

Theorem 4.3. *Let $\mathcal{F}(\Phi)$ be the set of Φ -forests, and $\mathcal{E}(\Phi) \subseteq \mathcal{F}(\Phi)$ be the set of Φ -forests such that every (signed) tree component has an even number of vertices.*

1. *The Ehrhart polynomials of the integral Coxeter permutahedra $\Pi^{\mathbb{Z}}(\Phi)$ are*

$$\text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(\Phi)}(t) = \sum_{G \in \mathcal{E}(\Phi)} 2^{\text{pc}(G) + \text{lc}(G)} t^{n - \text{tc}(G)}.$$

¹In fact it has exactly two solutions $\lambda_{12} \equiv a/2 \pmod{1}$ and $\lambda_{12} \equiv (1 + a)/2 \pmod{1}$, explaining why we have $\text{vol}(\Phi_G) = 2$ in this case.

2. For $\Phi \in \{A_{n-1} : n \geq 2 \text{ even}\} \cup \{B_n : n \geq 1\}$, the Ehrhart quasipolynomials of the standard Coxeter permutahedra $\Pi(\Phi)$ are

$$\text{ehr}_{\Pi(\Phi)}(t) = \begin{cases} \sum_{G \in \mathcal{F}(\Phi)} 2^{\text{pc}(G)} t^{n-\text{tc}(G)} & \text{if } t \text{ is even,} \\ \sum_{G \in \mathcal{E}(\Phi)} 2^{\text{pc}(G)} t^{n-\text{tc}(G)} & \text{if } t \text{ is odd.} \end{cases}$$

For $\Phi \in \{A_{n-1} : n \geq 1 \text{ odd}\} \cup \{C_n : n \geq 1\} \cup \{D_n : n \geq 1\}$, we have $\text{ehr}_{\Pi(\Phi)}(t) = \text{ehr}_{\Pi^z(\Phi)}(t)$.

Proof. This is the result of applying Proposition 3.1 to these zonotopes, taking into account Propositions 4.1 and 4.2, and the fact that Φ -forests of type A and B contain no loop components. □

5 Explicit formulas: the generating functions

In this section, we compute the generating functions for the Ehrhart (quasi)polynomials of the Coxeter permutahedra of the classical root systems. We will express them in terms of the **Lambert W function**

$$W(x) = \sum_{n \geq 1} (-n)^{n-1} \frac{x^n}{n!}.$$

As a function of a complex variable x , this is the principal branch of the inverse function of xe^x . It satisfies

$$W(x)e^{W(x)} = x.$$

Combinatorially, $-W(-x)$ is the exponential generating function for $r_n = n^{n-1}$, the number of rooted trees (T, r) on $[n]$, where T is a tree on $[n]$ and r is a special vertex called the **root** (Stanley, 1999, Proposition 5.3.2).

To compute the generating functions of the Ehrhart (quasi)polynomials that interest us, we first need some enumerative results on trees.

5.1 Tree enumeration

Proposition 5.1. *The enumeration of (signed) trees, (signed) pseudotrees, signed halfedge-trees, and signed loop-trees is given by the following formulas.*

1. The number of trees on $[n]$ is $t_n = n^{n-2}$. The exponential generating function for this sequence is

$$T(x) := \sum_{n \geq 1} n^{n-2} \frac{x^n}{n!} = -W(-x) - \frac{1}{2}W(-x)^2.$$

2. The number of pseudotrees on $[n]$ is p_n , where

$$P(x) := \sum_{n \geq 1} p_n \frac{x^n}{n!} = \frac{1}{2}W(-x) - \frac{1}{4}W(-x)^2 - \frac{1}{2}\log(1 + W(-x)).$$

3. The number of signed trees on $[n]$ is $st_n = 2^{n-1}n^{n-2}$. The exponential generating function for this sequence is

$$ST(x) := \sum_{n \geq 1} 2^{n-1}n^{n-2} \frac{x^n}{n!} = -\frac{1}{2}W(-2x) - \frac{1}{4}W(-2x)^2.$$

4. The number of signed pseudotrees on $[n]$ is sp_n , where

$$SP(x) := \sum_{n \geq 1} sp_n \frac{x^n}{n!} = \frac{1}{4}W(-2x) - \log(1 + W(-2x)).$$

5. The number of signed half-edge trees on $[n]$ and of signed loop-trees is $sh_n = sl_n = (2n)^{n-1}$. The exponential generating function for this sequence is

$$SH(x) = SL(x) := \sum_{n \geq 1} (2n)^{n-1} \frac{x^n}{n!} = -\frac{1}{2}W(-2x).$$

Proof. We begin by remarking that most of these formulas were obtained by Vladeta Jovovic and posted without proof in entries A000272, A057500, A097629, A320064, and A052746 of the Online Encyclopedia of Integer Sequences **Sloane** (n.d.). For completeness, we provide proofs.

1. The formula for t_n is well known and due to Cayley; see for example (**Stanley**, 1999, Proposition 5.3.2). Now, by the multiplicative formula for exponential generating functions (**Stanley**, 1999, Proposition 5.1.1), $W(-x)^2/2$ is the generating function for pairs of rooted trees (T_1, r_1) and (T_2, r_2) , the disjoint union of whose vertex sets is $[n]$. By adding an edge between r_1 and r_2 , we see that this is equivalent to having a single tree with a special chosen edge $r_1 r_2$; there are $n^{n-2}(n-1)$ such objects. Therefore

$$\frac{1}{2}W(-x)^2 = \sum_{n \geq 0} n^{n-2}(n-1) \frac{x^n}{n!} = -W(-x) - T(x),$$

proving the desired generating function.

2. A pseudotree on $[n]$ is equivalent to a choice of rooted trees $(T_1, r_1), \dots, (T_k, r_k)$, the union of whose vertex sets is $[n]$, together with a choice of an undirected cyclic order on r_1, \dots, r_n — or equivalently, an undirected cyclic order on those trees. Since the exponential function for rooted trees and for undirected cyclic orders are $-W(-x)$ and

$$x + \frac{x^2}{2} + \sum_{n \geq 3} \frac{(n-1)!}{2} \frac{x^n}{n!} = \frac{x}{2} + \frac{x^2}{4} + \frac{1}{2} \log(1-x),$$

respectively, the desired result follows by the compositional formula for exponential generating functions.

3. There are 2^{n-1} choices of signs for a tree on $[n]$, so we have $st_n = 2^{n-1}t_n$. Combining with 1. gives the desired formulas.

4. Each pseudotree on $[n]$ can be given 2^n different edge sign patterns, half of which will lead to an unbalanced cycle; this leads to $2^{n-1}p_n$ signed pseudotrees. This accounts for all signed pseudotrees, except for the ones containing a 2-cycle. We obtain such an object by starting with a signed tree, choosing one of its edges, and inserting the same edge with the opposite sign. This counts each such object twice, so the total number of them is $st_n(n-1)/2$. It follows that $sp_n = 2^{n-1}p_n + st_n(n-1)/2$, from which the desired formulas follow using 2. and 3.

5. A signed half-edge tree (or a signed loop-tree) is obtained from a signed tree by choosing the vertex where we will attach the half-edge (or loop). Thus $sh_n = sl_n = n \cdot st_n = (2n)^{n-1}$. The exponential generating function follows directly from the definition of $W(x)$. \square

5.2 Generating functions of Ehrhart (quasi)polynomials of Coxeter permutahedra

Theorem 5.2. *The generating functions for the Ehrhart polynomials of the integral Coxeter permutahedra of the classical root systems are:*

$$\begin{aligned}
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(A_{n-1})}(t) \frac{x^n}{n!} &= \exp\left(-\frac{1}{t}W(-tx) - \frac{1}{2t}W(-tx)^2\right), \\
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(B_n)}(t) \frac{x^n}{n!} &= \exp\left(-\frac{1}{2t}W(-2tx) - \frac{1}{4t}W(-2tx)^2\right) / \sqrt{1+W(-2tx)}, \\
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(C_n)}(t) \frac{x^n}{n!} &= \exp\left(\frac{-t-1}{2t}W(-2tx) - \frac{1}{4t}W(-2tx)^2\right) / \sqrt{1+W(-2tx)}, \\
 1 + x + \sum_{n \geq 2} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(D_n)}(t) \frac{x^n}{n!} &= \exp\left(\frac{t-1}{2t}W(-2tx) - \frac{1}{4t}W(-2tx)^2\right) / \sqrt{1+W(-2tx)}.
 \end{aligned}$$

Proof. Theorem 4.3.1 tells us that these exponential generating functions can be understood as enumerating various families of (pseudo)forests, weighted by their various types of connected components. The compositional formula for exponential generating functions (Stanley, 1999, Theorem 5.1.4) then expresses them in terms of the exponential generating functions for each type of connected component.

For example, in type A there are only tree components, so

$$\begin{aligned}
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(A_{n-1})}(t) \frac{x^n}{n!} &= \sum_{n \geq 0} \sum_{\substack{\text{forests} \\ G \text{ on } [n]}} t^{n-\text{tc}(G)} \frac{x^n}{n!} \\
 &= \sum_{n \geq 0} \sum_{\substack{\text{forests} \\ G \text{ on } [n]}} \left(\frac{1}{t}\right)^{\text{tc}(G)} \frac{(tx)^n}{n!} \\
 &= \exp\left(\frac{1}{t} \sum_{n \geq 0} \sum_{\substack{\text{trees} \\ T \text{ on } [n]}} \frac{(tx)^n}{n!}\right) \\
 &= \exp\left(\frac{1}{t}T(tx)\right) \\
 &= \exp\left(-\frac{1}{t}W(-tx) - \frac{1}{2t}W(-tx)^2\right)
 \end{aligned}$$

by Proposition 5.1.1.

Similarly, for the other types we have

$$\begin{aligned}
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(B_n)}(t) \frac{x^n}{n!} &= \sum_{n \geq 0} \sum_{\substack{B\text{-forests} \\ G \text{ on } [n]}} 2^{\text{pc}(G)} t^{n-\text{tc}(G)} \frac{x^n}{n!} \\
 &= \sum_{n \geq 0} \sum_{\substack{B\text{-forests} \\ G \text{ on } [n]}} 2^{\text{pc}(G)} \left(\frac{1}{t}\right)^{\text{tc}(G)} 1^{\text{hc}(G)} \frac{(tx)^n}{n!} \\
 &= \exp\left(2SP(tx) + \frac{1}{t}ST(tx) + SH(tx)\right)
 \end{aligned}$$

and, analogously,

$$1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(C_n)}(t) \frac{x^n}{n!} = \exp\left(2SP(tx) + \frac{1}{t}ST(tx) + 2SL(tx)\right),$$

$$1 + x + \sum_{n \geq 2} \text{ehr}_{\Pi^{\mathbb{Z}}(D_n)}(t) \frac{x^n}{n!} = \exp\left(2SP(tx) + \frac{1}{t}ST(tx)\right).$$

Carefully substituting the formulas in Proposition 5.1, we obtain the desired results. □

Using the formulas in Theorem 5.2 and suitable mathematical software, one easily computes the following table of Ehrhart polynomials. The reader may find it instructive to compare this with the analogous table in (Ardila, et al. 2015, Section 6), which lists the Ehrhart polynomials with respect to the weight lattice of each root system. The tables coincide only in type C, which is the only classical type where the weight lattice is \mathbb{Z}^n .

Φ	Ehrhart polynomial of $\Pi^{\mathbb{Z}}(\Phi^+)$
A_0	1
A_1	$1 + t$
A_2	$1 + 3t + 3t^2$
A_3	$1 + 6t + 15t^2 + 16t^3$
B_1	$1 + t$
B_2	$1 + 4t + 7t^2$
B_3	$1 + 9t + 39t^2 + 87t^3$
B_4	$1 + 16t + 126t^2 + 608t^3 + 1553t^4$
C_1	$1 + 2t$
C_2	$1 + 6t + 14t^2$
C_3	$1 + 12t + 66t^2 + 172t^3$
C_4	$1 + 20t + 192t^2 + 1080t^3 + 3036t^4$
D_2	$1 + 2t + 2t^2$
D_3	$1 + 6t + 18t^2 + 32t^3$
D_4	$1 + 12t + 72t^2 + 280t^3 + 636t^4$

Table 1. Ehrhart polynomials of integral Coxeter permutahedra.

Theorem 5.3. *The generating function for the odd part of the Ehrhart quasipolynomials of the non-integral standard Coxeter permutahedra are the following. For t odd,*

$$1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi(A_{2n-1})}(t) \frac{x^{2n}}{(2n)!} = \exp\left(-\frac{W(-tx) + W(tx)}{2t} - \frac{W(-tx)^2 + W(tx)^2}{4t}\right)$$

$$1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi(B_n)}(t) \frac{x^n}{n!} = \frac{\exp\left(-\frac{W(-2tx) + W(2tx)}{4t} - \frac{W(-2tx)^2 + W(2tx)^2}{8t}\right)}{\sqrt{1 + W(-2tx)}}$$

Proof. We carry out similar computations as for Theorem 5.2. This requires us to observe that the generating functions for even trees and even signed trees are

$$T_{\text{even}}(x) := \sum_{n \geq 0} t_{2n} \frac{x^{2n}}{n!} = \frac{1}{2}(T(x) + T(-x)),$$

$$ST_{\text{even}}(x) := \sum_{n \geq 0} st_{2n} \frac{x^{2n}}{n!} = \frac{1}{2}(ST(x) + ST(-x)).$$

Now, in light of Theorem 4.3.2, and analogously to the proof of Theorem 5.2, we have

$$\begin{aligned}
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi(A_{2n-1})}(t) \frac{x^{2n}}{(2n)!} &= \exp\left(\frac{1}{t} T_{\text{even}}(tx)\right) \\
 &= \exp\left(\frac{1}{2t} T(tx) + \frac{1}{2t} T(-tx)\right)
 \end{aligned}$$

and

$$\begin{aligned}
 1 + \sum_{n \geq 1} \text{ehr}_{\Pi(B_n)}(t) \frac{x^n}{n!} &= \exp\left(2SP(tx) + \frac{1}{t} ST_{\text{even}}(tx) + 2SL(tx)\right) \\
 &= \exp\left(2SP(tx) + \frac{1}{2t} ST(tx) + \frac{1}{2t} ST(-tx) + 2SL(tx)\right),
 \end{aligned}$$

which give the desired results using Proposition 5.1. □

Using these formulas, and combining them with Table 1, one computes the following table of Ehrhart quasipolynomials.

