



Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

ISSN 0370-3908
ISSN 2382-4980 (En línea)

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

Vol. 40 · Número 156 · Págs. 375-542 · Julio - Septiembre de 2016 · Bogotá - Colombia

*Relacion de un Viage à
Ybarra y demas Pueblos
circunvesinos al Nòrdeste
de Quito. hecho en 1802.*

*¶ No quiero entrar en un por menor
~~de los motivos~~ y de el Origen de este Viage:
haste por ahora saber que en el plan general de el
se me prescribe recorrer todos los alrededores ^{de Quito} an-
tes de partir de esta Provincia, y que comense por
el Nòrdeste visitande à Ybarra, Otavalo, y de-
mas Pueblos circunvesinos. La observacion de el
Solsticio del Verano de 802., las refracciones astro-
nomicas al nivel de Quito, las variaciones horarias del
Barometro p^a la noche y el conocimiento de la suma de
los errores de mi Quarte de Circulo, me ocuparon desde
el 18 de Junio, hasta el 23 de Julio, cuyo resulta-*



Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

ISSN 0370-3908
ISSN 2382-4980 (En línea)

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

Vol. 40 • Número 156 • Págs. 375-542 • Julio - Septiembre de 2016 • Bogotá - Colombia

Comité editorial

Editora

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

Editores asociados

Ciencias biomédicas

Luis Fernando García, M.D., M.Sc.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
Felipe Guhl, M. Sc.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia
Leonardo Puerta Llerena, Ph. D.
Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia
Gustavo Adolfo Vallejo, Ph. D.
Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia
Luis Caraballo, M.D., M.Sc.
Universidad de Cartagena, Colombia
Eduardo Alberto Egea Bermejo, M.D., M.Sc.
Universidad del Norte,
Barranquilla, Colombia

Ciencias físicas

Bernardo Gómez, Ph. D.
Departamento de Física,
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia
Rubén Antonio Vargas Zapata, Ph. D.
Universidad del Valle,
Cali, Colombia
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 Sepúlveda, Dr. rer. nat.
Universidad Nacional, Medellín, Colombia
Carlos Alberto Duque Echeverri, Ph. D.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

María Elena Gómez, Doctor
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Gabriel Téllez, Ph. D.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Álvaro Luis Morales Aramburo, Ph. D.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

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

Enrique Vera López, Dr. rer. nat.
Universidad Politécnica, Tunja, Colombia

Jairo Roa-Rojas, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Rafael Baquero, Ph. D.
Cinvestav, México

Ángela Stella Camacho Beltrán, Dr. rer. nat.
Departamento de Física,
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Hernando Ariza Calderón, Doctor
Universidad del Quindío,
Armenia, Colombia

Ciencias químicas

Sonia Moreno Guaqueta, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Fanor Mondragón, Ph. D.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Moisés Wasserman Lerner, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Myriam Sánchez de Gómez, M.Sc.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Héctor Fabio Zuluaga Corrales, Ph. D.
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Fernando Martínez, Docteur en Chimie
Universidad Industrial de Santander,
Bucaramanga, Colombia

Betty Lucy López Osorio, Ph. D.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Ciencias naturales

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

Jaime Cantera, Doctorat d'Etat
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Gabriel Roldán, Dr. rer. nat.
Universidad Católica de Oriente,
Rionegro, Antioquia, Colombia

Juan Armando Sánchez Muñoz, Ph. D.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Patricia Chacón de Ulloa, Ph. D.
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Sandra Baena Garzón, Ph. D.
Pontificia Universidad Javeriana,
Bogotá, Colombia

Néstor Hernando Campos Campos, Dr. rer. nat.
Universidad Nacional de Colombia,
Sede Caribe, Colombia

Jorge Enrique Llorente, Doctor
Universidad Nacional Autónoma
de México, México

Santiago Melo Gaviria, Ph. D.
Universidad de Viena, Austria

Martha Patricia Ramírez Pinilla, Ph. D.
Universidad Industrial de Santander,
Bucaramanga, Colombia

Carlos Daniel Cadena Ordoñez, Ph. D.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Santiago Madriñán, Ph. D.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Ciencias sociales

Rubén Ardila, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Guillermo Páramo, M.Sc.
Universidad Central, Bogotá, Colombia

Ciencias de la tierra

José Ignacio Martínez, Ph. D.
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

Germán Poveda Jaramillo, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Medellín, Colombia

Armando Espinosa, Ph. D.
Universidad del Quindío,
Armenia, Colombia

Carlos Alberto Vargas, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Fabio Cediél Melo, Dr. rer. nat.
Universidad EAFIT, Medellín, Colombia

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

Carlos Alberto Jaramillo Muñoz, Ph. D.
Smithsonian Tropical Research Institute,
Panamá

Matemáticas

Victor Albis, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Jorge Ivan Cossio Betancur, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Medellín, Colombia

Luis Español González, Doctor
Universidad de la Rioja, España

Jaime Ignacio Lesmes Camacho, Dr. phil. nat.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Luis Carlos Arboleda, Doctor
Universidad del Valle, Cali, Colombia

José R. Quintero, Ph. D.
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Comité científico internacional

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

Antoine M. Cleef, Ph. D.
University of Amsterdam, Holanda

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

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

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

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

Asistencia y coordinación editorial Carolina Acosta

Corrección de estilo y ortografía
Marta Renza

Diagramación
Johanna Morales

Impresión y acabados
Gente Nueva

Reseñada en los siguientes índices nacionales e internacionales:

Actualidad Iberoamericana
Agris
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

Periodicidad: trimestral
Fecha de inicio: 1936
Tamaño: 21,5 x 28 cm
Papel: propalmate de 90 gr.
Solicitud de canje

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

La Academia no es responsable de las opiniones aquí expresadas.

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

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

Impreso en Colombia

Página web de la revista: www.raccefyn.co

Correo electrónico: revista@accefyn.org.co

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

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



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. 40 • Número 156 • Págs. 375-542 • Julio - Septiembre de 2016 • Bogotá - Colombia

Contenido - Contents

Nuestra portada

Un manuscrito póstumo e inédito de 200 años: Cuaderno de viajes y observaciones de Francisco José de Caldas entre 1802 y 1807

A 200-year old posthumous and unpublished manuscript by Francisco José de Caldas:
travel journal and observations, 1802 – 1807

Alberto Gómez Gutiérrez 380

Ciencias biomédicas Biomedical Sciences

The complexity of genome integration process in human lentivirus **1A**

Complejidad del proceso de integración sistémica de los lentivirus humanos

Felipe García-Vallejo 382

Ciencias físicas Physical Sciences

Metamateriales: principales características y aplicaciones **RT**

Metamaterials: main features and applications

Luis M. Castellanos, Francisco López, Erick Reyes-Vera 395

Analytical potentials for flat galaxies with spheroidal halos **OA**

Potenciales analíticos para galaxias planas con halos esferoidales

Guillermo A. González, Jerson I. Reina 402

Ciencias químicas Chemical Sciences

Study and characterization of the micellar phase of the polyethylene glycol 40 stearate, water, and soy lecithin system **AO**

Estudio y caracterización de la fase micelar del sistema formado a partir
del polietilenglicol 40 estearato, agua y lecitina de soja

Mercedes Díaz-Lagos, Gemma Montalvo-García, Mercedes Valiente-Martínez,
Segundo Agustín Martínez-Ovalle 412

Ciencias naturales Natural Sciences

Macroinvertebrados acuáticos presentes en dietas de peces de la cuenca del río Hacha (Caquetá, Colombia) **AO**

Aquatic macroinvertebrate present in fish diets of the basin of
Hacha river (Caquetá, Colombia)

Jhonatan Gutiérrez-Garaviz, Marlon Peláez-Rodríguez, Hernando Ovalle-Serrano 420

Primer registro de *Tylos niveus* y nuevo reporte de *Porcellionides pruinosus* (Oniscidea: Tylidae y Porcellionidae) para Colombia **AO**

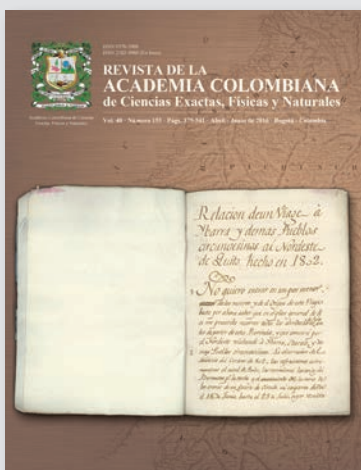
First record of *Tylos niveus* and new report of *Porcellionides pruinosus*
(Oniscidea: Tylidae and Porcellionidae) for Colombia

Yesenia M. Carpio-Díaz, Carlos Mario López-Orozco, Yeison Herrera-Medina,
Gabriel R. Navas-S., Adriana Bermúdez 433

**Ciencias
naturales**
Natural Sciences

Ascomicetos de los guaduales en la reserva natural La Montaña del Ocaso, departamento del Quindío, Colombia AO	
Ascomycetes of the guadua forests in the natural reserve “La Montaña del Ocaso”, Quindío department, Colombia	
<i>Ricardo Soto-Agudelo, Ricardo Valenzuela, Germán. D. Gómez-Marín, Tania Raymundo</i>	438
Respuesta de quince introducciones de tomate cherry (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) al nematodo nodulador (<i>Meloidogyne</i> spp. GOELDI) e identificación de las especies AO	
Reaction of fifteen introductions of wild tomato cherry (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) to root knob nematode (<i>Meloidogyne</i> spp. GOELDI) and identification of species	
<i>Luisa Fernanda Cardona-Piedrahita, Jairo Castaño-Zapata, Nelson Ceballos-Aguirre</i>	450
Genetic analysis of Paleo-Colombians from Nemocón, Cundinamarca provides insights on the early peopling of northwestern South America OA	
El análisis genético de paleo-colombianos de Nemocón, Cundinamarca proporciona revelaciones sobre el poblamiento temprano del Noroeste de Suramérica	
<i>Marcela Díaz-Matallana, Alberto Gómez, Ignacio Briceño, José Vicente Rodríguez</i>	461
Reptiles en corredores biológicos y mortalidad por atropellamiento vehicular en Barbas-Bremen, departamento del Quindío, Colombia AO	
Reptiles in biological corridors and roadkills in Barbas-Bremen, departamento del Quindío, Colombia	
<i>Daniel Felipe López-Herrera, Mateo León-Yusti, Stefanny Caroline Guevara-Molina, Fernando Vargas-Salinas</i>	484
Fenología y brotación vegetativa de una nueva especie de <i>Vriesea</i> (Bromeliaceae) de Colombia en condiciones <i>ex situ</i> AO	
Fenology and vegetative growth in <i>ex situ</i> conditions of a new species of <i>Vriesea</i> (Bromeliaceae) from Colombia	
<i>Adriana Pico-V</i>	494
Estado del conocimiento y prioridades de investigación sobre las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae (Mammalia: Carnivora) en Colombia AO	
State of knowledge and research priorities for Canidae, Mephitidae and Procyonidae (Mammalia: Carnivora) families in Colombia	
<i>Gabriel Patricio Andrade-Ponce, Sandra Milena Montaña-Salazar, Luis Miguel Riveros-Loaiza, Héctor E. Ramírez-Cháves, Andrés Felipe Suárez-Castro</i>	500
Análisis de la relación entre variables morfométricas y biofísicas en la estimación de características probabilísticas para la oferta hídrica superficial en Colombia AO	
Analysis of the relationship between morphometric and biophysical variables in the estimation of probability characteristics for surface water supply in Colombia	
<i>Jaime Burbano-Girón, Efraín Domínguez, Oscar Barón-Ruiz</i>	514
A winsorized adaptive rank test for location when sampling from asymmetric distributions OA	
Una prueba de rangos adaptativa winsorizada para localización en muestras de distribuciones asimétricas	
<i>Jimmy Antonio Corzo, Myrian Elena Vergara</i>	527
Corrección del autor	533
Enfoque y alcance	
Focus and Scope	534

Un manuscrito póstumo e inédito de 200 años: Cuaderno de viajes y observaciones de Francisco José de Caldas entre 1802 y 1807



Francisco José de Caldas nació en Popayán a comienzos del mes de octubre de 1768 y murió en Bogotá 48 años después, en 1816, a finales del mismo mes de octubre.

Doscientos años después de su muerte, la Pontificia Universidad Javeriana pudo recuperar en Francia uno de sus cuadernos manuscritos, con doce estudios de viaje y observaciones científicas que abarcan los siguientes temas y folios:

- 1- *Relacion de un Viage à Ybarra y demas Pueblos circunvesinos al Nordeste de Quito hecho en 1802* (28)
- 2- *Aves* (35)
- 3- *Quito* (8)
- 4- *Descripción casa Marqués de Selva alegre en Chillo* (3)
- 5- *Huerto y jardín de Chillo* (1)
- 6- *Viage a las pirámides y base de Yaruqui* (15)
- 7- *Viage a Pitchincha* (28)
- 8- *Viage al Panecillo* (4)
- 9- *Materiales para la Memoria sobre los árboles de Quina* (1)
- 10- *Determinación del término de la nieve perpetua en las cercanías del ecuador* (5)
- 11- *Determinación del término de la vegetación en las cercanías del ecuador* (Trigo, Cinchona, Spondias, Tabaco, *Coccos butyracea*, *Bambusa exandra*, Caucho (*Ficus*), *Heliconia*, Canelo (*Laurus cinamomoides*), *Grandes cocos de Cali* (*Coccos nucifera*), *Chuquiraga*, *Musa* (Plátano), *Theobroma cacao*) (13)
- 12- *Trabajos geodésicos sobre Ymbabura* (4)

Los contenidos de estos doce estudios están registrados en 118 folios manuscritos, además de 76 folios en blanco que los separan en un volumen encuadernado en 1802.

La amplitud temática que revelan estos títulos se amplía considerablemente al seguir folio tras folio su contenido, muy rico en conceptos y mediciones originales. El análisis detallado de cada uno de ellos revela nuevas apreciaciones de Caldas sobre su entorno en la primera década del siglo XIX, y permite fundamentar nuevas hipótesis sobre el alcance de sus trabajos a partir de su vinculación a la Expedición Botánica a mediados de ese mismo año de 1802, cuando aún vivía en los territorios que hoy hacen parte del Ecuador.

Estos trabajos son particularmente significativos en lo que se refiere a la geografía de las plantas, materia que se ha asociado usualmente al nombre de Alexander von Humboldt, pero que, gracias al detalle de las observaciones de este diario, puede asociarse también a Francisco José de Caldas como su gestor simultáneo.

La primera noticia de este cuaderno manuscrito se encuentra en el inventario de la biblioteca de Caldas elaborado en mayo 22 de 1816, algo más de cinco meses antes de su fusilamiento en Bogotá. La segunda mención se halla en el avalúo “de lo que quedaba de esta biblioteca” el 18 de junio, menos de un mes después, cuando Caldas se registró como “emigrado”, dos semanas antes de ser apresado en su hacienda de Paispamba, al sur de Colombia.

Los 12 estudios de este manuscrito inédito hacen parte de una serie total de 44 textos caldasianos fechados entre 1795 y 1808 que se han podido registrar hasta hoy, es decir que configuran cerca de la tercera parte de sus estudios antes de iniciar la publicación del *Semanario del Nuevo Reyno de Granada*, antes del fallecimiento de José Celestino Mutis, quien se convirtió en su protector a partir de 1802, y antes de cumplir 40 años.

Un buen complemento de estos 44 textos, varios de ellos aún inéditos, son las 32 cartas que Caldas escribió a Mutis en el curso de su vida, las cuales fueron editadas en 1978 en la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, gracias a la coordinación de Alfredo Bateman y de Jorge Arias de Greiff.

La Pontificia Universidad Javeriana pondrá este manuscrito inédito a disposición del público general y de los académicos interesados en el 2017, una vez haya sido debidamente digitalizado y analizado en profundidad por un número plural de profesores.

Alberto Gómez Gutiérrez, PhD FLS

Director Instituto de Genética Humana

Facultad de Medicina

Pontificia Universidad Javeriana

The complexity of genome integration process in human lentivirus

Felipe García-Vallejo

Laboratory of Molecular Biology and Pathogenesis, Universidad of Valle, Cali, Colombia

Inaugural article by number member of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences in May 13, 2016.

Abstract

Introduction. The distribution of human lentiviral cDNA into the host genome has been studied using a linear structural approach, however such analysis is incomplete because do not consider the dynamics and topology of interphase chromatin and the gene expression networks in infected cells.

Objective. To correlate using a non-linear approach the multifractality of human chromosomes, with the composition and disturbing of chromatin topology, as complex effect promote by the lentiviral cDNA integration.

Methods. From 2,409 human genome sequences flanking the 5'LTR of human and simian lentiviruses obtained from GeneBank (NCBI) database, several human genomic variables were correlated with the multifractality values $Av\Delta Dq$ of chromosomes covering more than 98.6% of the human genome. Moreover Cytoscape v.2.63 was used to simulate the effects of viral cDNA integration on gene expression networks in macrophages.

Results. The 54.21% of lentivirus cDNA integrations were registered in chromosomes with high and medium fractality; 18.14% of these cDNA integrations was exclusively located in chromosomes 16, 17, 19 and 22 corresponding to that with high multifractality values. High scores of Pearson's correlation for $Av\Delta Dq$ /chromosome vs integrations/chromosome; percentage of Alu sequences were recorded. 2,770 interactions among 28 genes located closed to HIV-1 proviruses in human macrophages were recorded. cDNA integration alters the gene interaction networks in infected cells, the topological parameters of non-infected macrophage network gene was dramatically changed upon HIV-1 integration.

Conclusion. Some topological changes in those regions with high frequency of cDNA viral integrations would synergistically configure local topological chromatin environments that alters the gene interaction networks in infected cells. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Retrovirus; Retroviral co-integration; Lymphocytes; CpG Island; Class II Genes; Computational simulation.

Complejidad del proceso de integración sistémica de los lentivirus humanos

Resumen

Introducción. La distribución del DNAc lentiviral en el genoma hospedero ha sido estudiada usando un enfoque estructural, sin embargo éste es incompleto pues no considera la dinámica y la topología de la cromatina interfásica y las redes de expresión de genes en la célula infectada.

Objetivo. Utilizando un enfoque no lineal, correlacionar la multifractalidad de los cromosomas humanos con la composición y el disturbio de la topología de la cromatina como un efecto complejo promovido por la integración de ADNc lentiviral.

Métodos. De 2.409 secuencias genómicas obtenidas del GeneBank y flanqueantes al 5'LTR de lentivirus humanos, (cobertura mayor del 98,6% del genoma humano), se correlacionaron con los valores de multifractalidad ($Av\Delta Dq$) de la cromatina humana. Adicionalmente se empleó el programa Cytoscape v.2.63 para simular computacionalmente los efectos de la integración sobre las redes de expresión de genes humanos.

Resultados. El 54,21% de la integración lentiviral ocurrió en aquellos cromosomas con valores altos e intermedios de multifractalidad; el 18,14% de estas integraciones se localizo en los cromosomas con más altos valores de multifractalidad (16, 17, 19, 22). La multifractalidad se correlacionó con el porcentaje Alu. Se registraron 2.770 interacciones entre 28 genes localizados cerca de provirus VIH-1 en macrófagos humanos. La integración del DNAc lentiviral alteró dramáticamente, la topología de la red de expresión de genes en macrófagos.

Conclusión. Algunos cambios topológicos asociados a las regiones con elevada frecuencia de integración del ADNc, podrían, de manera sinérgica, reconfigurar localmente la topología del ambiente cromatínica que las redes de expresión de genes en la célula infectada. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Retrovirus; Cointegración retroviral; Linfocitos; Isla CpG; Genes clase II; Simulación computacional.

Introduction

The study of particular systems is the source of inspiration that guides the formation of general ideas from specific cases to general principles. Therefore the systemic approach extends towards the study of fundamental biological questions, such as gene assembly, protein folding and the nature of functional specificity (Diehl y Boyle, 2016). Such issues extend beyond the current perception of bioinformatics as a support discipline and address aspects of biological complexity, including the simulation of molecular interaction networks and the dynamics of chromatin using nonlinear methods (Polychronopoulos, *et al*, 2016; Karimi-Busheri y Rasouli-Nia, 2015).

The two closely related human lentiviruses HIV-1 and HIV-2 are responsible for the 21th century AIDS pandemic (Piot, *et al*, 2015; UNAIDS, 2013). Most current therapeutic approaches use combinations of antiviral drugs that inhibit activities of viral enzymes such as reverse transcriptase, protease and integrase; nevertheless none of those have succeeded in controlling infection (Margolis, *et al*, 2015; Balakrishnan, 2009; Wang, *et al*, 2010; Zaccarelli, *et al*, 2005). One option to overcome the problem is to explore new therapies that include the study of the viral cDNA integration dynamics of human Lentiviruses. It would permit to understand the underpinnings behinds of alterations of cellular homeostasis when a cell is infected (Moore, 2000). Additionally, analysis of integration process is important in HIV-induced disease, in Lentivirus-based gene therapy and new therapeutic options actually developed (Saayman, *et al*, 2015; Cereseto y Giacca, 2004).

Integration is a crucial step in the life cycle of retrovirus permitting the incorporation of viral cDNA into the host genome (Coffin, 1996; Hindmarsh y Leis, 1999). Lentiviral cDNA integration is mediated by the virally encoded integrase enzyme and other viral and cellular proteins in a molecular complex called the pre-integration complex (PIC) (Le Sage, *et al*, 2014; Van Maele, *et al*, 2006). Previously Lentiviral integration process has been extensively studied using a wide array of molecular biology, biochemistry and structural biology approaches [Lewinski, *et al*, 2006]. However, is critical to directly identify the viral distribution inside human genome in order to understand, at genomic, level the relationships between the composition and topology of chromatin with the target sites selection (Wong, *et al*, 2015; Soto-Girón and García-Vallejo, 2012).

As shown by previous studies, the preferences in target site selection for integration are not entirely random (Ferris, *et al*, 2010; Jordan, *et al*, 2001; Wu, *et al*, 2003; Hematti, *et al*, 2004; Soto, *et al*, 2011); being pronounced favored and disfavored chromosomal regions which differ among retroviruses (Benleulmi, *et al*, 2015; Rick, *et al*, 2004). These preferential regions of host genomes are characterized by having a high frequency of integrational events, as known as “hotspot” and are distributed along the genome of host cell (Maxfield, *et al*, 2005; Soto, *et al*, 2010). In HIV-1,

most of proviruses are localized into transcriptionally active regions not only in exons and introns, but also in sequences around start transcription sites (Schroder, *et al*, 2002; Derse, *et al*, 2007).

As the scenario of retrovirus cDNA integration process is the human genome at once, it is necessary to consider it as one of a complex molecular structures ever seen in nature. Its extraordinary information content has revealed a surprising mosaicism between coding and non-coding sequences (Moraes and Góes, 2016; Lander, *et al*, 2001; Venter, *et al*, 2001; Levy, *et al*, 2007). This highly regionalized structure introduces complex patterns for understanding the gene structure and repetitive DNA sequence composition providing a new scenario to study biological process such as Lentivirus cDNA integration and its consequences into host genome.

The human genome coding regions are defined, in part, by an alternative series of motifs responsible for a variety of functions that take place on the DNA and RNA sequences, such as, gene regulation, RNA transcription, RNA splicing, and DNA methylation. The sequencing of the human genome revealed a controversial number of interrupted genes (approximately 26,000) with their regulatory sequences [Venter, *et al*, 2001] representing about 2% of the genome. These genes are immersed in a giant sea of different types of non-coding sequences which make up around 98% of the genome. The non-coding regions are characterized by many kinds of repetitive DNA sequences, where almost 10.6% of the human genome consists of Alu sequences, a type of SINE (short interspersed elements) sequence (ENCODE Project Consortium, 2007; Versteeg, *et al*, 2003). They can act as insertional mutagens and the vast majority appears to be genetically inert (DeCervo y Carmichael, 2005). LINES, MIR, MER, LTRs, DNA transposons, and introns are other kinds of noncoding sequences, which together conform about 86% of the genome. In addition, some of these sequences are overlapped one to another, for example, the CpG islands (CGI), which complicates analysis of the genomic landscape. In turn, each chromosome is characterized by some particular properties of structure and function (The ENCODE Project Consortium, 2012; ENCODE Project Consortium, 2007).

Beyond the linear approach of the retroviral cDNA integration process, is also necessary to understanding *in toto* all variables involved in the process. To extend the knowledge about the complexity of integration process, a new field of analysis by using nonlinear methods is necessary. One of such approach is to apply the fractal analysis, which put in context the variable dynamics of chromatin topology as a new scenario to better understand the process of lentiviral integration (Yi, *et al*, 2015). In this sense our group have previously reported the fractality in the human genome sequence. This behavior correlates strongly on the presence of Alu elements and to a lesser extent on CpG islands and (G+C) content. In contrast, no or low relationship was found

for LINE, MIR, MER, LTRs elements and DNA regions poor in genetic information. Gene function, cluster of orthologous genes, metabolic pathways, and exons tended to increase their frequencies with ranges of multifractality and large gene families were located in genomic regions with varied multifractality (Moreno, *et al*, 2011). Furthermore, the multifractal analysis of the human genome permitted to classify the human chromosomes into three different groups according with their multifractality: The first group were chromosomes 19, 17, 22 and 16 that exhibit the highest multifractality values and also the highest Alu contents; a second group included chromosomes 15, 20, 1, 10, 12, 9, 7, 14 and 21 which have medium multifractality; and a third group of chromosomes 2, 11, 8, 6, Y, 3, 18, 5, 13, X, and 4 with the lowest multifractality (Moreno, *et al*, 2011).

In the current work I report the complexity of the human cDNA lentivirus integration process using different sources of genome information obtained from several genome databases. The computational simulation in association with the use of strong statistical methods and a chaos game algorithm, revealed the high level of complexity of lentiviral cDNA integration which is dependent on not only of the genome structure itself but the dynamics and topology of host human chromatin. As a general conclusion of the analyses was the close association between high frequency of lentivirus integration zones in that human chromosomes with high multifractality as a potential effect of chromatin regions that are far from of equilibrium.

Methods

Mapping of Lentivirus integration sites in the human genome.

A total of 2,409 human genome sequences flanking the 5'LTR of human and simian lentiviruses were obtained from GenBank (NCBI) database. They were previously deposited by several authors using different experimental approaches and also several type of host cells (table 1) (Ikeda, *et al*, 2007; Crise, *et al*, 2005; Mitchell, *et al*, 2004; Wu, *et al*, 2003; Schröder, *et al*, 2002). Using the BLASTN algorithm (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), all sequences were aligned to the draft human genome (hg18) and those that met the following criteria were considered authentic integration sites: (i) contained the terminal 3' end of the HIV-1 HIV-2,

SIV or HIV vectors LTR. (ii) had matching genomic DNA within five base pairs of the end of the viral LTR. (iii) had at least 95% homology to human genomic sequence across the entire sequenced region. (iv) matched a single human genetic locus with at least 95% homology across the entire sequenced region. (v) had minimum size of 150 bp. Initially the chromosomal band and the location of the sequence under analysis were obtained from de NCBI map viewer (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/>).

Several genomic variables were counted from different files: C+G and CpG islands from seq_cpg_islands.gz file, Alu, LINEs from seq_repeat.md.gz file, genes and genes/Mbp from seq_gene.md.gz file. All these files were downloaded from NCBI human build 36.2. The chromosomal localization of the lentiviral provirus included in the present study was performed by using the G pattern banding of each chromosome according with the International System for Human Cytogenetic Nomenclature -ISCN- (Simonis, *et al*, 2006). The mean values of multifractality ($Av\Delta Dq$) per each chromosome were obtained from the analysis of the multifractality that included 9,389 genomic fragments of 300 Kb each one, representing 2,816,700 Kb covering more than 98.6% of the human genome (Moreno, *et al*, 2011).

Protein network construction

To construct a gene expression network associated with HIV-1 integration process, we selected 28 genes of human monocytes/macrophages, located in the vicinity of HIV-1 integration sites and previously reported by (Soto, *et al*, 2010): AXIN1, NFAT5, STAT5A, FLT1, AKT3, HTT, RIPK2, DGCR8, WWOX, NRG1, DYRK1A, SLC2A14, STAP1, ZNF36, PKD1, STX1A, RACGAP1, ATF-7, EXT1, NOLC1, TCF4, PSMD13, RBMS3, CENTD1, ACAA2, NFAT5, PI4KA, FLT1.

Cytoscape v.2.63 (Shannon, *et al*, 2003) was used to construct a gene expression network from two kinds of files: The first one from gene expression profiles as a text file (.pvals) that were imported of expression data microarray experiments (GEO profiles, NCBI). The second, as data annotation in text files (.sif) that corresponds to each one gene-gene interactions (online databases). In the first one, gene expression values were collected from the microarray data series GSE19236 composed by two Agilent platforms (GPL6480 and GPL6848) with 48 samples of monocytes to macrophages, macrophages and dendritic cells. These data were previously reported (Klug, *et al*, 2010). Samples from healthy donors were taken and analyzed using GeneSpring GX 10.0.2 (Agilent). Data were normalized to the 75th percentile and baseline-transformed to the median of freshly isolated monocyte samples. These are available from the National Center for Biotechnology Information (NCBI), Gene Expression Omnibus (GEO) repository (accession number GEO: GSE19236). For network analysis, all macrophages expression samples with accession code GSM476720, GSM476721, GSM476722, GSM476723, GSM476724, and GSM476725 were selected.

Table 1. Integration site datasets used in present study.

Virus or Vector	Cell type	Number of cDNA integration sites analyzed	Source
HIV-1	PBMC	178	Ikeda <i>et al</i> . 2007.
HIV-2	CD4+ T-cell	177	Mac Neill <i>et al</i> . 2006.
SIV	CEMx174	220	Crise <i>et al</i> . 2005.
HIV vector	PBMC	526	Mitchell <i>et al</i> . 2004.
HIV vector	IMR-90	465	Mitchell <i>et al</i> . 2004.
HIV vector	Supt1	436	Schröder <i>et al</i> . 2002.
HIV/HIV vector	H9/Hela	407	Wu <i>et al</i> . 2003.

To make the corresponding statistical analyses Multi Experiment Viewer v4.1 was applied (Saeed, *et al*, 2006). Using data from *Biomolecular Network Data Bank* (BOND, <http://bond.unleashedinformatics.com/Action>), *Biological General Repository for Interaction Datasets* (BioGrid, <http://thebiogrid.org/>) and *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEEG, <http://www.genome.jp/kegg/>), a new file with the interaction data of 28 genes located close to integration sites was constructed.

Functional analysis

Cytoscape v2.6 was used for visualizing and analyzing the genetic interaction networks among 28 human monocyte/macrophages genes and their interactions. Biological Networks Gene Ontology v2.6 plugin (BiNGO tool) was used to determine which gene ontology (GO) terms are significantly overrepresented in a set of genes. A hypergeometric test was applied to determine which categories were significantly represented (p-value <0.01); significant value was adjusted for multiple hypotheses testing using the Bonferroni family wise error rate correction (Maere, *et al*, 2005).

The network topology parameters were calculated using network analyzer plugin, which includes network diameter, the number of connected pairs of nodes and average number of neighbors; it also analyses node degrees, shortest paths, clustering coefficients, and topological coefficients (Max Planck Institute Informatik).

To identify active sub-networks as highly connected regions of the main network we used jActiveModules plugin that grouped genes according with significant p-values of gene expression over particular subsets of samples. The result shows active modules, listed according to the number of nodes, and an associated Z-score. An active module with Z-scores greater than 3.0 indicated significant response upon the conditions of the experiment. We kept the standard default values, as being the most effective for initial analyses (Ideker, *et al*, 2002).

To compare the currently networks (normal and simulated) to a randomized versions of itself, I performed a comparison analysis to random network analysis using the Random Network v.1.0 plugin of cytoscape previously described by Mcsweeney, (2008). This plugin creates a

number of randomized networks and analyzing several metrics parameters. The metric parameters that we used were clustering coefficient (measures how close the neighborhood of a node is to being complete) and the average degree (number of edges divided by number of nodes) and the threads to run was 2 and the rounds to run (number of randomizations to perform) were 100.