Φ	Ehrhart quasipolynomial of $\Pi(\Phi^+)$
A_1	$\begin{cases} 1+t & \text{for } t \text{ even} \\ t & \text{for } t \text{ odd} \end{cases}$
A_3	$\begin{cases} 1+6t+15t^2+16t^3 & \text{for } t \text{ even} \\ 3t^2+16t^3 & \text{for } t \text{ odd} \end{cases}$
B_1	$\begin{cases} 1+t & \text{for } t \text{ even} \\ t & \text{for } t \text{ odd} \end{cases}$
B_2	$\begin{cases} 1+4t+7t^2 & \text{for } t \text{ even} \\ 2t+7t^2 & \text{for } t \text{ odd} \end{cases}$
B_3	$\begin{cases} 1+9t+39t^2+87t^3 & \text{for } t \text{ even} \\ 6t^2+87t^3 & \text{for } t \text{ odd} \end{cases}$
B_4	$\begin{cases} 1+16t+126t^2+608t^3+1553t^4 & \text{for } t \text{ even} \\ 12t^2+212t^3+1553t^4 & \text{for } t \text{ odd} \end{cases}$

Table 2. Ehrhart quasipolynomials of the non-integral standard Coxeter permutahedra.

The reader may find it instructive to count the lattice points in the polygons of figure 1, and compare those numbers with the predictions given by tables 1 and 2.

6 Acknowledgments

Some of the results of this paper are part of the Master’s theses of JM at San Francisco State University, under the supervision of FA and MB **McWhirter** (2019). We would like to thank Mariel Supina and Andrés Vindas–Meléndez for valuable discussions, and Jean-Philippe Labbé for checking our computations of the Ehrhart (quasi)polynomials of tables 1 and 2. This paper was written while FA was on sabbatical at the Universidad de Los Andes in Bogotá. He thanks Los Andes for their hospitality and SFSU and the Simons Foundation for their financial support. He was supported by National Science Foundation grant DMS-1855610 and Simons Fellowship 613384.

References

- Ardila, F., Castillo, F., Eur, C., & Postnikov, A.** (2020). Coxeter submodular functions and deformations of Coxeter permutahedra. *Adv. Math.* **365**: 107039.
- Ardila, F., Castillo, F., & Henley, M.** (2015). The arithmetic Tutte polynomials of the classical root systems. *International Mathematics Research Notices*. **2015** (12): 3830-3877.
- Ardila, F., Supina, M., & Vindas-Meléndez, A. R.** (To appear). The equivariant Ehrhart theory of the permutahedron. *Proceedings of the American Mathematical Society*. (arXiv:1911.11159)
- Bárány, I., & Füredi, Z.** (1987). Computing the volume is difficult. *Discrete & Computational Geometry*. **2** (4): 319-326.
- Beck, M., & Robins, S.** (2015). *Computing the Continuous Discretely: Integer-point Enumeration in Polyhedra* (Second ed.). Springer, New York. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-2969-6> (electronically available at <http://math.sfsu.edu/beck/ccd.html>) doi: 10.1007/978-1-4939-2969-6
- Coxeter, H. S. M.** (1973). *Regular Polytopes*. Courier Corporation.
- De Concini, C., & Procesi, C.** (2008). The zonotope of a root system. *Transform. Groups*. **13** (3-4): 507-526.
- Deza, A., Manoussakis, G., & Onn, S.** (2018). Primitive zonotopes. *Discrete Comput. Geom.* **60** (1): 27-39.
- Dyer, M. E., & Frieze, A. M.** (1988). On the complexity of computing the volume of a polyhedron. *SIAM Journal on Computing*. **17** (5): 967-974.
- Ehrhart, E.** (1962). Sur les polyèdres rationnels homothétiques à n dimensions. *C. R. Acad. Sci. Paris*. **254**: 616-618.
- Fukuda, K.** (2008). Software package cdd. (Electronically available at <http://www.ifor.math.ethz.ch/fukuda/>)
- Humphreys, J. E.** (1978). *Introduction to Lie Algebras and Representation Theory* (Vol. 9). Springer-Verlag, New York-Berlin. (Second printing, revised)
- Humphreys, J. E.** (1990). *Reflection Groups and Coxeter Groups* (Vol. 29). Cambridge University Press, Cambridge. Retrieved from <https://doi.org/10.1017/CBO9780511623646> doi: 10.1017/CBO9780511623646
- McWhirter, J.** (2019). *Ehrhart quasipolynomials of Coxeter permutahedra* (Master's thesis, San Francisco State University). <https://sfsu-dspace.calstate.edu/bitstream/handle/10211.3/213961/AS362019MATHM39.pdf?sequence=1>.
- Shephard, G. C.** (1974). Combinatorial properties of associated zonotopes. *Canad. J. Math.* **26** (2): 302-321.
- Sloane, N.** (n.d.). *The On-Line Encyclopedia of Integer Sequences*. (published electronically at <http://oeis.org>, 2014)
- Stanley, R. P.** (1991). A zonotope associated with graphical degree sequences. In *Applied geometry and discrete mathematics* (Vol. 4, pp. 555-570). Providence, RI: Amer. Math. Soc.
- Stanley, R. P.** (1999). *Enumerative Combinatorics. Volume 2* (Vol. 62). Cambridge: Cambridge University Press. (With a foreword by Gian-Carlo Rota and appendix 1 by Sergey Fomin)
- Stapledon, A.** (2011). Equivariant Ehrhart theory. *Advances in Mathematics*. **226** (4): 3622-3654.
- Zaslavsky, T.** (1981). The geometry of root systems and signed graphs. *Amer. Math. Monthly*. **88** (2): 88-105.
- Zaslavsky, T.** (1982). Signed graphs. *Discrete Appl. Math.* **4** (1): 47-74.
- Zaslavsky, T.** (1998). A mathematical bibliography of signed and gain graphs and allied areas. *Electron. J. Combin.* **5**. Dynamic Surveys 8, 124 pp. (Electronically available at <http://www.math.binghamton.edu/zaslav/Bsg/index.html>)

Original article

On the splitting rate of a tower of Artin-Schreier type

Sobre la tasa de descomposición de una torre de tipo Artin-Schreier

Horacio Navarro

Departamento de Matemáticas, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Abstract

In this note we study the asymptotic behaviour of the number of rational places in a tower of function fields of Artin-Schreier type over a finite field with 2^s elements, where $s > 0$ is an odd integer.

Keywords: Towers of function fields; Splitting rate; Asymptotic behaviour; Number of rational places.

Resumen

En este artículo estudiamos el comportamiento asintótico del número de lugares racionales en una torre de tipo Artin-Schreier sobre un cuerpo finito con 2^s elementos, donde $s > 0$ es un entero impar.

Palabras clave: Torres de cuerpos de funciones; Tasa de descomposición; Comportamiento asintótico; Número de lugares racionales.

Introduction

Let \mathbb{F}_q be a finite field with $q = p^n$ elements, where p is a prime and $n \geq 1$ an integer. Let F/\mathbb{F}_q be an algebraic function field whose constant field is \mathbb{F}_q . (Weil, 1948) proved that the number $N = N(F)$ of rational places of F/\mathbb{F}_q is bounded by

$$N \leq q + 1 + 2g\sqrt{q},$$

where $g = g(F)$ denotes the genus of F . (Ihara, 1981) observed that the Weil bound can be improved if g is large with respect to q . In order to study how many rational places a function field F/\mathbb{F}_q of large genus can have, he introduced the function

$$A(q) := \limsup_{g \rightarrow \infty} \frac{N_q(g)}{g},$$

where

$$N_q(g) := \max \{N(F) : F \text{ is a function field over } \mathbb{F}_q \text{ of genus } g\}.$$

In the same paper he used reduction of Shimura curves to prove that $A(q) \geq \sqrt{q} - 1$ for $q = p^{2m}$. He also gave the upper bound $A(q) \leq 1/2 \sqrt{8q + 1}$ which is better than the upper bound for $A(q)$ obtained from the Weil bound. This result was improved by (Drinfel'd & Vladut, 1983) showing the inequality

$$0 \leq A(q) \leq \sqrt{q} - 1,$$

which is still the best known upper bound. Using class field theory, (Serre, 1983) showed that $A(q) > 0$ for any q . The exact value of $A(q)$ is however unknown when q is not a square. (Tsfasman, et al., 1982) showed the existence of linear codes with parameters improving the so-called Gilbert-Varshamov bound using a sequence of modular curves over \mathbb{F}_{p^2}

Citation: Navarro H. On the splitting rate of a tower of Artin-Schreier type. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1167-1173, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1140>

Editor: Luis Carlos Arboleda

***Corresponding autor:**

Horacio Navarro;
horacio.navarro@correounivalle.edu.co

Received: December 27, 2019

Accepted: October 8, 2020

Published: December 5, 2020



This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

that reaches the Drinfel'd-Vladut bound and a construction of linear codes due to Goppa. After that, the interest in the study of the quantity $A(q)$ increased. However, the techniques involved are far from being elementary and the curves (function fields) used are not explicit, which is crucial for potential applications in coding theory.

(Garcia & Stichtenoth, 1995) introduced the concept of recursive towers of function fields over finite fields, i.e., towers defined by bivariate equations $f(x, y) = 0$. However, not any $f(x, y)$ defines a tower, so a convenient choice of $f(x, y)$ must be made. The limit of a recursive tower of function fields over \mathbb{F}_q is a real non-negative real number. One can see that it is a lower bound for $A(q)$. (See section 2 for details).

While the main purpose in this theory is to construct recursive towers with positive limit to obtain non-trivial lower bounds for $A(q)$, this search can be reduced by showing when a recursive tower has limit equal to zero. According to (Garcia & Stichtenoth, 2000), a recursive tower has limit equal to zero if it is skew in the sense that the degree of the equation defining the tower is not the same in each variable. Since a tower with infinite genus has limit equal to zero, (Chara & Toledano, 2015) gave conditions to prove the infiniteness of the genus and noticed that many known examples of non-skew recursive towers with infinite genus are particular cases of these conditions. However, there is not an easy way to determine the limit of a recursive tower non-skew of finite genus.

Among the class of recursive towers there is an important one, namely the class of Artin-Schreier type towers which are recursively defined by equations of the form

$$y^p + by = f(x) \tag{1}$$

for some suitable rational function $f(x) \in \mathbb{F}_q(x)$, where $p = \text{char}(\mathbb{F}_q)$ and $0 \neq b \in \mathbb{F}_q$. (Beelen et al., 2004) gave necessary conditions on the form of $f(x)$ in order to have a tower with positive limit. Unfortunately, those conditions are not sufficient, so if one chooses one of these $f(x) \in \mathbb{F}_q(x)$ still one has to prove that the equation (1) defines a tower and also to determine the limit of the tower, which is a non-trivial task. For instance, (Ling et al., 2005) showed that the equation (1) defines a tower over \mathbb{F}_q , where

$$f(x) = \frac{1}{x^p + cx},$$

$0 \neq c \in \mathbb{F}_q$ and $c \neq b$. Moreover, adding the condition $bc(b - c)^{2p-2} = 1$ they proved that it has finite genus, but so far it has not been possible the determination of the limit of this class of towers.

In (Chara et al., 2018) was proven that sequence $\mathcal{H} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ of function fields defined by the Artin-Schreier equation

$$y^2 + y = \frac{x}{x^2 + x + 1} \tag{2}$$

is a tower with finite genus over \mathbb{F}_{2^s} for any positive integer s and it is asymptotically good when s is even. In particular, this tower reaches the Drinfeld-Vladut bound when $s = 2$. The main motivation to study this tower over \mathbb{F}_{2^s} for any s odd is that recursive towers over fields with two and three elements with positive limit are not known. The aim of this note is to show that the number of rational places of each function field F_i of the tower \mathcal{H} over \mathbb{F}_{2^s} , when s is a positive integer odd, is constant. As a consequence the tower \mathcal{H} over \mathbb{F}_{2^s} for any s odd has limit equal to zero.

1 Notations and Preliminaries

An algebraic function field F over \mathbb{F}_q is a finite algebraic extension F of the rational function field $\mathbb{F}_q(x)$, where x is a transcendental element over \mathbb{F}_q .

Let F be a function field over \mathbb{F}_q . The symbol $\mathbb{P}(F)$ stands for the set of all places of F and $g(F)$ for the genus.

Let F' be a finite extension of F and let $Q \in \mathbb{P}(F')$. We will write $Q|P$ when the place Q of F' lies over the place P of F , i.e., $P = Q \cap F$.

A tower \mathcal{F} of function fields over a finite field \mathbb{F}_q is a sequence $\mathcal{F} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ of function fields over F_i/\mathbb{F}_q satisfying the following conditions:

1. $F_i \subsetneq F_{i+1}$ for all $i \geq 0$.
2. The extension F_{i+1}/F_i is finite and separable, for all $i \geq 1$.
3. The field \mathbb{F}_q is algebraically closed in F_i , for all $i \geq 0$.
4. The genus $g(F_i) \rightarrow \infty$ as $i \rightarrow \infty$.

A tower of function field $\mathcal{F} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ over \mathbb{F}_q is called a *recursive tower* if there exist a sequence of transcendental elements $\{x_i\}_{i=0}^\infty$ over \mathbb{F}_q and a bivariate polynomial $f(x, y) \in \mathbb{F}_q[x, y]$ such that $F_0 = \mathbb{F}_q(x_0)$ and

$$F_{i+1} = F(x_i),$$

where $f(x_i, x_{i+1}) = 0$ for all $i \geq 0$. In this case we say that the tower \mathcal{F} is defined by the equation

$$f(x, y) = 0.$$

The *limit* $\lambda(\mathcal{F})$, the *splitting rate* $v(\mathcal{F})$ and the *genus* of a tower $\mathcal{F} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ over \mathbb{F}_q are defined as

$$\lambda(\mathcal{F}) := \lim_{i \rightarrow \infty} \frac{N(F_i)}{g(F_i)},$$

$$v(\mathcal{F}) := \lim_{i \rightarrow \infty} \frac{N(F_i)}{[F_i : F_0]} \quad \text{and} \quad \gamma(\mathcal{F}) := \lim_{i \rightarrow \infty} \frac{g(F_i)}{[F_i : F_0]},$$

respectively, where $N(F_i)$ denote the number of \mathbb{F}_q -rational points of F_i .

Proposition 1.1. (Stichtenoth, 2009, chap 7) Let $\mathcal{F} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ be a tower over \mathbb{F}_q . Then

- i. $0 \leq \lambda(\mathcal{F}) \leq A(q)$.
- ii. $0 \leq v(\mathcal{F}) < \infty$.
- iii. $0 < \gamma(\mathcal{F}) \leq \infty$.

A tower \mathcal{F} over \mathbb{F}_q is called *asymptotically good* if $\lambda(\mathcal{F}) > 0$, *asymptotically optimal* if $\lambda(\mathcal{F}) = A(q)$ and *asymptotically bad* if $\lambda(\mathcal{F}) = 0$.

As an immediate consequence of the Proposition 1.1 and of the definitions above, one can see that a tower \mathcal{F} over \mathbb{F}_q is asymptotically good if and only if $v(\mathcal{F}) > 0$ and $\lambda(\mathcal{F}) < \infty$.

In the following theorem we summarize the mean properties of the tower $\mathcal{H} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ defined by the equation (2).

Theorem 1.2. (Chara et al., 2018) Consider the tower \mathcal{H} over \mathbb{F}_{2^s} , where s is a positive integer.

- i. $[F_i : F_0] = 2^i$.
- ii. \mathcal{H} has finite genus.

2 The splitting rate of the tower \mathcal{H}

Throughout this section $k = \mathbb{F}_{2^s}$ will be a finite field with 2^s elements where s is an odd integer and Tr denotes the trace map from \mathbb{F}_{2^s} to \mathbb{F}_2 .

We begin with the following technical lemma.

Lemma 2.1. *Let $\theta, \beta \in k$ such that $\theta^2 + \theta = \frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1}$. Then*

$$\text{Tr}\left(\frac{\theta}{\theta^2 + \theta + 1}\right) \neq \text{Tr}\left(\frac{\theta + 1}{\theta^2 + \theta + 1}\right).$$

Proof. Suppose that

$$\text{Tr}\left(\frac{\theta}{\theta^2 + \theta + 1}\right) = \text{Tr}\left(\frac{\theta + 1}{\theta^2 + \theta + 1}\right)$$

then

$$\text{Tr}\left(\frac{1}{\theta^2 + \theta + 1}\right) = 0. \tag{3}$$

On the other hand, by hypothesis

$$\theta^2 + \theta = \frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1}$$

then

$$\frac{1}{\theta^2 + \theta + 1} = \frac{\beta^2 + \beta + 1}{\beta^2 + 1} = 1 + \frac{\beta}{\beta + 1} + \left(\frac{\beta}{\beta + 1}\right)^2.$$

Finally, since $\text{Tr}(1) = 1$ and $\text{Tr}(\alpha) = \text{Tr}(\alpha^2)$ for all $\alpha \in k$, we have

$$\text{Tr}\left(\frac{1}{\theta^2 + \theta + 1}\right) = \text{Tr}(1) + \text{Tr}\left(\frac{\beta}{\beta + 1}\right) + \text{Tr}\left(\left(\frac{\beta}{\beta + 1}\right)^2\right) = 1,$$

contradicting (3). □

Lemma 2.2. *Let F be a function field over k such that k is its full field of constants and let $x \in F \setminus k$. Consider the Artin-Schreier extensions $F_1 = F(y)$ and $F_2 = F_1(z)$ defined by the equations*

$$y^2 + y = \frac{x}{x^2 + x + 1} \quad \text{and} \quad z^2 + z = \frac{y}{y^2 + y + 1},$$

and the set

$$S = \left\{ \beta \in k : \text{Tr}\left(\frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1}\right) = 0 \right\}.$$

Then

- i. A rational place P of F such that $x(P) = \infty$ or $x(P) = \beta$ for some $\beta \in S$ splits completely in F_1 into two rational places Q_θ and $Q_{\theta+1}$ such that $y(Q_\theta) = \theta$ and $y(Q_{\theta+1}) = \theta + 1$, for some $\theta \in k$.
- ii. For each pair of rational places Q_θ and $Q_{\theta+1}$ of F_1 one and only one of them splits completely in F_2 into two rational places Q_δ and $Q_{\delta+1}$ such that $z(Q_\delta) = \delta$ and $z(Q_{\delta+1}) = \delta + 1$, for some $\delta \in k$.
- iii. The number of rational places $N(F_i)$ of F_i , $i = 1, 2$, is

$$N(F_i) = 2(|S| + 1).$$

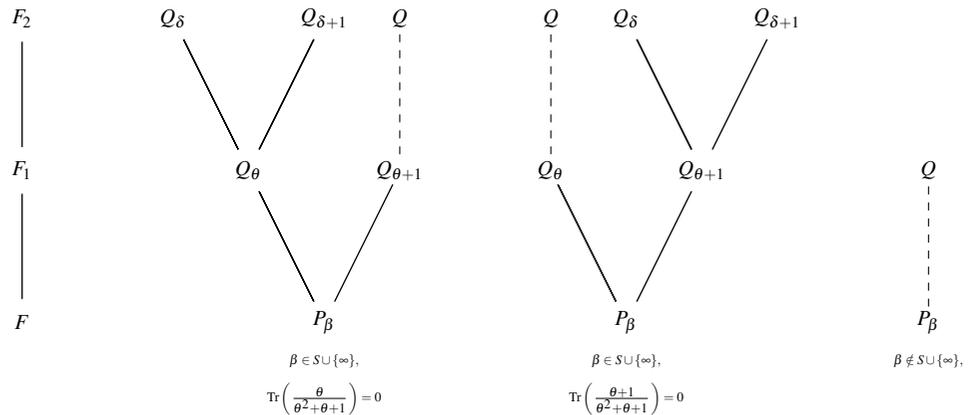


Figure 1. Behaviour of a rational place in F_2/F .

Proof. Let P be a rational place of F . Then $x(P) = \beta$ for some $\beta \in k$ or $x(P) = \infty$. We write $P := P_\beta$ or $P := P_\infty$. Since the extension F_1/F is defined by the polynomial

$$\phi = T^2 + T + \frac{x}{x^2 + x + 1} \in F[T]$$

and $\beta^2 + \beta + 1 \neq 0$ because $k = \mathbb{F}_{2^s}$ with s odd, we have that the reduction modulo P of ϕ is the polynomial

$$\phi_\beta = T^2 + T + \frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1} \in k[T],$$

in the first case, and

$$\phi_\infty = T^2 + T \in k[T],$$

in the second one. On the other hand, we know that ϕ_β is irreducible over k if and only if

$$\text{Tr}\left(\frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1}\right) = 1 \tag{4}$$

and ϕ_β splits completely over k if and only if

$$\text{Tr}\left(\frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1}\right) = 0. \tag{5}$$

Note that $\beta \notin S$ if and only if β satisfies (4). Hence, by Kummer's Theorem (Stichtenoth, 2009, Theorem 3.3.7), there is only one place of degree 2 of F_1 lying over P_β when $\beta \notin S$ (see figure 1). Now, for $\beta \in S \cup \{\infty\}$ the polynomial ϕ_β splits into two different linear factors over k . Clearly if $\theta \in k$ is a root of ϕ_β then we have that $\phi_\beta(T) = (T + \theta)(T + (\theta + 1))$. Again by Kummer's Theorem, there are exactly two rational places $Q_\theta, Q_{\theta+1}$ of $F_1 = F(y)$ lying over P_β such that $y(Q_\theta) = \theta$ and $y(Q_{\theta+1}) = \theta + 1$. This proves (i), and since a rational place of F_1 lying over a rational place of F , we also have

$$N(F_1) = 2(|S| + 1).$$

Now, consider two rational places Q_θ and $Q_{\theta+1}$ of F_1 , for some $\theta \in k$. For the proof of i)

$$\theta^2 + \theta = \frac{\beta}{\beta^2 + \beta + 1},$$

for some $\beta \in S$. It is clear that the extension F_2/F_1 is defined by the polynomial

$$\varphi = T^2 + T + \frac{y}{y^2 + y + 1} \in F_1[T]$$

and the reduction of φ modulo Q_θ and modulo $Q_{\theta+1}$ is the polynomial

$$\varphi_\theta = T^2 + T + \frac{\theta}{\theta^2 + \theta + 1} \quad \text{and} \quad \varphi_{\theta+1} = T^2 + T + \frac{\theta + 1}{\theta^2 + \theta + 1},$$

respectively. By Lemma 2.1, we can assume w.l.o.g. that

$$\text{Tr}\left(\frac{\theta}{\theta^2 + \theta + 1}\right) = 1 \quad \text{and} \quad \text{Tr}\left(\frac{\theta + 1}{\theta^2 + \theta + 1}\right) = 0.$$

This implies that φ_θ is irreducible over k and $\varphi_{\theta+1}$ splits completely over k . Hence, by Kummer's Theorem there is only one place of degree two of F_2 lying over Q_θ and the place $Q_{\theta+1}$ splits completely in F_2 into two rational places of the form Q_δ and $Q_{\delta+1}$ such that $z(Q_\delta) = \delta$ and $z(Q_{\delta+1}) = \delta + 1$, where $\delta \in k$ is a root of $\varphi_{\theta+1}$. (See figure 1). It remains to prove that

$$N(F_2) = 2(|S| + 1).$$

As each rational place R of F_2 lies over a rational place of F_1 , then R lies over a place of the form Q_θ or $Q_{\theta+1}$ for some $\theta \in k$. By *ii*), one and only one of this places splits completely in F_2 . On the other hand, we have seen in the proof of *i*) that $N(F_1) = 2(|S| + 1)$. Thus, we obtain

$$N(F_2) = N(F_1) = 2(|S| + 1).$$

□

Now we are in a position to state and prove one of our main results.

Theorem 2.3. Consider the tower $\mathcal{H} = \{F_i\}_{i=0}^\infty$ over k . The number of rational places $N(F_i)$ of F_i is

$$N(F_i) = 2(|S| + 1),$$

for all $i \geq 1$, where S is defined as in Lemma 2.2.

Proof. Let P_α be the only zero of $x_0 + \alpha$ in $F_0 = k(x_0)$ and P_∞ be the only pole of x_0 in F_0 . We show by induction that a place P_α , with $\alpha \in S \cup \{\infty\}$, has exactly two rational places in F_i for all $i \geq 1$. It is true for $i = 1$ by Lemma 2.2, and we assume now that the assertion holds for some i . Let R_1 and R_2 the two rational places in F_i lying over P_α . We have proved in Lemma 2.2 that both places R_1 and R_2 lying over a rational place P_β of F_{i-1} for some $\beta \in S$, and one and only one place between R_1 and R_2 has two rational places in F_{i+1} . Hence, there exist two rational places in F_{i+1} lying over P_α . Finally, we conclude that

$$N(F_i) = 2(|S| + 1)$$

for all $i \geq 1$.

□

As an immediate consequence of the above result we have:

Theorem 2.4. The splitting rate of the tower \mathcal{H} over k is zero.

Proof. From Theorem 2.3 we have that

$$v(\mathcal{H}) = \lim_{i \rightarrow \infty} \frac{N(F_i)}{[F_i : F_0]} = \lim_{i \rightarrow \infty} \frac{2(|S| + 1)}{2^i} = 0.$$

□

Corollary 2.5. *The tower \mathcal{H} over k is asymptotically bad.*

Proof. Since

$$\lambda(\mathcal{H}) = \lim_{i \rightarrow \infty} \frac{N(F_i)}{g(F_i)} = \frac{\nu(\mathcal{H})}{\gamma(\mathcal{H})},$$

we conclude $\lambda(\mathcal{H}) = 0$. □

3 Conclusions

In this note we have completed the classification of the asymptotic behavior of the tower \mathcal{H} over a finite field with 2^s in terms of the parity of s . This work was started by (Chara et al., 2018). As stated by (Beelen et al., 2006) there are only four recursive towers of Artin-Schreier type over a field with two elements including the tower \mathcal{H} . As a future work, one can study the remaining three in order to determine if is possible a classification such as the one given above.

4 Conflict of interest

The author declares that he has no conflict of interest.

References

- Beelen, P., Garcia, A., & Stichtenoth, H. (2004). On towers of function fields of Artin-Schreier type. *Bulletin of the Brazilian Mathematical Society*, **35**(2), 151–164.
- Beelen, P., Garcia, A., & Stichtenoth, H. (2006). Towards a classification of recursive towers of function fields over finite fields. *Finite Fields and Their Applications*, **12**(1), 56–77.
- Chara, M., Navarro, H., & Toledano, R. (2018). A problem of Beelen, Garcia and Stichtenoth on an Artin-Schreier tower in characteristic two. *Acta Arithmetica*, **182**(), 311–330.
- Chara, M., & Toledano, R. (2015). Asymptotically bad towers of function fields. *Tokyo Journal of Mathematics*, **38**(2), 339–352.
- Drinfel'd, V., & Vladut, S. (1983). Number of points of an algebraic curve. *Functional Analysis and its Applications*, **17**(1), 53–54.
- Garcia, A., & Stichtenoth, H. (1995). A tower of Artin-Schreier extensions of function fields attaining the drinfel'd-vladut bound. *Inventiones Mathematicae*, **121**(1), 211–222.
- Garcia, A., & Stichtenoth, H. (2000). Skew pyramids of function fields are asymptotically bad. In *Coding theory, cryptography and related areas* (pp. 111–113). Springer.
- Ihara, Y. (1981). Some remarks on the number of rational points of algebraic curves over finite fields. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo Sect. IA Math.*, **28**(3), 721–724 (1982).
- Ling, S., Stichtenoth, H., & Yang, S. (2005). A class of artin-schreier towers with finite genus. *Bulletin of the Brazilian Mathematical Society*, **36**(3), 393–401.
- Serre, J.-P. (1983). Sur le nombre des points rationnels d'une courbe algébrique sur un corps fini. *CR Acad. Sci. Paris*, **296**(Série I), 397–402.
- Stichtenoth, H. (2009). *Algebraic function fields and codes* (Vol. 254). Berlin: Springer-Verlag.
- Tsfasman, M. A., Vladut, S., & Zink, T. (1982). Modular curves, Shimura curves, and Goppa codes, better than Varshamov-Gilbert bound. *Mathematische Nachrichten*, **109**(1), 21–28.
- Weil, A. (1948). *Sur les courbes algébriques et les variétés qui s'en déduisent* (No. 1041). Hermann.

Ensayo

Cartas a Caldas¹

Alberto Gómez-Gutiérrez, PhD, FLS²

Introducción

Con frecuencia los epistolarios históricos consisten en antologías parciales que presentan únicamente las cartas de uno de los corresponsales, al no disponer de la contraparte. Es el caso de lo que los académicos Alfredo Bateman (1909-1988) y Jorge Arias de Greiff llamaron *Cartas de Caldas* en su ya clásica publicación de 1978 promovida por la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (**Figura 1**), con un total de 195 cartas de Francisco José de Caldas (1768-1816), a la vez transcritas y anotadas, seguidas de un “Índice onomástico” con 501 entradas biográficas de mayor o menor extensión con el propósito de revelar la identidad de otros tantos individuos citados en este epistolario. Todo esto antecedido de una “Prefación” y complementado con una relación de fuentes (“Ubicación de los originales y publicaciones previas”) y un listado de 18 “Abreviaturas”, en un total de 425 páginas.