Effect of cDNA integration on the monocyte macrophage network

One purpose of the study was to simulate the effect of inactivation of some sets of genes that were previously reported as target for proviral integration in non-infected macrophages (Barr, *et al*, 2006). The effect of gene silencing was made by turning off 5 genes with the highest number of interactions (AXIN1, NFAT5, AKT3, FLT1, and STAT5A), to remove them from the data matrix, that operation simulate a HIV-1 infected network in monocyte/macrophage.

Statistical analyses

Bivariate and multivariate analysis were carried out using STATISTICA 7.30. Linear correlation analyses for chromosomal integration vs multifractality per chromosome (AvΔDq) were performed; chromosomal integration vs Alu, CpG island distribution and gene content per chromosome were calculated; additional a non-parametric regression was calculated for AvΔDq vs total lentivirus integration per chromosome. For the multivariate analyses, we included 10 genomic variables which are described in table 2. The fitness of variables in the Principal Component Analysis (PCA) model was evaluated by the calculus of the Bartlett's sphericity test as well as by Eigen values; the number of components included in the study was determined considering a value of variance over 75%. The significant statistical correlation among the genomic variables including the AvΔDq was calculated by a Pearson's correlation matrix. A p-value <0.05 was considered as significant for all tests performed.

To identify which genes were significant among samples in microarrays an ANOVA test was calculated, considering a p-value <0.001 as significant. Additionally, a hierarchical clustering analysis of the samples using Euclidean Distance Method and mean linking were performed.

Table 2. Operation of selected genomic variables included in the multivariate analyses of PCA performed in the study.

Variable Name	Symbol of Variable	Measuring Scale
Alu percent	Alu	Percent of Alu sequences per chromosome
Genes per Mega base pair	Genes/Mb	Genes per Mb/Chromosome
Lentiviral integrations per chromosome	Integrations	Number cDNA integrations/chromosome
Mean of replication timing index per chromosome	MRTR	Calculated according with the data of Woodfine et al. 2004
Multifractality per chromosome	AvΔDq	Calculated according with data of Moreno et al. 2011
Number of CpG islands	CpG	Number of CpG islands/chromosome
Number of genes	Genes	No. of Genes /chromosome
Number of LINEs	LINE	Number of LINEs / chromosome
MIM diseases	MIM	Total of diseases recorded in OMIM database
G+C content	G+C%	Percent of G+C per chromosome

Statistical differences in the network's topological parameters (clustering coefficient, shortest paths, network heterogeneity, the centralization, average number of neighbors and characteristic path length), was performed using Statistic 7 (STATSOFT, INC., 2004) applying a Kolmogorov-Smirnov test, with a significance value at $p < 0.05$.

Results

Patterns of provirus distribution

No gross significant differences were observed in the integration lymphocytic profiles between HIV-1 and HIV-2 ($p > 0.05$, Mann-Whitney test). The integrational events for both human Lentiviruses were recorded in all chromosomes except the Y (figure 1). However, significant differences between the number of HIV-1 and HIV-2 provirus were observed for chromosomes 4, 8, 9, 11 and 16 ($p < 0.05$, χ^2 test). The 12% (289/2,409), of total integrations occurred in chromosome 17 (figure 1). Moreover a tendency to a differential distribution of provirus towards telomeric and subtelomeric regions of the most of human chromosomes was observed. In this sense, other authors showed that centromeric alphoid repeat regions are disfavored as integration sites (Carteau, *et al*, 1998). Although proviruses were observed in all chromosomes, we identified some chromatin regions with only HIV-1 integrations in chromosomes 4, 6 and 9 and only HIV-2 in chromosome 21.

Definition of the common genomic microenvironments for integration

The results of multiple regression analysis conducted on the HIV-1 and HIV-2 data sets showed that there were differential distributions of CpG island, genes, and Alu

elements that together conditioned a specific genomic environment per chromosome ($R^2 = 0.91$, $p < 0.05$). Gene density was the independent variable contributed most in the prediction of the dependent variable (integrations) due to the highest regression coefficients ($B = 0.83$; $p < 0.05$). The highest relative likelihood of hosting a lentiviral integration event in the human genome was registered in chromosome 17 (figure 2a).

To test whether integration events are favored by gene-rich regions in all chromosomes, a comparison between those variables was done indicating that a high gene density in chromatin regions determine a favorable environment for integration, even when the chromosome 17 is excluded (figure 2b). Because chromosome 17 registered the highest percentage of lentiviral integration events, a detailed analysis of chromatin structure correlating several variables that give data about the cellular chromatin status was performed. In general the distal chromatin regions of p and q arms showed similarities in the distribution of methylation in CpG islands, methylation in several lysine residues of histone H3 (K4, K27 and K36) and variable levels of open chromatin and nucleosome occupancy.

cDNA integration and chromosomal multifractality

The 54.21% (1,306/2,409) of lentivirus cDNA integrations were registered in chromosomes with high and medium fractality; however 18.14% (437/2,409) of these cDNA integrations was located in chromosomes 16, 17, 19 and 22 corresponding to that with high multifractality values (figure 3). High scores of correlation coefficients for number of integrations/chromosome vs MIM diseases ($r = 0.773$); CpG islands ($r = 0.888$) and genes ($r = 0.895$); $\Delta\text{ADQ}/\text{chromosome}$

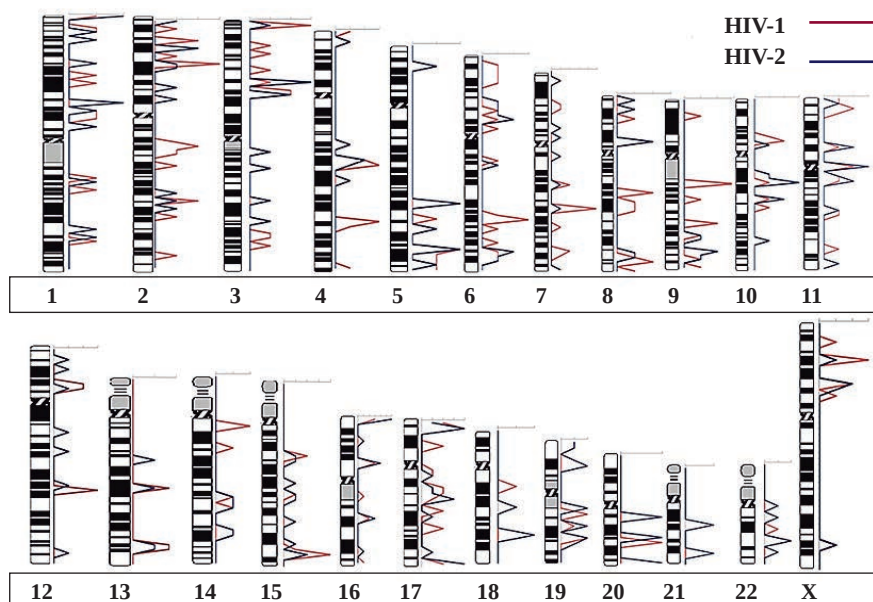


Figure 1. Chromosomal loci where 2,189 HIV-1 and HIV-2 cDNA have integrated into the human genome. Localization of chromosomal sequences matching both lentivirus are indicated in the graphics. Upper for each chromosome. Blue lines identify HIV-2 integrations and red lines identify HIV-1 integrations.

vs MRTR (0.938); integrations/chromosome (0.620); percentage of Alu sequences (0.97) and genes/Mb (0.873) were recorded (table 3). Furthermore in chromosome 17 with an $Av\Delta Dq=1.1572$ and a gene density of 17.88 genes/Mb, had the highest frequency of lentiviral cDNA integrations.

Although the association between multifractality per chromosome and cDNA integration profiles were almost similar for HIV-1, HIV-2, HIV vector and SIV, some minor differences were recorded. The high frequencies

of integration in chromosomes 17 and 19 were similar in HIV-2, HIV-vector and SIV; however, in chromosomes with medium fractality especially in 1 and 7, integration frequencies were different for HIV-1 and HIV-2 in comparison with HIV-vector and SIV (figure 4).

The results of the Bartlett's sphericity test ($p<0.05$) and of those obtained in the correlations matrix test, showed a high correlation among the selected genome characteristics under analysis (table 2). The data indicated that the most

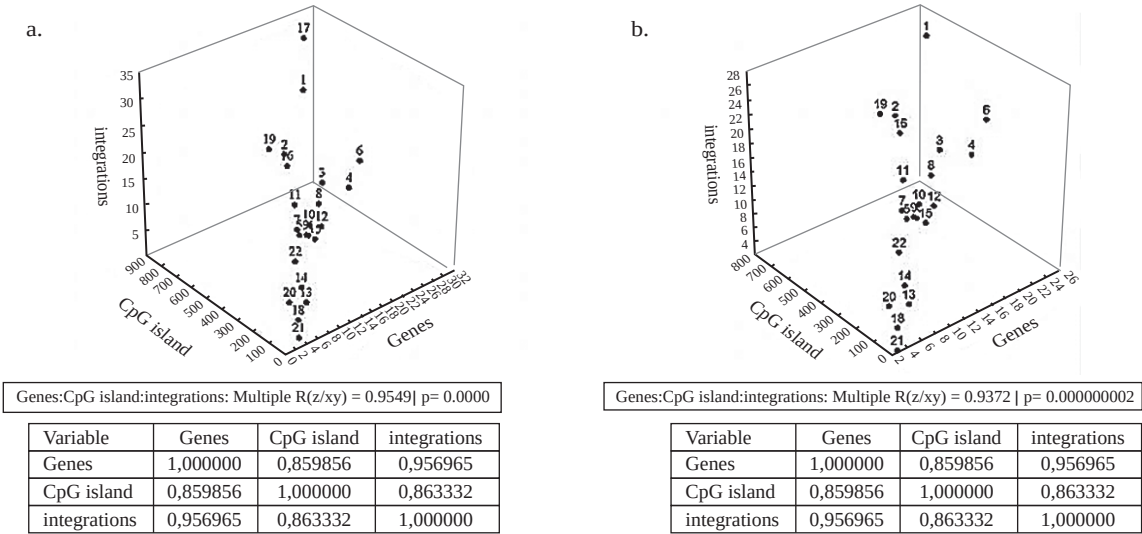


Figure 2. Multiple-regression analysis among gene density, CpG island number, and frequency of HIV-1 and HIV-2 proviruses including every human chromosome. A high statistical correlation is observed mainly for chromosome 17. (a) Analysis including all human chromosomes. (b) The same analysis but excluding chromosome 17.

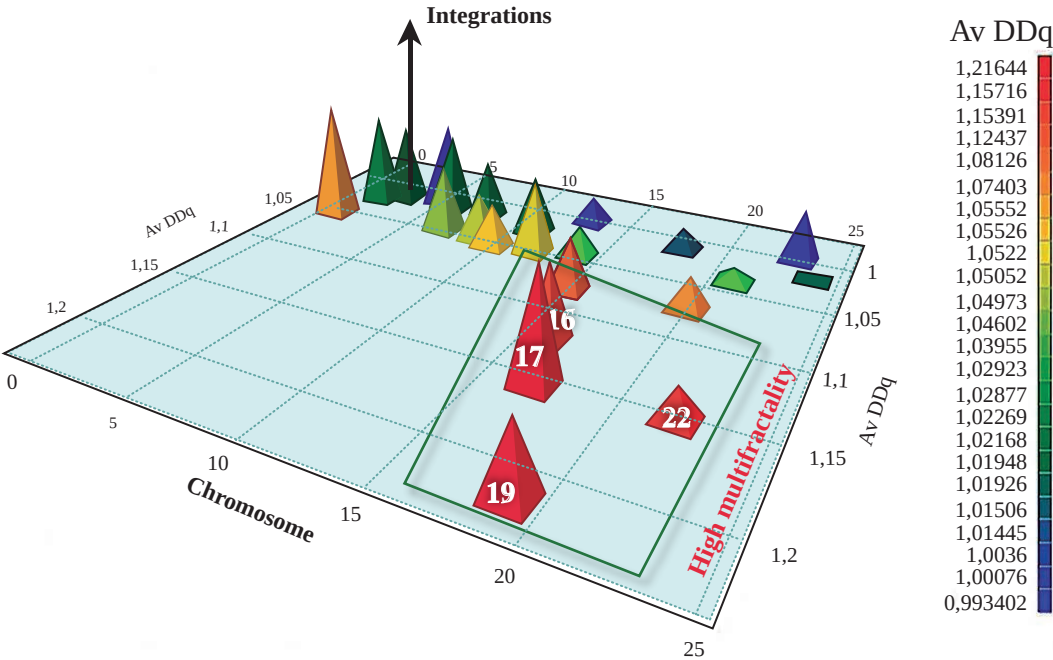


Figure 3. Tridimensional representation of Lentiviral cDNA integration sites per chromosome and their values of multifractality per chromosome. Color scale at right side shows the values of $Av\Delta Dq$ that correspond to each one pyramids on the tridimensional space representation.

appropriate multivariate analysis for the hierarchical statistical processing of variables was PCA. It rendered two combinations of genomic variables that accounted for the 84.50% of the total variance. The first component summarized 48.15% of the total variance, and the second 36.35%. The first one was a linear combination of variable numbers per chromosome, of MIM diseases, cDNA integrations, AvΔDq, Alu, CpG and Genes per Mb, while the second component included, number of LINE and genes per chromosome. As shown in figure 5, AvΔDq, Alu %, Genes/Mb and integrations co-localized in the same Cartesian quarter with high multifractal chromosomes 16, 17, 19 and 22.

The effect of cDNA integration in monocyte/macrophage protein networks

11,713 significant genes of 41,000 probes were clustered in two significant different groups of cells; one of them included only dendritic cells, meanwhile the second grouped monocyte to macrophages and macrophages which are sharing similar gene expression patterns. A total of 2,770 interactions among 28 genes which were located closed to HIV-1 proviruses in human macrophages were recorded. AKT3 was gene with highest number of interactions (456), followed by FLT1 (381), STAT5A (356) and AXIN1 (328). In contrast ZNF36, DYRK1A and RBMS3 genes had the lowest number of gene interactions. The normal monocyte/

Table 3. Values of the Pearson’s correlation matrix. Values in bold are statistical significant.

Variables	Diseases	Integrations	AvΔDq	MRTR	Alu (%)	CpG islands	LINE	Genes	Genes /Mb
Diseases	1	0.773	0.007	0.113	-0.018	0.754	0.670	0.872	0.231
Integrations	0.773	1	0.720	0.193	0.088	0.888	0.687	0.895	0.251
Av DDq	0.007	0.620	1	0.938	0.975	0.260	-0.448	0.223	0.873
MRTR	0.113	0.193	0.938	1	0.918	0.323	-0.308	0.346	0.944
Alu (%)	-0.018	0.088	0.975	0.918	1	0.240	-0.483	0.214	0.861
CpG islands	0.754	0.888	0.260	0.323	0.240	1	0.599	0.876	0.327
LINE	0.670	0.687	-0.448	-0.308	-0.483	0.599	1	0.614	-0.270
Genes	0.872	0.895	0.223	0.346	0.214	0.876	0.614	1	0.423
Genes per Mb	0.231	0.251	0.873	0.944	0.861	0.327	-0.270	0.423	1

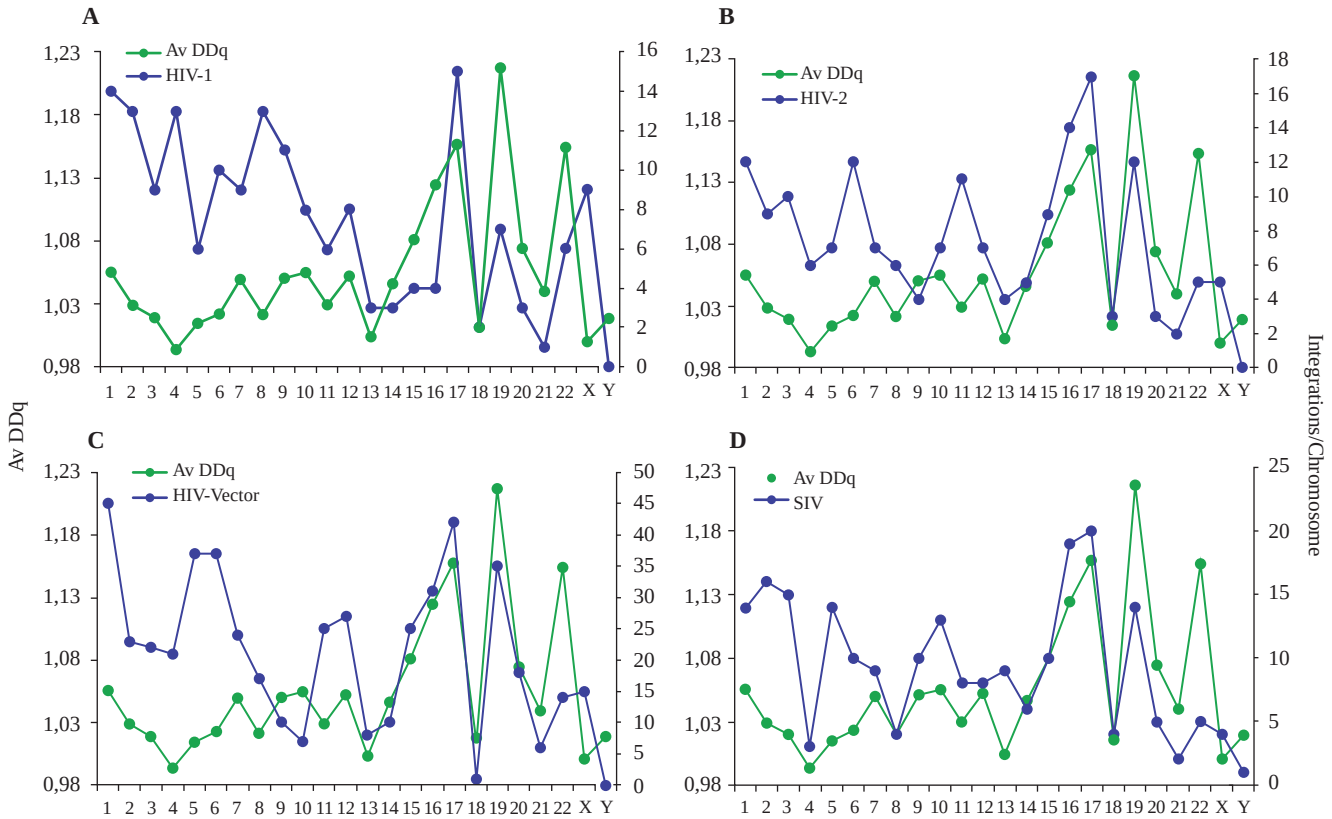


Figure 4. Profiles of number of retroviral cDNA integrations per chromosome and their AvΔDq in different types of human and simian lentivirus and HIV-1 vectors. (A). HIV-1; (B). HIV-2; (C). HIV vectors and (C). SIV. (SIV- Simian Immunodeficiency Virus)

macrophage gene network showed tree components: the main cluster composed by 26 genes and its interactions and two minor clusters in which ZNF36 gene was the central node with five interactions; and STX1A as central node with twelve interactions.

Using the KEGG Pathway Database, 38 pathways were associated to those 28 macrophages genes. This metabolic signature contained pathways closely articulated with Wnt, Jak-STAT, ErbB, and VEGF signaling pathways. The gene transcriptional products involved in these cascades leads to different signaling pathways, resulting in multitude of signals for cell proliferation, differentiation and cellular homeostasis.

In order to better understand the alteration of monocyte/macrophages homeostasis by the HIV-1 integration, our analyses were focused to simulate what are the effects of viral cDNA integration in the alteration of several gene expression networks in human macrophage. In general the topology of non-infected macrophage network gene was dramatically changed by the HIV-1 integration events that lead to turned off the expression of five genes by the integration of proviral cDNA.

The evaluation of the several topological parameters such as clustering coefficient, shortest paths, network heterogeneity, the centralization, average number of neighbors and characteristic path length, showed a changed in the values of HIV-1 macrophage infected gene network, compared with that of normal macrophage (figure 6). The non-altered network was more condensed, had more number of interactions, was wide open rich in shortest paths and also was composed by one major component and two minor clusters being more heterogeneous and multi-functional table 4. Statistical differences between the topology states of two networks were registered for topological coefficients, closeness centrality and neighborhood connectivity distribution (Kolmogorov-Smirnov test $p<0.05$), but not in average clustering coefficient distribution. These results indicate that normal network was significantly more central and densely connected in comparison with that of HIV-1 macrophage infected network.

Using random network plugin by Cytoscape, it was found that the clustering coefficient of the non-infected network and simulated infected network in comparison with those generated at random showed not statistical differences (Kruskal Wallis test, $p=0.317$). The data confirmed that the topology of both reported networks have a strong support that the simulation of our gene network is valid.

The gene ontology (GO) enrichment analysis showed that normal network was composed by 423 significant functional categories of a total of 1190. These individual significant categories could be further classified into two major groups; cell function regulation and signaling of biological process. In contrast HIV-1 infected macrophage gene network was enriched with 10 significant functional categories of a total of 40. The significantly over represented

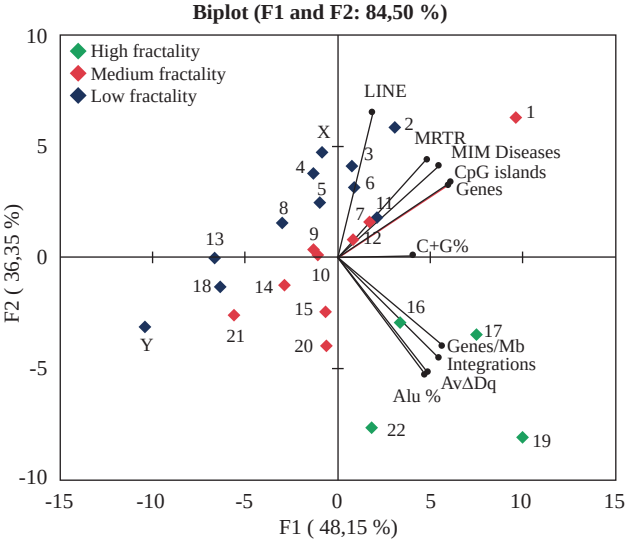


Figure 5. Biplot showing the correlations between the values in the 24 chromosomes of 11 genomic variables including the multifractality that mapped onto first two principal components (cumulative variance = 84.50%) of PCA. Diamonds in green indicate those chromosomes with highest values of multifractality.

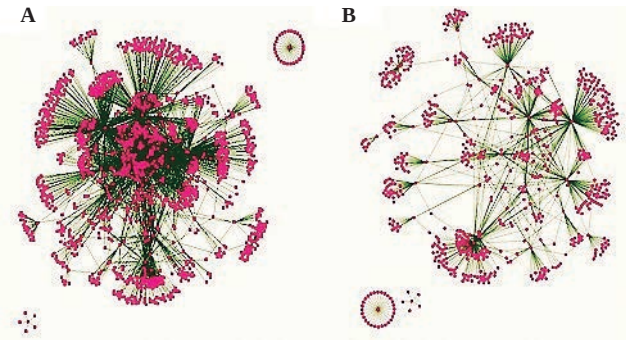


Figure 6. Effects in the topology gene expression network in macrophage by HIV-1 integration. (A) Normal macrophage genes expression network. (B) HIV-1 integration network when five macrophage genes were turned off.

Table 4. Comparison of network parameter values in normal and HIV-1 infected macrophages.

Parameter	Normal macrophage	HIV-1 infected macrophage
Clustering coefficient	0.30	0.04
Connected components	3	3
Shortest paths	94%	90%
Network heterogeneity	5.63	3.75
Avg. number of neighbors	4.20	2.70
Characteristic path length	3.30	4.13
Centralization	3.75	0.21

categories indicated that this emergent new gene network was composed by genes involved in metabolic process and DNA repair process.

Discussion

Data obtained from more than two thousands human genome fragments flanking lentivirus integration sites, showed a preferential distribution in medium and high multifractality chromosomes as a characteristic of the process. It could be interpreted in terms of chromatin instability as a general effect of lentivirus infection. The preferential lentiviral cDNA integration process to human chromosomes with the high and medium multifractality, significantly correlate with high density gene and Alu densities per chromosome. Therefore, characterization of the chromatin changes that occur by cDNA integration represents an important issue to understanding the complexity of crosstalk between retrovirus genome and host genome (Colin, *et al*, 2014).

The results also remarks the importance of the dynamic of a portion of the interphase chromatin which is far from of equilibrium or in open-decondensed chromatin regions. In this sense several variables including the nucleosomes occupancy, methylation of CpG Islands, DNase hypersensitive regions and transcriptionally active genes, play an important role to provide an environment for DNA regulatory processes associated with the cDNA integration such as DNA replication, repairs and transcription (Albanese, *et al*, 2008). We concluded that the structural characteristics and the epigenetic modifications observed in those regions with high frequency of cDNA viral integrations would synergistically configure a local complex “genomic environment” that facilitates the target site selection during the retroviral integration in host.

As the cDNA integration do not follow a random model, some characteristics of the chromatin associated with regions of high level of lentiviral cDNA integration, support the hypothesis that a preferential integration is conditioned by structural and functional states of local chromatin. These states are defined by several genomic variables which were studied in this work, and together with others, would define local genomic environments (Alzate, *et al*, 2015; Craigie y Bushman, 2014; Ciuffi, *et al*, 2005; Ciuffi, 2008; Bushman, *et al*, 2005). However is important to state that beyond of the intervention of some repetitive elements such as Alu sequences, and CpG islands in a conformation of local chromatin remodeling, the multifractality of chromosomes is also a crucial variable that influence the dynamic of remodeling the local genomic environment complexity; it is a new approach that extent the analysis of complex retroviral integration process (Losa, 2009).

Previous analysis using the two-dimensional density correlation matrix, showed that all human chromosomes have common characteristics in their multifractal spectrum and deviate substantially from random and uncorrelated sequences of the same size. Small deviations are observed between the longer and the shorter chromosomes, especially for the higher (in absolute values) statistical moments (Provata and Katsaloulis, 2010). Moreover the multifractal

analysis of human genome suggest that the chromosome molecular structure might be organized as a system operating far from equilibrium. In this sense, the analysis performed in the present study validated the strong relationship of lentivirus integration process and chromosomal multifractality found especially for chromosomes 17, 19, 22, and 16.

The high multifractal chromosomes have the highest densities of Alu elements and genes per Mb (Moreno, *et al*, 2011). Particularly chromosomes 17 and 19 are by far, the most multifractal chromosomes have the highest gene densities of the whole genome and a high and medium frequencies of lentiviral integration. The results of the PCA support the close association between genes density/chromosome, AvΔDq and MRTR and highest multifractality values chromosomes. These associations are important to analyze in terms of chromatin stability through the cell cycle process.

Mammalian interphase nucleus is a highly organized and compartmentalized into three-dimensional discrete chromosome territories or domains (CTs) (Folle, 2008; Cremer, *et al*, 2008), surrounded by a network of interchromatin compartment (IC) which harbors factors involved in DNA replication or repair as well as RNA transcription and processing (Chakraborty, *et al*, 2015; Meaburn y Misteli, 2007; Lanctôt, *et al*, 2007), such organization is the scenario that required to the process of retroviral integration occur. Several studies comparing transcriptionally inactive and active chromatin found a more interior nuclear position for active chromatin mainly for chromosomes 17 and 19 (Geyer, *et al*, 2011; Folle, 2008; Lanctôt, *et al*, 2007).

Although the current knowledge shows that HIV-1 favors integration in transcribed chromosomal regions, thus improving chances for efficient expression of the viral genes for HIV-1 and HIV-2 and HIV vectors, actually it is not fully understood how the genomic site for integration is determined, (Cattoglio, *et al*, 2010; Felice, *et al*, 2009). In this sense, our data present strong evidences that one of the crucial factors to determine the integration site, among others, is the topological conformation of chromatin associated to chromosomes with high gene densities specially 19 and 17. The close association between high multifractality and high frequency of lentivirus integration in both chromosome would be dependent of the topological configuration of interphase chromatin that is the scenario for the process of lentivirus integration (García-Vallejo, *et al*, 2015).

Experimental results taken from human fibroblast nuclei in G0 phase showed that regarding 16, 17, 19, and 22, were located in the most internal perimeter (Bolzer, *et al*, 2005). In this sense, the results of the current work, could be interpreted as such 3D localization would be a result of different waves of fractal sates produced by the machinery of the preintegration complex on the structure of local associated chromatin. Taking together all sources of evidence, is possible to correlate the multifractality with the

high instability of chromatin associated mainly involved in events of high rates of gene transcription as testing by the differential localization of promoters inside the nucleus.

In this study we simulated at a systemic level, the alterations of cellular pathways when HIV-1 provirus integrates into genes by turning them off and produce dysregulation of several local signaling pathways among others in MAPK and Wnt signaling process. One of the target genes associated with HIV-1 integration was AKT3, also called PKB, which is a serine/threonine protein kinase family member. It is involved in a wide range of biological processes including cell proliferation, cell differentiation, apoptosis, stimulating cell growth, and regulating other biological responses (Coffer, *et al*, 1998; Song, *et al*, 2005). Also, it has been identified playing important roles of regulation in the G2/M transition of the cell cycle (Lee, *et al*, 2005). According with these previous data, is possible to propose that, when AKT3 is turned off by HIV-1 integration, the cross talk with JNK, NF κ B and others is disrupted leading to a signaling dysfunction of metabolic associated pathways. When AKT3 was inactive, the direct interaction with MKK7 produce a disruption of JNK and after with JUN that would result in a non-activation by phosphorylation of apoptotic and cell cycle process (Oh, *et al*, 2005; Cui, *et al*, 2008; Kowalczyk y Zablocka, 2008).

I do get strong evidence to propose that HIV-1 integration in host genome disrupt several signaling pathways that control the normal cell homeostasis changing towards an anti-apoptosis gene signature associated with many hub nodes with a high degree of interactions. As HIV-1 infected macrophage is an abnormal reservoir in which the metabolic cascades are altered, it is feasible to propose that the metabolism of macrophage adapt to perform survival functions where the apoptotic process is interrupted and a SOS metabolism make that the macrophage changes its life style. Deciphering the signaling pathways involved in HIV-1 integration process in macrophage as viral reservoirs, shall be critical to a better understand HIV-1 infection for early stage viral transmission and dissemination within the host.

Studies on host genomics have revealed the existence of identifiable HIV-1 specific protective factors among infected individuals who remain naturally resistant viraemia controllers with little or no evidence of virus replication (Kaur, *et al*, 2013), currently, a variety of strategies are being tested in order to breakthrough this highly challenging treatment barrier. Most of them consider the genome as a target to perform either chemical modification or introduction of stable molecular devices to alter the programming of gene expression in infected host genome (Méndez, *et al*, 2015).

The current study provided new insights on the influence of stable retroviral integration on nuclear chromatin organization and support evidence of recent studies indicating that a fractal model of chromatin architecture is consistent with structural data on chromatin interminglement, and with the diffusion and binding properties of chromatin interacting proteins (Bancaud, *et al*, 2012; Bancaud, *et al*, 2009).

It is a new approach that would contribute to open new points of view to extent the knowledge about the complex mechanisms operating during the integration of lentiviral cDNA into the genome of host cell with the aim, in a future, develop novels and powerful therapeutic strategies to control the lentivirus infection (Manjunath, *et al*, 2013; Bauman, *et al*, 2012)

Acknowledgments

I especially thanks to my associates, Doctors Martha C. Domínguez, Adalberto Sánchez, Mercedes Salcedo, Julio Cesar Montoya, José María Satizábal, Pedro Moreno, Patricia Velez and Milton Quintana for supporting different activities of the research group LABIOMOL group A Colciencias 2015. To my friends and colleagues Max Essex, School of Public Health of Harvard University; King Jordan and Fred Vannenberg, Georgia Technology Institute, and Leonardo Mariño of NCBI/NIH. To my graduated students and members of LABIOMOL: Juliana Soto, Ángela Peña, Dianora Fajardo, Alejandra Rodríguez, Lina Alzate, Meliza Santiago, Paola Andrea Lucumí, and Maria Alejandra Abonia. Especially thanks to those financing agencies that support the studies on retrovirus integration: Fogarty/NIH, Fullbright, Georgia Technology Institute, Ministry of Culture and Education of Japan, Colciencias, Fundación Banco de la República, Colombia. To the Universidad del Valle, my scientific home, for financing and supporting several scientific projects of my group.