La fuente principal de Bateman y Arias de Greiff —y de sus colaboradores Álvaro Fernández Pérez (1920-1994) y Andrés Soriano Lleras (1907-1974), también miembros de la Academia—, fue la compilación previa del historiador Eduardo Posada Muñoz (1862-1942), primer presidente de la Academia Colombiana de Historia. En efecto, Posada había publicado ya en 1917, para la academia que se había fundado 15 años antes y en el volumen XV de la Biblioteca de Historia Nacional, la primera antología del epistolario de Caldas de

¹ Solo se han publicado a la fecha, de manera explícita y en sus epistolarios, seis (6) cartas dirigidas a Caldas, además de dos respuestas oficiales del virrey Antonio Amar y Borbón en el año 1809. Tres de estas cartas fueron publicadas por Eduardo Posada bajo el título “Cartas a Caldas”, en las páginas 317 y 318, y una en el “Apéndice” de su antología *Cartas de Caldas* (Bogotá: Imprenta Nacional, 1917). La primera, dirigida al payanés en 20 de noviembre de 1806 por Gregorio Gómez, Nicolás del Villar y Coronado y Vicente Romero Campo en representación del Consulado de Cartagena, la segunda en 1809, desde esta misma ciudad, por José Fernández Madrid, y la tercera el 31 de diciembre de 1812 por Antonio Nariño desde Santafé. Eduardo Posada anota que la primera estaba aún inédita y le “fue suministrada [en] copia por el doctor Diego Mendoza [Pérez (1857-1933), abogado, escritor y diplomático boyacense, autor de múltiples obras de referencia, incluyendo la *Expedición botánica de José Celestino Mutis al Nuevo Reino de Granada y memorias inéditas de Francisco José de Caldas* (Madrid: Victoriano Suárez, 1909)]”; la segunda había sido ya publicada “en *Colombia Ilustrada*, número 1º del 2 de abril de 1889”; la tercera, respuesta de Nariño a una carta de Caldas que se conoce solo truncada, había sido publicada con este fragmento “en 1813, en el folleto *Manifiesto de la conducta del Gobierno de Cundinamarca*”, el cual había sido reproducido por Posada y Pedro María Ibáñez en su obra conjunta titulada *El Precursor. Documentos sobre la vida pública y privada del general Antonio Nariño* (Bogotá: Imprenta Nacional, 1903, pp. 382-383). Además de estas tres cartas, se ha reportado el hallazgo de los contenidos de tres cartas más escritas a Caldas, una firmada en mayo 21 de 1802 por José Celestino Mutis en Santafé, publicada por Guillermo Hernández de Alba en el *Archivo epistolar del gaditano* (Bogotá: Editorial Kelly, 1968, 174-175), y dos firmadas en Popayán en el año 1808: la primera en febrero 20 por “El Pater”, es decir Manuel María Arboleda Arraechea (AGN, Historia, SAA-I.17,4, D.22, folio 372r), y la segunda en junio 5 por Santiago Arroyo (AGN, Asuntos Importantes, SAA-I.2,3, D.9, ff. 75r y ss). Debo el acceso a las fuentes primarias de las dos últimas cartas al historiador Iván Felipe Suárez Lozano, director de la Casa Museo Francisco José de Caldas en Bogotá.

² Profesor Titular, Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Citación: Gómez-Gutiérrez A. Cartas a Caldas. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1174-1181, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1353>

Editor: Elizabeth Castañeda

***Correspondencia:**

Alberto Gómez-Gutiérrez;
agomez@javeriana.edu.co

Recibido: 24 de agosto de 2020

Aceptado: 24 de septiembre de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

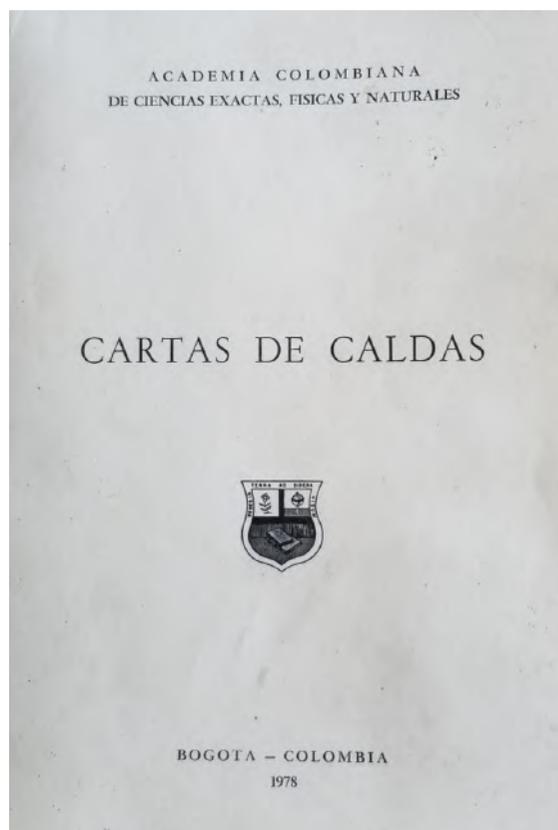


Figura 1. Alfredo Bateman, Jorge Arias de Greiff, Álvaro Fernández Pérez, Andrés Soriano Lleras. *Cartas de Caldas*. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1978.

amplio espectro, con 167 cartas de su propia mano (154 y 13 adicionales en el “Apéndice”), complementándolas con 3 (dos primero, y luego una en el “Apéndice”) “Cartas a Caldas”, 11 “Cartas sobre Caldas”, 7 “Escritos de Caldas” (como suplemento a las 45 *Obras de Caldas* que había publicado en 1912), 7 (5 y 2 en el “Apéndice”) “Escritos sobre Caldas” publicados por diferentes autores entre 1852 y 1907, cerrando con dos breves notas del editor sobre la “Cartografía” y la “Iconografía” producidas por Caldas, y una bibliografía de referencia. Todo esto en 506 páginas antes del “Índice”.

Eduardo Posada citó a su vez un epistolario previo publicado por Carlos Martínez Silva (1847-1903) en los tomos XVI-XVIII de *El Repertorio Colombiano*, entre junio de 1897 y mayo de 1898, bajo el título “Cartas de Caldas” con un total de 76 epístolas, así: 4 a Camilo Torres, 71 a Santiago Arroyo –nueve de estas publicadas más de un año antes en la *Revista Caucana* de David Orjuela P. (n. c. 1865) y Delfin Valdés y Ayerbe (1867-1912), bajo el título de “Caldas. Correspondencia epistolar” entre el 18 de enero y el 11 de julio de 1896–, y una sola a María Manuela Barona.³

³ Los dos epistolarios de finales del siglo XIX fueron citados y analizados críticamente en: Ramírez Martínez, Sandra Milena. *Cartas de Francisco José de Caldas a Santiago Arroyo (1795-1803). Escritura epistolar, amistad y ciencia en el Nuevo Reino de Granada de la Ilustración*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2016. Tesis de Maestría en Estudios Culturales dirigida por José Antonio Amaya (acceso digital a esta tesis en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/54860/7/SandraMilenaRam%C3%ADrezM.2016.pdf>, pp. 34-45). Esta fuente académica considera adicionalmente, en las pp. 45-66, los epistolarios referidos de 1917 y 1978, tanto como una antología parcial subsiguiente con 47 cartas de Caldas (dirigidas a 12 corresponsales diferentes), publicada por la historiadora francesa Jeanne Chenu con el subtítulo de “Cartas de Francisco José de Caldas. Selección” en su obra titulada *Francisco José de Caldas. Un peregrino de las ciencias*. Madrid: Historia 16, 1992, pp. 63-260.

El epistolario compilado en 1978 por Bateman, Arias de Greiff, Fernández Pérez y Soriano Lleras, fue retomado por Natalia Savitskaya y Diego Caldas Varona en 2016 para el bicentenario de la muerte de Caldas, y editado con el patrocinio de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, la Asociación de Amigos de la Casa Museo Caldas y la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Esta nueva antología, sexta de la serie iniciada en la *Revista Caucana* en 1896 y replanteada por Jeanne Chenu en 1992 después de las publicadas en 1897-98, 1917 y 1978, presentó un total de 210 cartas, es decir 16 más que la compilación de la Academia de Ciencias en 1978, sumándole una breve “Anécdota de Juliana Caldas en 1881”, y el texto “Desagravio a Caldas” correspondiente al discurso presentado el 14 de marzo de 1925 por el ministro plenipotenciario de Colombia en España, Guillermo Camacho Carrizosa (1876-1932), con ocasión de la develación por parte de Alfonso XIII (1886-1941) de la placa colocada en el vestíbulo de la Biblioteca Nacional de Madrid. Estas adiciones eran resultado de nuevos hallazgos en fuentes primarias o secundarias que no estaban disponibles para los compiladores anteriores. El sociólogo e historiador Renán Silva, en su reseña bibliográfica en 2017, considera que esta reedición adoleció de múltiples deficiencias, con errores reproducidos de las dos ediciones anteriores, sumados a errores nuevos y propios, que comprometen su calidad. En palabras de Silva:

la alegría del lector por la publicación de estas cartas pronto se transforma en el desconcierto del investigador. Y es que a medida que se examina con cuidado el volumen, va tomando cuerpo la idea de que la edición de 1978, que presenta tantos problemas, sigue siendo superior a la que ahora se nos ofrece, pues esta no resuelve ninguno de los comprensibles problemas de la versión anterior; en cambio, introduce nuevas dificultades. Por ejemplo, al adoptar la numeración continua en la citación, en ocasiones reenvía a la numeración discontinua de la edición de 1978, olvidando que las dos no se corresponden —por mencionar solamente una dificultad agregada.⁴

Teniendo en cuenta estas y otras eventuales deficiencias formales que presentan comúnmente las antologías epistolares, tales como la falta de una adecuada contextualización sociológica y una problematización cultural que, aunque no son requisitos indispensables, deben idealmente elaborarse en paralelo por los mismos compiladores —o bien por autores complementarios—, debe insistirse en la virtud esencial y en la necesidad de su producción (y adecuada reproducción): la difusión de los contenidos de reflexiones personales en el formato epistolar resulta clave para entender a los protagonistas y sus motivos más íntimos, que son los que usualmente dan a la carta su indudable valor histórico.⁵

Cartas de Caldas y cartas a Caldas

Hasta este punto se ha tratado de las cartas de Caldas, y muy poco de las cartas a Caldas. A pesar de que se ha logrado compilar a la fecha un total de 210 cartas escritas por el payanés entre 1788 y 1816 (**Material Suplementario, tablas 1 y 2**, <https://raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1353/2926>), los sucesivos compiladores han dejado por fuera al menos ocho (8) cartas dirigidas a Caldas por diferentes corresponsales, tres de estas, como se vio, publicadas ya por Eduardo Posada desde el año 1917. Es realmente sorprendente que, sin contar las cartas dirigidas a Caldas que fueron publicadas por él mismo como editor del *Semanario del Nuevo Reyno de Granada* entre 1808 y 1810,⁶ solo

⁴ Silva, Renán. Cartas de Caldas [Francisco José] ilustradas (2016). *Co-herencia* 14 (27): 293-300, p. 295.

⁵ Para una revisión de la producción científica de Caldas en el curso de su vida, véanse el Suplemento al volumen 42 de la *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales* (<https://raccefyn.co/index.php/raccefyn/issue/view/30>) y la obra en varios volúmenes titulada *Caldasiana neogranadina* (en preparación por el autor).

⁶ Las epístolas a Caldas que fueron transcritas y publicadas en el *Semanario del Nuevo Reyno de Granada* inician formalmente, en el cuerpo principal de esta publicación, en el número 8 de febrero 21 de 1808 con la “Carta dirigida a don Francisco José de Caldas” firmada por Diego Martín Tanco (1749-1812), quien le criticó algunas expresiones de su “Estado de la Geografía del Vireynato de Santafé de Bogotá”, lo cual dio lugar a la respuesta de Caldas con su memoria “Del influjo del clima sobre los seres organizados”. Hay, sin embargo, evidencia de cartas previas, como la que Caldas había recibido de José Manuel Restrepo (1781-1863), o la que recibió de Manuel Caycedo y Tenorio (1737-1808),

se disponga actualmente de 8 de 210 cartas que tuvieron eventualmente su contraparte biunívoca o plural: las cartas de respuesta o las cartas eventualmente adicionales al origen o al cierre de la interacción epistolar con cada uno de sus corresponsales. La tabla 3 (**Material Suplementario**, <https://raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1353/2926>) incluye el listado de 44 corresponsales (individuales o institucionales) registrados hoy, en donde se puede apreciar, más allá de la diversidad de los contactos de Caldas en su tiempo, la especificidad e intensidad de cada uno. Es claro en este listado que sus principales corresponsales fueron: a- Santiago Arroyo⁷ con 71 cartas, b- José Celestino Mutis⁸ con 32 cartas, y c- Antonio Arboleda⁹ con 13 cartas, todos ellos incluyendo reflexiones en el dominio científico. En el dominio exclusivamente personal, más íntimo, la principal destinataria fue, naturalmente, su esposa, María Manuela Barona Barona (1790-1835), con 25 cartas conocidas a la fecha.

Los autores de las ocho cartas a Caldas citadas son, en orden cronológico,

1. José Celestino Mutis (Santafé, mayo 21 de 1802)
2. Gregorio Gómez, Nicolás del Villar y Coronado y Vicente Romero Campo, miembros del Consulado de Comercio de Cartagena de Indias (Cartagena, noviembre 20, 1806)
3. Manuel María Arboleda y Arraechea (Popayán, febrero 20, 1808)
4. Santiago Arroyo y Valencia (Popayán, junio 5, 1808)
5. Antonio José Amar y Borbón (Santafé, julio 18, 1809)
6. Antonio José Amar y Borbón (Santafé, noviembre 4, 1809)
7. José Fernández de Madrid y Fernández de Castro (Cartagena, noviembre 10, 1809)
8. Antonio Nariño y Álvarez del Casal (Bogotá, diciembre 31, 1812)

ambas citadas a pie de página en el número 4 del 24 de enero de 1808. En total, y solo considerando las cartas transcritas más o menos de manera integral, y que llevan el descriptor “carta” en su título, se puede estimar más de una docena de cartas a Caldas en este repositorio. No se ha incluido en este cálculo un importante número de textos que se podrían considerar también “cartas a Caldas”, a la manera de las *Philosophical transactions* y otras fuentes académicas que reúnen típicamente cartas científicas *al editor*. En este sentido, la mayoría de los trabajos publicados por Caldas en el *Semanario del Nuevo Reyno de Granada* podrían incluirse en la categoría de cartas, o correspondencia científica, que es el sustrato usual (hasta la fecha) de las revistas científicas. Para revisar las cartas a Caldas publicadas en su semanario en el periodo 1808-1810, véanse: <http://bibliotecanacional.gov.co/content/conservacion?idFichero=132637> y <https://web.archive.org/web/20120817200739/http://www.bibliotecanacional.gov.co/>

⁷ Santiago Pérez de Arroyo y Valencia (1775-1845). Nació y murió en Popayán. Su nombre original era Jacobo Inocencio María, aunque se conoció simplemente por Santiago Arroyo]. Adelantó estudios en Popayán que culminó en Bogotá en el Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario. Obtuvo luego los grados de bachiller, licenciado y doctor en cánones en la Universidad de Santo Tomás. Vicerrector del Rosario en 1804. Bajo la República fue, en su ciudad, natal juez, letrado de hacienda, diputado, presidente de la Cámara Provincial, encargado del mando en el Departamento y miembro del Congreso Nacional. Hizo observaciones meteorológicas y escribió obras didácticas y una historia de Popayán durante la guerra de independencia. Casó en 1807 con María Teresa, hija de Marcelino Mosquera y María Josefa Hurtado, quien murió en operación cesárea. Casó de nuevo con Juana Francisca Hurtado, hermana de su suegra. Para más información sobre la vida y obra de Santiago Arroyo y su correspondencia con Francisco José de Caldas, véase: Sandra Milena Ramírez Martínez. *Cartas de Francisco José de Caldas a Santiago Arroyo (1795-1803). Escritura epistolar, amistad y ciencia en el Nuevo Reino de Granada de la Ilustración*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, 2016, 229 p.