Conflict of interest

Author declare do not have any conflict of interest about the content of the article

References

- Albanese A, Arosio D, Terreni M, Cereseto A. 2008. HIV-1 Pre-Integration Complexes Selectively Target Decondensed Chromatin in the Nuclear Periphery. *PLoS one*. 3: e2413. doi:10.1371/journal.pone.0002413.
- Alzate LA, Domínguez MC, Sánchez A, Vélez P, Moreno PA, García-Vallejo F. 2015. Eventos fractales relacionados con fenómenos epigenéticos del genoma humano en la integración de los lentivirus humanos. *Biomédica*. 35: 53.
- Balakrishnan S. 2009. Alternative paths in HIV-1 targeted human signal transduction pathways. *BMC Genomics*. 10 (Suppl 3):S30.
- Bancaud A, Huet S, Daigle N, Mozziconacci J, Beaudouin J, Ellenberg J. 2009. Molecular crowding affects diffusion and binding of nuclear proteins in heterochromatin and reveals the fractal organization of chromatin. *EMBO J*. 28 (24): 3785-98.
- Bancaud A, Lavelle C, Huet S, Ellenberg J. 2012. A fractal model for nuclear organization: current evidence and biological implications. *Nucleic Acids Res*. 40 (18): 8783-92.
- Barr S, Ciuffi A, Leipzig J, Shinn P, Ecker J, Bushman F. 2006. HIV Integration site selection: targeting in macrophages and the effects of different routes of viral entry. *Mol. Ther*. 14: 218-25.

- Benleulmi MS, Matysiak J, Henriquez DR, Vaillant C, Lesbats P, Calmels C, Naughtin M, *et al.* 2015. Intasome architecture and chromatin density modulate retroviral integration into nucleosome. *Retrovirology*. **12**: 13.
- Bolzer A, Kreth G, Solovei I, Koehler D, Saracoglu K, Fauth C, Müller S. 2005. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLoS Biol.* **3** (5): e157.
- Bushman F, Lewinski M, Ciuffi A, Barr S, Leipzig J, Hannehalli S, Hoffmann C. 2005. Genome-wide analysis of retroviral DNA integration. *Nature Rev. Microbiol.* **3**: 848-58.
- Carteau S, Hoffmann C, Bushman F. 1998. Chromosome structure and human immunodeficiency virus type 1 cDNA integration: centromeric alphoid repeats are a disfavored target. *J. Virol.* **72**: 4005-4014.
- Cattoglio C, Pellin D, Rizzi E, Maruggi G, Corti G, Miselli F, Sartori D, *et al.* 2010. High-definition mapping of retroviral integration sites identifies active regulatory elements in human multipotent hematopoietic progenitors. *Blood*. **116** (25): 5507-17.
- Cereseto A, and Giacca M. 2004. Integration site selection by retroviruses. *AIDS Rev.* **6**: 13-21.
- Chakraborty S, Mehta I, Kulashreshtha M, Rao BJ. 2015. Quantitative analysis of chromosome localization in the nucleus. *Methods Mol Biol.* **1228**: 223-33.
- Ciuffi A, Llano M, Poeschla E, Hoffmann C, Leipzig J, Shinn P, Ecker JR, *et al.* 2005. A role for LEDGF/p75 in targeting HIV DNA integration. *Nat. Med.* **11**: 1287-89.
- Ciuffi A. 2008. Mechanisms governing lentivirus integration site selection. *Curr Gene Ther.* **8**: 419-29.
- Coffer PJ, Jin J, Woodgett JR. 1998. Protein kinase B (c-Akt): a multifunctional mediator of phosphatidylinositol 3-kinase activation. *Biochem J.* **335** (1): 1-13.
- Coffin JM. Retroviridae and their replication In Virology, 1996. ed. BN Fields *et al.*, Raven Press, New York. pp. 1767-1848.
- Colin L, Verdin E, Van Lint C. 2014. HIV-1 Chromatin, Transcription, and the Regulatory Protein Tat. *Methods. Mol Biol.* **1087**: 85-101.
- Craigie R, Bushman FD. 2014. Host Factors in Retroviral Integration and the Selection of Integration Target Sites. *Microbiol Spectr.* **2** (6). doi: 10.1128.
- Cremer M, Grasser F, Lanctot C, Muller S, Neusser M, Zinner R, Solovei I, *et al.* 2008. Multicolor 3D fluorescence in situ hybridization for imaging interphase chromosomes. *Methods Mol Biol.* **463**: 205-3.
- Crise B, Li Y, Yuan C, Morcock DR, Whitby D, Munroe DJ, Arthur LO, *et al.* 2005. Simian immunodeficiency virus integration preference is similar to that of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol.* **79**: 12199-204.
- Cui M, Huang Y, Zhao Y, Zheng J. 2008. Transcription factor FOXO3a mediates apoptosis in HIV-1-infected macrophages. *J. Immunol.* **15** (2): 898-906.
- DeCerbe J, Carmichael GG. 2005. SINEs point to abundant editing in the human genome. *Genome Biology.* **216**: 1-4.
- Demeulemeester J, De Rijck J, Gijssbers R, Debyser Z. 2015 Retroviral integration: Site matters: Mechanisms and consequences of retroviral integration site selection. *Bioessays.* **37** (11): 1202-14.
- Derse D, Crise B, Li Y, Princler G, Stewart C, Connor F, Hughes H, *et al.* 2007. HTLV-1 integration target sites in the human genome: comparison with other retroviruses. *J. virol.* **81**: 6731-6741.
- Diehl AG, Boyle AP. 2016. Deciphering ENCODE. *Trends Genet.* **32** (4): 238-49.
- The ENCODE Project Consortium. 2012. *Nature*. **489**: 57-74.
- ENCODE Project Consortium. 2007. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*. **447** (7146): 799-816.
- Felice B, Cattoglio C, Cittaro D, Testa A, Miccio A, Ferrari G, Luzi L, *et al.* 2009. Transcription factor binding sites are genetic determinants of retroviral integration in the human genome. *PLoS One.* **4** (2): e4571.
- Ferris AL, Wu X, Hughes CM, Stewart C, Smith SJ, Milne TA, Wang GG, *et al.* 2010. Lens epithelium-derived growth factor fusion proteins redirect HIV-1 DNA integration. *Proc. natl. acad. sci. USA.* **107**: 3135-40.
- Folle GA. 2008. Nuclear architecture, chromosome domains and genetic damage. *Mutat Res.* **658** (3): 172-83.
- García-Vallejo F, Domínguez MC, Sánchez A, Vélez P, Moreno P. 2015. Integración preferencial del ADN complementario de los lentivirus humanos en cromosomas con alto nivel de multifractalidad. *Biomédica.* **35**: 54.
- Geyer PK, Vitalini MW, Wallrath LL. 2011 Nuclear organization: taking a position on gene expression. *Curr Opin Cell Biol.* **23** (3): 354-9.
- Folle GA. 2008. Nuclear architecture, chromosome domains and genetic damage. *Mutat Res.* **658** (3): 172-83.
- Hematti P, Hong BK, Ferguson C, Adler R, Hanawa H, Sellers S, Ingeborg E. 2004. Distinct Genomic Integration of MLV and SIV Vectors in Primate Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *PLoS Biol.* **2**: E423.
- Hindmarsh P, Leis J. 1999. Retroviral DNA integration. *Microbiol mol. biol. rev.* **63**: 836-84.
- Ideker T, Ozier O, Schwikowski B, Siegel AF. 2002. Discovering regulatory and signaling circuits in molecular interaction networks. *Bioinformatics.* **18**: S233-S240.
- Ikeda T, Shibata J, Yoshimura K, Koito A, Matsushita S. 2007. Recurrent HIV-1 integration at the BACH2 locus in resting CD4+ T cell populations during effective highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* **195** (5): 716-25.
- International human genome sequencing consortium. 2004. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. **431**: 931-45.
- Jordan A, Defechereux P, Verdin E. 2001. The site of HIV-1 integration in the human genome determines basal transcriptional activity and response to Tat transactivation. *The EMBO J.* **20**: 1726-38.
- Karimi-Busheri F, Rasouli-Nia A. 2015. Integration, Networking, and Global Biobanking in the Age of New Biology. *Adv Exp Med Biol.* **864**: 1-9.
- Kaur G, Sharma G, Kumar N, Kaul MH, Bansal RA, Vajpayee M, Wig N. *et al.* 2013. Genomic architecture of HIV-1 infection: current status & challenges. *Indian J Med Res.* **138** (5): 663-81.
- Klug M, Heinz S, Gebhard C, Schwarzfischer L, Krause SW, Andreesen R, Rehli M. 2010. Active DNA demethylation in human postmitotic cells correlates with activating histone modifications, but not transcription levels. *Genome Biol.* **11** (16): R63.
- Kowalczyk JE, Zablocka B. 2008. Protein kinases in mitochondria. *Postepy Biochem.* **54**: 209-16.
- Lancôt C, Cheutin T, Cremer M, Cavalli G, Cremer T. 2007. Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions. *Nat Rev Genet.* **8** (2): 104-15.

- Le Sage V, Mouland AJ, Valiente-Echeverría F.** 2014. Roles of HIV-1 capsid in viral replication and immune evasion. *Virus Res.* **193**: 116-29.
- Lee SR, Park JH, Chung CH, Kang SS, Bang OS.** 2005. Akt-induced promotion of cell-cycle progression at G2/M phase involves upregulation of NF- κ B activity in PC12 cells. *J. Cell. Physiol.* **205** (2): 270-77.
- Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP, Axelrod N, et al.** 2007. The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol.* **5**: e254.
- Lewinski M, Yamashita M, Emerman M, Ciuffi A, Marshall H, Crawford G.** 2006. Retroviral DNA Integration: Viral and Cellular Determinants of Target-Site Selection. *PLoS pathog.* **2**: 0611-0622.
- Losa GA.** 2009. The fractal geometry of life. *Riv Biol.* **102** (1): 29-59.
- MacNeil A, Sankale JL, Meloni S, Sarr A, Mboup S, Kanki P.** 2006. Genomic Sites of Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Integration: Similarities to HIV-1 In Vitro and Possible Differences In Vivo. *J. virol.* **80**: 7316-21.
- Maere S, Heymans K, Kuiper M.** 2005. BiNGO: a cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks. *Bioinformatics* **21** (16): 3448-49.
- Manjunath N, Yi G, Dang Y, Shankar P.** 2013. Newer gene editing technologies toward HIV gene therapy. *Viruses.* **5** (11): 2748-66.
- Bauman JD, Patel D, Arnold E.** 2012. Fragment screening and HIV therapeutics. *Top Curr Chem.* **317**: 181-200.
- Margolis DA, Boffito M.** 2015. Long-acting antiviral agents for HIV treatment. *Curr Opin HIV AIDS.* **10** (4): 246-52.
- Maxfield L, Fraize C, Coffin JM.** 2005. Relationship between retroviral DNA-integration site selection and host cell transcription. *Proc natl. acad. Sci USA.* **102**: 1436-44.
- Mcsweeney.** Google Summer of Code 2008. <http://sites.google.com/site/randomnetworkplugin/>.
- Meaburn KJ, Misteli T.** Cell biology: chromosome territories. *Nature.* 2007; **445** (7126): 379-81.
- Méndez C, Ahlenstiel CL, Kelleher AD.** 2015. Post-transcriptional gene silencing, transcriptional gene silencing and human immunodeficiency virus. *World J Virol.* **4** (3): 219-44.
- Mitchell RS, Beitzel BF, Schroder AR, Shinn P, Chen H, Berry CC, Ecker JR, et al.** 2004. Retroviral DNA integration: ASLV, HIV, and MLV show distinct target site preferences. *PLoS Biol.* **2** (8): E234.
- Moore J.P, Stevenson M.** 2000. New Targets for Inhibitors of HIV-1 Replication. *Nature Rev.* **1**: 40-9.
- Moraes F, Góes A.** 2016. A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge. *Biochem Mol Biol Educ.* Mar 7. doi: 10.1002/bmb.20952.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, et al.** 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* **409**: 860-921.
- Moreno PA, Vélez PE, Martínez E, Garreta LE, Díaz N, Amador S, Tischer I, et al.** 2011. The human genome: a multifractal analysis. *BMC Genomics.* **12**: 506. doi: 10.1186/1471-2164-12-506.
- Oh SW, Mukhopadhyay A, Svrzikapa N, Jiang F, Davis R, Tissenbaum HA, Piot P, UNAIDS–Lancet Commission.** 2015. Defeating AIDS advancing global health. *Lancet.* **386**: 171-218.
- Polychronopoulos D, Athanasopoulou L, Almirantis Y.** 2016. Fractality and entropic scaling in the chromosomal distribution of conserved noncoding elements in the human genome. *Gene.* Feb 17. pii: S0378-1119.
- Provata A, Katsaloulis P.** 2010. Hierarchical multifractal representation of symbolic sequences and application to human chromosomes. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* **81**: 26-102.
- Rick SM, Beitzel BF, Schroder AR, Shinn P, Chen H, Berry CC, Ecker JR, et al.** 2004. Retroviral DNA integration: ASLV, HIV, and MLV show distinct target site preferences. *PLoS Biol.* **2**: 1127-37.
- Saayman S, Ali SA, Morris KV, Weinberg MS.** 2015. The therapeutic application of CRISPR/Cas9 technologies for HIV. *Expert Opin Biol Ther.* **15** (6): 819-3.
- Saeed AI, Bhagabati NK, Braisted JC, Liang W, Sharov W, Howe V, Li J, et al.** 2006. TM4 microarray software suite. *Methods Enzymol.* **411**: 134-193.
- Schröder A, Shinn P, Chen H, Berry C, Ecker JR, Bushman F.** 2002. HIV-1 Integration in the Human Genome Favors Active Genes and Local Hotspots. *Cell.* **110**: 521-29.
- Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Amin N.** 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* **13** (11), 2498-2504.
- Sierra S, Kupfer B, Kaiser R.** 2005. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. *J. Clin. Virol.* **34**: 233-44.
- Simonis M, Klous P, Splinter E, Moshkin Y, Willemsen R, de Wit E, van Steensel B, et al.** 2006. Nuclear organization of active and inactive chromatin domains uncovered by chromosome conformation capture-on-chip (4C) *Nature Gen.* **38**: 1348-54.
- Song G, Ouyang G, Bao S.** 2005. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J. Cell. Mol. Med.* **9** (1): 59-71.
- Soto J, Peña A, Salcedo M, Domínguez MC, Sánchez A, García-Vallejo F.** 2010. Caracterización Genómica de la Integración In vitro del VIH-1 en células mononucleares de sangre periférica, macrófagos, y células T de Jurkat. *Infectio.* **14**: 20-30.
- Soto J, Peña A, García-Vallejo F.** 2011. A genomic and bioinformatics analysis of the integration of HIV in peripheral blood mononuclear cells. *AIDS Res Hum Retroviruses.* **27**: 547-55.
- Soto-Girón MJ, García-Vallejo F.** 2012. Changes in the topology of gene expression networks by human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) integration in macrophages. *Virus Res.* **163** (1): 91-7.
- UNAIDS JUNPoHA Global Report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic.** 2013
- Van Maele B, Busschots K, Vandekerckhove L, Christ F, Debyser Z.** 2006. Cellular co-factors of VIH-1 integration. *Trends Biochem. Sci.* **31**: 98-105.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, et al.** 2001. The sequence of the human genome. *Science.* **291**: 1304-51.
- Versteeg R, van Schaik BDC, van Batenburg MF, Roos M, Monajemi R, Caron H, Bussemaker HJ, et al.** 2003. The human transcriptome map reveals extremes in gene density, intron length, GC content, and repeat pattern for domains of highly and weakly expressed genes. *Genome Research.* **13**: 1998-2004.

- Wang YJ, McKenna PM, Hrin R, Felock P, Lu M, Jones KG, Coburn CA, Grobler JA.** 2010. Assessment of the susceptibility of mutant HIV-1 to antiviral agents. *J. virol methods.* **165**: 230-7.
- Wong RW, Mamede JI, Hope TJ.** 2015. Impact of Nucleoporin-Mediated Chromatin Localization and Nuclear Architecture on HIV Integration Site Selection. *J Virol.* **89** (19): 9702-5.
- Wu X, Li Y, Crise B, Burgess SM.** 2003. Transcription start regions in the human genome are favored targets for MLV integration. *Science.* **300**: 1749-51.
- Yi J, Stypula-Cyrus Y, Blaha CS, Roy HK, Backman V.** 2015. Fractal Characterization of Chromatin Decompaction in Live Cells. *Biophys J.* **109** (11): 2218-26.
- Zaccarelli M, Tozzi V, Lorenzini P, Trotta MP, Forbici F, Visco-Comandini U, Gori C, et al.** 2005. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS.* **19**: 1081-89.

Metamateriales: principales características y aplicaciones

Luis M. Castellanos, Francisco López, Erick Reyes-Vera*

Facultad de Ingenierías, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

Resumen

Las propiedades electromagnéticas de todos los materiales existentes en la naturaleza pueden ser determinadas a partir dos parámetros, la permeabilidad magnética y la permitividad eléctrica, los cuales nos permiten caracterizar la respuesta de cualquier material cuando este interactúa con una onda electromagnética. En principio, no existe límite para el rango de valores que estos dos parámetros pueden tomar. Por tanto, es posible diseñar y construir a voluntad materiales con características de respuesta electromagnética específicas no encontradas en la naturaleza. Estos materiales fabricados en el laboratorio reciben el nombre genérico de metamateriales, y entre ellos se encuentran los conocidos por LHM, así llamados porque los vectores de campo de las ondas electromagnéticas que viajan en su interior están relacionados por la regla de la mano izquierda. La característica distintiva de los LHM es que para ciertas bandas de frecuencia presentan índice de refracción negativo con modos propagativos posibles. Este fenómeno se presenta solamente si ambos parámetros μ y ϵ , dentro de dichas bandas de frecuencias son negativos simultáneamente. El propósito de este trabajo es presentar los principios y fundamentos de estos metamateriales de manera que despierte el interés de lectores no especializados. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Metamateriales; Anillos resonadores; Ondas electromagnéticas.

Metamaterials: main features and applications

Abstract

Electromagnetic properties of all materials existing in nature can be determined from two parameters, the magnetic permeability and the electrical permittivity, which allow us to characterize the response of any material when this interacts with an electromagnetic wave. In principle, there is no limit to the range of values that can be taken by these two parameters. Therefore, it is possible to design and construct materials with specific characteristics of electromagnetic response not found in nature will. These materials manufactured in the laboratory received the generic name of Metamaterials, and among them the well-known by LHM, are so called because the vectors of field of electromagnetic waves travelling in the interior are related by the rule of the left hand. The distinctive characteristic of the LHM is that for certain bands of frequency they present negative index of refraction with possible propagative modes. This phenomenon appears only if both parameters μ and ϵ , within these bands of frequencies are simultaneously negative. The purpose of this paper is to present the principles and foundations of these metamaterials so that it wakes up the interest of not specialized readers. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Metamaterials; Ring resonators; Electromagnetic waves.

Introducción

El principio físico fundamental en el caso de un metamaterial consiste en “sustituir” átomos por microestructuras fabricadas en el laboratorio, las cuales al igual que los átomos, presenten actividad electromagnética, es decir, tienen una función dieléctrica $\epsilon(\omega)$ y una magnética $\mu(\omega)$. El tamaño de las microestructuras debe asemejarse a las de un átomo, a fin de permitir la propagación de una onda electromagnética (OEM) en el interior del material sin que se genere difracción. De esta manera, cuando la OEM avanza en el interior del metamaterial lo hace como si estuviera avanzando en un material homogéneo. Este comportamiento

es asegurado por la condición de homogeneidad efectiva (Caloz & Itoh, 2005), la cual compara la longitud de la onda que se propaga con el tamaño de la celda unitaria del metamaterial,

$$\frac{\lambda}{4} \gg a. \quad (1)$$

Cuando una onda electromagnética se propaga en el interior de un medio material, los parámetros $\mu(\omega)$ y $\epsilon(\omega)$, dependen de la frecuencia de la onda incidente. Sin

*Correspondencia:

Erick Reyes-Vera, erickreyes@itm.edu.co

Recibido: 11 de marzo de 2016

Aceptado: 28 de junio de 2016

embargo, si tenemos en cuenta la frecuencia ω_p del plasmon asociado al medio material, esta dependencia podría incluso inhibir la propagación de la onda en el interior del medio (Mark A. Heald, 1994), pues recordemos que el vector de onda puede ser expresado como

$$k = \frac{\omega}{c} \sqrt{1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2}}, \quad (2)$$

donde k es la magnitud del vector de onda $\vec{k}$, ω es la frecuencia de la onda, ω_p es la frecuencia plasmónica y c es la velocidad de la luz. De la ecuación (2), es claro que la onda se propaga solo si se cumple que la frecuencia de la onda es mayor a la frecuencia plasmónica ($\omega > \omega_p$). Adicionalmente, es importante recordar que $k = \frac{\omega}{c} n = \frac{\omega}{c} \sqrt{\mu\epsilon}$, es decir, todo el comportamiento electromagnético (EM) del metamaterial y su respuesta cuando dicho material interactúa con una onda electromagnética (OEM) depende del índice de refracción n y por lo tanto de su permitividad eléctrica ϵ y su permeabilidad magnética μ . Pero, ¿qué son en realidad los parámetros ϵ y μ ? De acuerdo con la teoría electromagnética, estos son una medida de la capacidad de almacenar energía eléctrica y magnética que tiene determinada estructura. De lo anterior, es evidente que para aumentar la actividad magnética y eléctrica de un material, es necesario incrementar su capacidad eléctrica y magnética, es decir, diseñar estructuras que puedan almacenar energía eléctrica y magnética de manera más eficiente que las conocidas hasta este momento. Donde tradicionalmente para llevar a cabo dicha función han sido implementados arreglos de capacitores e inductores. Uno de los sistemas que nos brinda la posibilidad de tener simultáneamente estos dos mecanismos de almacenamiento son los circuitos LC. Dichos circuitos, poseen una frecuencia de resonancia asociada dependiente de la capacitancia e inductancia del sistema, donde la frecuencia de resonancia está dada por $\omega = \frac{1}{\sqrt{LC}}$.

Uno de los mecanismos más simples que nos permiten emular los circuitos LC es la implementación de SRR (Split Ring Resonator, por sus siglas en inglés) los cuales permiten incrementar la capacitancia e inductancia de forma simultánea de un sistema. En aras de dar mayor claridad al lector,

dicha estructura es esquematizada en la Figura 1. Nótese cómo un rectángulo con una abertura de ancho d replica un circuito LC, donde la inductancia L está distribuida en toda la extensión geométrica del cuadrado y la capacitancia puede ser modificada dependiendo del tamaño de la abertura d . Dicha estructura fue el resultado de diversos estudios realizados en la década de los 90's, en la cual investigadores de diferentes grupos de investigación se preocuparon por proponer diseños que permitieran lograr los objetivos mencionados antes. En la siguiente sección presentamos una de las estructuras que se ha constituido en la piedra angular para el estudio, diseño y construcción de metamateriales, la cual funcionan muy bien especialmente en el rango de las microondas.

Anillos resonadores

En 1999, Pendry y su grupo sugieren que ciertas configuraciones de medios conductores no magnéticos podrían tener respuesta magnética considerablemente fuerte cuando son sometidas a la presencia de un campo electromagnético (J. B. Pendry, Holden, Robbins, & Stewart, 1999a). En particular, predijeron que estas configuraciones tendrían permeabilidad magnética negativa en un rango determinado y finito de frecuencias. La estructura propuesta consistía en un doble anillo con las aberturas orientadas en sentidos opuestos como se muestra en la Figura 2.

La novedad de la estructura propuesta por Pendry radicaba en la disposición de las aberturas de los anillos y tiene la siguiente explicación: Cuando la OEM se propaga en el interior del material excita o induce una corriente eléctrica (flecha en color azul) en la misma dirección en ambos anillos (sentido horario en ambos anillos de la Figura 2). Adoptando la convención usual en ingeniería, según la cual los portadores de carga en la corriente son positivos, entonces la abertura del anillo exterior dispone la acumulación de cargas positivas en la mitad superior del anillo, y por defecto, de cargas negativas en la mitad inferior del anillo. En el anillo interior, la abertura dispone las cargas positivas en la parte inferior y, por defecto, las negativas en la parte superior. El resultado final, como puede notarse a simple vista, es la creación de dos condensadores conectados en serie, cada uno

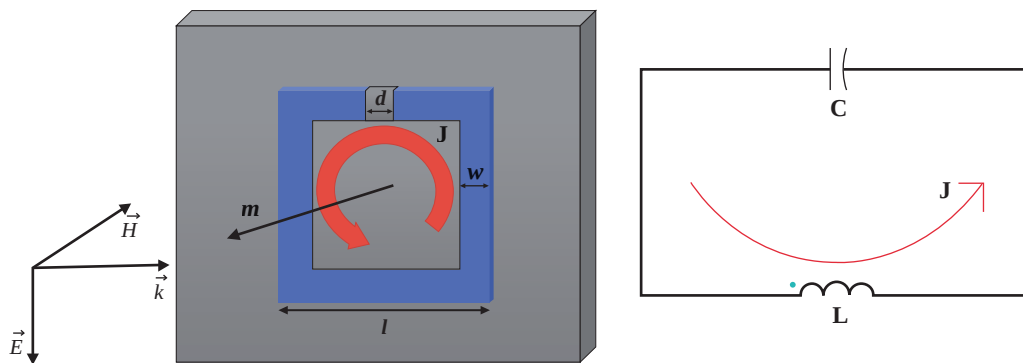


Figura 1. Un rectángulo con abertura de ancho d la apertura funciona como capacitor, mientras la inductancia está distribuida en toda la estructura rectangular. Se puede representar por un circuito LC.

de ellos con una apreciable capacidad eléctrica e inductancia magnética distribuida. El número de anillos utilizados para construir la estructura solo está limitado, en principio, por la condición de homogeneidad efectiva.

Una vez aceptado que un anillo con abertura equivale a un circuito LC , podemos construir estructuras con capacitancias e inductancias apreciablemente mayores, agregando anillos concéntricos. Toda la estructura sería el resultado de conectar eléctricamente los circuitos elementales equivalentes de cada resonador. Las propiedades electromagnéticas de los SRR

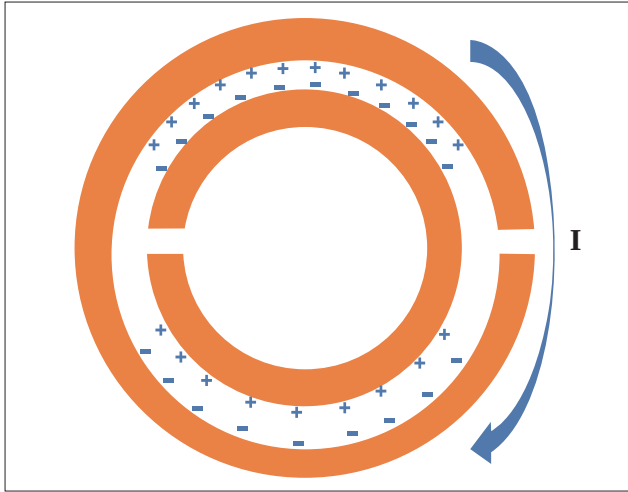


Figura 2. Anillos resonadores, elemento propuesto por J. Pendry: La disposición de las aberturas es fundamental para lograr un efecto de capacitancia eléctrica distribuida. El número de anillos que componen la estructura aumenta la inductancia.

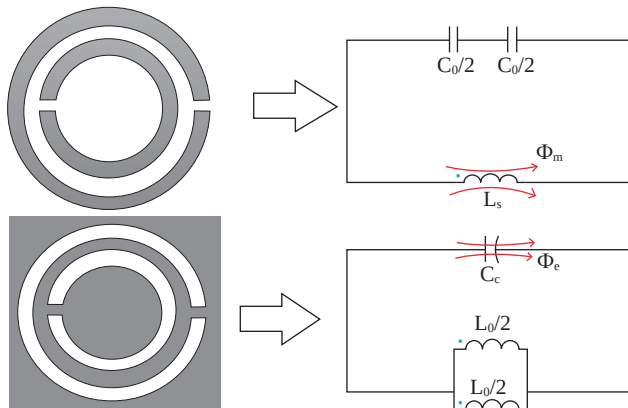


Figura 3. En la parte superior se muestra una estructura compuesta de dos resonadores SRR (propuesta por Pendry) y a la derecha su modelo circuital equivalente. En la parte inferior se muestra el CSRR y su circuito equivalente a la derecha. Nótese el cambio en las conexiones de los capacitores y las inductancias. Un SRR se construye imprimiendo sobre un sustrato dieléctrico los anillos conductores. Por el contrario un CSRR se obtiene “canalizando” sobre un sustrato conductor los anillos, donde había anillos conductores y sustrato dieléctrico ahora hay anillos dieléctricos y sustrato conductor.

han sido ampliamente analizadas en (Marqués, Medina, & Rafi-El-Idrissi, 2002; Marques, Mesa, Martel, & Medina, 2003) y un modelo circuital equivalente para resonadores SRR y CSRR (Complementary Split ring Resonator, por su sigla en inglés) fue presentado en el 2005 por (Baena, *et al.*, 2005), como se ilustra en la Figura 3. Si las pérdidas por resistencia de los anillos no son considerables, el espesor de los mismos no tiene influencia alguna y se observa un comportamiento dual (Falcone, *et al.*, 2004), es decir los SRR se comportan esencialmente como dipolos magnéticos resonantes susceptibles a ser excitados con campos magnéticos axiales (paralelos al eje perpendicular del plano del anillo), mientras los CSRR se comportan como dipolos eléctricos con la misma frecuencia de resonancia también susceptible a ser excitados con un campo eléctrico axial.

Cálculo de la Permeabilidad Magnética de un Resonador

Es posible obtener la permeabilidad magnética para un resonador simple con abertura a partir de la teoría elemental de circuitos. Para este caso en particular no existe capacitancia distribuida y por lo tanto todo el efecto capacitivo es debido a la abertura de ancho d presente en el anillo resonador. Así, cuando una OEM viaja con dirección y polarización como se ilustra en la Figura 1 (es decir, el campo magnético $\vec{H}(t)$ oscilando en la dirección perpendicular al plano del SRR.) induce una corriente que al acoplarse con el campo eléctrico oscilante $\vec{E}$ puede entrar en resonancia con este. Entonces podemos utilizar las leyes de Kirchhoff para obtener el balance de energías del sistema. Para ello, basta con representar los SRR o CSRR como circuitos LC (ver Figura 3), donde el potencial inducido por las oscilaciones de $\vec{H}(t)$ lo representaríamos por una fuente de voltaje alterno y así, el balance de energía en un instante de tiempo t cualquiera está dado por:

$$V_{\text{inducido}} = -\dot{\Phi}_B = L\dot{I} + \frac{1}{C} \int_0^t I dt. \quad (3)$$

Derivando con respecto al tiempo obtenemos

$$-\ddot{\Phi}_B = L\ddot{I} + \frac{1}{C} I. \quad (4)$$

Si además asumimos que la sección transversal del campo magnético es uniforme sobre toda el área del SRR, Φ_B representa su flujo a través de dicha área. Por otro lado, es razonable asumir que la corriente inducida I y el campo inductor $\vec{H}(t)$ tienen la misma dependencia armónica temporal, y recordando que la densidad de campo magnético y el vector de magnetización están dados por $\vec{B} = \mu_0 \vec{H}$ y $\vec{M} = n\vec{m}$ y respectivamente, donde $\vec{m} = I\vec{u}_n$. En este caso específico se tiene que n es el número de espiras de corriente por unidad de volumen, $m = I\vec{u}_n$ es el momento dipolar magnético y l el lado de la espira.

Después de operar y organizar términos es posible obtener una expresión para la permeabilidad magnética dada por (5)

$$\mu_r(\omega) = \left(1 + \frac{F\omega^2}{(\omega_{LC}^2 - \omega^2)}\right), \quad (5)$$

Donde $F = N \frac{l^2}{V}$, y N el número total de resonadores en el volumen de la celda. De lo anterior, tenemos entonces que todos los resonadores presentaran una permeabilidad

magnética dada por la ecuación (5) donde el factor F es un parámetro característico de cada resonador. La Figura 4 nos muestra la respuesta característica obtenida para un anillo resonador como el ilustrado en la Figura 1. Claramente para este caso particular la permeabilidad magnética puede tomar valores negativos para un rango de frecuencias entre 4.77 GHz y 6.77 GHz aproximadamente, donde dicho rango puede ser alterado si modificamos la geometría de la estructura empleada.

Metamateriales con índice de refracción negativo

La posible existencia de materiales con índice de refracción negativo fue teóricamente explorada por primera vez en 1968, por el físico ruso Víctor Veselago (Veselago, 1968). Estas sustancias deberían tener permitividad y permeabilidad negativas. Veselago en ese momento las nombró zurdas o materiales izquierdos (LH: Left Handed en inglés), dado que el trío que forman el vector de propagación, el campo eléctrico y el campo magnético siguen una ley de mano izquierda a diferencia de los dieléctricos convencionales que siguen una ley de mano derecha. Como consecuencia, en los medios LH el vector de Poynting viaja en dirección contraria a la dirección de propagación de la onda como se puede ver en la Figura 5b, al contrario de los medios RH (Right Handed Material, por sus siglas en inglés) donde el vector de Poynting viaja en la misma dirección de propagación de la onda (Figura 5a).

Esto se puede verificar fácilmente a partir de las ecuaciones de Maxwell y teniendo presente que los campos $\vec{E}(\mathbf{r}, t)$ y $\vec{B}(\mathbf{r}, t)$, son de carácter ondulatorio:

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \Rightarrow \vec{k} \times \vec{E} = \omega \mu \vec{H} \quad (6)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{H} = -\frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \Rightarrow \vec{k} \times \vec{H} = \omega \epsilon \vec{E} \quad (7)$$

Nótese que si ϵ y μ son ambos positivos los vectores $\vec{E}$, $\vec{H}$, y $\vec{k}$ forman lo que se conoce como un tripo de mano derecha y al medio activo a través del que se propagan se le denomina RHM. Si por el contrario si ϵ y μ son simultáneamente negativos, estos formaran un tripo de mano izquierda, y al medio se le denomina LHM.

Veselago predijo algunos efectos producidos por un medio zurdo, entre los cuales se destacan:

1. La velocidad de fase y velocidad de grupo son anti-paralelas.
2. Inversión del efecto Doppler.
3. Inversión de la radiación de Vavilov- Cerenkov.
4. Inversión de las condiciones de contorno relativas a los componentes normales de los campos magnéticos y eléctricos en el área de contacto entre un medio zurdo y un medio diestro.
5. Inversión de la ley de Snell.
6. Índice de refracción negativo en la superficie de contacto entre un medio zurdo y un medio diestro.
7. Transformación del punto fuente en un punto imagen en un medio zurdo.
8. Intercambio de los efectos de divergencia y convergencia en lentes convexas y cóncavas, respectivamente, cuando están fabricadas con un medio zurdo.

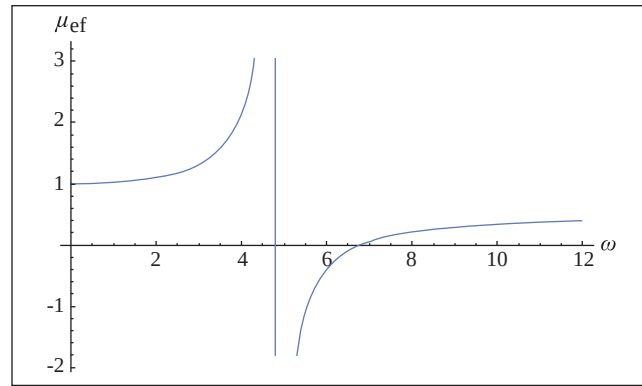


Figura 4. Respuesta magnética del SRR de la figura 1 con $l = 2$ cm, $w = 0,4$ cm, $d = 0,5$ mm, $t = 30 \times 10^{-6}$ m. El valor de la frecuencia de resonancia $\omega_{LC} = \frac{1}{\sqrt{LC}} = \frac{c_0}{l\sqrt{k}} \sqrt{\frac{d}{w}}$, (hemos utilizado $C = \frac{\epsilon A}{d} = \frac{\epsilon W t}{d} = \frac{k \epsilon_0 W t}{d}$ y además $L = \mu_0 \frac{l^2}{t}$).

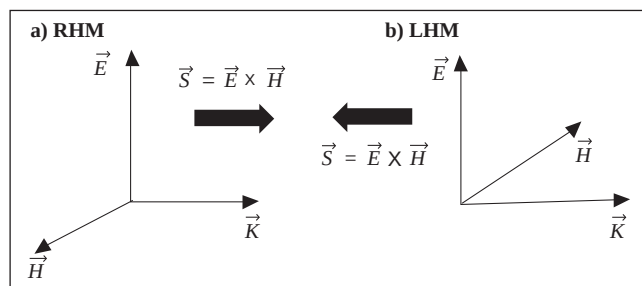


Figura 5. En un RHM el vector de Poynting $\vec{S}$ viaja en la misma dirección que el vector de propagación de onda $\vec{k}$. En cambio para el caso de un LHM, dichos vectores tienen direcciones opuestas.

9. Fenómenos de tipo resonante ante plasmones.

Veselago solo describió el potencial e hipotético comportamiento de sustancias zurdas, dado que para la fecha del estudio (1968) se desconocía material alguno que pudiera presentar estas características. Por esta razón ningún experimento se pudo realizar y quedó solo como un postulado teórico hasta el año 1999.

Construcción de los primeros materiales LHM

En 1999 se construyó el primer material LHM. No se trataba de ninguna sustancia, sino de una estructura artificial lo suficientemente pequeña para ser considerada homogénea, es decir, una estructura que cumplía la condición de homogeneidad efectiva. Dicha estructura fue concebida por Smith y colaboradores (D. R. Smith, Padilla, Vier, Nemat-Nasser, & Schultz, 2000) y se basó enteramente en los trabajos de Pendry, (J. B. Pendry, et al., 1999a; J. B. Pendry, Holden, Robbins, & Stewart, 1999b; J. Pendry, Holden, Stewart, & Youngs, 1996). Entre 1996 hasta 1998 el grupo dirigido por J.B. Pendry propuso y demostró que con alambres delgados, los cuales llamaremos en adelante TW (Thin wires, por su sigla en inglés) se podían obtener permitividades negativas para el rango de las microondas (J. B. Pendry, et al., 1999b; J. Pendry, et al., 1996).

Inmediatamente después del workshop de 1999 “Electromagnetics Crystal Structures”, en Laguna Beach, donde Pendry presentó por primera vez la estructura de anillo resonador, Smith y colaboradores, quienes asistieron al evento, iniciaron un programa para construir el primer medio con índice de refracción negativo. La idea del equipo de Smith fue juntar las dos estructuras presentadas por Pendry para conseguir simultáneamente permeabilidad y permitividad negativas, lo que presentaría un índice de refracción n real y, por lo tanto, permitiría propagación. El diseño de Smith consistió en construir por separado una estructura TW y otra SRR para el mismo rango de frecuencias y, posteriormente, combinarlas para la obtención de una estructura compuesta TW-SRR (D. Smith, Padilla, Vier, Nemat-Nasser, & Schultz, 2000).

Adicionalmente, diversos trabajos de simulaciones numéricas mostraron que la localización espacial de los SRR con respecto a los alambres era de importancia crítica para construir una banda de propagación LHM. Los mejores resultados se obtuvieron cuando los alambres se colocaron entre los SRR, con los ejes de los alambres intersectando los ejes de los SRR. Esto llevó al grupo de Smith a concluir que tal configuración minimizaba la interacción entre los anillos y los alambres, permitiendo así una división clara entre las respuestas eléctrica (los alambres) y magnética (los SRR) (D. R. Smith, *et al.*, 2000; Yen, *et al.*, 2004). Cuando no se consideran pérdidas (lo cual se logra utilizando buenos conductores para la construcción de la estructura TW-SRR), dichas respuestas vienen dadas por

$$\epsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2}; \quad \mu_r(\omega) = \left(1 + \frac{F\omega^2}{(\omega_{LC}^2 - \omega^2)}\right) \quad (8)$$

Para comprobar su naturaleza zurda se lanzó una onda electromagnética dentro de la banda de paso de ambas estructuras constitutivas, y se comprobó que los parámetros constitutivos ϵ y μ presentaban valores simultáneamente negativos.

Aplicaciones de los metamateriales

Desde su descubrimiento, los metamateriales han sido involucrados en diversos campos de la ciencia y la ingeniería. Una de las áreas específicas que mayor interés ha tenido en su implementación ha sido el de las antenas, radio propagación y comunicaciones inalámbricas, debido entre otras cosas a que la implementación de estructuras metamateriales permitiría mejorar la respuesta eléctrica de antenas y filtros de radiofrecuencia. En efecto, se ha reportado el incremento del ancho de banda comparado con las antenas de microcinta tradicionales (L.-W. Li, Li, Soon Yeo, Mosig, & Martin, 2011; Wang & Li, 2006), de la eficiencia de radiación de las antenas (Ouedraogo, Rothwell, Diaz, Fuchi, & Temme, 2012), de la ganancia (Chaimool, Chung, & Akkaraekthalin, 2010; Wu, *et al.*, 2005) e incluso han sido implementados en los últimos años con el fin de minimizar las dimensiones de la antena, mientras simultáneamente se mantienen las propiedades eléctricas, algo que era imposible

lograr con la tecnología tradicional. Este hallazgo sin duda ha sido uno de los puntos destacados de los metamateriales y su implementación en aplicaciones de comunicaciones inalámbricas, pues incluso se han reportado resultados en los cuales se ha logrado disminuir las dimensiones físicas hasta un 70%, lo cual, es un gran resultado si tenemos en cuenta que la mayoría de dispositivos tecnológicos actuales requieren de sistemas electrónicos y de comunicación altamente compactos para mejorar la eficiencia (Fan-Yi Meng, Qun Wu, Bo-Shi Jin, Wang, & Jian Wu, 2007). Esto ha permitido que las antenas basadas en esta tecnología sean fácilmente integradas en formatos de electrónica flexible o en dispositivos micro y nanométricos para llevar a cabo no sólo comunicaciones inalámbricas, sino también operaciones de sensado en tiempo real (Cheng, Senior, Kim, & Yoon, 2011; Senior, *et al.*, 2011; Xiaoyu Cheng, Jun Shi, Jao, Senior, & Yong-Kyu Yoon, 2011). Es importante mencionar algunos trabajos recientes que analizan el comportamiento de antenas construidas con capas de materiales distribuidas de forma periódica y sobre sustratos FR4, los cuales son de bajo costo (Tauseef Asim & Ahmed, 2015). Los autores utilizan la misma celda unitaria para fabricar una meta pantalla para la parte inferior y un súper sustrato para la parte superior del parche y así estudiar los efectos sobre la impedancia, el ancho de banda, la ganancia y los patrones de radiación.

Las áreas de sensores y filtros en RF son quizás las que más han empleado los metamateriales para mejorar el desempeño. Muestra de ello son los numerosos trabajos que han sido publicados por los principales grupos de investigación a nivel mundial (Ebrahimi, Withayachumnankul, Al-Sarawi, & Abbott, 2014; Ebrahimi, *et al.*, 2014; Rusni, Ismail, Alhawari, Hamidon, & Yusof, 2014). Cabe destacar que estas aplicaciones no sólo se han restringido a la región de las microondas, sino que han trascendido a otras zonas del espectro electromagnético, lo cual sin lugar a dudas ha incrementado su interés. Muchos autores han empezado a demostrar su aplicabilidad en la región óptica (Falcone, *et al.*, 2004; Linden, 2004; Linden, *et al.*, 2006; Shelby, 2001).

Otras aplicaciones interesantes de los metamateriales conciernen a la generación de invisibilidad de superficies o zonas, ya que a través de dispositivos fabricados con estos materiales de permitividad y permeabilidad negativas, es posible ocluir una zona determinada de modo que un observador no pueda determinar si un objeto está presente en ella (Schurig, *et al.*, 2006). Adicionalmente, en los últimos años aplicaciones relacionadas con almacenamiento de energía han sido exploradas por algunos grupos de investigación, los cuales han logrado demostrar que, al implementar paneles con este tipo de estructuras, se logra incrementar la eficiencia de conversión de energía gracias a que como se mencionó antes, este tipo de estructuras nos permiten modificar la capacitancia y por ende la capacidad de almacenamiento de energía (Almoneef & Ramahi, 2015).

Por último, en años recientes se ha explorado el uso de metamateriales y Meta superficies para el diseño y construcción de lentes especiales (súper lentes o híper lentes) con el fin de generar cambios que pueden revolucionar aspectos de la óptica convencional, principalmente en algunos aspectos asociados a aplicaciones ligadas a la holografía. Diversos grupos han demostrado que a través de la combinación de dieléctricos y metales es posible desarrollar lentes con mayor poder de focalización, de mayor calidad (se disminuyen aberraciones y efectos difractivos), mayor magnificación y simultáneamente más compactas que las lentes convencionales (Chen, Chang, & Chen, 2016; Jacob, Alekseyev, & Narimanov, 2006; R. Li, *et al.*, 2015; Lipworth, *et al.*, 2014) lo cual hace posible su integración en sistemas micro y nanométricos.

Recientemente, los autores han explorado el uso de metamateriales, específicamente en el diseño y la construcción de diferentes dispositivos de radiofrecuencia tales como antenas y resonadores tipo parche para su utilización como sensores o dispositivos para comunicaciones inalámbricas. Se han obtenido algunos resultados interesantes para la medición de la permitividad dieléctrica relativa de materiales acuosos y gaseosos con $\epsilon < 10$, usando una estructura de metamaterial basada en un resonador rectangular grabado en una antena de microcinta. Demostrando que este tipo de estructuras es altamente sensible a cambios en la permitividad del medio que la rodea, principalmente gracias al incremento en la capacitancia como se mencionó anteriormente (Domínguez, Cataño, & Reyes, 2015). Adicionalmente, han estudiado los efectos generados en la respuesta eléctrica de antenas de microcinta cuando sobre el parche es grabado un arreglo de CSRR. Demostrando que es posible optimizar el acople de energía por parte de la antena, minimizar las pérdidas por retorno y sintonizar la frecuencia de resonancia a través de la manipulación de los parámetros geométricos del arreglo, como lo son el periodo del arreglo y el tamaño de cada celda unitaria (Catano-ocha, Senior, Lopez, & Reyes-Vera, 2016).

Conclusiones

Hemos realizado una revisión general e introductoria sobre metamateriales, con el interés principal de mostrar qué es y cómo se entiende un metamaterial y cuáles son sus posibles aplicaciones. Hemos mostrado que la posibilidad de “fabricar materia” usando estructuras TW-SRR, con propiedades según requerimientos particulares, abre nuevos horizontes en el estudio del electromagnetismo aplicado y la ciencia de los materiales, que pueden llevar a nuevos e interesantes resultados. Adicionalmente se ha demostrado los grandes avances en ciertas áreas de la ingeniería y las ciencias gracias a la implementación de estas estructuras.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Instituto Tecnológico Metropolitano a través del proyecto P13252.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Almoneef, T., & Ramahi, O. M. 2015. Split-ring resonator arrays for electromagnetic energy harvesting. *Progress In Electromagnetics Research B*, **62** (January): 167-180. doi:10.2528/PIERB15012506
- Baena, J. D., Bonache, J., Martín, F., Sillero, R. M., Falcone, F., Lopetegui, T., Sorolla, M. 2005. Equivalent-circuit models for split-ring resonators and complementary split-ring resonators coupled to planar transmission lines. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*. **53** (4): 1451-1461. doi:10.1109/TMTT.2005.845211
- Caloz, C., & Itoh, T. 2005. *Electromagnetic Metamaterials: Transmission Line Theory and Microwave Applications*. (I. John Wiley & Sons, Ed.) (First.). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. doi:10.1002/0471754323
- Catano-ocha, D., Senior, D. E., Lopez, F., & Reyes-Vera, E. 2016. Performance Analysis of a Microstrip Patch Antenna loaded with an Array of Metamaterial Resonators. In *IEEE International Symposium on Antennas and Propagation/USNC-URSI National Radio Science* (pp. 1-3). Fajardo, Puerto Rico: IEEE.
- Chaimool, S., Chung, K. L., & Akkaraekthalin, P. 2010. Simultaneous gain and bandwidths enhancement of a single-feed circularly polarized microstrip patch antenna using a metamaterial reflective surface. *Progress In Electromagnetics Research B*, **22**: 23-37. doi:10.2528/PIERB10031901
- Chen, Y.-A., Chang, I.-L., & Chen, L.-W. 2016. Spiral hyperlens with enhancements of image resolution and magnification. *Journal of Modern Optics*, **63** (11): 1029-1034. doi:10.1080/09500340.2015.1117670
- Cheng, X., Senior, D. E., Kim, C., & Yoon, Y.-K. 2011. A Compact Omnidirectional Self-Packaged Patch Antenna With Complementary Split-Ring Resonator Loading for Wireless Endoscope Applications. *IEEE Antennas and Wireless Propagation Letters*, **10**: 1532-1535. doi:10.1109/LAWP.2011.2181315
- Domínguez, M., Cataño, D., & Reyes, E. 2015. Design a sensor of relative dielectric permittivity of a medium using an antenna microstrip with metamaterial structures. *Actas de Ingeniería*. **1** (1): 110-114.
- Ebrahimi, A., Withayachumnankul, W., Al-Sarawi, S., & Abbott, D. 2014. High-Sensitivity Metamaterial-Inspired Sensor for Microfluidic Dielectric Characterization. *IEEE Sensors Journal*. **14** (5): 1345-1351. doi:10.1109/JSEN.2013.2295312
- Falcone, F., Lopetegui, T., Laso, M. A. G., Baena, J. D., Bonache, J., Beruete, M., Sorolla, M. 2004. Babinet Principle Applied to the Design of Metasurfaces and Metamaterials. *Physical Review Letters*. **93** (19): 197401. doi:10.1103/PhysRevLett.93.197401
- Fan-Yi Meng, Qun Wu, Bo-Shi Jin, Wang, H.-L., & Jian Wu. 2007. Comments on “Waveguide Miniaturization Using Uniaxial Negative Permeability Metamaterial”. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*. **55** (3): 1016-1017. doi:10.1109/TAP.2007.891880
- Jacob, Z., Alekseyev, L. V., & Narimanov, E. 2006. Optical Hyperlens: Far-field imaging beyond the diffraction limit. *Optics Express*. **14** (18): 8247. doi:10.1364/OE.14.008247

- Li, L.-W., Li, Y.-N., Soon Yeo, T., Mosig, J. R., & Martin, O. J. F. 2011. Addendum: "A broadband and high-gain metamaterial microstrip antenna." *Applied Physics Letters*. **99** (15): 159901. doi:10.1063/1.3651481
- Li, R., Guo, Z., Wang, W., Zhang, J., Zhou, K., Liu, J., Gao, J. 2015. Arbitrary focusing lens by holographic metasurface. *Photonics Research*. **3** (5): 252. doi:10.1364/PRJ.3.000252
- Linden, S. 2004. Magnetic Response of Metamaterials at 100 Terahertz. *Science*, **306** (5700): 1351-1353. doi:10.1126/science.1105371
- Linden, S., Enkrich, C., Dolling, G., Klein, M. W., Zhou, J., Koschny, T., Wegener, M. 2006. Photonic Metamaterials: Magnetism at Optical Frequencies. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, **12** (6): 1097-1105. doi:10.1109/JSTQE.2006.880600
- Lipworth, G., Ensworth, J., Seetharam, K., Huang, D., Lee, J. S., Schmalenberg, P., ... Urzhumov, Y. 2014. Magnetic metamaterial superlens for increased range wireless power transfer. *Scientific Reports*. **4**: 3642. doi:10.1038/srep03642
- Mark A. Heald, J. B. M. 1994. *Classical Electromagnetic radiation* (Third Edit.). Mineola, New York: Dover Publications, Inc.
- Marqués, R., Medina, F., & Rafi-El-Idrissi, R. 2002. Role of bianisotropy in negative permeability and left-handed metamaterials. *Physical Review B*, **65** (14): 1-6. doi:10.1103/PhysRevB.65.144440
- Marques, R., Mesa, F., Martel, J., & Medina, F. 2003. Comparative analysis of edge- and broadside- coupled split ring resonators for metamaterial design - theory and experiments. *IEEE Trans. Ant. Propagat.* **51** (10): 2572-2581. doi:10.1109/TAP.2003.817562
- Ouedraogo, R. O., Rothwell, E. J., Diaz, A. R., Fuchi, K., & Temme, A. 2012. Miniaturization of Patch Antennas Using a Metamaterial-Inspired Technique. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*. **60** (5): 2175-2182. doi:10.1109/TAP.2012.2189699
- Pendry, J. B., Holden, a. J., Robbins, D. J., & Stewart, W. J. 1999a. Magnetism from conductors and enhanced nonlinear phenomena. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*. **47** (11): 2075-2084. doi:10.1109/22.798002
- Pendry, J. B., Holden, A. J., Robbins, D. J., & Stewart, W. J. 1999b. Low frequency plasmons in thin-wire structures. *Journal of Physics: Condensed Matter*. **10** (22): 4785-4809. doi:10.1088/0953-8984/10/22/007
- Pendry, J., Holden, A., Stewart, W., & Youngs, I. 1996. Extremely Low Frequency Plasmons in Metallic Mesostructures. *Physical Review Letters*, **76** (25): 4773-4776. doi:10.1103/PhysRevLett.76.4773
- Rusni, I., Ismail, A., Alhawari, A., Hamidon, M., & Yusof, N. 2014. An Aligned-Gap and Centered-Gap Rectangular Multiple Split Ring Resonator for Dielectric Sensing Applications. *Sensors*, **14** (7): 13134-13148. doi:10.3390/s140713134
- Schurig, D., Mock, J. J., Justice, B. J., Cummer, S. A., Pendry, J. B., Starr, A. F., & Smith, D. R. 2006. Metamaterial Electromagnetic Cloak at Microwave Frequencies. *Science*. **314** (5801): 977-980. doi:10.1126/science.1133628
- Senior, D. E., Cheng, X., Jao, P., Kim, C., Kim, J. K., & Yoon, Y. 2011. Wireless passive sensing application using a cavity loaded evanescent mode half mode substrate integrated waveguide resonator. In *2011 16th International Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference* (pp. 2014-2017). IEEE. doi:10.1109/TRANSDUCERS.2011.5969205
- Shelby, R. A. 2001. Experimental Verification of a Negative Index of Refraction. *Science*. **292** (5514): 77-79. doi:10.1126/science.1058847
- Smith, D., Padilla, W., Vier, D., Nemat-Nasser, S., & Schultz, S. 2000. Composite Medium with Simultaneously Negative Permeability and Permittivity. *Physical Review Letters*. **84** (18): 4184-4187. doi:10.1103/PhysRevLett.84.4184
- Smith, D. R., Padilla, W. J., Vier, D. C., Nemat-Nasser, S. C., & Schultz, S. 2000. Composite medium with simultaneously negative permeability and permittivity. *Physical Review Letters*. **84** (18): 4184-4187. doi:10.1103/PhysRevLett.84.4184
- Tauseef Asim, M., & Ahmed, M. 2015. Metamaterial Inspired Microstrip Antenna Investigations Using Metascreens. *International Journal of Antennas and Propagation*. 2015, 1-9. doi:10.1155/2015/236136
- Veselago, V. 1968. The Electrodynamics of substances with simultaneously negative values of ϵ and μ . *Soviet Physics Uspekhi*. **10** (4): 509-514.
- Wang, L., & Li, J. L. 2006. A Novel Metamaterial Microstrip Antenna of Broadband and High-Gain. In *Proceedings of ISAP2012* (pp. 806-809). Nagoya, Japan.
- Wu, B.-I., Wang, W., Pacheco, J., Chen, X., Grzegorzczuk, T. M., & Kong, J. A. 2005. A study of using metamaterials as antenna substrate to enhance gain. *Progress In Electromagnetics Research*. **51**: 295-328. doi:10.2528/PIER04070701
- Xiaoyu Cheng, Jun Shi, Jao, P., Senior, D. E., & Yong-Kyu Yoon. 2011. Reconfigurable split ring resonator array loaded waveguide for insitu tuning. In *2011 IEEE International Symposium on Antennas and Propagation (APSURSI)* (pp. 2947-2950). IEEE. doi:10.1109/APS.2011.5997146
- Yen, T. J., Padilha, W. J., Fang, D. N., Vier, D. C., Smith, D. R., Pendry, J. B., ... Zhang, X. 2004. Terahertz Magnetic Response from Artificial Materials. *Science*. **303** (2004): 1494-1496. doi:10.1017/CBO9781107415324.004

Analytical potentials for flat galaxies with spheroidal halos

Guillermo A. González^{1,*}, Jerson I. Reina^{1,2}

¹Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

²Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Santo Tomás-Bucaramanga, Bucaramanga, Colombia

Abstract

A family of analytical potential-density pairs for flat galaxies with spheroidal halos is presented. The potential are obtained by means of the sum of two independent terms: a potential associated with a thin disc and a potential associated with a spheroidal halo, which are expressed as appropriated superpositions of products of Legendre functions, in such a way that the model implies a linear relationship between the masses of the thin disc and the spheroidal halo. By taking a particular case for the halo potential, we found that the circular velocity obtained can be adjusted very accurately to the observed rotation curves of some specific galaxies, so that the models are stable against radial and vertical perturbations. Two particular models for the galaxies NGC4389 and UGC6969 are obtained by adjusting the circular velocity with data of the observed rotation curve of some galaxies of the Ursa Mayor Cluster, as reported in **Verheijen and Sancisi** (2001). The values of the halo mass and the disc mass for these two galaxies are computed obtaining a very narrow interval of values for these quantities. Furthermore, the values of obtained masses are in perfect agreement with the expected order of magnitude and with the relative order of magnitude between the halo mass and the disc mass. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Potential Theory; Disk Galaxies; Celestial Mechanics; Galactic Mass.

Potenciales analíticos para galaxias planas con halos esféricos

Resumen

Se presenta una familia de pares analíticos potencial-densidad para galaxias planas con halos esféricos. Los potenciales son obtenidos por medio de la suma de dos términos independientes: un potencial asociado al disco delgado y un potencial asociado al halo esférico, los cuales son expresados apropiadamente como la superposición de productos de funciones de Legendre, de tal manera que el modelo implica una relación lineal entre las masas del disco delgado y el halo esférico. Tomando un caso particular para el potencial del halo, encontramos que la velocidad circular obtenida puede ser ajustada muy precisamente con la curva de rotación de algunas galaxias específicas, de tal manera que los modelos son estables contra perturbaciones radiales y verticales. Dos modelos particulares para las galaxias NGC4389 y UGC6969 son obtenidos ajustando la velocidad circular del modelo con datos de la curva de rotación observada de algunas galaxias del Cluster de la Osa Mayor, reportados en **Verheijen and Sancisi** (2001). Los valores de la masa del halo y la masa del disco para estas dos galaxias son calculados obteniendo un intervalo muy estrecho de valores para dichas cantidades. Además, los valores de masa aquí obtenidos están en perfecto acuerdo con el orden de magnitud esperado y con el orden de magnitud relativo entre la masa del halo y la masa del disco. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Teoría del Potencial; Galaxias de Disco; Mecánica Celeste; Masa de Galaxias.

Introduction

One of the oldest and most important problems in galactic dynamics is the determination of the mass distribution based on the observations of the circular velocity or rotation curve (**Pierens and Hure**, 2004), defined as the speed of the stars moving in the galactic plane in circular orbits around the center. Now, if we assume a particular model for the composition of the galaxy, the fit of that model with the rotation curve of a particular galaxy can, in principle, completely determine the distribution of mass. So then, the rotation curve provides the most direct method to measure the distribution of mass of a galaxy (**Binney and Tremaine**, 2008).

Currently, the most accepted description of the composition of spiral galaxies is that a significant portion of its mass is concentrated in a thin disc, while the other contributions to the total mass of the galaxy come from a spherical halo of dark matter, a central bulge and, perhaps, a central black hole (**Binney and Tremaine**, 2008). Now, since all components contribute to the gravitational field of the galaxy, obtaining appropriate models that include the

***Corresponding author:**

Guillermo A. González, guillermo.gonzalez@saber.uis.edu.co

Received: 13 de abril de 2016

Accepted: 10 de agosto de 2016

effects of all parts is a problem of great difficulty. However, the contribution of each part is limited to certain distance scales, so in a reasonably realistic model it is not necessary to include the contribution of all components (**Faber, 2006**).

In particular, the gravitational influence of the central black hole is appreciable only within a few parsecs around the center of the galaxy (**Schödel, et al., 2002**), so it can be completely neglected when studying the dynamics of the disc, or in regions outside the central bulge, while the bulge mainly dominates the inner region of the galaxy to a few kiloparsec. So then, the main contributions to the gravitational field of the galaxy come from the galactic disc and the dark matter halo (**Faber, 2006**). However, it is commonly accepted that many aspects of galactic dynamics can be described, in a fairly approximate way, using models that consider only the contribution of a thin galactic disc (**Binney and Tremaine, 2008**).

Accordingly, the study of the gravitational potential generated by an idealized thin disc is a problem of great astrophysical relevance and so, through the years, different approaches have been used to obtain such kind of thin disc models (see **Binney and Tremaine (2008)** and references therein). So, once an expression for the gravitational potential has been derived, corresponding expressions for the surface mass density of the disc and for the circular velocity of the disc particles can be obtained. Then, if the expression for the circular velocity can be adjusted to fit the observational data of the rotation curve of a particular galaxy, the total mass can be obtained by integrating the corresponding surface mass density.

However, although most of these thin disc models have surface densities and rotation curves with remarkable properties, many of them mainly represent discs of infinite extension and thus they are rather poor flat galaxy models. Therefore, in order to obtain more realistic models of flat galaxies, it is better to consider methods that permit obtaining finite thin disc models. Now, a simple method to obtain the gravitational potential, the surface density and the rotation curve of thin discs of finite radius was developed by **Hunter (1963)**, the simplest example of a disc obtained by this method being the well known **Kalnajs (1972)** disc.

In a previous paper (**González and Reina, 2006**) we used the Hunter method in order to obtain an infinite family of thin discs of finite radius with a well-behaved surface mass density. This family of disc models was derived by requiring that the surface density behaves as a monotonously decreasing function of the radius, with a maximum at the center of the disc and vanishing at the edge. Furthermore, the motion of test particles in the gravitational fields generated by the first four members of this family was studied in **Ramos-Caro, López-Suspez and González (2008)**. So, although the mass distribution of this family of discs presents a satisfactory behaviour in such a way that they could be considered adequate as flat galaxy models,

their corresponding rotation curves do not present a so good behavior, as they do not reproduce the flat region of the observed rotation curve.

On the other hand, in **Pedraza, Ramos-Caro and González (2008)** a new family of discs was obtained as a superposition of members of the previously obtained family, by requiring that the surface density be expressed as a well-behaved function of the gravitational potential, in such a way that the corresponding distribution functions can be easily obtained. Furthermore, besides presenting a well-behaved surface density, the models also presented rotation curves with a better behavior than the generalized Kalnajs discs. However, although these discs are stable against small radial perturbations of disc star orbits, they are unstable to small vertical perturbations normal to the disc plane. Then, apart from the stability problems, these discs can be considered as quite adequate models in order to satisfactorily describe a great variety of galaxies.

Based on these works, in **González, Plata-Plata and Ramos-Caro (2010)** were obtained some thin disc models in which the circular velocities were adjusted to very accurately fit the observed rotation curves of four spiral galaxies of the Ursa Major cluster, galaxies NGC3877, NGC3917, NGC3949 and NGC4010. These models presented well-behaved surface densities and the obtained values for the corresponding total mass agree with the expected order of magnitude. However, the models presented a central region with strong instability to small vertical perturbations. Now, this result was expected as a consequence of the fact that the models only consider the thin galactic disc. Therefore, more realistic models must be considered including the non-thin character of the galactic disc or the mass contribution of the spheroidal halo.