⁸ José Celestino Mutis y Bossio (1732-1808), médico y botánico español que se radicó en el Nuevo Reino de Granada desde 1760 hasta su muerte en 1808. Director de la Real Expedición Botánica al Nuevo Reino de Granada. Para información complementaria sobre el arribo de este gaditano a la actual Colombia, véase Bernal Villegas, Jaime y Alberto Gómez Gutiérrez. *A impulsos de una rara resolución. El viaje de José Celestino Mutis al Nuevo Reino de Granada: 1760-1763*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana – Universidad del Rosario, 2010.

⁹ Antonio Arboleda Arraechea (1770-1825), primo de Francisco José de Caldas Tenorio por la línea de su madre Vicenta Tenorio Arboleda, versado en matemáticas y ciencias naturales. Caldas lo definió en su *Ensayo de una memoria sobre un nuevo método de medir las montañas por medio del termómetro y el agua hirviendo, seguida de un apéndice* (1802) como “joven de luces, i amante de los conocimientos”.

Estas ocho epístolas hacen parte del conjunto de cartas que se halla disponible a la fecha y que se podría dividir arbitrariamente en dos grupos principales: a- “Cartas científicas” y b- “Cartas personales” u “otras cartas”. Aunque esta categorización puede ser problemática en la medida en que toda reflexión científica es naturalmente personal, y toda reflexión personal contiene necesariamente una dimensión científica social, resulta práctica para revelar la dinámica de la vida y obra de Caldas en la categoría de ciencias exactas, físicas y naturales, intrínseca de esta academia, así como la de sus eventuales determinantes periódicos. En la **figura 2** se aprecia bien la existencia de al menos cuatro picos de producción científica epistolar de Caldas en los periodos de 1795-1800, de 1801-1806, de 1808-1810 y de 1810-1814. Uno de estos, el periodo de 1800-1806 representa visiblemente la mayor producción epistolar en la dimensión científica, y se ha asociado con su encuentro con Alexander von Humboldt (1769-1859) y Aimé Bonpland (1773-1858), tanto como a su vinculación formal a la Real Expedición Botánica de José Celestino Mutis (1832-1808).

Estas cuatro fases, que podríamos llamar *científicas epistolares*, se suceden e integran bien con las fases *científicas operativas* —caracterizadas por la producción de obras científicas no epistolares—, que son naturalmente complementarias y usualmente subsiguientes, tal y como se muestra en la **figura 3**. Debe resaltarse en esta figura el evidente punto de inflexión en el periodo de 1805-1807 con una muy baja producción científica en la primera década del siglo XIX, que corresponde a su llegada e instalación en Santafé al lado

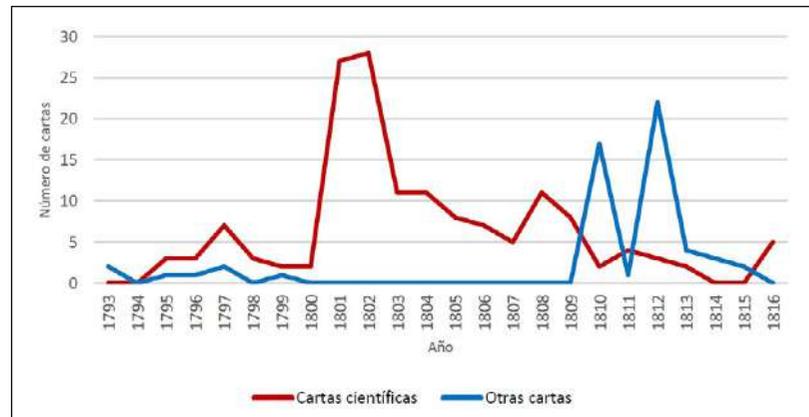


Figura 2. Cartas de Caldas: 1793-1816

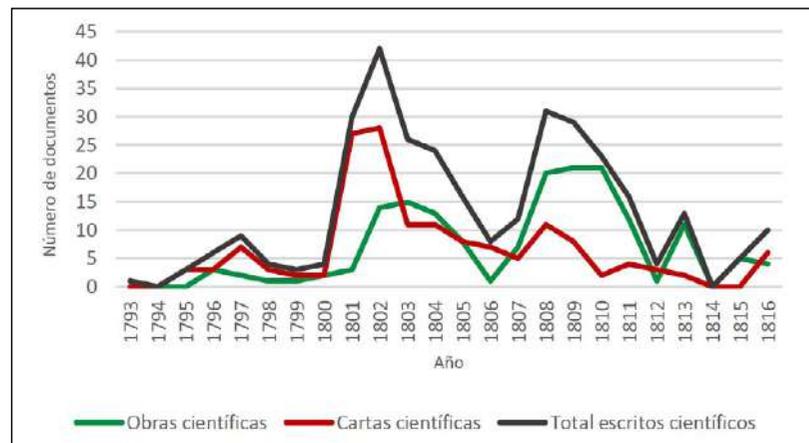


Figura 3. Obras y cartas científicas de Caldas: 1793-1816

de Mutis. En este período, mientras atendía las expectativas de Mutis en el Observatorio Astronómico, y compartía con él marginalmente en el dominio de la botánica, se daría la transición de la producción *epistolar científica* a una producción *editorial científica* con la fundación del *Semanario del Nuevo Reyno de Granada* que Caldas dirigió y publicó por espacio de dos años consecutivos, en 1808 y 1809, semana tras semana, es decir con un mínimo de 52 números por año más algunos suplementos, antes de pasar al formato de *Memorias* del período 1810-1811.

Con estas reflexiones y registros, se incluyen en el Material Suplementario del presente artículo las ocho (8) cartas a Caldas que no fueron publicadas en el *Semanario del Nuevo Reyno de Granada*, ni han sido aun compiladas hasta el día de hoy en un solo y mismo repositorio, con la intención de abrir el espacio a sucesivos científicos e historiadores para sus investigaciones sobre la vida y obra de Francisco José de Caldas, y con la ilusión de que alguno de ellos emprenda la tarea sugerida por Renán Silva en 2017, con su

sensible advertencia sobre los epistolarios previos, al poner de presente de qué manera el “biografismo”, que ignora la sociología, y el nacionalismo del héroe solitario, se juntan para impedirnos conocer la dimensión social de un problema cultural como el de la Ilustración en Hispanoamérica. Nada encontraremos en esas páginas sobre Caldas que nos permita siquiera sospechar el carácter colectivo de la actividad de los naturalistas neogranadinos, las enseñanzas que nos deja su proceso de formación intelectual, la transformación de su condición social bajo el efecto de la “ciencia” y de la perspectiva de la riqueza a través del comercio; todo lo cual se encuentra de forma casi obvia en esas cartas. De atenernos a las páginas de biografía del volumen, solo existiría un solitario héroe protonacionalista llamado Francisco José de Caldas.¹⁰

Además de estas ocho cartas, se conserva evidencia indirecta de al menos tres cartas más dirigidas a Caldas, que fueron citadas por uno de sus contactos neogranadinos: el sacerdote botánico Juan María Céspedes.¹¹ En efecto, el Padre Céspedes, en medio de la última de sus múltiples convivencias con Caldas en el curso de más de 20 años de amistad, esta vez mientras era sacerdote en las cercanías de Medellín entre 1814 y 1816 cuando Caldas trabajaba en esa misma comarca para los patriotas en Antioquia, refiere los siguientes extractos de cartas a Caldas fechadas en febrero de 1807, octubre de 1808 y marzo de 1809:

- a. Capítulo de carta dirigida de Popayán a Bogotá por el señor Antonio Arboleda¹² al célebre Caldas de fecha 6 de febrero de 1807:

¹⁰ Silva (2017, 294-295).

¹¹ Juan María Céspedes Vivas (1776-1848), sacerdote neogranadino nacido en Tuluá, en el valle del río Cauca, formado en la Universidad Santo Tomás de Aquino en Santafé y ordenado en 1805. Asistió en las parroquias de Caloto, Sátiva, Yotoco, Charalá, Guaduas y Belén, esta última en los alrededores de Medellín entre 1814 y 1816. Fue capellán de los ejércitos patriotas. Al ser capturado por los realistas, logró huir y salvar su vida. Colaboró con Caldas en sus estudios botánicos principalmente, disciplina en la que fue autodidacta desde sus tiempos en Caloto. Después de la Independencia hizo varios viajes de prospección vegetal y, en 1823, llegó a ser catedrático de Botánica en la Universidad Central en Bogotá, en donde compartió sus intereses botánicos con Francisco Javier Matís (1774-1851), su catedrático sustituto y uno de los pocos sobrevivientes de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada. Autor de un *Tratado de botánica médica neogranadina* que permanece inédito en el Fondo Mosquera del Archivo Central del Cauca en Popayán, fue miembro de la sociedad Linneana de París, de la Sociedad Linneana de New York, y de la Sociedad de Horticultura de los Estados Unidos, con las usuales interacciones y remisiones de nuevas especies de plantas a esos países. Fue secretario del Arzobispado y canónigo Penitenciario en 1842 en Bogotá. Estableció en Bogotá un jardín botánico. Murió en Guasca el 20 de enero de 1848. Para mayor información sobre la vida y obra de este sacerdote botánico, véanse Patiño, Víctor Manuel. *Bocetos biográficos de Juan María Céspedes*. Cali: Imprenta departamental, 1967-1968; Hernández de Alba, Guillermo. Un botánico olvidado del siglo XIX: Juan María Céspedes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 1986; XVI (60): 91-98; Andrade González, Gerardo. *Juan María Céspedes y su época*. Bogotá: Editorial Kelly, 1989.

¹² Antonio Arboleda Arraechea, citado.

Humui y también carne fiambre: “No hemos podido conseguir aun flores de *Carne fiambre* o *Humui* con que lo distinguen del otro *Carnefiambre*, pero tenemos la semilla y hemos sacado almidón muy bueno y hecho arepas que quedan de buen gusto, sacándole un poco del amargo que tiene, mudándole agua antes de cocerlo. Es un árbol bastante corpulento y me aseguran que cada uno dará dos cargos de fruto. Abunda mucho en Poblazón, Novirao, Guambía y demás temperamentos iguales”.

- b. Otra, de otra carta, dirigida igualmente al mismo Caldas, datada en Popayán a 5 de octubre de 1808, por el doctor Jerónimo Rodríguez¹³:

Dice que la resina traída del Chocó llamada *Sandi* es un remedio eficacísimo para destruir los lobanillos, y que él presuponía que podía serlo también para extirpar los cotos; y así excita al dicho Caldas, para que haga repetir en Bogotá experimentos sobre el particular. — Nota: Dicha resina de *Sandi* es producida por el *árbol de Leche* que hay en abundancia en mis estancias de Arracachal y Granadilla.

- c. Noticia sacada de una carta dirigida por el señor Francisco Varela¹⁴ al señor Francisco José de Caldas, datada en Buga a primero de marzo de 1809:

Dice que la *Sal de Burila* (de Tuluá,) estaba experimentada como un remedio eficaz para curar los cotos, aplicada a estos entre una taleguita y pasando al mismo tiempo algo de esta sal con saliva.¹⁵

Esta noticia sobre los contenidos parciales de tres cartas suplementarias entre más de dos centenares de epístolas manuscritas que debió recibir el payanés, permite plantear una última consideración: ¿dónde están hoy todas las “cartas a Caldas”? Los inventarios de su biblioteca en 1816 dan indicios de su rigurosa capacidad de conservación bibliográfica¹⁶, casi podríamos decir *bibliofílica*, puesto que Caldas era un hombre que buscaba afanosamente fuentes secundarias para su formación autodidacta, tal y como se puede sustentar a partir de varias de sus cartas a corresponsales ilustrados como Antonio Arboleda y Santiago Arroyo.¹⁷ Así, se puede postular con alguna certeza que debió conservar sistemáticamente

¹³ Solo he tenido acceso a una referencia a un homónimo de este corresponsal, eventualmente él mismo: “Rodríguez, Jerónimo. Enviado preso de Pasto a Quito en 1814, por sus servicios a la República”, en Arboleda, Gustavo. *Diccionario biográfico y genealógico del antiguo departamento del Cauca*. Bogotá: Librería Horizontes, 1962, p. 390.

¹⁴ Al intentar precisar la identidad de Francisco Varela, aparece un homónimo bugueño en la obra de Miguel Wenceslao Quintero Guzmán en tres tomos titulada *Linajes del Cauca Grande. Fuentes para la historia* (Bogotá: Universidad de los Andes, 2006). Se trata de Francisco Varela Armilla (n. 1768-1834), hijo de Domingo Varela Domínguez y María Ignacia Armilla Gutiérrez, y descendiente del capitán Nicolás Varela Jaramillo, nacido allí mismo en 1721 y tronco de esta familia en Buga. Francisco Varela Armilla estudió en el seminario de Popayán en las mismas fechas que Caldas, y luego pasó Santafé, en donde presentó informaciones en 1783 en el Real Colegio Mayor y Seminario de San Bartolomé. Al recibir su grado en leyes regresó a su ciudad natal, donde llegó a ser procurador general en 1795 y alcalde ordinario en 1797. Casó en noviembre de 1795 en Buga con María Tomasa de la Quintana y Escobar, y con ella formó un hogar de 12 hijos nacidos todos en esa misma villa entre 1796 y 1815 (*Ibidem*, I, 510-512).

¹⁵ Citado en Andrade González (1989, 36). Las fuentes primarias de estas referencias se reportan al Archivo Central del Cauca, Sala Mosquera, Fondo Arzobispo Mosquera, Documentos de Juan María Céspedes.

¹⁶ Este inventario ha sido transcrito completo en cuatro fuentes de referencia: *Papel Periódico Ilustrado* de Alberto Urdaneta (Bogotá: Imprenta de Silvestre y Compañía, 1881, I, 392); *Cartas de Caldas* publicadas por Eduardo Posada (Bogotá: Imprenta Nacional, 1917, 449-453); *Historia documental de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada después de la muerte de su director don José Celestino Mutis, 1808-1952* de Guillermo Hernández de Alba (Bogotá: Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, 1986, 306-308); *Nueva Aproximación a Francisco José de Caldas. Episodios de su vida y de su actividad científica* de Santiago Díaz-Piedrahita (Bogotá: Academia Colombiana de Historia, 1997, 249-253).

¹⁷ Para un análisis de la formación autodidacta de Caldas, véase Silva, Renán. *Los ilustrados de Nueva Granada 1760-1808. Genealogía de una comunidad de interpretación*. Medellín: Eafit-Banco

toda la correspondencia recibida. De ello hay constancia en los diferentes reportes epistolares que publicó en el *Semanario del Nuevo Reyno de Granada*, en donde, por ejemplo, hizo la relación de la correspondencia recibida de Eloy Valenzuela¹⁸ en torno a una controversia sobre una “Descripción de una turba silvestre” que, de acuerdo con Valenzuela, Caldas no había querido publicar en el *Semanario del Nuevo Reyno de Granada*. Caldas dijo:

A fines de 1808, dirigí por la primera vez una carta circular impresa al D. D. Eloy Valenzuela, que vio todo el Reyno, y que se dirigía a exhortar a los hombres de letras a que escribiesen, y a que ayudasen con la suscripción al *Semanario del Nuevo Reyno de Granada*. Con fecha 5 de noviembre de 1808 me dirigió el Dr Valenzuela su primera carta, ofreciéndose subscribir a este periódico, y dándome noticia de un *Paspalum* para prados artificiales, y la frase específica se la Caña de Otaití, que él llamó *Solera*. En 15 de enero de 1809 me dirigió otra, acompañada de los rasgos con que comencé el *Semanario* de este año, y de una libranza de cincuenta pesos que recibí [...].¹⁹

Caldas, como se ve, guardaba celosamente su correspondencia. Y si bien no hay, como en el caso de Mutis, constancia de que llevara un archivo copiator de la correspondencia que él mismo remitía,²⁰ en función de lo referido por el Padre Céspedes y por él mismo en su controversia con el Padre Valenzuela, es claro que guardaba las que recibía. Las tres referencias del Padre Céspedes indican que Caldas podría haberle dado acceso a su epistolario en Medellín, en donde eventualmente lo conservaba aún consigo. Después de esta noticia, se pierde absolutamente el rastro de las cartas a Caldas: de un eventual archivo integral de la correspondencia recibida por el payanés. ¿Las conservó su esposa María Manuela Barona? ¿Las heredó luego su hija Juliana Caldas Barona y las llevó a Ibagué donde fallecería en 1881?

Habrà que esperar con paciencia la respuesta a estas preguntas y, con esta, la eventual revelación del paradero final del complemento epistolar faltante, tanto de salida como de llegada, para indagar mejor en la dinámica de la correspondencia de este neogranadino emblemático en el dominio de la ciencia.

de la República, 2002, pp. 155-211.

¹⁸ Juan Eloy Valenzuela Mantilla (1756-1834), sacerdote botánico, vinculado a la Real Expedición Botánica dirigida formalmente por José Celestino Mutis a partir de 1783.

¹⁹ Caldas, Francisco José. Contestación a un folleto que el D. D. Eloy Valenzuela ha lanzado contra el honor y pureza del Editor del *Semanario*. *Semanario del Nuevo Reyno de Granada* 1810; 6: 18-40, pp. 28-29. En: https://web.archive.org/web/20120818151559/http://www.bibliotecanacional.gov.co/recursos_user/digitalizados/fpineda_6_pza6.pdf.

²⁰ Se ha registrado hasta la fecha solo una (1) carta de Mutis a Caldas en el archivo copiator del primero, a pesar de conservarse en este más de 430 cartas dirigidas por el gaditano a 102 corresponsales diferentes –véase Hernández de Alba, Guillermo (comp.) *Archivo epistolar del sabio naturalista don José Celestino Mutis*. Bogotá: Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, 1968, tomos I y II–, así como el registro de 32 cartas de Caldas a Mutis –véase Bateman, Alfredo y Jorge Arias de Greiff (comp.). *Cartas de Caldas*. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1978–.

Vida de la Academia

De pandemias e infodemias

Alberto Gómez Gutiérrez, PhD FLS
Editor asociado Ciencias Biomédicas

Termina un año que será inolvidable: año bisiesto en el calendario gregoriano, año de la rata en el calendario chino, año 5780-5781 en el calendario hebreo. Un ciclo más en torno al Sol, que otras culturas habrán integrado a su calendario con referentes propios. Para nosotros fue el año 2020, un año que muchos llamaron 20/20, como si se tratara de la cuantificación de una visión normal en optometría. Pero, en realidad, este año que pasa no fue normal. Una de sus anomalías consistió en que la ciencia estuvo en el centro de los noticieros diariamente, confundiendo, más que aclarando, el panorama. En un año anómalo, se concentraron todas las anomalías posibles en la socialización de la ciencia global: imprecisiones semánticas como hablar “del” Covid (en vez de “la” Covid), y hablar de “casos de Covid” con cifras estadísticas que se referían a la vez a infectados (amalgamando portadores sanos y enfermos) y a enfermos leves y graves, para solo dar dos ejemplos mayores. La pandemia generó una *infodemia*, que algunos llamaron acertadamente *infoxicación* global, llena de “fake news”.

En este año anómalo todos (o, mejor, la mayoría) hablaron de ciencia –de microbiología, en particular– sin fundamento, mientras el fundamento científico se estaba construyendo con la parsimonia necesaria en los laboratorios y universidades del mundo entero. Cada cual apuntaló toscamente, en corredores reales o virtuales, su propia verdad, sin el paso a paso necesario a la construcción de la verdad científica, que es, por su parte, relativamente efímera y requiere una construcción colectiva y armoniosa: como una sinfonía. Fue un año de frágiles dogmatismos.

La *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* quiso en un comienzo neutralizar esta anomalía con una edición especial, un suplemento, con los conceptos y resultados científicos apropiados a un mejor entendimiento de la pandemia del virus SARS-CoV-2. Alternativamente, se decidió presentar una serie de ponencias coordinadas principalmente por los académicos Luis Fernando García y John Mario González, con los conceptos disciplinares que les corresponden, y con una aproximación humanista que también los caracteriza.

Con esta breve introducción, damos paso a esta sección de “Vida de la Academia” con la esperanza de fijar mejor algunas bases moleculares y celulares de la pandemia, y de proyectar esta experiencia de la humanidad a la luz de las letras.

Conferencias

Luis F García. La perorata del apestado y otras historias de pestes y apestados en la literatura. Feria Popular Días del Libro. Medellín, 16 de mayo de 2020. <https://youtu.be/bTRh8ApQPck>

Luis F García. Homenaje a los cuidadores. Asociación Médica de Antioquia. 29 de julio de 2020, Medellín. <https://us04web.zoom.us/j/6298750108?pwd=VXJMSGNMVMVoWTREmK9vemhIR0YwZz09>

John Mario González, Luis F García. Cátedra de la Academia. Estado actual de las posibles vacunas para CPVID 19. 27 de agosto de 2020. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, **Universidad del Tolima, Universidad de Ibagué.** <https://www.facebook.com/UTInvestiga/videos/601480317147223/UzpfSTExMjI4NTE0MTE6MTAyMjIxMjIzMDZzNDI4NjI/>

Manuel Franco, Luis F García, John Mario González. COVID-19: el encuentro de dos genomas egoístas. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Asociación Colombiana de Facultades de Ciencia. Día del Biólogo. Ciclo de Conferencias. 17 de septiembre de 2020.

<https://www.youtube.com/watch?v=FBLwpAdU3FQ>

<https://drive.google.com/file/d/1FR64Ks3hiPRnZsiSRdj4VTa7F1oshOY1/view>

Luis F García. Historias de vacunas: del Experimento Real al Viaje de las Luces. Academia de Medicina de Medellín, 23 de septiembre de 2020. <https://youtu.be/FQ9AHE3KhNk>

Luis F García. Grandes enigmas del COVID-19. Universidad del Sinú Elías Bechara Zainúm. VIII Octavo Simposio de actualización en ciencias básicas aplicadas a las especializaciones clínicas. 22 de octubre de 2020. <https://unisinu.webex.com/unisinu/onstage/g.php?MTID=e7534f127530d1908754153b60d119865>; 4 de noviembre de 2020, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Fundación Santafé de Bogotá, Bogotá

<https://www.youtube.com/watch?v=m9y0SROEeI8>



Vacunas contra coronavirus

Video editado de la presentación en Facebook live sobre aspectos generales en vacunas e inmunidad contra coronavirus
www.youtube.com

<https://www.youtube.com/watch?v=yLzm1w9IIbA>

John Mario Gonzalez

Pruebas de laboratorio para diagnóstico y exposición a SARS-CoV-2

Cátedra de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, liderada y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad del Magdalena

www.youtube.com

Proyectos

Silvia Restrepo

Covida

<https://uniandes.edu.co/es/noticias/salud-y-medicina/boletines-epidemiologicos-covida>

La pandemia del coronavirus es quizás el desafío más grande de toda una generación. Como parte de su compromiso con el país, la Universidad de los Andes lidera un proyecto inédito en Colombia: Covida. Se trata de realizar 100.000 pruebas PCR gratuitas para la detección del coronavirus con dos objetivos:

- Apoyar las estrategias de vigilancia epidemiológica de las autoridades sanitarias.
- Proporcionar información que contribuya a tomar decisiones efectivas de política pública para el manejo de la pandemia.

Boletines Epidemiológicos Covida

Covida es el proyecto de salud pública y vigilancia epidemiológica liderado por la Universidad de los Andes en alianza con la Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, la Universidad Nacional de Colombia y el Hospital Universitario de la Fundación Santa Fe de Bogotá. Su Comité Epidemiológico y Técnico realiza el boletín epidemiológico con información sobre número de muestras procesadas, porcentaje de positivos, población y sectores atendidos, entre otros. Covida inició la toma de muestras el 18 de abril.

Publicaciones

García LF. 2020. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol* 11:1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01441/full>

John M. González*, William J. Shelton, Manuel Díaz-Vallejo, Victoria E. Rodríguez-Castellanos, Juan Diego H. Zuluaga, Diego F. Chamorro, Daniel Arroyo-Ariza. Biomedical Sciences Group, School of Medicine, Universidad de los Andes, Bogotá, DC, Colombia

Analysis of Commercial Assays for the Detection of SARS-CoV-2 Antibodies or Antigens

Background: COVID-19 produced by SARS-CoV-2 infection has spread worldwide. There is a growing need for immunological assays to detect viral specific antibodies or viral antigen. Current standard of diagnosis is reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) in nasopharyngeal swabs. However serological tests can be used to determine previous exposure to the virus and complement the...

<https://www.scrip.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=100979>

Camila González, Diego Lucumí, Darío Maldonado, **Alf Onshuus**, **John Mario González**, Juan Manuel Pedraza, Juan Rafael Martínez Galarza, Juliana Cáceres Montejo, Leopoldo Enrique Ferrer, Manu Forero, Manuela De Meo, Miguel García y Miguel Hernando Parra
<https://uniandes.edu.co/es/chequeo-covid-19-colombia>

Chequeo COVID-19 Colombia, análisis de noticias en la pandemia | Uniandes

Este especial recoge los análisis, con solidez científica, de las noticias e información sobre el covid-19 que circula en medios y redes sociales en Colombia, dejando de lado temas médicos especializados (como protocolos o intervenciones).

uniandes.edu.co

Gabriela Delgado, Johana Vargas, Marcela Mercado, Paula Gaviria, Carlos Álvarez Toward to establish selection criteria for rapid serological tests for COVID-19
VOL. 24 (3) SUPLEMENTO 2 2020

<http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/869>

Lucy Gabriela Delgado-Murcia, Carlos Álvarez-Moreno, Diana Granados-Falla Citoquinas pro y anti-inflamatorias en la infección por SARS-CoV-2, en población de Colombia

Infectio, Vol25 (2), 2021 <https://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/926>

Agradecimientos - Acknowledgements

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Volumen 44, números 170, 171, 172 y 173.

El comité editorial de la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales expresa sincero agradecimiento a los revisores que han participado durante el año 2020, en la valoración crítica de los artículos presentados a la revista, por su valiosa contribución, esfuerzo y tiempo dedicado.

Adriana Bermúdez	Gabriel Roldán	Luz Gidia Gil
Agustín Moreno	Gabriel R. Navas	Marco Fidel Suárez Herrera
Alan Giraldo	Gean Carlos Arteaga	María Cristina Carrasquilla Ferro
Alberto Enrique García Rivero	Gerardo Antonio Aymard Corredor	María Cristina Plazas De Pinzón
Alberto Gómez	Germán Alonso Bayona Chaparro	María del Carmen Zúñiga
Alex Arbey Lopera	German Domingo Amat García	María Eugenia Morales
Alice Di Sacco	Guillermo Salamanca Grosso Guillermo	Marina Elizab Forastieri
Ana María Millán Márquez	Gustavo Adolfo Marín Ramírez	María Sol Porcel
Ansel Fong Grillo	Gustavo Giraldo Quintero	Maribeb Castro-González
Anderson Guarnizo Franco	Héctor Ramírez Chávez	Mayra Geraldine Rojas Céspedes
Andrés Arévalo	Helena Groot de Restrepo	Monika Springer
Ángela Zapata Anzola	Helena Luisa Brochero	Nathali López Cardona
Aydee Cornejo	Hernán Aristizábal	Nelson Aranguren
Benjamín Oostra	Hugo Mantilla	Néstor Aguirre
Blanca Ríos Touma	Hugo Ulloa Sánchez	Norge Cruz Hernández
Camilo Arias Abad	Humberto Lanz Mendoza	Oscar Parra
Camilo Bustamante	Idael Blanco Quintero	Olga Matilde Restrepo Forero
Camilo Castro	Ivón Andrea Dorado Correa	Olimpo José García Beltrán
Camilo Roa-Fuentes	Jacobo Robledo Buriticá	Omar Triana
Carlos Eduardo Narváez Cuenca	Jaidith Marisol Ramos Rincón	Paula Jaramillo
Carlos Molineri	Jerry Arana	Pedro Prieto
Carlos Muskus	Jesús Eduardo Ortega	Pilar Cogua
Carlos Váquiro Capera	Jesús Manuel Vásquez Ramos	Reiner Palomino Lemus
César Aurelio Herreño Fierro	Jhon Alexander Cruz Morales	Ricardo Vivas Reyes
César Tamariz	Jhon Jairo Prías	Roberto Molina
Claudia Andramunio-Acero	Joan Gastón Zamora Abrego	Rubén Torres
Claudia Nohemy Montoya Estrada	Johans Restrepo	Sandra Liliana Castañeda-Garzón
Christian Villamarín	Jorge Anselmo Puerta Ortiz	Santiago Duque Escobar
Coralía Osorio	Jorge David Mercado Gómez	Sergio A. Balaguera Reina
David Peña	José Gregorio Portilla Barbosa	Sergio Amaya Ferreira
Davide Batic	José Julián Tavera	Sergio Solari
Denis Mairú Hincapié Montoya	José Luis Fernández Alonso	Susana Novoa Herrán
Edison Soto	Juan Carlos García Ramírez	Sven Eloy Zea Sjorberg
Edgar Cristancho	Juan Carlos Sanabria Arenas	Tito Bacca
Eduardo Chamorro	Juan Guillermo Cubillos Hinojosa	Víctor Hugo Serrano Cardozo
Enrique Forero	Julio Mario Hoyos	Walter Murillo Arango
Fabian Parada	Kleveer Espino	William López Bohórquez
Félix B. Cruz	Lederson Gañan	Yimmy Montoya
Fernando Martínez	Lorena Díaz	Yenny Hernández
Fernando Rondón	Luis Oveimar Mendoza	Yuly Paulina Ramírez
Frederico Falcão Salles	Luz Patricia Restrepo	Zuleyma Mosquera Murillo

Índice de autores - Index of Authors

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Volumen 44, números 170, 171, 172 y 173.