In agreement with the above considerations, in this paper we will consider a family of models obtained by expressing the gravitational potential as the superposition of a potential generated by the thin galactic disc and a potential generated by the spheroidal halo, in such a way that the model implies a linear relationship between the masses of the thin disc and the spheroidal halo. By adjusting the corresponding expression for the circular velocity to the observed data of the rotation curve of some specific galaxies, some particular models will be analysed. Then, from the corresponding expressions for the disc surface density and the density of the halo, estimate values for the total mass of the disc and the total mass of the halo will be obtained. The paper is organised as follows. First we present the thin disc plus halo model. Then, we obtain the corresponding expressions for particular models, and then the models are fitted to data of the observed rotation curve of some galaxies of the Ursa Mayor Cluster, as reported in **Verheijen and Sancisi (2001)**. Finally, we discuss the obtained results.

The Thin Disc Plus Halo Model

In order to obtain galaxy models consisting of a thin galactic disc and a spheroidal halo, we begin considering an axially

symmetric gravitational potential $\Phi = \Phi(R, z)$, where (R, φ, z) are the usual cylindrical coordinates. Also, besides the axial symmetry, we suppose that the potential has symmetry of reflection with respect to the plane $z = 0$,

$$\Phi(R, z) = \Phi(R, -z), \quad (1)$$

which implies that the normal derivative of the potential satisfies the relation

$$\frac{\partial \Phi}{\partial z}(R, -z) = -\frac{\partial \Phi}{\partial z}(R, z), \quad (2)$$

in agreement with the attractive character of the gravitational field. We also assume that $\partial \Phi / \partial z$ does not vanish on the plane $z = 0$, in order to have a thin distribution of matter that represents the disc.

On the other hand, in order to separately describe the thin disc and the spheroidal halo, we consider that the gravitational potential can be written as the superposition of two independent components

$$\Phi(R, z) = \Phi_d(R, z) + \Phi_h(R, z), \quad (3)$$

where $\Phi_d(R, z)$ is the part of the potential generated by the thin galactic disc, while $\Phi_h(R, z)$ corresponds to the spheroidal halo component. The disc component $\Phi_d(R, z)$ must be a solution of the Laplace equation everywhere outside the disc,

$$\nabla^2 \Phi_d = 0, \quad (4)$$

while the halo component $\Phi_h(R, z)$ satisfies the Poisson equation

$$\nabla^2 \Phi_h = 4\pi G \varrho, \quad (5)$$

where $\varrho(R, z)$ is the mass density of the halo.

So, given a potential $\Phi(R, z)$ with the previous properties, we can easily obtain the circular velocity $v_c(R)$, defined as the velocity of the stars moving at the galactic disc in circular orbits around the center, through the relationship

$$v_c^2(R) = R \left. \frac{\partial \Phi}{\partial R} \right|_{z=0}, \quad (6)$$

while the surface mass density $\Sigma(R)$ of the thin galactic disc is given by

$$\Sigma(R) = \frac{1}{2\pi G} \left. \frac{\partial \Phi}{\partial z} \right|_{z=0+}, \quad (7)$$

which it is obtained by using the Gauss law and the reflection symmetry of $\Phi(R, z)$.

Accordingly, in order that the potential of the spheroidal halo does not contribute to the disc surface density, we will impose the condition

$$\left. \frac{\partial \Phi_h}{\partial z} \right|_{z=0+} = 0. \quad (8)$$

Furthermore, in order to have a surface density corresponding to a finite disclike distribution of matter, we impose boundary conditions in the form

$$\left. \frac{\partial \Phi_d}{\partial z} \right|_{z=0+} \neq 0; \quad R \leq a, \quad (9a)$$

$$\left. \frac{\partial \Phi_d}{\partial z} \right|_{z=0+} = 0; \quad R > a, \quad (9b)$$

in such a way that the matter distribution is restricted to the disc $z = 0$, $0 \leq R \leq a$, where a is the radius of the disc.

In order to properly pose the boundary value problem, we introduce the oblate spheroidal coordinates, whose symmetry adapts in a natural way to the geometry of the model. These coordinates are related to the usual cylindrical coordinates by the relation (**Morse and Feshbach, 1953**)

$$R = a \sqrt{(1 + \xi^2)(1 - \eta^2)}, \quad (10a)$$

$$z = a\xi\eta, \quad (10b)$$

where $0 \leq \xi < \infty$ and $-1 \leq \eta < 1$. The disc has the coordinates $\xi = 0$, $0 \leq \eta^2 < 1$. On crossing the disc, the η coordinate changes sign but does not change in absolute value. The singular behaviour of this coordinate implies that an even function of η is a continuous function everywhere but has a discontinuous η derivative at the disc.

Now, in terms of the oblate spheroidal coordinates, the Laplace operator acting over any axially symmetric function $\Phi(\xi, \eta)$ gives

$$\nabla^2 \Phi = \frac{[(1 + \xi^2)\Phi_{,\xi}]_{,\xi} + [(1 - \eta^2)\Phi_{,\eta}]_{,\eta}}{a^2(\xi^2 + \eta^2)}, \quad (11)$$

Whereas the boundary condition (8) is equivalent to

$$\left. \frac{\partial \Phi_h}{\partial \xi} \right|_{\xi=0} = 0, \quad (12a)$$

$$\left. \frac{\partial \Phi_h}{\partial \eta} \right|_{\eta=0} = 0, \quad (12b)$$

and the boundary conditions (9a) and (9b) reduce to

$$\left. \frac{\partial \Phi_d}{\partial \xi} \right|_{\xi=0} \neq 0, \quad (13a)$$

$$\left. \frac{\partial \Phi_d}{\partial \eta} \right|_{\eta=0} = 0. \quad (13b)$$

Moreover, in order for the gravitational potential to be continuous everywhere, $\Phi(\xi, \eta)$ must be an even function of η , which grants also the fulfilment of conditions (12b) and (13b).

Accordingly, by imposing the previous boundary conditions over the general solution of the Laplace equation in oblate spheroidal coordinates, we can write the gravitational potential of the galactic disc as (**Bateman, 1944**)

$$\Phi_n(\xi, \eta) = - \sum_{l=0}^n C_{2l} q_{2l}(\xi) P_{2l}(\eta), \quad (14)$$

where n is a positive integer, which it defines the model of disc considered. Here $P_{2l}(\eta)$ are the usual Legendre polynomials and $q_{2l}(\xi) = i^{2l+1} Q_{2l}(i\xi)$, with $Q_{2l}(x)$ the Legendre functions of second kind (see **Arfken and Weber (2005)** and, for the Legendre functions of imaginary argument, **Morse and Feshbach (1953)**, page 1328). The coefficients C_{2l} are, in principle, arbitrary constants, though they must be specified to obtain any particular model. We will do this later on, by adjusting the circular velocity of the model with the observed data of the rotation curve of some specific galaxies.

With this expression for the gravitational potential of the disc, the surface density is given by

$$\Sigma(\tilde{R}) = \frac{1}{2\pi a G \eta} \sum_{l=0}^n C_{2l}(2l+1) q_{2l+1}(0) P_{2l}(\eta), \quad (15)$$

where, as $\xi = 0$, $\eta = \sqrt{1 - \tilde{R}^2}$, with $\tilde{R} = R/a$. Then, by integrating on the total area of the disc, we find the value

$$\frac{M_d G}{a} = C_0 \quad (16)$$

for the total mass of the disc. Now, it is clear that the surface density diverges at the disc edge, when $\eta = 0$, unless that we impose the condition (Hunter, 1963)

$$\sum_{l=0}^n C_{2l}(2l+1) q_{2l+1}(0) P_{2l}(0) = 0, \quad (17)$$

that, after using the identities

$$P_{2n}(0) = (-1)^n \frac{(2n-1)!!}{(2n)!!}, \quad (18a)$$

$$q_{2n+1}(0) = \frac{(2n)!!}{(2n+1)!!}, \quad (18b)$$

which are easily obtained from the properties of the Legendre functions, leads to the expression

$$C_0 = \sum_{l=1}^n (-1)^{l+1} C_{2l}, \quad (19)$$

which gives, through (16), the value of the disc mass M_d in terms of the constants C_{2l} , with $l \geq 1$.

Now, to properly choose the gravitational potential of the spheroidal halo, we consider the superposition

$$\Phi_h(\xi, \eta) = \sum_{j=0}^m \sum_{k=0}^j B_{jk} q_j^k(\xi) P_j^k(\eta), \quad (20)$$

where m is a positive integer, which defines the model of halo considered, and the coefficients B_{jk} are arbitrary constants which must be specified to obtain any particular model. Here (Lamb, 1945)

$$q_j^k(\xi) = (1 + \xi^2)^{\frac{k}{2}} \frac{d^k q_j(\xi)}{d\xi^k}, \quad (21)$$

are the solutions of the differential equation

$$\frac{d}{d\xi} \left[(1 + \xi^2) \frac{dq_j^k}{d\xi} \right] = \left[j(j+1) - \frac{k^2}{1 + \xi^2} \right] q_j^k(\xi), \quad (22)$$

while the associated Legendre functions (Arfken and Weber, 2005),

$$P_j^k(\eta) = (1 - \eta^2)^{\frac{k}{2}} \frac{d^k P_j(\eta)}{d\eta^k}, \quad (23)$$

are the solutions of the differential equation

$$\frac{d}{d\eta} \left[(1 - \eta^2) \frac{dP_j^k}{d\eta} \right] = \left[\frac{k^2}{1 - \eta^2} - j(j+1) \right] P_j^k(\eta), \quad (24)$$

where j and k are integers, with $j \geq k$. On the other hand, due to the discontinuous character of η , $\Phi_h(\xi, \eta)$ will be continuous everywhere only if we take $(j - k)$ as an even number in order that $P_j^k(\eta)$ be an even function of η .

With the previous expressions, and using the Laplace operator in oblate spheroidal coordinates (11) in the Poisson equation (5), we obtain for the mass density of the halo the expression

$$\varrho(\xi, \eta) = \frac{1}{4\pi G} \sum_{j=0}^m \sum_{k=0}^j B_{jk} \varrho_j^k(\xi, \eta), \quad (25)$$

Where

$$\varrho_j^k(\xi, \eta) = \frac{k^2 q_j^k(\xi) P_j^k(\eta)}{a^2 (1 + \xi^2)(1 - \eta^2)}. \quad (26)$$

Now, from (23) and (26) it is easy to see that at the z axis, when $\eta = \pm 1$, the function $\varrho_j^k(\xi, \eta)$ diverges for $k = 1$ and vanishes for $k > 2$. Accordingly, in order to have a well behaved mass density for the halo, we only consider in expression (20) the terms with $k = 0$ and $k = 2$ and so, in order to grant the continuity of the potential, we must take j as an even number. Furthermore, in order to have a nonzero mass density for the halo, we must consider models with $m \geq 2$. Finally, as $P_j^k(\eta)$ is finite at the interval $-1 \leq \eta \leq 1$ and $q_j^k(\xi)$ goes to zero when $\xi \rightarrow \infty$, $\varrho(\xi, \eta)$ properly vanishes at infinity.

A simple possibility for the halo potential in agreement with the above considerations is given by taking (20) with $m = 4$,

$$\begin{aligned} \Phi_h(\xi, \eta) = & B_{00} q_0^0(\xi) P_0^0(\eta) + B_{20} q_2^0(\xi) P_2^0(\eta) \\ & + B_{22} q_2^2(\xi) P_2^2(\eta) + B_{40} q_4^0(\xi) P_4^0(\eta) \\ & + B_{42} q_4^2(\xi) P_4^2(\eta), \end{aligned} \quad (27)$$

in such a way that at least two terms in (25) contribute to the mass halo density. Then, after using the explicit expressions for $q_j^k(\xi)$ and $P_j^k(\eta)$, the halo density can be written as

$$\begin{aligned} \varrho(\xi, \eta) = & \frac{3}{\pi G a^2} \left\{ B_{22} \left[3 \operatorname{arctg} \xi - \frac{\xi(5 + 3\xi^2)}{(1 + \xi^2)^2} \right] + \right. \\ & 5B_{42}(7\eta^2 - 1) \left[\frac{15}{4}(1 + 7\xi^2) \operatorname{arctg} \xi \right. \\ & \left. \left. - \frac{\xi(81 + 190\xi^2 + 105\xi^4)}{4(1 + \xi^2)^2} \right] \right\} \end{aligned} \quad (28)$$

which is maximum at the disc surface, when $\xi = 0$, and then fastly decreases being constant at the oblate spheroids defined by $\xi = \text{cte}$.

By integrating over all the space, we obtain the expression

$$B_{22} + 6B_{42} = \frac{M_h G}{16a}, \quad (29)$$

Where M_h is the total mass of the halo. Furthermore, from the condition (12a), we obtain the relations

$$B_{22} = -\frac{5B_{00}}{96} + \frac{B_{20}}{48}, \quad (30a)$$

$$B_{40} = -\frac{3B_{00}}{8} - \frac{3B_{20}}{4}, \quad (30b)$$

$$B_{42} = -\frac{B_{00}}{576} - \frac{B_{20}}{288}. \quad (30c)$$

Finally, solving the system of equations (29) and (30), we obtain

$$B_{00} = -\frac{M_h G}{a}, \quad (31a)$$

$$B_{20} = \frac{M_h G}{2a} - 288B_{42}, \quad (31b)$$

$$B_{22} = \frac{M_h G}{16a} - 6B_{42}, \quad (31c)$$

$$B_{40} = -216B_{42}, \quad (31d)$$

and so all the constants in (27) are expressed in terms of the halo mass M_h and the coefficient B_{42} .

On the other hand, if we restrict to particles moving in the thin disc, the circular velocity is written in terms of the spheroidal coordinates as

$$v_c^2 = \frac{(\eta^2 - 1)}{\eta} \frac{\partial \Phi}{\partial \eta} \Big|_{\xi=0}, \quad (32)$$

which, by using (3), (14), (27) and the properties of the Legendre functions, reduces to

$$v_c^2(\tilde{R}) = \frac{\tilde{R}^2}{\eta} \sum_{l=1}^m \tilde{C}_{2l} P'_{2l}(\eta), \quad (33)$$

where

$$\tilde{C}_2 = q_2(0) \left[C_2 + 66 B_{42} + \frac{M_h G}{4a} \right], \quad (34a)$$

$$\tilde{C}_4 = q_4(0) [C_4 + 24 B_{42}], \quad (34b)$$

and

$$\tilde{C}_{2l} = q_{2l}(0) C_{2l}, \quad (35)$$

for $l \geq 3$. Then, by using (19), (34a), (34b) and (35), it is easy to establish that

$$\frac{M_d G}{a} + \frac{M_h G}{4a} = \sum_{l=1}^m \frac{(-1)^{l+1} \tilde{C}_{2l}}{q_{2l}(0)} - 42 B_{42}, \quad (36)$$

and thus the model implies a linear relationship between M_d and M_h , where the independent term is determined by the constants $\tilde{C}_{2l}$, with $l \geq 1$, and the coefficient B_{42} . Now, it is clear that the above relationship makes sense only if the right hand side it is positive, which should be checked for every set of constants $\tilde{C}_{2l}$ corresponding to any particular model. The coefficient B_{42} must be chosen in such a way that the model represent galaxies with a surface density mass and vertical frequency with a physically acceptable behavior.

Obtaining Particular Models

In order to obtain particular models, we must specify the constants $\tilde{C}_{2l}$ of the general model. So, we will adjust these constants in such a way that the circular velocity $v_c^2(\tilde{R})$ fits with the data of the rotation curve of some particular galaxy. As expression (33) for the circular velocity only involves derivatives of the Legendre polynomials of even order, it can be written as the rotation law (González, Plata-Plata and Ramos-Caro, 2010)

$$v_c^2(\tilde{R}) = \sum_{l=1}^m A_{2l} \tilde{R}^{2l}, \quad (37)$$

where the A_{2l} constants are related with the previous constants $\tilde{C}_{2l}$, for $l \neq 0$, through the relation

$$\tilde{C}_{2l} = \frac{4l+1}{4l(2l+1)} \sum_{k=1}^m A_{2k} I_{kl}, \quad (38)$$

where

$$I_{kl} = \int_{-1}^1 \eta (1 - \eta^2)^k P'_{2l}(\eta) d\eta, \quad (39)$$

which is obtained by equating expressions (33) and (37) and by using the orthogonality properties of the associated Legendre functions (Arfken and Weber, 2005).

Then, if the constants A_{2l} are determined by a fitting of the observational data of the corresponding rotation curve, the corresponding values of the coefficients $\tilde{C}_{2l}$ can be determined by means of relation (38), obtaining then a particular case of (36) corresponding to a specific galaxy model, which can be written in terms of the constants A_{2l} as

$$\frac{M_d G}{a} + \frac{M_h G}{4a} = \sum_{k,l=1}^m \frac{(-1)^{l+1} (4l+1) A_{2k} I_{kl}}{4l(2l+1) q_{2l}(0)} - 42 B_{42}. \quad (40)$$

However, this relation does not determine completely the values of M_d and M_h , but only gives a linear relationship between them. So, in order to restrict the allowed values of these masses, it is needed to analyse the behaviour of some other quantities characterizing the kinematics of the model. These features are the epicycle or radial frequency, $\kappa^2(R)$, and the vertical frequency, $v^2(R)$, which describe the stability against radial and vertical perturbations of particles in quasi-circular orbits (Binney and Tremaine, 2008). These frequencies, which must be positive in order to have stable circular orbits, are defined as

$$\kappa^2(R) = \frac{\partial^2 \Phi_{\text{eff}}}{\partial R^2} \Big|_{z=0}, \quad (41)$$

$$v^2(R) = \frac{\partial^2 \Phi_{\text{eff}}}{\partial z^2} \Big|_{z=0}, \quad (42)$$

where

$$\Phi_{\text{eff}} = \Phi(R, z) + \frac{\ell^2}{2R^2}, \quad (43)$$

is the effective potential and $\ell = Rv_c$ is the specific axial angular momentum. Then, by using expression (6) for the circular velocity, we can write the above expressions as

$$\kappa^2(R) = \frac{1}{R} \frac{dv_c^2}{dR} + \frac{2v_c^2}{R^2}, \quad (44)$$

$$v^2(R) = \nabla^2 \Phi \Big|_{z=0} - \frac{1}{R} \frac{dv_c^2}{dR}, \quad (45)$$

where we also used the expression for the Laplace operator in cylindrical coordinates.

Now, by using (37), the epicycle frequency can be cast as

$$\tilde{\kappa}^2(\tilde{R}) = \sum_{l=1}^m 2(l+1) A_{2l} \tilde{R}^{2l-2}, \quad (46)$$

where $\tilde{\kappa} = a\kappa$. It is easy to notice that the above expression is completely determined by the set of constants A_{2l} , which are fixed by the numerical fit of the rotation curve data, such that it is not possible to find a relation between the disc and halo masses that can be adjusted by requiring radial stability. On the other hand, by using the Poisson equation (5), the expression (28) for the halo density and the expression (37) for the circular velocity, we find that the vertical frequency can be written as

$$\tilde{v}^2(\tilde{R}) = f_v(M_h, B_{42}, \tilde{R}) - f_l(\tilde{R}), \quad (47)$$

where $\tilde{v} = av$,

$$f_v(M_h, B_{42}, \tilde{R}) = \frac{9\pi G M_h}{8a} + 567 \pi B_{42} - \frac{1575\pi}{2} B_{42} \tilde{R}^2, \quad (48)$$

and

$$f_l(\tilde{R}) = \sum_{l=1}^m 2l A_{2l} \tilde{R}^{2l-2}. \quad (49)$$

Thus, as $\tilde{v}^2$ must be positive everywhere at the interval $0 \leq \tilde{R} \leq 1$ in order to have vertically stable models, it must satisfy that

$$f_v(M_h, B_{42}, \tilde{R}) \geq f_l(\tilde{R}), \quad (50)$$

which give us a range for M_h y B_{42} such that $\tilde{v}^2 \geq 0$.

Now, we also need to consider the behavior of the surface mass density, which by using the condition (17) and replacing (34a) and (34b) in (15), can be written as

$$\Sigma(\tilde{R}) = \frac{\sqrt{1 - \tilde{R}^2}}{2\pi a G} \left\{ f_2(\tilde{R}) - f_d(M_h, B_{42}, \tilde{R}) \right\}, \quad (51)$$

Where

$$f_2(\tilde{R}) = \sum_{l=1}^m \frac{\tilde{C}_{2l}(2l+1)}{\sqrt{1 - \tilde{R}^2}} \frac{q_{2l+1}(0)}{q_{2l}(0)} \left[\frac{P_{2l}(\eta) - P_{2l}(0)}{\eta} \right], \quad (52)$$

and

$$f_d(M_h, B_{42}, \tilde{R}) = \frac{3M_h G}{4a} + 238B_{42} - 280B_{42}\tilde{R}^2. \quad (53)$$

So, in order for the surface mass density to be positive in the interval $0 \leq \tilde{R} \leq 1$, it must be met that

$$f_2(\tilde{R}) \geq f_d(M_h, B_{42}, \tilde{R}). \quad (54)$$

The relation (54) give us another range of values, not necessarily equal to the relation (50), for which we obtain a surface density mass with a acceptable behavior. Then, in order that the model make sense, we must verify that it meets the relation

$$f_V(M_h, B_{42}, \tilde{R}) \geq f_1(\tilde{R}) \cap f_2(\tilde{R}) \geq f_d(M_h, B_{42}, \tilde{R}), \quad (55)$$

which should be checked for every set of constants corresponding to any particular model.

Adjusting Data to Models

In order to illustrate the above model to the real observed data, we have taken a sample of spiral galaxies of the Ursa Major cluster. We pick the corresponding data out from Table 4 of the paper by **Verheijen and Sancisi** (2001), which presents the results of an extensive 21 cm-line synthesis imaging survey of 41 galaxies in the nearby of the Ursa Major cluster using the Westerbork Synthesis Radio Telescope. The mean distance between this telescope and the cluster is 18.6 Mpc. At this distance, 1 arcmin corresponds to 5.4 kpc.

For each rotation curve data, we take as the value of a , the value given by the last tabulated radius, i.e. we are assuming that the radius of each galaxy is defined by its corresponding last observed value. Although this assumption about the galactic radius do not agrees with the accepted standard about the edge of the stellar disc (**Binney and Merrifield**, 1998), we will make it since we are assuming that all the stars moving in circular orbits at the galactic plane are inside the disc and that there are no stars moving outside the disc. Thereafter we take the radii normalized in units of a to fit the rotation curve of every galaxy by mean of the model (37).

The fits are made through a non-linear least squares fitting using the Levenberg-Marquardt algorithm, implemented internally by ROOT version 5.28 (**Brun and Rademakers**, 1997), which minimizes the weighted sum of squares of deviations between the fit and the data. We assigned weights to the data points inversely proportional to the square of their errors. These errors corresponding to $2v\Delta v$ being Δv the galaxy velocity measurement error. For each galaxy, initially we look for all the possible fits starting at $m = 1$ up to $m = N - 1$, with N the number of measured

data pairs (R, v^2) , hence we find a value for m such that we get the minimum reduced chi square χ_r^2 (the best fit). Now we can discard the galaxies that do not pass the reduced chi squared test with a confidence level of 95% (**Bevington and Keith**, 2003).

The $\tilde{C}_{2l}$ constants are calculated by using the relations (19), (35) and (38). Therefore, by using this set of constants in (49) and (52) we find for each galaxy the functions f_1 and f_2 . Finally, through a routine made in Mathematica 8.0., we check for each galaxy of the sample the validity of the condition (55). However, when we check the consistency of the adjust, we found that only the fit of the data for the galaxies NGC4389 and UGC6969 it agrees with these conditions, whereas that for all the other galaxies we found that the solution interval for M_h and B_{42} , given by (55), is empty.

In Table 1 we present the values of the constants A_{2l} , in units of $10^6 m^2 s^{-2}$, obtained by the numerical adjust with the rotation curve data for galaxies NGC4389 and UGC6969. With this values for the constants, we obtain, from (40), for the galaxy NGC4389 the relationship

$$M_h + 4 M_d = 5.72442 \times 10^{40} - 4.2641 \times 10^{32} B_{42}, \quad (56)$$

and for the galaxy UGC6969 the relationship

$$M_h + 4 M_d = 2.42036 \times 10^{40} - 3.56507 \times 10^{32} B_{42}, \quad (57)$$

where all the quantities are in kg .

In Figure 1, we present the region that represent the solution interval of the condition (55) for the galaxies NGC4389 and UGC6969. This region represent the values that the halo mass and the coefficient B_{42} can take, in order to obtain galaxy models with a vertical frequency always positive and with a surface density that has a maximum value at the disc centre and then decreases as $\tilde{R}$ increases, vanishing at the disc edge.

In Table 2 we present, based on the values obtained by the condition (55) and plotted in the Figure 1, the minimum and maximum values for the halo mass of each galaxy and the disc mass calculated from the relations (56) and (57), in units of $10^{10} M_\odot$, whereas in Table 3 we present the respective values of the coefficient B_{42} , in units of $10^6 m^2 s^{-2}$.

In Figure 2, we show the adjusted rotation curve for these two galaxies. The points with error bars are the observations as reported in **Verheijen and Sancisi** (2001), while the solid line are the circular velocity determined from (37) and the A_{2l} parameters given by the best fit. As we can see, for the two galaxies we get a fairly accurate numerical adjustment with the observational rotation curve.

Table 1. Constants A_{2l} in units of $10^6 m^2 s^{-2}$

	NGC4389	UGC6969
A2	30087.0 ± 2489.3	16387.4 ± 3322.3
A4	-57552.0 ± 16144.7	-46813.5 ± 22369.7
A6	67317.2 ± 30484.7	71401.6 ± 43160.4
A8	-27760.5 ± 16936.1	-34747.1 ± 24192.1

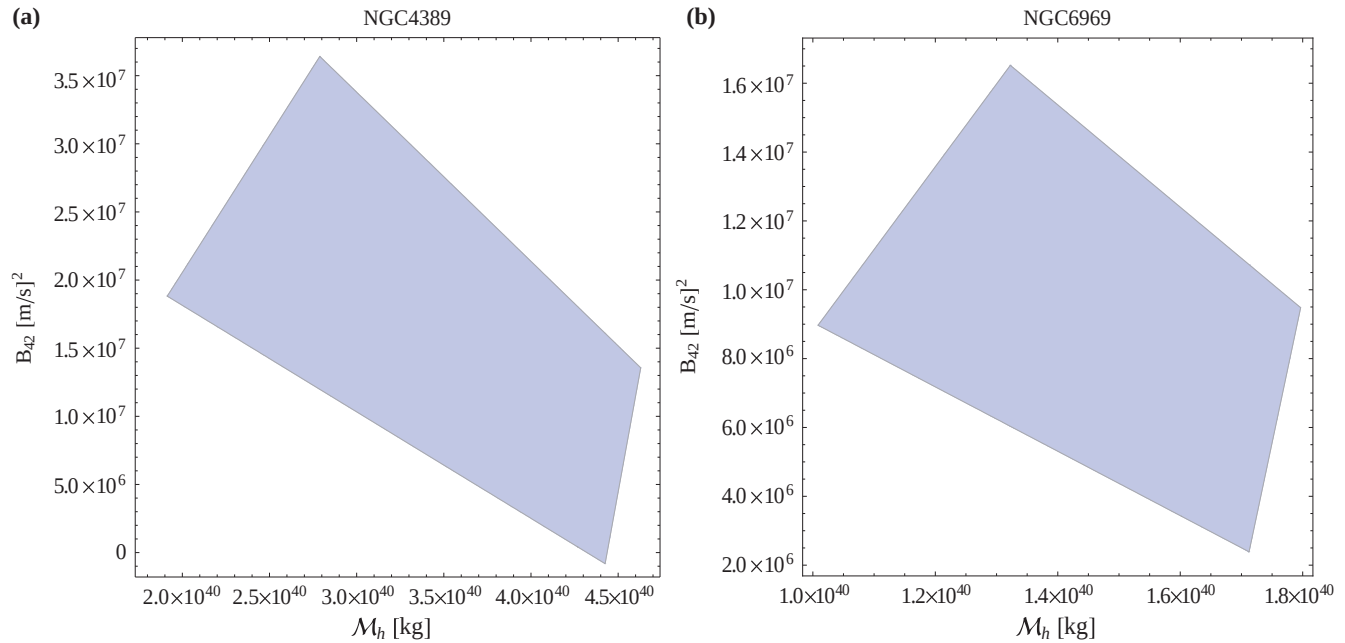


Figure 1. Solution interval of the condition (55). In (a) we show the interval of parameters M_h and B_{42} for the galaxy NGC4389. In (b) we show the interval of parameters M_h and B_{42} for the galaxy UGC6969.

Table 2. M_h and M_d in units of $10^{10}M_\odot$.

	NGC4389		NGC6969	
	min	max	min	max
M_h	0.962	2.327	0.507	0.903
M_d	0.065	0.378	0.036	0.137

Table 3. Coefficient B_{42} in units of $10^6 m^2 s^{-2}$.

	NGC4389		NGC6969	
	min	max	min	max
B_{42}	18.82	13.56	8.97	9.48

In figure 3 we show the epicycle frequency for the two galaxies. It is easy to see that this quantity is always positive, which means that the galaxies are stable against radial perturbations. In figure 4 we present the vertical frequency for the two models. For the two galaxies, the solid line represent the vertical frequency by taking the minimum value for the halo mass, whereas the dashed line represent the vertical frequency by using the maximum value for the halo mass. As can be notice in the figure, for the two galaxies the vertical frequency is positive over the entire range of $\tilde{R}$, so the models are stable against vertical perturbations. It is easy to verify that for any other value of the halo mass and the corresponding parameter B_{42} , as determined from figure 1, the vertical frequency remains positive in all range $\tilde{R}$.

In Figure 5 we present the corresponding plots of the surface mass density for the two galaxies. As in the previous case, for both galaxies the solid line represents the behavior

of the surface mass density by taking the minimum value for the halo mass, while the dashed line is the surface mass density for the maximum value of the halo mass. The behavior of this quantity is similar for both galaxies, i.e. the surface mass has a maximum value at the disc centre and then decreases as $\tilde{R}$ increases, vanishing at the disc edge.

Finally, from (28), in figure 6 we show the contours of the halo density distribution for the galaxy NGC4389. In plot (a), the contours are drawn using the minimum value for the halo mass, while in plot (b) we present the contours using the maximum value for the halo mass. Similarly, in figure 7 we show the same quantities, but for the galaxy UGC6969. In both cases, the density profiles are positive and do not have discontinuities in all range $\tilde{R}$, z , taking a maximum value at center and smoothly decreasing to zero when $\tilde{R} \rightarrow \infty$.

Concluding Remarks

We have presented a family of analytical potentials for flat galaxies with spheroidal halos characterised by a linear relationship between the halo mass and the disc mass. The models are stable against radial and vertical perturbations, and their circular velocities can be adjusted very accurately to the observed rotation curves of some specific galaxies. The here presented models are a generalisation of the models presented in **González, Plata-Plata and Ramos-Caro** (2010), where only models with a thin galactic disc are considered. The generalisation was obtained by adding to the gravitational potential of the thin disc the gravitational potential corresponding to a spheroidal halo, in such a way that we have solved the problem of vertical unstability presented by the previous models.

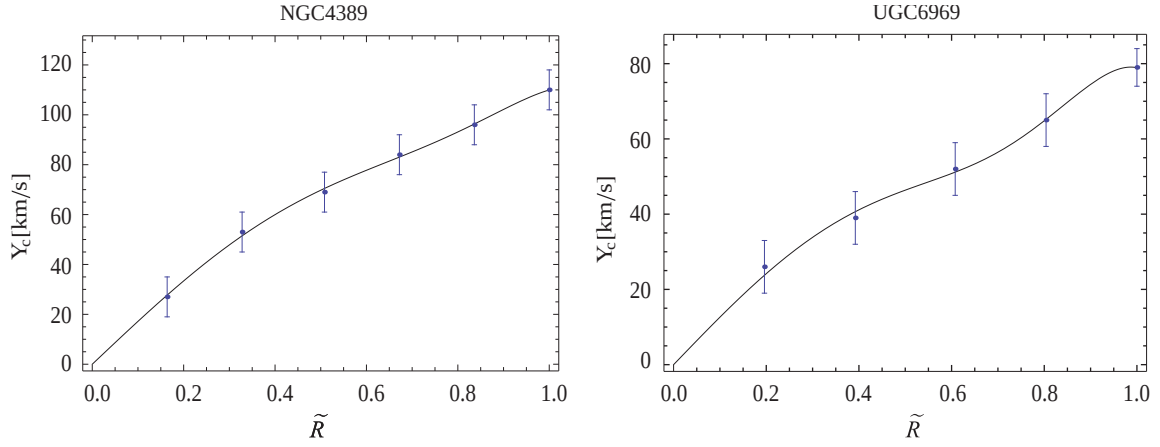


Figure 2. Circular velocity v_c , as a function of the dimensionless radial coordinate $\tilde{R}$, for the galaxies NGC4389 and UGC6969. Error bars represent the observed data by **Verheijen and Sancisi (2001)**, while the solid line are the circular velocity determined from (37), and the A_{2i} parameters given by the best fit.

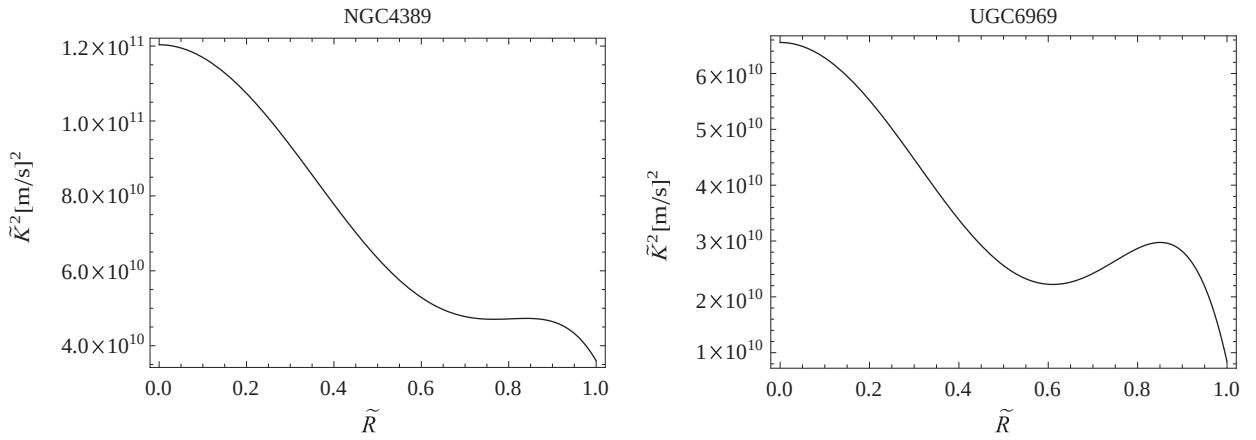


Figure 3. Epicycle frequency $\tilde{\kappa}^2 \times 10^{-3}$ in $(\text{km/s})^2$, as a function of the dimensionless radial coordinate $\tilde{R}$, for the galaxies NGC4389 and UGC6969.

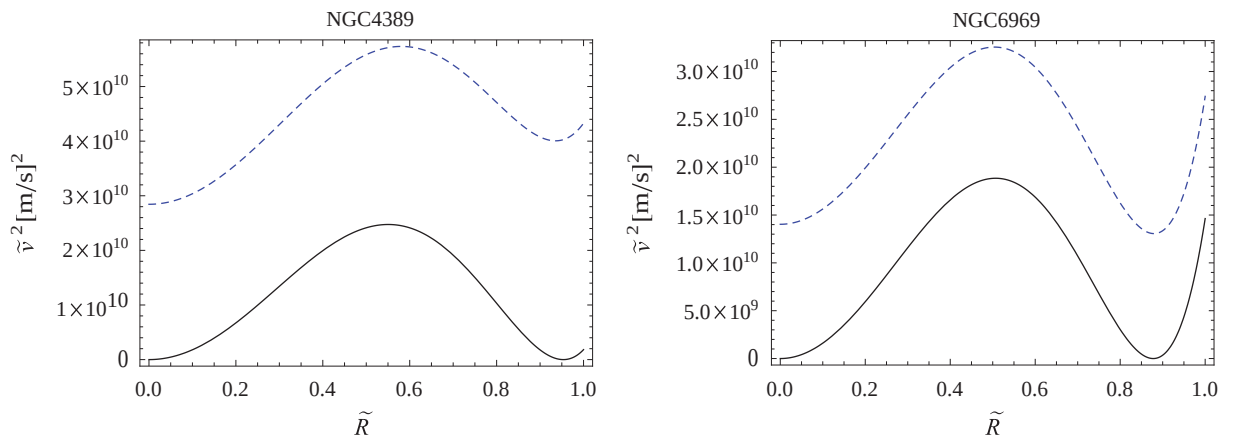


Figure 4. Vertical frequency $\tilde{\nu}^2 \times 10^{-3}$ in $(\text{km/s})^2$, as a function of the dimensionless radial coordinate $\tilde{R}$, for the galaxies NGC4389 and UGC6969. The solid line represents the vertical frequency by taking the minimum value for the halo mass, whereas the dashed line represents the vertical frequency by using the maximum value for the halo mass.

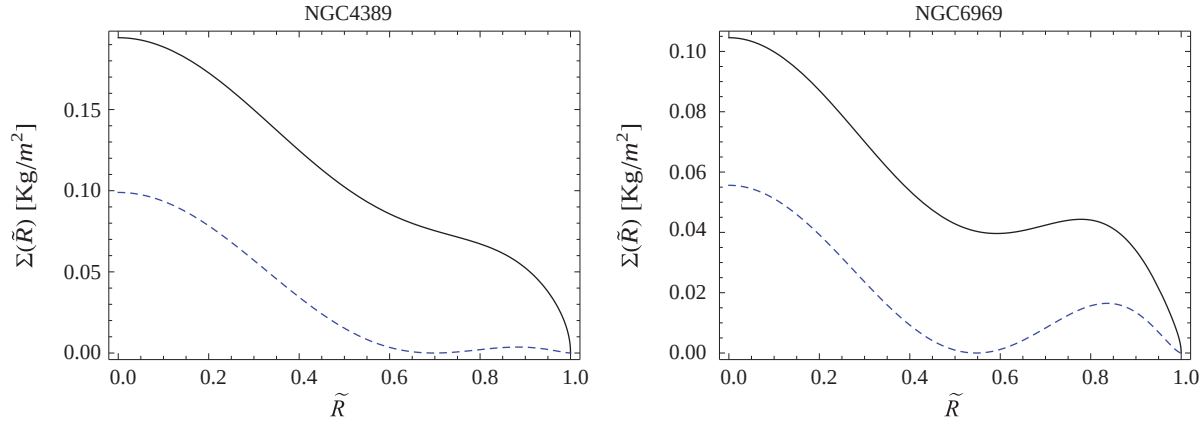


Figure 5. Surface mass density $\Sigma \times 10^{-2}$ in (kg/m^2), as a function of the dimensionless radial coordinate $\tilde{R}$, for the galaxies NGC4389 and UGC6969. The solid line represents the surface mass density by taking the minimum value for the halo mass, whereas the dashed line represents the surface mass density by using the maximum value for the halo mass.

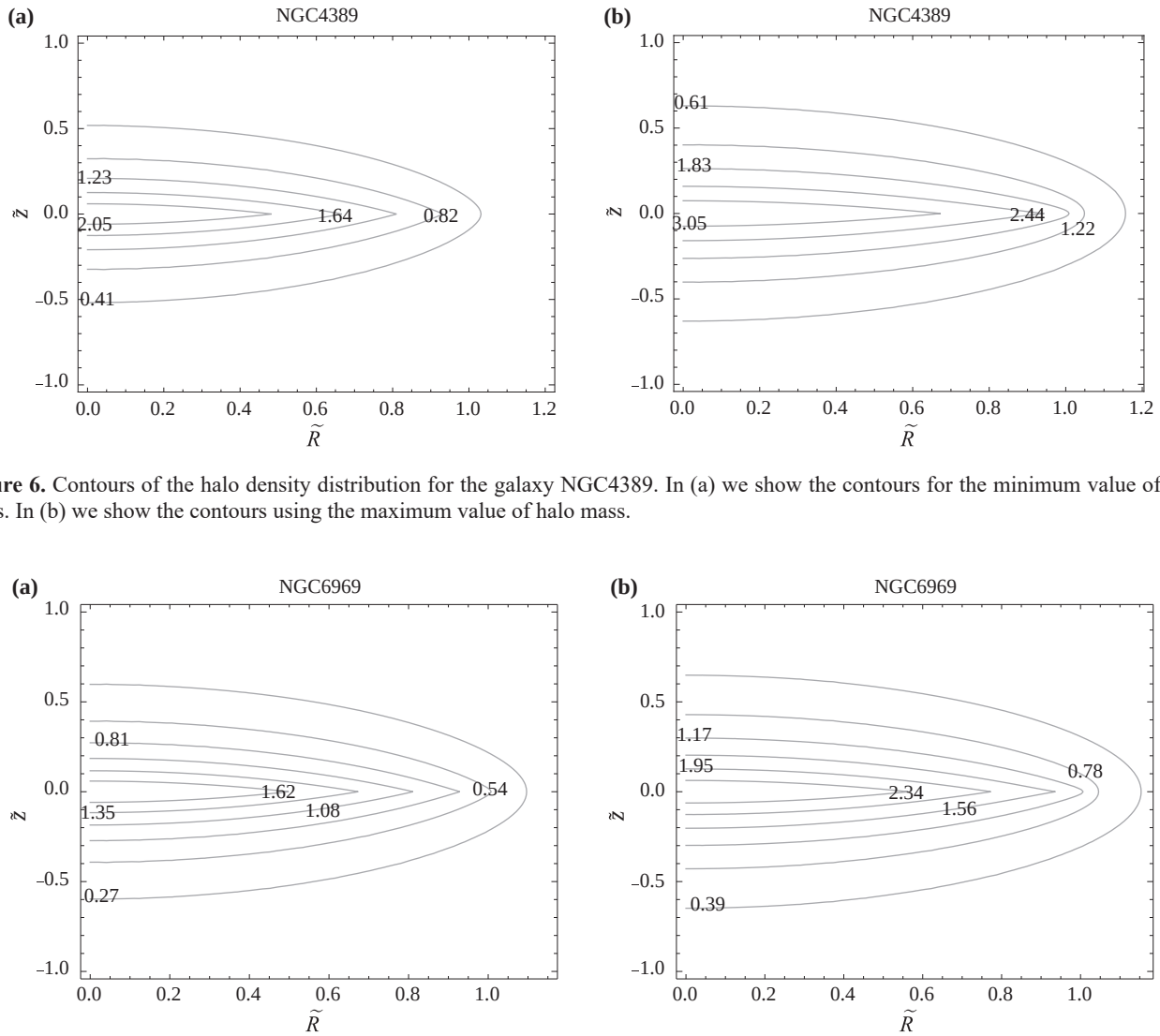


Figure 6. Contours of the halo density distribution for the galaxy NGC4389. In (a) we show the contours for the minimum value of halo mass. In (b) we show the contours using the maximum value of halo mass.

Figure 7. Contours of the halo density distribution for the galaxy UGC6969. In (a) we show the contours for the minimum value of halo mass. In (b) we show the contours using the maximum value of halo mass.

Two particular models were obtained by a numerical fit of the general expression (37) for the circular velocity with the observed data of the rotation curve of galaxies NGC4389 and UGC6969. For these two galaxies we have obtained a fairly accurate numerical adjustment with the rotation curve and, from the constants A_{2l} obtained with the numerical fit, we compute the values of the halo mass, the disc mass and the total mass for these two galaxies in such a way that we obtain a very narrow interval of values for these quantities. Furthermore, the values of masses here obtained are in agreement with the expected order of magnitude, between about 10^8 and $10^{12} M_{\odot}$, and with the relative order of magnitude between the halo mass and the disc mass, $M_d/M_h \approx 0.1$, (Ashman, 1990). Accordingly, we believe that the values of mass obtained for the two studied galaxies may be taken as a very accurate estimate of the upper and lower bounds for the mass of the galactic disc and for the mass of the spheroidal halo in these two galaxies. Additionally, the density profiles obtained satisfy several conditions which are necessary to describe real galactic systems, i.e. they are positive and not have discontinuities in all range $\tilde{R}$, z , taking a maximum value at center and smoothly decreasing its value to zero when $\tilde{R} \rightarrow \infty$.

However, although we tested the applicability of the present model with all the galaxies reported by Verheijen and Sancisi (2001), consistent models were obtained only for the two galaxies NGC4389 and UGC6969, whereas for all the other galaxies were obtained models with values of the halo mass such that the condition (55) is not satisfied. Now, it can be considered that this result occurs as a consequence of the simple halo model that we have taken here. Indeed, as we can see from expressions (26) and (27), only one term of the gravitational potential of the halo contributes to their density, what leaves only one free constant to be determined in order to fit the model to the imposed consistency conditions. This constant is precisely the mass of the halo, M_h , which is determined by requiring the positiveness of the vertical frequency and the surface mass density. On the other hand, if we consider additional terms in expression (27) for the halo potential, we will have new free parameters that perhaps allow to better adjust the model to properly describe the behavior of other galaxies besides the two considered here.

In agreement with the above considerations, we can consider the simple set of models here presented as a fairly good approximation to obtaining quite realistic models of galaxies. In particular, we believe that the values of mass obtained for the two galaxies here studied may be taken as a very accurate estimate of the upper and lower bounds for the mass of the galactic disc and for the mass of the spheroidal halo in these two galaxies. Accordingly, we are now working on a more involved model, obtained by including additional terms in expression (27) for the halo potential, in order to get some particular models that can be properly adjusted with the observed data of the rotation curve of some other galaxies besides the two here considered.

Acknowledgments

The authors were supported in part by VIE-UIS, under grant number 1838, and COLCIENCIAS, Colombia, under grant number 8840. JIR wants to thank the support from Vicerrectoría Académica, Universidad Santo Tomás, Bucaramanga.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Arfken, G. and Weber, H. (2005). *Mathematical Methods for Physicists*. 6th ed. Academic Press.
- Ashman, K. M. (1990). The origin of mass, disk-to-halo mass ratio and L-V relation of spiral galaxies. *Astrophys. J.*, 359, 15.
- Bateman, H. (1944). *Partial Differential Equations*. Dover.
- Bevington, P. and Keith, D. (2003). *Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences*. 3rd Ed., Mc Graw Hill.
- Binney, J. and Merrifield, M. (1998). *Galactic Astronomy*. Princeton University Press.
- Binney, J. and Tremaine, S. (2008). *Galactic Dynamics*. 2nd ed. Princeton University Press.
- Brun, R. and Rademakers, F. (1997). ROOT - An object oriented data analysis framework. *Nucl. Instrum. Meth. in Phys. Res. A*, 389, 81.
- González, G. A., Plata-Plata, S. and Ramos-Caro, J. (2010). Finite thin disk models of four galaxies in the Ursa Major cluster: NGC3877, NGC3917, NGC3949 and NGC4010. *MNRAS*, 404, 468.
- González, G. A. and Reina, J. I. (2006). An infinite family of generalized Kalnajs disks. *MNRAS*, 371, 1873.
- Faber, T. (2006). *Galactic halos and gravastars: static spherically symmetric spacetimes in modern general relativity and astrophysics*, M. Sc. Thesis in Applied Mathematics, Victoria University of Wellington.
- Hunter, C. (1963). The structure and stability of self-gravitating disks. *MNRAS*, 126, 299.
- Kalnajs, A. J. (1972). The equilibria and oscillations of a family of uniformly rotating stellar disks. *Astrophys. J.*, 175, 63.
- Lamb, H. (1945). *Hydrodynamics*. Dover.
- Morse, P. M. and Feshbach, H. (1953). *Methods of Theoretical Physics*, Mc Graw Hill.
- Pedraza J. F., Ramos-Caro J. and González G. A. (2008). An infinite family of self-consistent models for axisymmetric flat galaxies. *MNRAS*, 390, 1587.
- Pierens, A. and Hure, J. (2004). Rotation curves of galactic disks for arbitrary surface density profiles: a simple and efficient recipe. *Astrophys. J.*, 605, 179.
- Ramos-Caro J., López-Suspez F. and González G. A. (2008). Chaotic and Regular Motion Around Generalized Kalnajs disks. *MNRAS*, 386, 440.
- Schödel, R. et al. (2002). A star in a 15.2-year orbit around the supermassive black hole at the centre of the Milky Way. *Nature*, 419, 694.
- Verheijen, M. A.W. and Sancisi, R. (2001). The Ursa Major cluster of galaxies. IV. HI synthesis observations. *Astron. Astrophys.*, 370, 765.

Study and characterization of the micellar phase of the polyethylene glycol 40 stearate, water, and soy lecithin system

Mercedes Díaz-Lagos¹, Gemma Montalvo-García², Mercedes Valiente-Martínez², Segundo Agustín Martínez-Ovalle^{3,*}

¹Grupo de Ingeniería Geológica, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Sogamoso, Colombia

²Department of Analytical Chemistry, Physical Chemistry, and Chemical Engineering, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Spain

³Grupo de Física Nuclear Aplicada y Simulación, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia

Abstract

Hydrophobically modified polymers (HMPs) have become of great importance as modifiers of rheological behavior, and as thickening agents for a great variety of products such as paints, foods, cosmetics, and medicines. HMPs are able to dissolve hydrophobic and hydrophilic molecules, just like surfactants. This means that HMPs combine the properties of surfactants and polymers. In this paper, the ability of HMPs to self-aggregate in water and in the presence of soy lecithin (a natural lipid which behaves as a dipolar surfactant) was studied. The characterization of the micellar phase of the soy lecithin/polyethylene glycol 40 stearate (Acid S40P, nonionic)/water ternary system is presented by way of surface tension, optic microscope, and rheology methods. From the results, it is deduced that non-spherical micellar aggregates are formed, which orient in the direction of the flow under shear stress. Oscillation tests allowed for the determination that the viscous modulus G'' is greater than the elastic modulus G' , with behavior described by the Maxwell model. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Lipids; Soy lecithin; Hydrophobically modified polymers; Surface tension; Optic microscope; Rheology.

Estudio y caracterización de la fase micelar del sistema formado a partir del polietilenglicol 40 estearato, agua y lecitina de soja

Resumen

Los polímeros hidrofóbicamente modificados (PHM) han adquirido una gran importancia como modificadores de comportamiento reológico, agentes espesantes en una gran variedad de productos como son pinturas, alimentos, cosmética o medicamentos. Estos polímeros PHM tiene la capacidad de solubilizar moléculas hidrofóbicas al igual que los tensioactivos. Es decir, los PHM combinan las propiedades de los tensioactivos y de los polímeros. En este trabajo en general se estudiará la capacidad de los PHM de autoagregarse y comportarse como tensioactivos. Se presenta el estudio de la fase micelar del sistema ternario lecitina de soja (lípidos naturales que se comporta como tensioactivo doblemente iónico)/ polietilenglicol 40 estearato (Acid S40P, no iónico)/agua. La caracterización se realiza mediante los métodos de tensión superficial, microscopía óptica y reología. De los resultados se deduce que se forman agregados micelares no esféricos que se orientan en la dirección del flujo bajo los esfuerzos de cizalla. Los ensayos de oscilación permitieron determinar que el módulo viscoso G'' es superior al elástico G' , con un comportamiento descrito por el modelo de Maxwell de un elemento. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Lípidos; Lecitina de soja; Polímeros hidrofóbicamente modificados; Polietilenglicol 40 estearato; Reología.

Introduction

The interaction between surfactants and polymers in solutions has received much attention due to the numerous applications ranging from pure science to everyday life and industry (e.g. pharmaceuticals, biomedical applications, detergents, oil recovery, paints, foods, and mineral processing) (Goddard & Ananthapadmanaban, 1993; Kwak, 1998; Jonsson, *et al.*, 1998).

Amphiphilic molecules such as lipids or surfactants spontaneously form a great variety of stable structures with their corresponding properties. The control of said supramolecular structures at a microscopic level, adjusting for

the different intermolecular interactions that are responsible for their arrangement, leads to a broad range of different microscopic properties of the material. This is particularly important for the application of multifunctional devices, but requires a complete understanding of the transformation mechanisms of the structures involved in order to take complete advantage of their nature to create a variety of new functional materials (Koyanova & Tenchov, 2001).

*Corresponding author:

Segundo Agustín Martínez-Ovalle, s.agustin.martinez@gmail.com

Recibido: 04 de abril de 2016

Aceptado: 20 de mayo de 2016

In aqueous solutions, amphiphilic molecules form micelles. These are generally spherical structures where the polar groups are on the surface and the non-polar parts remain immersed on the inner side of the micelle. In non-polar structures, reverse micelles are formed, with their hydro-phobic groups on the exterior. Polymeric micelles are formed by chains of polymers made up of hydrophilic and hydrophobic parts separated in blocks. Surfactants have the ability to modify the surface tension of the solutions to which they are added, and at a certain concentration they begin to form molecular aggregates known as micelles. The formation of micellar aggregates begins to occur at the critical micelle concentration, or CMC, whose value can be determined using surface tension measurements. The critical micelle concentration (CMC) is the concentration at which micelles begin to form, and it is a characteristic of every amphiphilic system. The lower the CMC, the more stable the micelles are at lower concentrations of amphiphiles in the medium. For double-chain lipids and amphiphilic molecules, the formation of lamellar phases (bilayers of surfactants separated by layers of water) is preferred to micelles. They can have an open and extended bilayer structure, or enclosed bilayers forming vesicles or liposomes.

Polyethylene glycol (PEG) is a frequently used polymer, as it is highly soluble and a good stearic protector of micro-particles in biological media due to its biocompatibility. In many cases, PEG is modified by grafting hydrophobic molecules of cosmetic or pharmaceutical interest (such as certain antibiotics) to its polymer chain, which also facilitate the formation of micelles (Torchelin, 2002). Although composites derived from PEG are widely used in mixtures with lipids, the nature of the interactions between the lipids and polymers are unknown, and in some cases present contradictory results. Through previous research, it is known that the presence of polyethylene glycol of different molecular weights (PEG-6000 or PEG-2000) does not significantly affect the interactions between water molecules and the choline groups of lecithin (Khan, *et al.*, 1994). Nevertheless, other authors suggest that the presence of PEG-8000 induces the dehydration of the polar head of the phospholipids due to changes in the size and shape of the phospholipid vesicles (Bartucci, *et al.*, 1996). When PEG is grafted onto the phospholipid chains, it results in improved stability of the liposomes that are formed (Nikolova & Jones, 1998).

Polyethylene glycol 40 stearate (PEG 40 monostearate) is considered a nonionic surfactant and emulsifier for cosmetic formulations of the oil-in-water emulsion type, with a hydrophilic-lipophilic balance (HLB) of 16.9. It has also been used as a cosurfactant in solid lipid nanoparticles (Torchelin, 2002; Khan, *et al.*, 1994; Bartucci, *et al.*, 1996). Soy lecithin is also a phospholipid that is dipolar in nature (zwitterionic) and comes from natural sources. It is biodegradable, and does not present problems from a toxicology standpoint. For this reason, the system formed

by both of these components is also environmentally friendly. This is of great interest for applications in the administration of pharmaceuticals (Torchelin, 2002; Khan, *et al.*, 1994; Bartucci, *et al.*, 1996). The advantages of using a derivative of polyethylene glycol (PEG), with its high hydrophilic nature, is that it is biologically inert and does not affect the other parts of the body (Nikolova & Jones, 1998), though few studies have been conducted regarding the effects of PEG stearate in lipid formulations (Li, *et al.*, 2008; Xia, *et al.*, 2008; Xia, *et al.*, 2009; Naumann, *et al.*, 2001).

For these reasons, this paper centered on the rheological phase study of the micellar phase of the ternary soy lecithin/PEG 40 stearate/water system. Firstly, the binary PEG 40 monostearate/water system was characterized for the determination of the critical micelle concentration (CMC) and of its viscoelastic properties using rheology. The viscoelastic characterization of this system is of great interest, as the industrial process for manufacturing commercial products with these components implies the application of shear stress. The following observations were noted: the aggregation or phase behavior of the ternary system in the area of interest at lecithin contents of less than 20% by weight, and the viscoelastic behavior of the micellar phase, which is the only single-phased region that was formed in the area under study.

Materials and methods

Preparation of samples. The soy lecithin (Epikuron 200) was obtained from Degussa and was used without further purification. This lecithin is a mixture of phosphatidylcholines with fatty acid chains of varying lengths and degrees of unsaturation. The main component is linoleic acid, which has 18 carbons. The PEG 40 monostearate, known commercially as TEGO or Acid S40P (referred to hereinafter as S40P), was purchased from Goldschmidt GmbH of Essen, Germany. Its chemical structure ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{CO-(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_{40}\text{-OH}$) shows that it is a hydrophobically modified PEG polymer and that it has surfactant properties due to a hydrophobic tail of 17 carbons (stearate) and a large hydrophilic head of 40 groups of poly(oxyethylene). The presence of groups not containing ethylene oxide was negligible.

All of the samples were prepared in deionized water and all of the appropriate quantities of each component were weighed in small flasks with screw caps. The system was homogenized using a Heidolph Reax 2000 test tube shaker. When a sample did not mix well at room temperature, it was gently heated to a temperature of no more than 60 °C to aid solubilization. Once the samples were ready, they were stored in a water bath at $30.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ for the time necessary so that no changes in their appearance. Once thermodynamic equilibrium was reached at the desired temperature, the samples were visually analyzed. The presence of foam, precipitate, color, turbidity,

transparency, homogeneity, or any other characteristic that presented itself was addressed. The optical birefringence was observed using crossed polarizers.

Surface Tension. The surface tension of the aqueous solutions of various concentrations of S40P was measured with a LAUDA TE-1C Tensiometer using the ring method. All measurements were carried out at 30.0 ± 0.1 °C, and each experiment was repeated multiple times, obtaining good reproducibility.

The surface excess concentration (Γ_2) was estimated using the Gibbs adsorption isotherm equation (Eq. 1) and the hydrophilic surface area per molecule in the air-water interface using Eq. 2

$$\Gamma_2 = -\frac{1}{RT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln C} \right) \quad (1)$$

$$a = -\frac{10^{20}}{N_A \Gamma_2} \quad (2)$$

R is the ideal gas constant (J/mol·K); T is the temperature in °K; C is the concentration of the surfactant S40P in the solution; γ is the surface tension of the solution in N/m; N_A is Avogadro's number; and is the hydrophilic surface area of the molecule expressed in nm²/molecule.

Optic Microscope. The lamellar phases that form lipids demonstrate optical birefringence. The presence of these types of structures was studied using a Nikon Eclipse 50i optic microscope equipped with crossed polarizers and a Nikon Coolpix 8400 digital camera. These observations were carried out for a minimum of two months, as the state of the aggregation of the sample could have possibly changed in the time needed to reach thermodynamic equilibrium. The micellar samples are isotropic due to the crossed polarizers, and therefore cannot be observed using the polarizing optic microscope.

Rheology. To study the rheological behavior of the prepared systems, rheological experiments using the Carrimed CSL 100 rheometer were scheduled. The flow and the oscillatory behavior were measured using a cone and plate viscometer with a radius of 20 mm and an angle of 4: 0: 31 (deg: min: s). All measurements were made at 30.0 ± 0.1 °C. The temperature was maintained by a Peltier device in contact with a plate. A chamber was used to prevent evaporation of the sample during measurement. All of the results showed good reproducibility in the standard additions and in the oscillatory experiments, as well as in repetitions of the experiments using the same samples.

The flow curves were measured using the application of a series of increasing shear stresses for duration of two minutes spaced logarithmically. The viscosity (η) was calculated by taking the quotient of the shear stress and the shear rate.

The oscillatory experiments were performed under linear viscoelastic conditions, where deformation is independent of the shear stress applied. The angular frequency of oscillation ($\omega = 2\pi f$) was varied from 0.1 a 20 Hz, at constant amplitude of oscillating shear stress. In the analysis of the micellar samples, the Maxwell model was applied (a spring and

a damper connected in series). The dynamic properties of Maxwell materials can be represented by a linear differential equation whose solutions are:

$$G' = \frac{\eta \tau \omega^2}{1 + (\tau \omega)^2} \quad (3)$$

$$G'' = \frac{\eta \omega}{1 + (\tau \omega)^2} \quad (4)$$

ω is the angular frequency and τ is the relaxation time. The storage modulus G' and the loss modulus G'' are the components of the complex modulus G^* (the relaxation of the force amplitude and the deformation amplitude), and are related to the complex viscosity η^* by Eq. 5:

$$\eta^* = \frac{\sqrt{[(G')^2 + (G'')^2]}}{\omega} \quad (5)$$

The Maxwell model predicts that at a high angular velocity, the value of the storage modulus will reach a plateau, while the loss modulus reaches a maximum. The inverse of the frequency at which G' and G'' intersect is the structural relaxation time.

Results and discussion

Determination of the critical micelle concentration (CMC).

The CMC value of the binary Acid S40P/water system was determined to be the point of the sudden change in surface tension by plotting said value as a function of the logarithmic concentration of Acid S40P. In Figure 1, the CMC corresponds to the point of intersection of the regression lines in regions II and III. The CMC value obtained was 5.1×10^{-5} M, reaching a constant surface tension value of around 40 mN/m. Using the slope of the line segment found in region

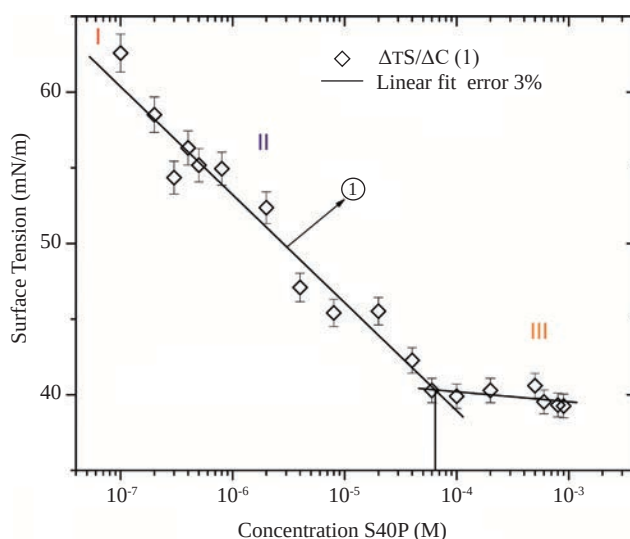


Figure 1. Change in surface tension as a function of the concentration of Acid S40P. The bars in the data indicate the measurement error. Least squares regression lines for regions II and III before and after the critical micelle concentration (the intersection of said regression lines)

two of Figure 1, the excess surface tension was obtained (Γ_2), which was estimated using the equation Gibbs adsorption isotherm equation (Eq. 1), giving a value of $1.24 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2}$. This value corresponds to the hydrophilic surface area per molecule of the air-water interface of 1.4 nm^2 (obtained using Eq. 2). This area per molecule is relatively large, and is consistent with the molecular structure of PEG 40 stearate, which can exert a lot of lateral pressure as a result of its large hydrophilic head with 40 groups of poly (oxyethylene).

Determination of phase behavior. The determination of the phase behavior was studied using two methods. The first of which consisted of the preparation of aqueous solutions with different concentrations of the polymer Acid S40P to observe and establish the solubility of this polymer in water (binary system). We call this system the Acid S40P/water system. The second method involved preparing solutions fixed Acid S40P/lecithin ratios of 1.9, 9, and 20. In this manner, the areas of interest were delineated in the ternary phase diagram for the Acid S40P/lecithin/water diagram.

The determination of the phases present in each sample was performed initially by direct visual observation. Using this method, the number of phases present in each sample vial was determined, as well as the turbidity or transparency and fluidity or isotropic nature of each sample using crossed polarizers. This allowed for the delineation of the areas shown in Figure 2 in magenta, blue, and green.

In the diagram, the magenta area corresponds to the area that is rich in water, where a region of emulsions appears, which are separated into two phases, resulting in a white precipitate on the bottom and an isotropic solution above it. This separation occurred in less than a week, and said area was not studied in detail. The area shown in blue extends across the binary water/Acid S40P axis, and the region of lecithin concentrations of less than 20% by weight. In said area, samples with Acid S40P/Lecithin ratios of 9 and 20 were studied. These concentrations were chosen because they are found within the region that can generate the formation of the micellar phase, as the system has the characteristics of a transparent phase (as seen in Figure 2 in the magnified region) of low viscosity and isotropy.