- Adam Wasserman, 269
Adriana Bermúdez, 182
Adriana Pedroza-Ramos, 407
Adriana Restrepo, 915
Alberto Gómez-Gutiérrez, 693, 704, 1174
Alessandro Martins Da Costa, 142
Ana B. Vacca-Casanova, 805
Ana Carolina Gonçalves, 142
Ana Marcela Chará-Serna, 652
Ana María Meza-Salazar, 593
Andrea Villada, 329
Andrés A. Navarro, 121
Andrés Felipe Rojas-González, 1113
Andrés Gómez-Giraldo, 360
Andrés Mauricio Hurtado-Benavides, 845
Andrés Montoya, 915
Ángel M. Meléndez, 257
Ángela Judith Motta-Díaz, 606
Ángela Liceth González-Tuta, 572
Ángela María Zapata, 376
Arlex Marín-Ramírez, 360
Arturo Acero P., 169
Brayan David Verdugo-Torres, 828
Camilo Andrés Llano-Arias, 560
Camilo Younes-Velosa, 960
Carla Kruk, 392
Carlos A. Bautista, 121
Carlos A. Benjumea-Hoyos, 329, 344
Carlos A. Cuy-Hoyos, 805
Carlos A. Rivera-Rondón, 376
Carlos Alberto García-Ramírez, 876
Carlos Alejandro Díaz-Ballesteros, 407
Carlos M. Alarcón, 1137
Carlos Váquiro-Capera, 458
Carmen Lucía López-Solis, 814
Carolina Mancipe-Murillo, 780
Cesar E. Tamaris-Turizo, 493
Ciliana Flórez-Montes, 1113
Clara Inés Caro-Caro, 482
Clara Lilia Calderón, 937
Claudia Mercedes Ordoñez, 1033
Cristian Alexander Cruz-Rodríguez, 1047
Dagoberto Arias, 214
Dairo Humberto Marin-Casas, 996
Danae Salazar-Castellanos, 593
Daniel Esteban Ortiz-Jurado, 845
Daniel J. Serna-Macias, 493
Daniel Zabala-González, 88
Daniela Salazar-Suaza, 639
David A. Miranda, 257
David Arsenio Landínez-Téllez, 951
Dawa Méndez, 214
Dayi Gilberto Agredo-Díaz, 951
Denis Gabriel Córdoba-Jiménez, 814
Diana Hoyos, 507
Diana Paola Osorio-Ramírez, 482
Diego J. Vimos-Lojano, 606
Diego Mauricio Cabrera-Amaya, 1018
Donovan Godoy-Lozada, 437
Duverney Gaviria, 1099
Edgar F. Pinzón, 257
Edison Jahir Duarte Ramos, 471
Edison Parra-García, 423
Edna J. Márquez, 622
Elciomar Araújo-de-Oliveira, 729
Emil José Hernández-Ruz, 729
Ernesto José González, 344
Esnedy Hernández, 392
Etna Milena Sánchez-Castelblanco, 794
Federico Ardila, 1152
Felipe Guhl-Nannetti, 88
Fernando Gordillo-Delgado, 1073
Francisco Castro-Lima, 1018
Gabriel R. Navas-S., 182
Gabriel Roldán, 303
Gabriela Wemilly Barros-da-Silva, 729
Germán Amat-García, 194, 768
Germán Cuervo-Ochoa, 814
Gilcilene Santana-Cornélio, 729
Giovany Guevara, 458, 593
Gladys Reinoso-Flórez, 458, 471
Graeme Fox, 759
Gustavo Adolfo Vallejo, 88
Gustavo Zambrano, 153
Hamilton Julián Barbosa-Vinasco, 88
Henry D. Agudelo-Zamora, 194
Heriberto Peña-Pedraza, 974
Horacio Navarro, 1167
Hugo Alfonso Rojas-Sarmiento, 828
Ignacio Briceño-Balcázar, 704
Isabel Cristina Gil-Guarín, 423
Isabel Cristina Hernández-Cortés, 560
Isadora-França, 729
Iván Camilo Acosta, 105
Iván D. Vélez, 915
J. Orlando Rangel-Ch, 1033
Jaime Aguirre-Ceballos, 768
Jaime Andrés Gutiérrez-Monsalve, 344
Jaime Martín-Franco, 814
Jaime Palacio, 392
Jairo Antonio Cubillo-Lobo, 828
Jairo Castaño-Zapata, 747
Jairo Clavijo-Torres, 1137
Jairo Roa-Rojas, 951
Javier Murillo, 915
Javier R. Castro-Ladino, 805
Javier Rivera-Sandoval, 704
Jenny Alejandra Ruiz-Jiménez, 554
Jenny Lorena Olaya-Morales, 88
Jesús Daniel David-Colón, 996
Jesús Manuel Vásquez-Ramos, 482
Jeymy Milena Walteros Rodríguez, 581
Jhon Faber Marulanda, 452, 560
Jimmy Rene Junco, 951
Jodi McWhirter, 1152
Johan Andrés Vargas-Rueda, 937
John J. Castillo, 835
John Jairo Ramírez, 392
Jonatan Cristancho, 835
Jorge D. Oliveros-Villanueva, 493
Jorge Higueta, 915
Jorge Homero Wilches Visbal, 142
Jorge Luis Turriago-González, 1008
José Jaime Martínez-Vertel, 876
José Luis Marrugo-Negrete, 169
Juan Carlos Valverde, 214
Juan David Castaño, 329
Juan Guillermo Martín, 704
Juan Guillermo Orrego-Meza, 560
Juan Guillermo Rodríguez, 1137
Juan Mateo Rivera-Pérez, 560
Juan Mauricio Castaño Rojas, 581
Juan Pablo Heredia-Martín, 794
Juan Pablo Viteri-Delgado, 560
Julia Rosa Chalaraca-Vélez, 1099
Julián Chará, 652
Julián David Rojo-Hernández, 857
Juliana Quintero, 915
Julieth Stella Cárdenas-Hincapié, 1047
Julio Cesar Carranza-Martínez, 88
July Andrea Barrera-Herrera, 407
Karen Palacio, 392
Katherin Maritza Vanegas-Berrouet, 227
Keila Magalhães-Xavier, 729
Laura Judith Giraldo-Kalil, 1018
Leana Baneza Molina-Pacheco, 407
Leonardo Posada, 105

- Ligia E. Zamora, 716
Lina M. Barrios-Gardelis, 759
Lina M. Yepes, 915
Lina Paola Giraldo, 652
Lucimar Gomes-Dias, 452, 507, 560
Luis C. Mantilla-Figueroa, 1137
Luis Norberto Granda, 133
Luis Reginaldo Ribeiro Rodrigues, 729
Luz Nidia Gil-Padilla, 572
Manuel Hernando Bernal-Bautista, 1008
Marcela González-Córdoba, 522
María C. Escobar, 241
María Camila Melo-Guerrero, 845
María Claudia Noguera-Santamaría, 704
María del Carmen Zúñiga, 522
María Fernanda Quiceno-Vallejo, 241
María Isabel Criales-Hernández, 554
María Isabel Ríos-Pulgarín, 622
María Mercedes Zambrano, 105
María Nelly Zapata-Londoño, 622
María Paula Rey-Roman, 876
Mariana Botero-Zuluaga, 1073
Mariana Franco-Torres, 560
Mariluz Graterol-Ruiz, 1126
Mario Alberto Quijano-Abril, 639
Marisol Beltrán Gutiérrez, 554
Maritza Fernández, 915
Marlon Peláez-Rodríguez, 437
Martha Mogollón, 392
Martha Patricia Ramírez-Pinilla, 1083
Matthias Beck, 1152
Mauricio Salazar-Yepes, 227
Milena Benavides-Serrato, 759
Mónica Andrea Botero, 937
Mónica Gabriela Huertas, 105
Mónica Tatiana López-Muñoz, 344
Myriam Lorena Buitrago-Monroy, 1008
Natalia Arbeláez, 915
Natalia Granados-Hernández, 984
Natalia Restrepo-Escobar, 622
Nelson Aranguren-Riaño, 407
Nerieth Goretti Leuro-Robles, 1047
Néstor Aguirre, 392
Néstor Hernando Campos-Campos, 169, 759
Néstor Javier Roncancio-Duque, 740
Nicolás Ortiz-Godoy, 951
Olympe Morales Benítez, 699
Omar Cantillo-Barraza, 88
Orlando Rivera-Díaz, 1018
Óscar José Mesa-Sánchez, 857
Óscar Marino Mosquera-Martínez, 1113
Oslen Dilayder Jaimes-Suárez, 974
Paula Guarín, 835
Ramiro Rueda-Bernal, 169
Ricardo O. Echenique, 423
Ricardo Román-Botero, 360
Richard Preziosi, 759
Samia Salomón, 376
Sandra M. Pinto, 257
Santiago Díaz-Piedrahita, 690
Santiago R. Duque, 392
Santiago Vargas-Domínguez, 984
Sara M. Robledo, 915
Sharon Martínez-García, 182
Silvia Lucia Villabona-González, 344, 423
Silvia Patricia López-Zapata, 747
Sneider Alexander Gutiérrez-Garnizo, 88
Stelia Méndez-Sánchez, 257
Tania Milena Gutiérrez-Valencia, 814
Tatiana Pineda, 915
Thomas D. Hughes, 759
Tito Bacca, 452
Verónica García, 937
Verónica Manzo, 522
Victor H. Chávez, 269
Victoria Ospina, 915
Waldo Guerra-Cárdenas, 182
Yamile Granados-Pérez, 1083
Yaneth Vásquez, 241
Yazmín Suárez-Quevedo, 88
Yeinzon Rodríguez, 121
Yuli Marcela Páez-Ruiz, 407
Yulieth Upegui, 915
Yuly Paulina Ramírez, 652
Yully Fernanda Contreras-Rueda, 759
Zuleyma Mosquera-Murillo, 1060

Índice de artículos - Index of Articles

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Volumen 44, números 170, 171, 172 y 173.

Editorial	Centenario de la muerte de Julio Garavito Armero	
	Centenary of the death of Julio Garavito Armero	9
	La limnología en Colombia	
	Limnology in Colombia	301
Ciencias Biomédicas Biomedical Sciences	Francisco de Paula Santander (1792-1840)	686
	De pestes y esperanzas	
	Of pestilences and hopes	912
	Innate trypanolytic factors in triatomine hemolymph against <i>Trypanosoma rangeli</i> and <i>T. cruzi</i>: A comparative study in eight Chagas disease vectors	
Factores tripanolíticos innatos contra <i>Trypanosoma rangeli</i> y <i>T. cruzi</i> en la hemolinfa de triatomíneos: un estudio comparativo en ocho especies de vectores de la enfermedad de Chagas	88	
Ciencias Físicas Physical Sciences	The effect of aminoglycosides on horizontal gene transfer in <i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	El efecto de los aminoglucósidos sobre la transferencia horizontal de genes en <i>Klebsiella pneumoniae</i>	105
	Genetic analysis of pre-Columbian human remains from Lower Magdalena suggests a migratory route and matrilineal genetic continuity in Northern South America	
	Análisis genético de restos humanos precolombinos del Bajo Magdalena sugiere una ruta migratoria y continuidad genética matrilineal en el norte de Suramérica	704
Ciencias Físicas Physical Sciences	<i>Caesalpinia spinosa</i> (Molina) Kuntze: una nueva promesa para el tratamiento tópico de la leishmaniasis cutánea	
	<i>Caesalpinia spinosa</i> (Molina) Kuntze: a new promise for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis	915
	Galileones vectoriales con simetría SU(2) como los generadores de los períodos de inflación primordial y expansión acelerada tardía	
	Vector galileones with an SU(2) symmetry as the generators of the primordial inflation and late accelerated expansion periods	121
Ciencias Físicas Physical Sciences	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	133
Ciencias Físicas Physical Sciences	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	142

**Ciencias
Físicas**
Physical Sciences

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	153
Estudio del semiconductor magnético ZnO dopado con Fe obtenido por aleamiento mecánico	
Study of the magnetic semiconductor of the Fe-doped ZnO system obtained by mechanical alloy	716
Preparación y estudio de propiedades estructurales, morfológicas y ópticas de películas delgadas de sulfuro de zinc para aplicación fotovoltaica	
Preparation and study of structural, morphological, and optical properties of zinc sulfide thin films for photovoltaic application	937
Influence of process parameters on the size, morphology, and structure of magnetic nanoparticles obtained by chemical methods	
Influencia de los parámetros de proceso en el tamaño, morfología y estructura de nanopartículas magnéticas obtenidas mediante métodos químicos	951
Caracterización de parámetros del rayo en Colombia con base en sistemas de localización terrestres y satelitales, 20 años de análisis	
Characterization of lightning parameters in Colombia based on terrestrial and satellite lightning locating systems, a 20 years analysis	960
Mie scattering study of dielectric nanoparticles and nanoantennas applications	
Estudio de la dispersión de Mie de nanopartículas dieléctricas y de las aplicaciones en nanoantenas	974
Análisis de polaridades magnéticas en regiones activas para la predicción de fulguraciones solares	
Analysis of magnetic polarities in active regions for the prediction of solar flares	984

**Ciencias
Naturales**
Natural Sciences

Determinación del rol del tiburón cazón antillano <i>Rhizoprionodon porosus</i> (Carcharhinidae) en el flujo de metilmercurio en las redes tróficas del Caribe colombiano	
Determination of the role of the Antillean shark <i>Rhizoprionodon porosus</i> (Carcharhinidae) in the flow of methylmercury within the trophic webs of the Colombian Caribbean	169
Estado poblacional de <i>Crocodylus acutus</i> Cuvier y <i>Caiman crocodilus fuscus</i> (Cope) en Puerto Badel y Correa, Bolívar, Colombia	
Population status of the American crocodile <i>Crocodylus acutus</i> Cuvier and spectacled caiman <i>Caiman crocodilus fuscus</i> (Cope) in Puerto Badel and Correa municipalities, department of Bolívar, Colombia	182
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)	194