When the content of Acid S40P and progressively the content of lecithin (green region) increase, there is a macroscopic multi-phase region of dispersions with indeterminate milky liquid yellow appearance, with a macroscopic appearance like that seen in Figure 3a. The sample was observed to be 50% Acid S40P, 33% lecithin, and 17% water by weight using a polarizing microscope (see sample 20 shown in Figure 3a regarding solubilization at an Acid S40P/lecithin ratio of 1.5) This sample was chosen to represent the multi-phase region where New phases may form due to higher contents of lecithin and the tendency of this lipid to form liposomes.

Figure 3b and 3c show the microphotographs taken of the areas indicated by the arrows, which are the homogeneous intermediate and the turbid upper foam zones,

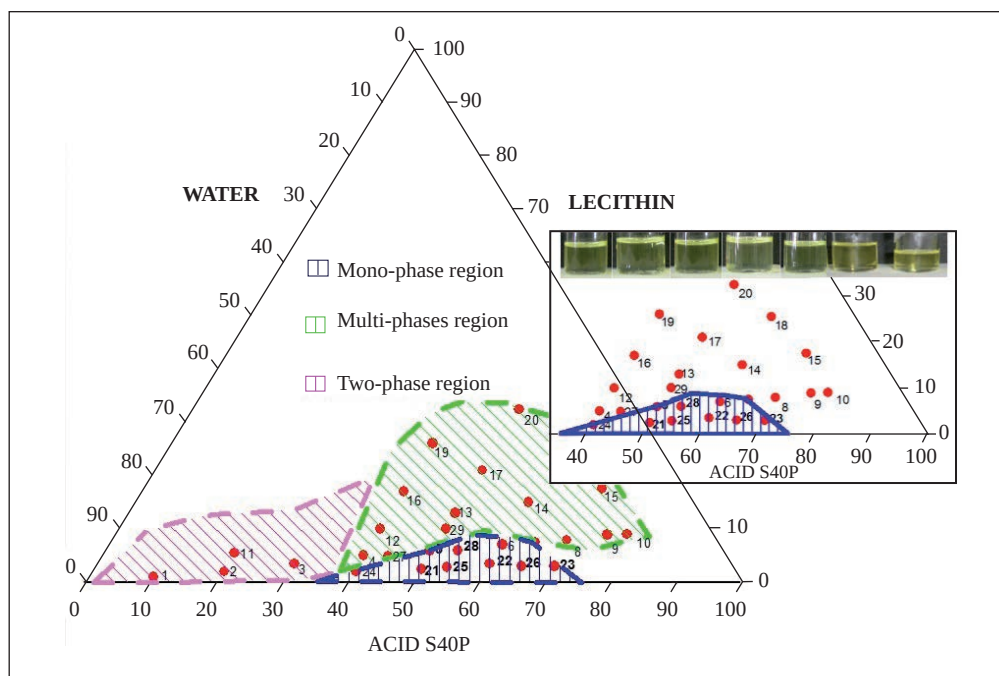


Figure 2. Diagram of the ternary phases of the Acid S40P/lecithin/water system at a $30.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$. The concentrations are shown in percentage by weight (%W). The areas shown in in color were determined using direct visual observation. The red dots indicate samples prepared for study at different degrees of dilution. The blue area in the magnified image corresponds to the single-phase region of the micelles, which was the subject of study.

respectively. The presence of a lamellar phase dispersed in an isotropic phase was confirmed. The Maltese crosses (refer to the area inside the green circle in Figure 3b for details) and the mosaic birefringent areas (see Figure 3c) are distinct characteristics of a lamellar structure (Cox and Merz, 1958). Montalvo, *et al.*, (2013) determined the regions and the various structures that form in the Acid S40P/lecithin/water system, creating a broader range of concentrations in the phase diagram for higher contents of soy lecithin than those presented in this study.

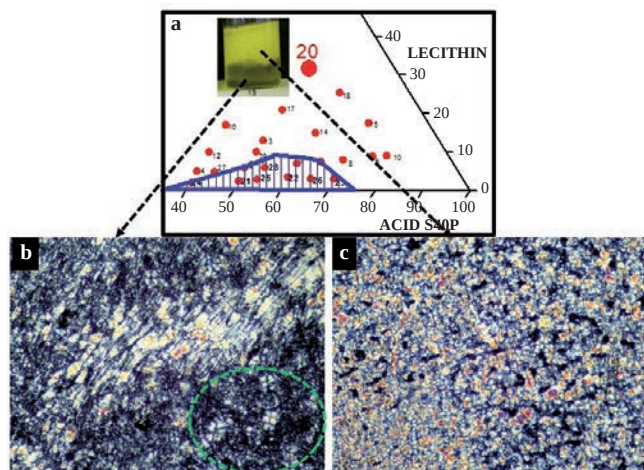


Figure 3. a) Location of sample 20 in the ternary diagram, containing 50% Acid S40P and 33% lecithin, which displays multiple phases separated macroscopically. b) Photograph taken of the intermediate homogeneous phase of sample 20 shown in part a. c) Photograph of the turbid upper foam zone of sample 20 shown in part a. The photographs were taken using an optical microscope with crossed polarizers at a magnification of 10X/0.25.

Determination of viscoelastic behavior. To examine and compare the changes in viscoelasticity, flow tests were performed on the systems that are the subject of this study, namely Acid S40P/water and Acid S40P/lecithin/water. Samples from both systems that presented a stable homogeneous phase were studied. In Figure 4, the curves corresponding to the samples of the binary system Acid S40P/water are shown. In each case, newtonian behavior was present, with viscosity being independent of the gradient of the shear velocity. The viscosity values that were estimated presumably correspond to the micellar aggregates in the aqueous solutions due to the data found regarding the CMC using the surface tension method and due to the display of newtonian behavior. Thus, the existence of aggregates of spherical structure in the aqueous solution is proposed.

To evaluate the effects of the surfactant on viscosity, the viscosity values are presented as a function of the percentage of polymer composition. In Figure 4b, the viscosity at a shear velocity of zero significantly increases as the content of S40P increases, up to a value of 50% by weight. The existence of a maximum can be attributed to the presence of a large number of aggregates and an increase in size. If the micelles are large enough to be highly flexible at the maximum concentration value, viscosity will decrease. The same behavior was found in microemulsions with HM-PEG (Karlsson, *et al.*, 1999) and for micelles in systems with surfactants (Karlsson, *et al.*, 1999; Antunes, *et al.*, 2003; Montalvo, *et al.*, 2003). Continually increasing the surfactant content (Acid S40P) resulted in an abrupt decrease in the viscosity up to a composition of 70% surfactant. The decrease in viscosity as a result of an increase in concentration has been reported in aqueous solutions with end-capped PEG polymers (Cox & Merz, 1958). At a value

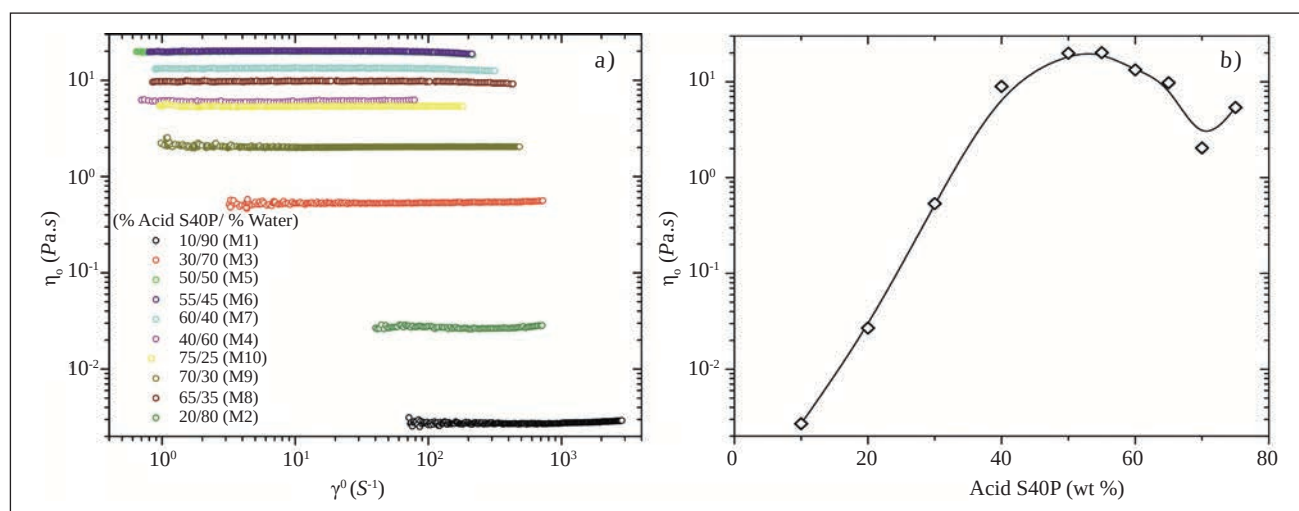


Figure 4. Flow tests of samples that presented a stable and homogeneous phase for the Acid S40P-water system. a) Logarithmic graph of viscosity as a function of shear velocity at 30 °C. Corrections have been made to adjust for inertia; b) Logarithmic graph of the viscosity values as a function of the percent content of Acid S40P at 30 °C for each of the samples. The regression line is for visual reference only. Figure partially modified with permission from Montalvo, *et al.*, (2013).

of 75% surfactant content, viscosity begins to increase once again, probably because this is the limit of the region where turbid multiphase samples form.

The samples in the blue area of Figure 2 corresponding to the single-phase homogeneous and stable system S40P/lecithin/water with Acid S40P/lecithin ratios of 9 and 20 were also studied. In the stipulated conditions of the experiments, the behavior shown in Figure 5a was observed, where samples with a 65% Acid S40P content (sample 26) and a 70% Acid S40P content (sample 23) act as newtonian fluids, while all other samples displayed a pseudoplastic behavior, that is to say, their viscosity is initially constant, but decreases as the gradient of the shear velocity increases.

Regarding the samples with pseudoplastic behavior, the high values of viscosity and the dependency of the viscosity upon the gradient of the shear velocity are indications that the aggregates in the aqueous solution were elongated (Karlson, *et al.*, 1999; Shikata, *et al.*, 1988; Rehage & Hoffmann, 1991; Clausen, *et al.*, 1992). Initially, the constant viscosity value (newtonian regime) is due to the randomly distributed elongated aggregates, but when a shear stress is applied to these aggregates, they tend to orient themselves in the direction of the flow, resulting in a decrease in viscosity. The lower the gradient of the shear velocity produced by the decrease in viscosity, the more flexible the micelles, which can therefore orient themselves more easily.

The samples that displayed newtonian behavior had a high viscosity value when compared to those of the Acid S40P/water system with the same proportion of polymers, and also possessed newtonian characteristics. Although there is no clear evidence of the formation of a cylindrical micelle structure for these systems, it is possible that the

aggregates were already elongated, but were smaller in size, meaning that in order to orient themselves in the direction of the flow they would require higher shear velocities.

Figure 5b shows that as the viscosity (newtonian regime values) increased, it reached a maximum of 50% and then decreased in relation to the Acid S40P/lecithin up until a value of 70%. When comparing these results to those shown in figure 4b, the same behavior is observed. The rise in viscosity can be explained by an increase in the size of the aggregates in the solution and their greater flexibility, corroborated by a lower critical shear velocity value at which the drop in viscosity occurs (Figure 5a). When the surfactant content is above 50%, viscosity decreases (Cortes, *et al.*, 1999). The open dots on the graph have a higher lecithin content than those represented by the closed dots. The different values evidence the interaction of the lecithin with the Acid S40P.

Both moduli G' and G'' increase with the angular frequency predicted using Maxwell model 2 and 1, respectively (see Figure 6b). Although the Maxwell model predicts that at a high angular velocity, the value of the storage modulus will reach a plateau, while the loss modulus reaches a maximum. This did not occur within the range of frequencies that were observed. The moduli G' and G'' were adjusted simultaneously using the equations of the Maxwell model, where the relaxation time τ and the plateau value for G_0 are the only adjustment parameters. The obtained relaxation time values were $9.5 (\pm 0.5)$ ms and $4.8 (\pm 0.2)$ ms for the samples with a 50% and 54% Acid S40P content by weight respectively. These values are of the same order of magnitude as those of micelles in viscoelastic rod form (Khromova, *et al.*, 2001).

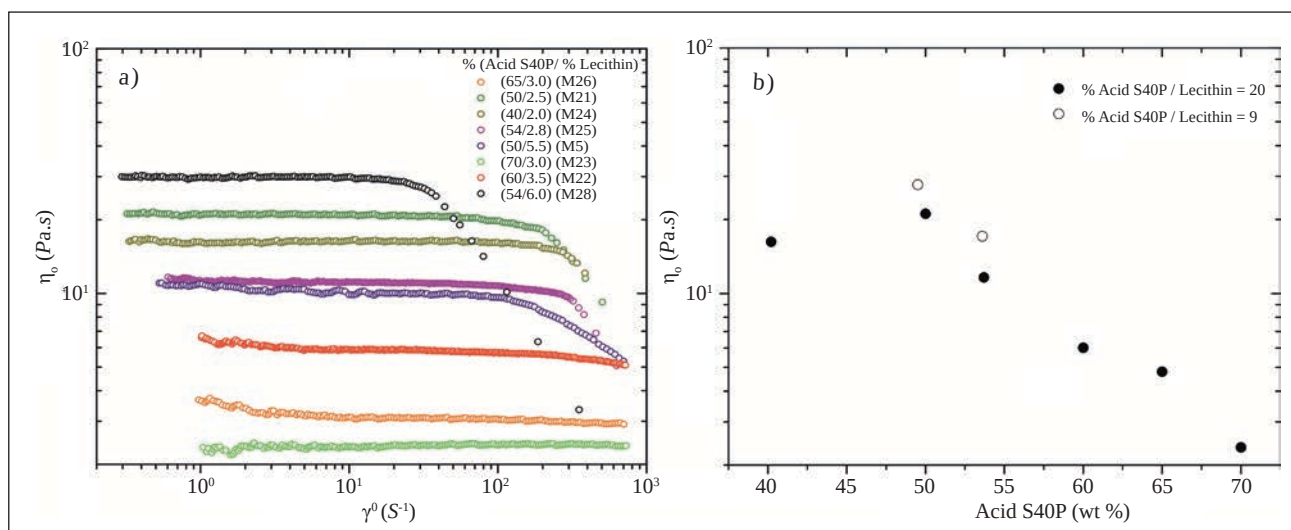


Figure 5. Flow tests of samples that presented a stable and homogeneous phase for the Acid S40P/lecithin/water system. a) Logarithmic graph of viscosity as a function of the shear velocity at 30 °C. Corrections have been made to adjust for inertia. b) Logarithmic graph of the viscosity of the newtonian regime as a function of the percent content of Acid S40P at 30 °C. The black dots (•) correspond to the Acid S40P/lecithin=20 line, and the white dots (o) correspond to the Acid S40P/lecithin=9 line.

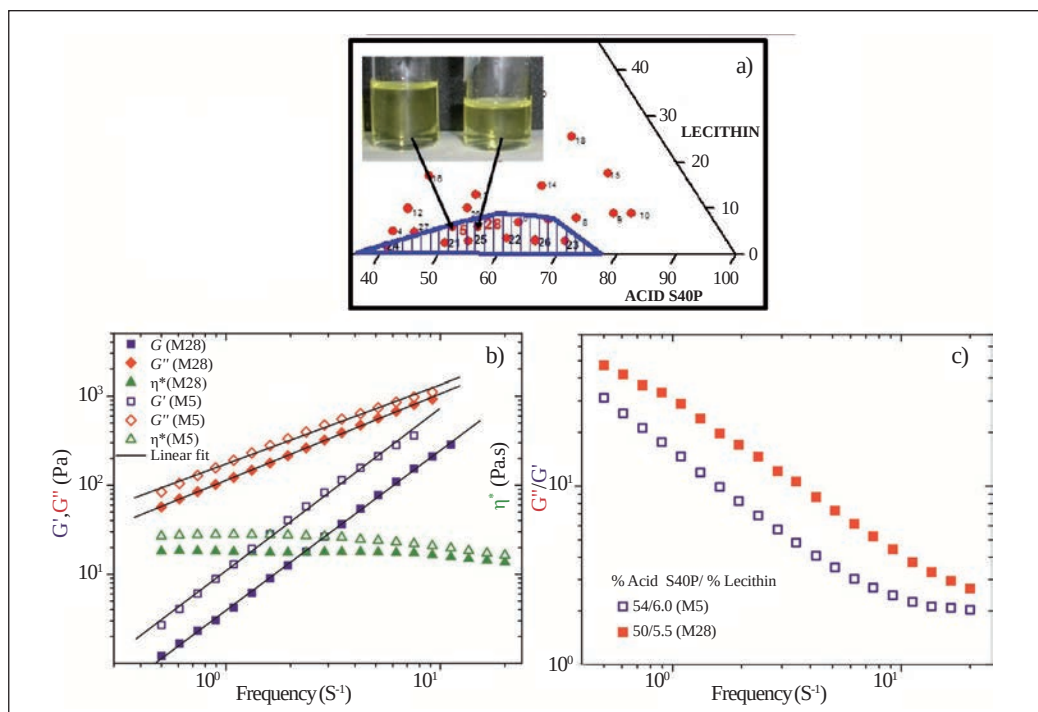


Figure 6. Oscillatory tests for the samples of the stable single-phase micellar region of the phase diagram of the S40P/lecithin/water system. a) Section of the phase diagram that indicates the samples measured and their macroscopic appearance: samples of 50% Acid S40P/5.5% lecithin and 4% Acid S40P/6% lecithin compositions. b) The complex viscosity modulus (η^*), the elastic modulus, and the viscous modulus versus the frequency of oscillation obtained by applying amplitudes of $\sigma = 4$ Pa (sample 5) and 3.5 Pa (sample 28) at an interval of frequencies from 0.5 to 20 Hz for the two samples. b) Loss tangents (defined as G''/G') versus the frequency of oscillation for said samples.

For the purposes of comparing the elasticity of each of the samples, the loss tangent has been plotted against the frequency of the oscillation (Figure 6c). The loss tangent is a dimensionless parameter defined as the ratio of the loss or viscous modulus G'' and the storage or elastic modulus G' .

In examining Figure 6, it is observed that the loss tangent continuously decreases as the frequency increases, with a slope of approximately -1, in accordance with Maxwellian behavior. All of its values are greater than 1, which indicates a greater viscosity than elasticity in the samples (Montalvo, et al., 2003). In this particular case, the sample of composition 50% Acid S40P/5.5% lecithin (sample 28) has higher tangent loss values than those of the sample of composition 54% Acid S40P/6% lecithin (sample 5), which means that the highest elastic contribution is found in sample 5, whose composition was 54% Acid S40P/6% lecithin.

Conclusion

The formation of multiple phases is possible in systems with hydrophobically modified polymers, as evidenced by the ternary phase diagram presented for Acid S40P/lecithin/water. The use of a phospholipid mixture augments the complexity of the system and its number of degrees of freedom.

In some cases, various macroscopically separated co-existent phases were observed, emphasizing the lack of homogeneity in certain regions. A micellar region forms

in this system that has been characterized through the determination of the CMC of the micelles of Acid S40P in water and by measuring viscosity. The samples of the Acid S40P/water system acted as newtonian fluids, which suggests that their micelle formations tend to be spherical. When linking the viscosity values obtained for each of the samples to the Acid S40P value in percent by weight, a decrease in viscosity is observed when the content of Acid S40P exceeds 50%. This may be due to a gradual change at the molecular level from a structure that contains micellar aggregates that are interconnected via polymer bridging to a more molten state where the hydrophilic and hydrophobic microaggregation is less pronounced.

When the soy lecithin was added to the Acid S40P/water system, it was concluded that it interacted with the Acid S40P, and that the nature of the interaction was probably hydrophobic. The majority of the samples behaved as pseudoplastic fluids. Initially, the constant viscosity value (newtonian regime) is due to the randomly distributed elongated aggregates, but when a shear stress is applied to these aggregates, they tend to orient themselves in the direction of the flow, resulting in a decrease in viscosity. The viscosity of the newtonian regime increases with the content of Acid S40P, but as is the case with the system that does not contain lecithin, the viscosity decreases when the Acid S40P content is above 50%. With respect to the behavior

of the samples analyzed in the oscillatory tests, the viscous modulus G'' was greater than the elastic modulus G' . This behavior is consistent with the Maxwell model.

Acknowledgments

The authors are grateful to Professor Michael Gradzielski for contacting Evonic Goldschmidt GmbH, who supplied us with the TEGO Acid S40P reagent and M. Diaz is grateful for her scholarship to the Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID), Universidad de Alcalá and Banco Santander, through the “Becas Miguel de Cervantes Saavedra” Program.

Conflict of interest

Author declare do not have any conflict of interest about the content of the article.

References

- Antunes, F., Thuresson, K., Lindman, B., Miguel, M.** 2003. Rheological investigation of the association between a non-ionic microemulsion and hydrophobically modified PEG influenpolymer architecture. *Colloids and Surfaces, A*. **15**: 87-100.
- Bartucci R., Montesano G., Sportelli L.** 1996. Effects of poly(ethylene glycol) on neutral lipid bilayers. *Colloids and Surfaces, A*. **115**: 63-71.
- Clausen, T. M., Vinson, P. K., Minter, J. R., Davis, H. T., Talmon, Y., Miller W. G.** 1992. Viscoelastic micellar solutions: microscopy and rheology. *The Journal of Physical Chemistry*. **96**: 474-484.
- Cortes, A. B., Valiente, M., Rodenas, E.** 1999. Properties of the L and lyotropic phases in CTAB/ Glycerol/ water and CTAB/ Glyceraldehyde/ water systems. *Langmuir*. **15** (20): 6658-6663.
- Cox, W. P., Merz, E. H.** (1958). Rheology of polymer melts. A correlation of dynamic and steady-flow measurement. *Journal of Polymer Science*. **28**: 619-622.
- Goddard, E. D. Ananthapadmanaban, K. P.** 1993. Interactions of Surfactants with Polymer and Proteins. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hoffmann, H.** 1994. Viscoelastic surfactant solutions In: Structure and flow in surfactant solutions. Herb, C. A., Prud'homme, R. K., Eds. ACS Symposium Series 578; Washington, DC: American Chemical Society.
- Jonsson, B., Lindman, B., Holmberg, K., Kronberg, B.** 1998. Surfactants and Polymers in Aqueous Solution. John Wiley & Sons, London.
- Karlsson, L., Nilsson, S., Thuresson, K.** 1999. Rheology of an aqueous solution of an end-capped polyethylene glycol) polymer at concentration. *Colloid Polymers Science*. **277**: 798-804.
- Khan, A., Zhang, K. W., Mendoca, C.** 1994. Solubilization of nonionic polymers in a lyotropic lamellar mesophase: Lecithin-water-polyethylene oxide system. *Journal of Colloid and Interface Science*. **165**: 253-255.
- Khromova, Yu L., Shumilina, E.V., Shchipunov, Yu. A.** 2001. Lecithin organogels containing poly (ethylene glycol) monolaurate. *Colloid Journal*. **63** (2): 242-247.
- Koynova, R., Tenchov, B.** 2001. Interactions of surfactants and fatty acids with lipids. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **6**: 277-286.
- Kwak, J. C. T.** 1998. Surfactant Science Series. Vol. **77**: Polymer-Surfactant Systems, Marcel Dekker, New York.
- Li X., Lin X., Zheng L., Yu, L., Lv F., Zhang Q., Liu W.** 2008. Effect of poly(ethyleneglycol) stearate on the phase behavior of monocate/tween80/water system and characterization of poly(ethylene glycol) stearate-modified solid lipid nanoparticles. *Colloids and Surfaces, A*. **317**: 352-359.
- Montalvo, G., Rodenas, E., Valiente, M.** 2003. Effects Cetylpyridinium Chloride on phase and rheological behavior diluted $C_{12}E_4$ /Benzyl Alcohol/water system. *Journal of Colloid and Interface Science*. **227**: 171-175.
- Montalvo, G., Pons, R., Zhang, G., Díaz, M., Valiente, M.** 2013. Structure and Phase Equilibria of the Soybean Lecithin/PEG 40 Monostearate/Water System. *Langmuir*. **29**: 14369-14379.
- Naumann, C. A., Brook, C. F., Fuller, G. G., Lehmann, Ruhe, J., Knoll, W., Kuhn, P., Nuyken, O., Frank, C. W.** 2001. Two dimensional physical networks of lipopolymers at the air/water interface: Correlation of molecular structure and surface rheological behavior. *Langmuir*. **17**: 2801-2806.
- Nikolova, A. N., Jones, M. N.** 1998. Phospholipid free thin liquid films with grafted poly(ethylene glycol)-200: Formation, interaction forces and phase states. *Biochimica et Biophysica Acta, Biomembranes*. **1372**: 237-243.
- Rehage, H., Hoffmann, H.** 1991. Viscoelastic surfactant solutions: model systems for rheological research. *Molecular Physics: An International Journal at the Interface between Chemistry and Physics*. **74**: 933-973.
- Shikata, T., Hirata, H., Kotaka, T.** 1988. Micelle formation of detergent molecules in aqueous media. 2. Role of free salicylate ions on viscoelastic properties of aqueous cetyltrimethylammonium bromide-sodium salicylate solutions. *Langmuir*. **42**: 354-359.
- Torchelin, V. P.** 2002. PEG-based micelles as carriers of contrast agents for different imaging modalities. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **54**: 235-252.
- Xia, Q., Hao, X., Lu, Y., Xu, W., Wei, H., Ma, Q., Gu, N.** 2008. Production of drug-loaded lipid nanoparticles based on phase behaviors of special hot microemulsions. *Colloids and Surfaces, A*. **313-314**: 27-30.
- Xia, Q., Xu, D., Lu, Y., Xu, F., Tang, J., Gu, N.** (2009). Preparation and characterization of drug-loaded lipid nanoparticles. *Journal of Scientific Conference Proceedings*. **1**: 300-302.

Macroinvertebrados acuáticos presentes en dietas de peces de la cuenca del río Hacha (Caquetá, Colombia)

Jhonatan Gutiérrez-Garaviz^{1,*}, Marlon Peláez-Rodríguez², Hernando Ovalle-Serrano³

¹Calidad y preservación de ecosistemas acuáticos, Universidad de la Amazonia, Caquetá, Colombia;
grupo de estudios en recursos hidrobiológicos continentales, Universidad del Cauca, Cauca, Colombia

²Calidad y preservación de ecosistemas acuáticos, Universidad de la Amazonia, Caquetá, Colombia

³Centro de Investigación Ambiental-Corporación Autónoma de Cundinamarca, Colombia

Resumen

Los macroinvertebrados acuáticos (MA) exhiben una amplia variedad de funciones en los ecosistemas acuáticos (detritívoros, depredadores y alimento) lo cual mantiene el equilibrio en los flujos de materia y energía. En el presente estudio se confirma la importancia trófica de MA en la dieta de peces de sistemas lóticos. El estudio se desarrolló en la cuenca del río Hacha (Caquetá, Colombia) en 6 estaciones de muestreo; se realizó la captura de peces para el análisis de sus contenidos estomacales. Adicional se tomaron muestras de MA como material de referencia para comparar con los encontrados en los contenidos estomacales de los peces. Para el análisis de datos, se aplicaron tres índices de diversidad en los MA; respecto a los contenidos estomacales en peces se estimó el porcentaje de frecuencia de ocurrencia (%FO) y el porcentaje de dominancia (%D) y se evaluó el solapamiento de nicho mediante un clúster con distancia euclidiana. Las estaciones de la cuenca alta y media presentaron los mayores valores de diversidad de MA. Respecto a los peces, la familia Characidae agrupó la mayor riqueza de especies; *Astyanax abramis* fue el taxón más representativo en distribución y abundancia. En términos de hábitos alimenticios, se identificaron especies de peces generalistas que consumen MA y especialistas que pueden o no consumir. *Characidium zebra* y *Astyanax abramis*, presentan una fuerte relación con el consumo de MA. *Leporinus friederici* y *Leporinus y-ophorus* fueron las especies con mayor solapamiento de nicho. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Diversidad; Hábitos alimenticios; Peces; Invertívora; Solapamiento de nicho.

Aquatic macroinvertebrate present in fish diets of the basin of Hacha river (Caquetá, Colombia)

Abstract

Aquatic macroinvertebrates (MA) are vital to the daily health of their related habitats, as detritivores, predators, and prey. In this study we demonstrate the trophic importance of MA's, as prey items to fishes in the river basin Hacha (Flores-Caquetá) by analyzing their stomach contents. Six sampling stations were defined taking into account upper, middle and lower part of the basin; Field samples of MA as reference material and fish were collected were captured 3 arts used traditional fishing. For data analysis, three indices of diversity were calculated for MA; regarding fish stomach contents was estimated percentage frequency of occurrence (%FO) and the percentage of dominance (%D), plotting their values; niche overlap was also evaluated using a cluster with euclidean distance. Stations 1, 2, 3 and 4 showed the best values of diversity of MA. The Characidae family has the highest species richness of Characiformes fish, being *Astyanax abramis* with better distribution and abundance. Generalist species that consume aquatic macroinvertebrates and specialist species that may or may not consume aquatic macroinvertebrates were identified. *Characidium abramis zebra* and *Astyanax*, are more related to consumption MA. *Leporinus friederici* and *Leporinus y-ophorus* were those with high niche overlap. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key Words: Diversity; Eating habits; Fish; Invertivora; Niche overlap.

Introducción

Los macroinvertebrados acuáticos (MA) y peces se consideran las principales comunidades de animales que se desarrollan en los ecosistemas de agua dulce (Roldán, 1992), encontrando una gran diversidad de especies en la región Neotropical. Los MA en su mayoría insectos, son aquellos organismos que se pueden ver a simple vista; Roldán & Ramírez (2008) los clasifican a partir de un tamaño mayor

a 0,5 mm de longitud, habitando en los ecosistemas lóticos, piedras, troncos, hojarasca, enterrados en el fondo, adheridos a vegetación y nadando libremente dentro del agua o sobre la superficie (Roldán, Posada & Gutiérrez, 2001).

*Correspondencia:

Jhonatan Gutiérrez-Garaviz, jhotas24@gmail.com

Recibido: 25 de febrero de 2016

Aceptado: 20 de junio de 2016

Los peces son los principales vertebrados existentes en los ecosistemas acuáticos; la presencia de esta comunidad define las redes tróficas (Ramírez & Viña, 1998), incidiendo sobre la estructura del ecosistema (Carpenter, *et al.*, 1987; Quirós & Boveri, 1999; Meijer, De Boois, Scheffer, Portielje & Hosper, 1999; Kasprzak, Benndorf, Mehner & Koschel, 2002), cuyos efectos dependen de la selectividad del alimento, estructura demográfica, distribución espacial, dominancia de especies (Roche & Rocha, 2005) y solapamiento de nichos. Así mismo, sus hábitos alimenticios permiten conocer el rol trófico que puede tener con las diferentes comunidades acuáticas (Hyslop, 1980; Barros, 2004), en términos de consumo y disponibilidad de alimento en el medio (Muñoz, Romaní, Rodríguez-Capítulo, González & García-Berthou, 2009). Estos hábitos se pueden clasificar a partir de los ítems ingeridos, identificando así especies omnívoras, planctívoras, detritívoras, iliófagas, piscívoras, insectívoras, herbívoras e invertívoras (Hahn, Fugí, De Almeida, Russo & Loureiro, 1997).

Las especies ícticas que consumen macroinvertebrados acuáticos se clasifican como invertívoras (Ortiz, Martín & López-Ordaz, 2011); estas especies moldean constantemente la estructura de la comunidad presa (Flecker, 1992; Taphorn, 1992), incidiendo como variable biológica sobre su abundancia y riqueza.

Una de las metodologías que se emplea para establecer la relación trófica entre MA y peces es el análisis de contenidos estomacales (Hyslop, 1980; Amundsen, Gabler & Staldvik, 1996; Renó, Bornatowski & Simões, 2012). En Colombia, Sánchez, Galvis & Victoriano (2003), Aten *et al.* (2005), Maldonado-Ocampo, *et al.* (2005), Galvis, *et al.* (2006), Torres, Roldán, Asprilla & Rivas (2006), Zamudio, Urbano, Maldonado-Ocampo, Bogota-Gregory & Cortes-Millan (2008), Olaya-Nieto, Soto-Fernández & Barrera-Chica (2009), Olaya-Nieto, Arellano-Padilla & Martínez-González (2012), utilizaron diferentes métodos para el análisis de contenidos estomacales, identificando a la comunidad de MA como ítem alimenticio importante.