Efectos del defoliador <i>Atta cephalotes</i> Linnaeus. en el crecimiento y el desarrollo fisiológico e hidráulico de árboles juveniles de <i>Gmelina arborea</i> Roxb. en condiciones controladas	
Effects of the <i>Atta cephalotes</i> Linnaeus. defoliator on the growth and physiological and hydraulic development in juvenile trees of <i>Gmelina arborea</i> Roxb. under controlled conditions	214
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	227
Impacto de los drenajes de mina sobre los microorganismos del suelo	
Impact of mine drainage on the microbial community of the soil	241
Revisión histórica de la limnología en Colombia	
Historical review of limnology in Colombia	303
Comportamiento de la estructura térmica y características morfométricas de un humedal de montaña tropical	
Thermal structure evolution and morphometric characteristics of a tropical mountain wetland	329
Variables fisicoquímicas y biológicas de mayor influencia en el estado trófico de cinco embalses andinos colombianos	
Main physicochemical and biological variables in the trophic state of five Colombian Andean reservoirs	344
Variación estacional de la temperatura media y los flujos advectivos y atmosféricos de calor en un embalse tropical andino	
Seasonal variability of advective and atmospheric heat fluxes and mean temperature in a tropical Andean reservoir	360
Floraciones de cianobacterias en Colombia: estado del conocimiento y necesidades de investigación ante el cambio global	
Cyanobacterial blooms in Colombia: State of knowledge and research needs in the context of climate global change	376
Clasificación de grupos morfofuncionales del fitoplancton en seis sistemas lénticos de las regiones Caribe, Andina y Amazónica de Colombia	
Classification of morphofunctional phytoplankton groups in six lentic systems of the Caribbean, Andean, and Amazonian regions of Colombia	392
Incidencia del tiempo de retención hidráulica en el plancton del reservorio La Chapa (Santana, Boyacá), Colombia	
Incidence of hydraulic retention time in the plankton of the La Chapa reservoir (Santana, Boyacá), Colombia	407
Environmental factors driving phytoplankton biomass and diversity in a tropical reservoir	
Factores ambientales determinantes de la biomasa y la diversidad del fitoplancton en un embalse tropical	423

Diversidad y distribución de la comunidad fitoperifítica presente en un río andino amazónico y su relación con variables ambientales	
Diversity and distribution of the phytoperiphytic community present in an Andean Amazonian river and its relationship with environmental variables	437
First record of <i>Vacupernius packeri</i> (Allen) (Ephemeroptera: Leptohephidae) from Colombia and South America with additional notes on egg morphology	
Primer registro del efemeróptero <i>Vacupernius packeri</i> en Colombia y América del Sur y descripción de la morfología de sus huevos	452
Estadios ninfales de <i>Anacroneuria</i> spp. (Plecoptera: Perlidae) y su relación con variables fisicoquímicas en tres microcuencas del río Combeima, Ibagué, Colombia	
Nymphal stages of <i>Anacroneuria</i> spp. (Plecoptera: Perlidae) and its relationship with physicochemical variables in three microbasins of the Combeima River, Ibagué, Colombia	458
Composición y estructura del ensamblaje de larvas del orden Trichoptera (Arthropoda: Insecta) en la quebrada Las Perlas, Ibagué, Colombia	
Composition and structure of larval Trichoptera (Arthropoda: Insecta) assemblages of the Las Perlas stream, Ibagué, Colombia	471
First record of the larvae <i>Byrsopteryx</i> Flint, 1981 (Trichoptera: Hydroptilidae) in Colombia	
Primer registro de larvas de <i>Byrsopteryx</i> Flint, 1981 (Trichoptera: Hydroptilidae) en Colombia	482
Larvas de Trichoptera en un gradiente altitudinal en un río neotropical	
Trichoptera larvae in an altitudinal gradient in a Neotropical river	493
Contribución taxonómica a la subfamilia Chironominae de Caldas: nuevos registros, clave taxonómica y diagnosis	
Taxonomic contribution to the Chironominae subfamily in Caldas: new records, taxonomic keys, and diagnosis	507
La familia Elmidae (Insecta: Coleoptera: Byrrhoidea) en Colombia: riqueza taxonómica y distribución	
The Elmidae family (Insecta: Coleoptera: Byrrhoidea) in Colombia: Taxonomic richness and distribution	522
Primer registro de <i>Cytheridella ilosvayi</i> Daday, 1905 (Ostracoda: Limnocytheridae) en la ciénaga de San Silvestre, Colombia	
First record of <i>Cytheridella ilosvayi</i> Daday, 1905 (Ostracoda: Limnocytheridae) in the Ciénaga San Silvestre, Colombia	554
Diversidad de macroinvertebrados acuáticos en el Parque Nacional Natural Selva de Florencia, Colombia	
Diversity of aquatic macroinvertebrates in the National Natural Park <i>Selva de Florencia</i> , Colombia	560
Composición de macroinvertebrados en las provincias de Márquez y Lengupá y posible efecto de la orogénesis en su distribución	
Composition of macroinvertebrates in the provinces of Márquez and Lengupá and the possible effect of orogenesis on their distribution	572

Composición y aspectos funcionales de los macroinvertebrados acuáticos presentes en una microcuenca de cabecera en los Andes de Risaralda, Colombia	
Composition and functional aspects of the aquatic macroinvertebrates present in a headwaters microbasin in the Andes of Risaralda, Colombia	581
Macroinvertebrados y pérdida de masa de hojas de <i>Eucalyptus</i> sp. y <i>Tibouchina lepidota</i> en una quebrada altoandina con influencia minera (Manizales, Colombia)	
Macroinvertebrate and leaf mass loss of <i>Eucalyptus</i> sp. and <i>Tibouchina lepidota</i> in an Andean headwater stream with mining influence (Manizales, Colombia)	593
Influencia de la variación temporal de los parámetros hidráulicos en la estructura y la función de la comunidad de macroinvertebrados en un río andino	
Influence of temporal variation of hydraulic parameters on the structure and function to the macroinvertebrate community in an Andean stream	606
Estructura poblacional y reproducción de cinco especies ícticas en un embalse neotropical	
Population structure and reproduction of five fish species in a Neotropical reservoir	622
Análisis multitemporal y caracterización de la vegetación hidrófita y helófita de un cinturón de humedales urbanos en el altiplano del Oriente antioqueño	
Multi-temporal analysis and characterization of hydrophyte and helophyte vegetation of a belt of urban wetlands in the highlands of the Eastern region of Antioquia	639
Restauración de corredores ribereños en paisajes ganaderos de la zona andina colombiana: efectos tempranos en el ambiente acuático	
Restoration of riparian corridors in cattle ranching landscapes of the Colombian Andes: Early effects on the aquatic environment	652
The genetic structure of <i>Pristimantis latro</i> (Anura: Craugastoridae) mirrors traits of their life history	
La estructura genética de <i>Pristimantis latro</i> (Anura: Craugastoridae) refleja rasgos de su historia de vida	729
Densidad poblacional de la guacharaca colombiana (<i>Ortalis columbiana</i>) en un fragmento de bosque subandino en el Valle del Cauca, Colombia	
<i>Ortalis columbiana</i> population density in a sub-Andean forest fragment in Valle del Cauca, Colombia	740
<i>In vitro</i> effect of four fungicides on <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> causing anthracnosis on the Red Globe grape variety	
Efecto <i>in vitro</i> de cuatro fungicidas sobre <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , causante de la antracnosis de la uva variedad Red Globe	747
Isolation and characterization of 17 polymorphic microsatellite loci for a sea urchin (<i>Echinometra lucunter</i>: Echinometridae)	
Aislamiento y caracterización de 17 microsatélites polimórficos en un erizo de mar (<i>Echinometra lucunter</i> : Echinometridae)	759
El Instituto de Ciencias Naturales (1936-2019): de la historia natural al conocimiento de la biodiversidad en Colombia	
The Colombian <i>Instituto de Ciencias Naturales</i> (1936-2019): From the natural history to the knowledge on the biodiversity in Colombia	768

**Ciencias
Naturales**
Natural Sciences

Propagación de <i>Espeletiopsis corymbosa</i>, <i>Espeletia barclayana</i>, <i>Espeletia summapacis</i> y <i>Espeletia killipii</i> en condiciones de invernadero Propagation of <i>Espeletiopsis corymbosa</i> , <i>Espeletia barclayana</i> , <i>Espeletia summapacis</i> , and <i>Espeletia killipii</i> in greenhouse conditions	780
Poríferos asociados a rompeolas en el departamento de Sucre (Caribe colombiano) Sponges (Porifera) associated with breakwaters in the department of Sucre (Colombian Caribbean)	996
Frecuencia cardíaca y frecuencia de muda a diferentes temperaturas en dos especies de lagartijas colombianas, <i>Anolis huilae</i> y <i>A. tolimensis</i> (Squamata: Dactyloidae) Heart rate and molting frequency at different temperatures in two species of Colombian lizards, <i>Anolis huilae</i> and <i>A. tolimensis</i> (Squamata: Dactyloidae)	1008
Riqueza, composición y distribución de las plantas vasculares en sabanas y bosques ribereños de la cuenca baja del río Pauto (Casanare-Colombia) Richness, composition, and distribution of vascular plants in savannas and riparian forests of the Pauto River lower watershed (Casanare-Colombia)	1018
Composición florística y aspectos de la estructura de la vegetación en sistemas agroforestales con cacao (<i>Theobroma cacao</i> L. - Malvaceae) en el departamento del Huila, Colombia Floristic composition and aspects of the structure of the vegetation in agroforestry systems with cocoa (<i>Theobroma cacao</i> L. - Malvaceae) in the department of Huila, Colombia	1033
Evaluación del estado de salud de la colección de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del Museo de La Salle, Bogotá MLS-mam Evaluation of the health status of the bat collection (Mammalia: Chiroptera) at <i>Museo de La Salle</i> , Bogotá MLS-mam	1047
Fitoperifiton asociado con macrófitas en una ciénaga tropical de la cuenca del río Atrato, Quibdó (Chocó), Colombia Phytoperiphyton associated with macrophytes in a tropical floodplain of the Atrato River basin, Quibdó, Chocó-Colombia	1060
Monitoreo fotoacústico de plantas <i>Musa acuminata</i> (Musaceae) infectadas con el hongo <i>Fusarium oxysporum</i> (Nectriaceae) Photoacoustic evaluation of <i>Musa acuminata</i> plants (Musaceae) infected with the fungus <i>Fusarium oxysporum</i> (Nectriaceae)	1073
Reproductive phenology of three species of <i>Pristimantis</i> in an Andean cloud forest Fenología reproductiva de tres especies de <i>Pristimantis</i> en un bosque de niebla andino	1083

**Ciencias
Químicas**
Chemical Sciences

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	257
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?	269

Evaluación de residuos de cáscaras de papa como sustrato para la producción de amilasas a partir de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> A16	
Evaluation of potato peel wastes to produce amylases from <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> A16	794
Pyrolysis system to obtain carbonaceous material from rice husk used as a precursor	
Sistema de pirólisis para obtener material carbonoso a partir de la cascarilla de arroz como precursor	805
Extracción selectiva de oro mediante membranas basadas en un nuevo material polimérico con sitios activos complejantes	
Selective gold extraction using membranes based on a new polymeric material with complex active sites	814
Validation of an analytical method by GC-FID for the quantification of styrene and α-methylstyrene	
Validación de un método analítico por GC-FID para la cuantificación de estireno y α -metilestireno	828
Rapid electrochemical detection of <i>Staphylococcus aureus</i> based on screen-printed gold electrodes modified with cysteine and Guinea grass (<i>Panicum maximum</i>) peroxidase	
Método electroquímico para la detección rápida de <i>Staphylococcus aureus</i> en cultivos por electrodos serigrafados de oro modificados con cisteína y peroxidasa de pasto Guinea (<i>Panicum maximum</i>)	835
Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i> L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes	
Comparison of the composition and antioxidant activity of the chamomile essential oil (<i>Matricaria chamomilla</i> L.) obtained by supercritical fluids extraction and other green techniques	845
Modelamiento por homología <i>in silico</i> de la quinoproteína glucosa deshidrogenasa unida a membrana en <i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>In silico</i> modeling by homology of membrane-bound quinoprotein glucose dehydrogenase in <i>Pseudomonas fluorescens</i>	1099
Prospective use of fruit byproducts in Colombia according to their antioxidant capacity	
Uso prospectivo de subproductos de frutas en Colombia según su capacidad antioxidante	1113
On the general circulation of the atmosphere around Colombia	
Circulación general de la atmósfera alrededor de Colombia	857
Sillimanita en esquistos y cuarcitas de los Esquistos del Silgará en el cerro La Ventana, macizo de Santander, Colombia: implicaciones petrológicas	
Sillimanite in schists and quartzites of the Silgará Schists Unit in Cerro La Ventana in the Santander Massif, Colombia: petrological implications	876

<p>Ciencias de la Tierra Earth Sciences</p>	<p>Áreas para la observación astronómica a través del procesamiento digital de imágenes nocturnas en Python Areas for astronomic observation through the digital night image processing with Python 1126</p>
	<p>Nueva propuesta de edades para el registro sedimentario de las formaciones Bocas y Jordán y su relación con el desarrollo de la actividad magmática del Grupo Plutónico de Santander (Cordillera Oriental, Colombia) A new proposal on ages of the sedimentary record of Bocas and Jordan formations and their relationship with the development of the magmatic activity of the Santander Plutonic Group (Eastern Cordillera, Colombia) 1137</p>
<p>Matemáticas Mathematics</p>	<p>The arithmetic of Coxeter permutahedra La aritmética de los permutaedros de Coxeter 1152</p>
	<p>On the splitting rate of a tower of Artin-Schreier type Sobre la tasa de descomposición de una torre de tipo Artin- Schreier 1167</p>
<p>Homenaje al General Francisco de Paula Santander Homage to General Francisco de Paula Santander</p>	<p>La comisión científica permanente y la Academia Nacional de Colombia The Permanent Scientific Commission and the National Academy of Colombia 690</p>
	<p>Encuentros de Francisco de Paula Santander con Alexander von Humboldt y otros científicos en Berlín y París: 1830 Meetings of Francisco de Paula Santander with Alexander von Humboldt and other scientists in Berlin and Paris: 1830 693</p>
	<p>Vida de la Academia: Francisco de Paula Santander Life of the Academy: Francisco de Paula Santander 699</p>
	<p>Cartas a Caldas Letters to Caldas 1174</p>
	<p>Vida de la Academia 1182</p>

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) 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) 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) 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.