En la presente investigación se identificaron las especies ícticas que se alimentan de macroinvertebrados acuáticos y cuáles son los taxones consumidos, a partir de la proporción y composición en sus contenidos estomacales.

Metodología

Área de estudio: El estudio se llevó a cabo en la cuenca alta (estación 1 y 2), media (estación 3 y 4) y baja (estación 5 y 6) del río Hacha (Florencia-Caquetá), con un rango altitudinal que va desde los 919 msnm hasta los 253 msnm, en la región andino-amazónica del departamento del Caquetá; entre las coordenadas de referencia N 1° 47' 16,4" - W 75° 39' 13,8" y N 1° 35' 39,1" - W 75° 35' 42,1" (Figura 1). En términos de paisaje se identificaron bosque, agricultura, pastoreo y asentamientos humanos, principalmente en la estación 5 relacionada con la cabecera municipal de Florencia; en la mayoría de estaciones se identificó vegetación de tipo

arbórea, arbustiva, herbácea y pasturas, a excepción de la estación 6 donde dominan los pastos, con alta fragmentación del bosque. En la cuenca alta y media se registró un 90 a 70% de vegetación riparia, disminuyendo en la cuenca baja hasta un 20% (estación 6). El agua se observó transparente en las primeras 4 estaciones, aumentando la turbidez en la estación 5 y 6, cuyas características están dadas por la geomorfología del lecho del río, dominando el sustrato rocoso en la cuenca alta y media, y fino en la cuenca baja.

Fase de campo y laboratorio: El tiempo de muestreo abarcó los meses de mayo a diciembre de 2014 y enero de 2015. En las seis estaciones que se trabajaron, la información biológica se colectó en un tramo de 100 m de longitud, realizando una réplica por punto. Para la colecta de MA, se utilizó una red surber de marco de 30 cm² con poro de malla de 150 micras y se tuvo en cuenta la composición del sustrato en el lecho río para así abarcar los diferentes microhábitats disponibles, y los sitios donde se capturaron peces. Posteriormente, el material fue preservado en etanol al 95% y llevado al laboratorio para conteo e identificación de los diferentes taxones con la ayuda de guías y claves taxonómicas de McCafferty (1981), Roldán (1988), Klemm (1995), Epler (1995, 1996), Merritt, Cummins & Berg (2008), Voshell (2002), Pescador, Ramussen & Harris (2002), Pescador & Barton (2004), Heckman (2008), Domínguez & Fernández (2009), Springer, Ramírez & Hanson (2010).

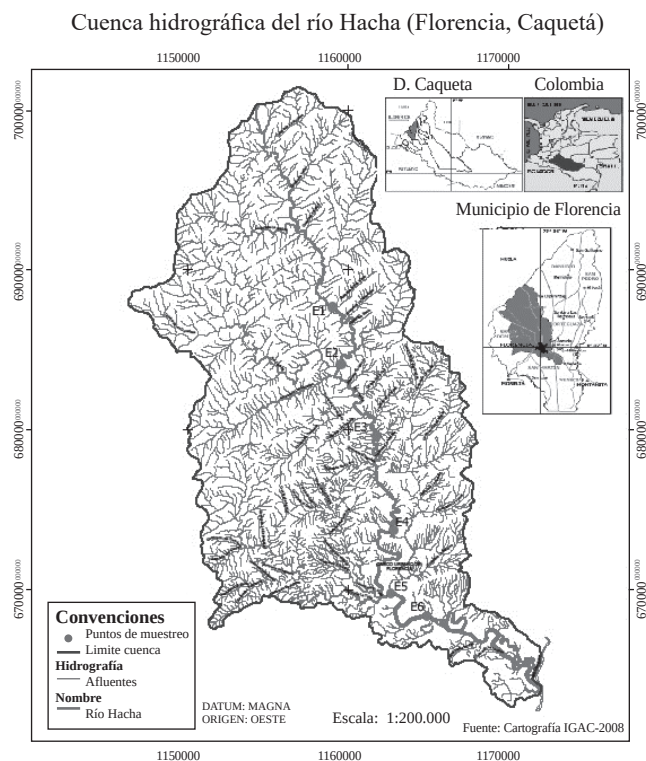


Figura 1. Mapa Cuenca del Río Hacha. Se identifican las estaciones de muestreo en círculos.

Fuente: Remicio (2014), modificado por los autores.

Los peces fueron capturados utilizando tres artes tradicionales, chile, anzuelo y caretaje nocturno manual. Con el chile se realizaron en promedio 50 lances aleatorios sobre el tramo de estudio. Los anzuelos se fijaron en varas ancladas en los dos márgenes del río. El caretaje se realizó en la noche, utilizando linterna, pistola y una malla de mano para la captura de especímenes, sumergiéndose en el agua y buscando en los diferentes sustratos presentes (se empleó principalmente para la captura de individuos de *Characidium zebra*). Los individuos cuya longitud no superaron los 50 mm se preservaron en frascos plásticos de 500 cm³ con solución Transeau; los peces con talla mayor se inyectaron por el ano con formol al 10% y se guardaron en bolsas herméticas. Posteriormente se llevaron al laboratorio para su identificación utilizando las guías y claves taxonómicas de Géry (1977), Galvis, *et al.* (1997, 2006), Mojica (1999), Maldonado-Ocampo, *et al.* (2005), Gregory & Maldonado-Ocampo (2006), Román-Valencia (2007), Rubio (2007) y Sanabria, Daza & Beltrán (2007).

Para analizar los contenidos estomacales en peces se tuvo en cuenta las recomendaciones expuestas por Marrero (1994) y Muñoz, *et al.* (2009), diseccionando los especímenes y retirando el estómago; el contenido se depositó en una caja de Petri con alcohol al 70%. Los restos de MA fueron separados y comparados con el material de referencia colectado en campo.

Análisis de datos: Para la comunidad de MA se determinaron los índices de diversidad de Shannon-Weaver, Pielou y la riqueza específica, en cada una de las estaciones de estudio, utilizando el programa Past V2.1 (Hammer, Harper & Ryan, 2002).

Respecto a la estimación de los ítems alimenticios en los estómagos examinados, se utilizó el porcentaje de frecuencia de ocurrencia (%FO), quien relaciona el número de estómagos con el ítem alimenticio específico, respecto al número total de estómagos registrados (Hyslop, 1980). La fórmula es la siguiente:

$$\%FO = \frac{j}{p} \times 100$$

Dónde:

j: estómagos con ítem alimenticio específico.

p: total de estómagos con ítem registrados.

También se tuvo en cuenta la propuesta de análisis de ítems alimenticios en peces evaluado por Bennemann, Cassatti & Cristiane de Oliveira (2006), expresado como dominancia relativa, haciendo referencia al número de veces en que un ítem específico ocupa la mayor parte del contenido estomacal en función del número total de estómagos analizados.

$$\%D = \frac{j}{p} \times 100$$

Dónde:

j: estómagos con ítem alimenticio específico.

p: total de estómagos con ítem registrados.

Los datos obtenidos en los estimativos anteriores fueron graficados teniendo en cuenta la metodología de Costello (1990), ubicando la Dominancia (%) en el eje Y y la Frecuencia de Ocurrencia (%) en el eje X. Bennemann,

et al. (2006) modifica la ecuación de Costello (1990) sustituyendo Peso (%) por Dominancia (%). Esta gráfica permite visualizar la importancia de cada ítems alimenticio. Las gráficas se realizaron con el programa “R V3.3.2 utilizando la librería plot”.

Además se evaluó el solapamiento de nicho entre peces a través de la distancia euclidiana, teniendo en cuenta los valores de dominancia representativos en las especies que presentan MA como ítems significativo. Para este análisis se utilizó el programa “Past V2.1” (Hammer, *et al.*, 2002).

Resultados

Macroinvertebrados acuáticos: Se recolectaron en total 5 phylum, 6 clases, 15 órdenes, 41 familias, 63 géneros y 971 organismos, donde la clase Insecta fue la categoría taxonómica con mayor abundancia de individuos (Tabla 1). A nivel de órdenes, Trichoptera, presentó la mayor dominancia de géneros en las seis estaciones de estudio, seguido de Diptera y Coleoptera. En términos de diversidad, las estaciones 1, 2, 3, 4 tienen una mayor riqueza, diversidad y mejor distribución de taxones en el medio acuático, a diferencia de las estaciones 5 y 6, cuyos valores fueron los más bajos (Tabla 2).

Peces: se colectaron 2 órdenes, 9 familias, 24 especies y 752 individuos (Tabla 3). El orden Characiformes tiene la mayor riqueza de especies, al igual la familia Characidae, siendo la especie *Astyanax abramis* el taxón más abundante y con mayor distribución a lo largo de la cuenca del río Hacha. Loricaridae es una familia que también presentó igual número de especies que Characidae, pero sus individuos son bentónicos detritívoros y no tienen una relación fuerte con los MA, al revisar algunos contenidos estomacales en el presente estudio.

Análisis de contenidos estomacales: teniendo en cuenta la Tabla 4 se observa que la mitad aproximada de taxones del orden Characiformes presentan macroinvertebrados acuáticos como ítem alimenticio representativo. En el caso de los Siluriformes, *Pimelodella cf. cristata* y *Pimelodus blochii* son las únicas dos especies que se relacionan con el ítem de estudio. De los 24 taxones pre-seleccionados se escogen solo 9, teniendo en cuenta una mayor presencia de macroinvertebrados acuáticos en los contenidos estomacales (Tabla 4). *Astyanax abramis* es la especie con mayor número de ítems alimenticios.

Gráficas de Costello: al hacer la representación por el método gráfico de Costello (1990), (Figura 2), se identificaron claramente 2 grupos tróficos: Especies generalistas omnívoras que contienen MA, *Astyanax abramis* (familias Baetidae, Chironomidae y Libellulidae) y *Leporinus friederici* (Chironomidae). En el caso de *Pimelodella cf. cristata*, se observó una tendencia hacia el grupo trófico especialista de chironómidos (especie invertívora). El segundo grupo son especies especialistas con dominancia del algún ítem particular, que pueden o no contener MA. *Pimelodus blochii*, *Hemibrycon* sp. *Brycoamericus* sp. y *Creagrutus cochoui*, se alimentaron principalmente de

Tabla 1. Composición macroinvertebrados acuáticos. Se muestran las abundancias de los diferentes taxones recolectados en campo. No determinado (N.D).

PHYLLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Annelida	Oligochaeta	Haplotaxida	Naididae	N.D				6	84	26
	Hirudinea	Rhynchobdellida	Glossiphoniidae	<i>Helobdella</i> spp.						3
Arthropoda	Arachnoidea	Acari	N.D	N.D				1		4
	Insecta	Coleoptera	Dytiscidae	cf. <i>Celina</i>	1					
			Elmidae	<i>Phanocerus</i> spp.	3	1				
				N.D 1	6	2	2	9	2	
				N.D 2	2					
				<i>Heterelmis</i> spp.	14	7	22	22		4
				<i>Hexanchorus</i> spp.	2	1	1			
				<i>Macrelmis</i> spp.	3	2	1	5		
				<i>Cylloepus</i> spp.			2	3		
				<i>Microcylloepus</i> spp.	2					
				<i>Pseudodisersus</i> spp.		1	3	3		
			Psephenidae	N.D				2		
			Ptilodactylidae	<i>Anchytarsus</i> spp.	4	8	1	4		
		Diptera	Blephariceriidae	N.D		1	12	3		
			Ceratopogonidae	<i>Atrichopogon</i> spp.				2	3	
			Chironomidae	N.D1	24	16	12	33	95	56
				N.D2	7	1	7	8		2
				N.D3			2	6		
			Empididae	<i>Hemerodromia</i> spp.	4		1	1	2	
			Simuliidae	<i>Simulium</i> spp.	1	1			2	
			Psychodidae	<i>Pericoma</i> spp.					2	1
				<i>Psychoda</i> spp.						2
			Tabanidae	N.D					1	1
			Tipulidae	<i>Hexatoma</i> spp.				1		
				<i>Molophilus</i> spp.		2				
		Ephemeroptera	Baetidae	<i>Camelobaetidium</i> spp.	9	10	7	14		
				<i>Baetodes</i> spp.	4	1	1	1	5	
				N.D						1
			Leptophlebiidae	<i>Thraulodes</i> spp.	5	3	1	11	5	
				<i>Terpides</i> spp.				1		
				<i>Traverella</i> spp.	4		2	1		
			Leptohyphidae	<i>Leptohyphes</i> spp.	16	4	2	25	7	
				<i>Tricorythodes</i> spp.	1		1	8		
			Oligoneuriidae	<i>Lachlania</i> spp.			2			
		Hemiptera	Naucoridae	<i>Cryphocricos</i> spp.	3			1		
				<i>Limnocoris</i> spp.				1	4	
			Veliidae	<i>Rhagovelia</i> spp.			9	5	1	
		Lepidoptera	N.D	N.D				1		
		Megaloptera	Corydalidae	<i>Corydalis</i> spp.		2	2	1		
		Odonata	Gomphidae	N.D		1				
			Libellulidae	N.D	4			1	1	10
			Calopterygidae	<i>Hetaerina</i> spp.						2
			Coenagrionidae	<i>Enallagma</i> spp.						1
		Plecoptera	Perlidae	<i>Anacroneuria</i> spp.	8	2	4	13		
		Trichoptera	Calamoceratidae	<i>Phylloicus</i> spp.			2			
			Glossosomatidae	<i>Mortoniella</i> spp.	13	1			1	
			Leptoceridae	<i>Atanatolica</i> spp.			4			
				<i>Grumichella</i> spp.	43					
				N.D			1	1		
			Hydrobiosidae	<i>Neoatopsyche</i> spp.				1		
			Helicopsychidae	<i>Helicopsyche</i> spp.	2					
			Hydropsychidae	<i>Leptonema</i> spp.	6			5		
				<i>Smicridea</i> spp.	25	2	3	12	2	8
			Hydroptilidae	N.D	7	1	1		2	
				<i>Ochrotrichia</i> spp.	2					
			Philopotamidae	<i>Chimarra</i> spp.	3	1	2	2		
			Polycentropodidae	<i>Cyrnellus</i> spp.		3				
Mollusca			Lymnaeidae	<i>Lymnaea</i> spp.						2
		Mesogastropoda	Hydrobiidae	N.D				1		
Nemathomorpha	N.D	N.D	N.D	N.D	1					
Plathelminthes	Turbellaria	Tricladida	Planariidae	<i>Dugesia</i> spp.					1	
5	6	15	41	63						971

Tabla 2. Índices de diversidad, macroinvertebrados acuáticos. Índice de diversidad de Shannon-Weaver (H'), equitatividad de Pielou (J').

ÍNDICES	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Riqueza	31	24	28	36	18	15
Diversidad (H')	2,9260	2,7080	2,8390	3,0050	1,5220	1,8060
Equitatividad (J')	0,8522	0,8521	0,8518	0,8385	0,5267	0,6670

Tabla 3. Composición íctica. Se muestran los diferentes taxones colectados con la metodología propuesta.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Characiformes	Anostomidae	<i>Leporinus friderici</i> (Bloch, 1974)						42
		<i>Leporinus y-ophorus</i> (Eigenmann, 1922)						38
		<i>Leporinus striatus</i> (Kner, 1858) IDEM A LO ANTERIOR						
	Characidae	<i>Astyanax abramis</i> (Jenyns, 1842)		35	56	57	66	36
		<i>Astyanax fasciatus</i> (Cuvier, 1819)						4
		<i>Creagrutus cochui</i> (Géry, 1964)		2		2		
		<i>Bryconamericus</i> sp. (Eigenmann, McAtee and Ward, 1907)					7	
		<i>Hemibrycon</i> sp. (Günter 1864)		56	44	55		
		<i>Knodus</i> sp. (Eigenmann 1911)			1			
		<i>Tetragonopterus argenteus</i> (Cuvier, 1816)						12
	Crenuchidae	<i>Characidium zebra</i> (Eigenmann, 1909)	7	8	10			
	Curimatidae	<i>Steindachnerina bimaculata</i> (Steindachner, 1876)						6
	Parodontidae	<i>Parodon</i> cf. <i>Pongoensis</i> (Allen 1942 en Eigenmann & Allen, 1942)						2
		<i>Parodon</i> sp. (Cuvier and Valenciennes, 1850)					14	
	Prochilodontidae	<i>Prochilodus nigricans</i> (Spix & Agassiz, 1829)					1	5 5
Siluriformes	Heptapteridae	<i>Pimelodella</i> cf. <i>Cristata</i> (Müller & Troschel, 1849)						47
		<i>Ancistrus</i> sp1. (Kner, 1854)		12	9	5	2	
	Loricariidae	<i>Ancistrus</i> sp2. (Kner, 1854)					2	
		<i>Cordylancistrus</i> sp. (Isbrücker, 1980)	15	2		6	1	
		<i>Chaetostoma</i> sp. (Tschudi, 1846)	6		3	1		
		<i>Hypostomus plecostomus</i> (Linnaeus, 1758)				3	7	1
		<i>Rineloricaria</i> sp1. (Bleeker, 1862)						4
		<i>Rineloricaria</i> sp2. (Bleeker, 1862)						8
	Pimelodidae	<i>Pimelodus blochii</i> (Cuvier & Valenciennes, 1840)						45
2	9	24			752			

hormigas (especies insectívoras que consumen individuos de la familia Formicidae), encontrando MA frecuentes pero no dominantes. *Leporinus y-ophorus* es una especie con características detritívoras, pero contiene un valor significativo de MA, al igual que *Brycoamericus* sp. que consume hormigas (especie insectívora), con un valor importante de quironómidos. *Characidium zebra* es una especie invertívora que consume principalmente tricópteros de la familia Hydropsychidae, además de otros MA y restos vegetales.

Contrastando los resultados de hábitos alimenticios para cada especie con la literatura se encontró resultados similares, resumidos en la Tabla 5.

Solapamiento de nicho: *Leporinus friderici* y *Leporinus y-ophorus* fueron las especies con mayor similitud en el consume de ítems alimenticios (Figura 3). Este agrupamiento está determinado por el consumo de quironómidos, restos vegetales y detritus. También se conformó un segundo grupo con *Astyanax abramis* y *Pimelodella* cf. *cristata*, cuyos ítems de agrupamiento son semillas, hormigas y quironómidos.

Characidium zebra y *Brycoamericus* sp. fueron las especies que más difieren del grupo; para la primera, su dieta alimenticia está conformada principalmente por MA, respecto a la segunda se caracterizó por consumir hormigas (Formicidae).

Discusión

Macroinvertebrados acuáticos: la clase Insecta constituye el grupo más numeroso de los Artrópodos, cuyo carácter distintivo es la presencia de estructura articuladas (Masiac, Guilbot & Albouy, 2006). En el río Hacha, se encontraron principalmente en estados inmaduros (ninfas, larvas), al igual que en los contenidos estomacales, con excepción de los vélidos y algunos coleópteros de la Familia Elmidae en estado adulto.

El dominio de Trichoptera, Diptera y Coleoptera, contrasta con los resultados reportados por López, Gaspar & Peláez (2012), para la misma cuenca. En los contenidos estomacales (Tabla 4) se identificaron 3 familias de tricópteros que se fijan en sustratos duros, Hidroptylidae y

Tabla 4. Análisis de contenidos estomacales.

Pimelodus blockii (Rango longitud estándar: $\Delta CP=13-15,6$; $n=30$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Resto vegetal	15	50,0	5	16,7
Semilla	7	23,3	2	6,7
Escama	16	53,3	5	16,7
Formicidae	26	86,7	15	50,0
Vertebrado	3	10,0	2	6,7
Detritus	1	3,3	1	3,3
Mineral	9	30,0	-	<0,1
Invertebrado	8	26,7	-	<0,1
Chironomidae	26	86,7	-	<0,1
Psychodidae	5	16,7	-	<0,1
Elmidae	6	20,0	-	<0,1
Naididae	2	6,7	-	<0,1
Hidroptylidae	1	3,3	-	<0,1

Pimelodella cf. Cristata (Rango longitud estándar: $\Delta CP=9,2-12,5$; $n=30$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Semillas	4	13,3	5	16,7
Restos vegetales	7	23,3	9	30
Formicidae	4	13,3	2	6,7
Chironomidae	21	70,0	14	46,7
Invertebrado	4	13,3	-	<0,1
Detritus	2	6,7	-	<0,1
Vertebrado	5	16,7	-	<0,1
Piedras	4	13,3	-	<0,1
Mineral	21	70,0	-	<0,1
Elmidae	1	10,0	-	<0,1
Escama	5	16,7	-	<0,1

Leporinus friederici (Rango longitud estándar: $\Delta CP=12-20$; $n=30$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Detritus	23	76,7	12	40,0
Chironomidae	23	76,7	4	13,3
Resto vegetal	24	80,0	10	36,7
Escama	9	30,0	3	10,0
Mineral	8	26,7	1	3,3
Formicidae	4	13,3	-	<0,1
Psychodidae	8	26,7	-	<0,1

Leporinus y-ophorus (Rango longitud estándar: $\Delta CP=14-18$; $n=30$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Detritus	20	66,7	16	53,3
Chironomidae	27	90,0	2	6,7
Hydropsychidae	7	23,3	1	3,3
Resto vegetal	15	50,0	11	36,7
Acari	2	6,7	-	<0,1
Empididae	5	16,7	-	<0,1

Brycoamericus sp. (Rango longitud estándar: $\Delta CP=4,6-5,2$; $n=7$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Resto vegetal	6	85,7	6	85,7
Formicidae	1	14,3	1	14,3
Invertebrado	2	28,6	-	<0,1
Semilla	1	14,3	-	<0,1
Baetidae	2	28,6	-	<0,1

Creagrutus cochui (Rango longitud estándar: $\Delta CP=4,6-5,2$; $n=4$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Resto vegetal	0,5	25	1	25,0
Formicidae	1,5	75	3	75,0
Invertebrado	0,5	25	-	<0,1
Semilla	0,5	25	-	<0,1
Baetidae	0,5	25	-	<0,1

Characidium zebra (Rango longitud estándar: $\Delta CP=6,6-7,1$; $n=15$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Material vegetal	1	20,0	0,7	13,3
Hydropsychidae	3,7	73,3	3,0	60,0
Philopotamidae	0,7	13,3	0,7	13,3
Chironomidae	0,3	6,7	0,3	6,7
Leptoceridae	0,3	6,7	0,3	6,7

Hemibrycon sp. (Rango longitud estándar: $\Delta CP=7-9,5$; $n=90$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Formicidae	24,0	80,0	21,0	69,7
Resto vegetal	9,3	31,1	5,0	16,3
Invertebrado	5,0	16,7	2,7	8,9
Semilla	2,7	8,9	1,3	4,3
Veliidae	4,7	15,6	-	<0,1
Hydropsychidae	6,0	20,0	-	<0,1
Elmidae	3,3	11,1	-	<0,1
Baetidae	18,3	61,1	-	<0,1
Chironomidae	6,0	20,0	-	<0,1

Astyanax abramis (Rango longitud estándar: $\Delta CP=7,6-13,4$; $n=150$)

Ítem alimenticio	FO	%FO	D	%D
Escama	1,4	4,7	0,2	0,66
Semilla	9,8	32,7	4,0	13,24
Resto vegetal	12,4	41,3	13,2	43,99
Invertebrado	7,0	23,3	1,8	5,99
Formicidae	10,2	34,0	8,4	27,99
Detritus	11,6	38,7	0,8	2,66
Baetidae	14,8	49,3	1,0	3,33
Chironomidae	9,8	32,7	0,4	1,33
Libellulidae	1,6	5,3	0,2	0,66
Mineral	4,2	20,7	-	<0,1
Leptohyphidae	5,2	17,3	-	<0,1
Ceratopogonidae	2,4	8,0	-	<0,1
Elmidae	1,2	4,0	-	<0,1
Muscidae	2,4	10,0	-	<0,1
Tipulidae	6,4	21,3	-	<0,1
Hydropsychidae	9,2	30,7	-	<0,1
Psychodidae	2,8	11,7	-	<0,1
Tabanidae	5,4	18,0	-	<0,1
Leptoceridae	2,4	8,0	-	<0,1
Acari	2,0	6,7	-	<0,1
Lepidoptera	2,4	8,0	-	<0,1
Hidroptylidae	1,2	4,0	-	<0,1
Simuliidae	2,4	8,0	-	<0,1
Bplephariceridae	1,8	6,0	-	<0,1
Philopotamidae	1,2	4,0	-	<0,1
Stratiomyidae	1,6	5,3	-	<0,1
Naucoridae	6,0	20,0	-	<0,1
Leptohplebiidae	1,2	4,0	-	<0,1
Perlidae	1,2	4,0	-	<0,1

El rango de longitud estándar está expresado en cm. Frecuencia de ocurrencia (FO), porcentaje frecuencia de ocurrencia (%FO), dominancia (D), porcentaje dominancia (%D). En el caso de *Creagrutus cochui* se promedian 2 estaciones (E2, E3); para *Characidium zebra* 3 estaciones (E1, E2, E3); *Hemibrycon* sp1. los valores se promedian en 3 estaciones (E2, E3, E4); para *Astyanax abramis* en 5 estaciones (E2, E3, E4, E5, E6).

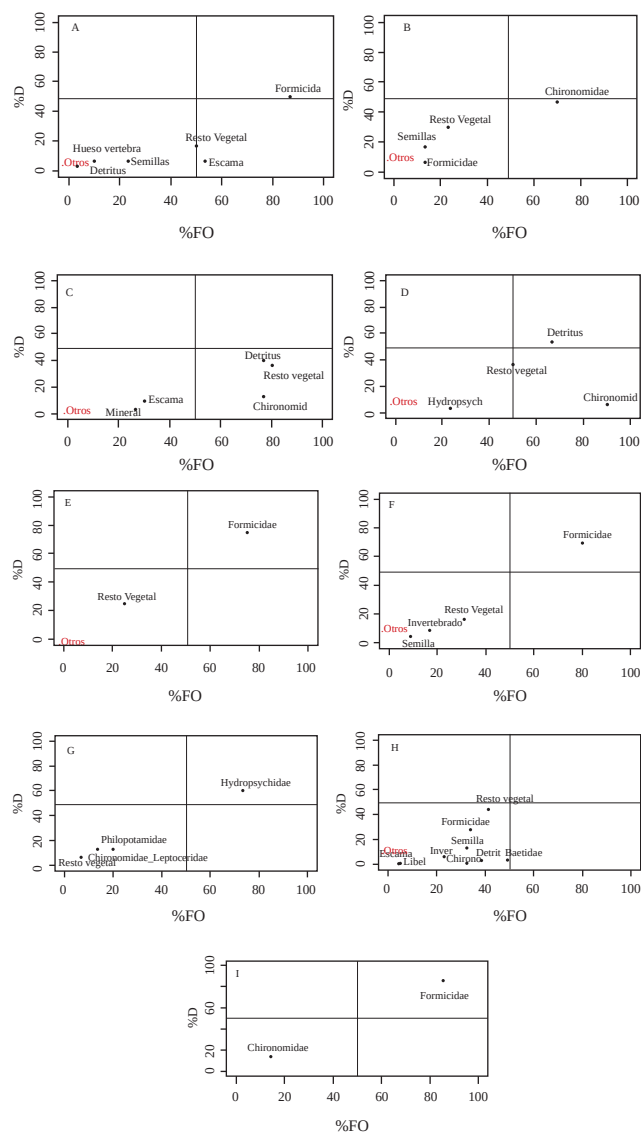


Figura 2. Gráficas de Costello. Porcentaje de frecuencia de ocurrencia (%FO) y porcentaje de dominancia (%D) de los ítems alimenticios registrados en *Pimelodus blochii* (A), *Pimelodella cf. cristata* (B), *Leporinus friderici* (C), *Leporinus y-o-phorus* (D), *Hemibrycon* sp. (E), *Creagrutus cochui* (F), *Characidium zebra* (G), *Astyanax abramis* (H) *Brycoamericus* sp. (I).

Leptoceridae que construyen casas con material fino (arena) e Hydropsychidae que elabora refugios con forma de telaraña. Díptera represento el mayor número de familias consumidas ($n=20$), siendo el recurso de MA más sobresaliente a nivel de riqueza, teniendo en cuenta los valores de frecuencia de ocurrencia. Para Coleoptera se encontró el consumo principal de élmidos, asociados a sustratos rocosos o adheridas en la vegetación riparia (herbáceas identificadas en la estación 6) o raíces sumergidas.

Los tricópteros son organismos con una amplia capacidad de adaptación (Springer *et al.*, 2010), al igual que los dípteros (Courtney & Merritt, 2008) y coleópteros

(White & Roughley, 2008), aprovechando los diferentes microambientes y recursos disponibles en los ecosistemas acuáticos.

La diversidad de macroinvertebrados acuáticos en un sitio determinado puede estar definida por el sustrato y vegetación ribereña (Vannote, Minshall, Cummins, Sedell & Cushing, 1980). Con base en las descripciones del área de estudio, las estaciones 1, 2, 3, 4 presentan buenas condiciones de hábitat, con una alta oferta de material alóctono (vegetación ribereña) como fuente de alimento y dominio de sustratos rocosos, que permiten un mayor establecimiento de taxones. En la cuenca baja, el sustrato rocoso empieza a perder dominancia, sobresaliendo las arenas, limos y arcillas, principalmente en la estación 6. De acuerdo al concepto del río continuo (Vannote, *et al.*, 1980), en la cuenca alta y media existe una mayor riqueza de grupos funcionales entre ellos colectores, raspadores, trituradores y depredadores, a diferencia de la cuenca baja, donde estos grupos funcionales se reducen a colectores y depredadores en su mayoría, con una baja colonización en riqueza de MA.

Peces: Los characiformes componen el 34% de las especies de agua dulce a nivel mundial (Reis, James, Albert & Bart, 2011) y en la cuenca del Amazonas el 50% aproximado de las especies reportadas por Géry (1977) pertenecen a este grupo. Este orden se considera dominante en las aguas continentales suramericanas, debido a su gran variedad de formas que les han permitido ocupar un amplio rango de nichos (Galvis, *et al.*, 1997). En la presente investigación se reportan 15 especies, que coinciden con el trabajo desarrollado por Remicio (2014).

Dentro de los characiformes la familia Characidae representan el 50% de todas las formas dulceacuícolas suramericanas (Galvis, *et al.*, 1997; Galvis, *et al.*, 2006). Esta familia presenta adaptaciones fisiológicas que le han permitido colonizar diferentes hábitats y mostrar plasticidad alimenticia (Casas, Torres, Lara & Lozano-Largacha, 2005). *Astyanax abramis* es la especie más representativa de Characidae en el presente estudio; de acuerdo con Castellanos (2002) *Astyanax abramis* es frecuente en arroyos selváticos, ocupando principalmente la parte alta de la columna del agua, nadando en grupos de dos o tres individuos en lugares con mayor velocidad de la corriente. Esta especie se colecta en sitios de corriente, remansos y rápidos, identificando grupos aproximados de 3 a 5 individuos, considerándola de acuerdo con la clasificación mencionada por Maldonado-Ocampo, *et al.* (2005), como una especie fusiforme que se puede adaptar a cambios en el flujo de la corriente.

Análisis de contenidos estomacales: Los MA son una fuente de alimentación autóctona muy importante para los peces, principalmente sus estados inmaduros (Angermeier & Karr, 1984) lo que sustenta la importancia relativa de este grupo a nivel de riqueza en las especies analizadas, encontrando de acuerdo con las frecuencias de ocurrencia de 2 hasta 23 ítem alimenticios relacionados. La influencia

Tabla 5. Hábitos alimenticios en especies ícticas seleccionadas. Se comparan los resultados del proyecto con la literatura.

Especie	Características	Autor	Investigación Hábito alimenticio
<i>Pimelodus blochii</i> (Valenciennes, 1840)	Especie omnívora. Especie omnívora. Especie oportunista con dieta amplia. Especie que consume macroinvertebrados acuáticos y peces.	Hiss, <i>et al.</i> , 1978 Santos, 2000 López- Casas & Jiménez, 2007 Ramírez & Pinilla, 2012	Especie insectívora que consume principalmente hormigas, además de escamas, restos vegetales, semillas, detritus y macroinvertebrados.
<i>Pimelodella cf. Cristata</i> (Miller and Troschel, 1849)	Se alimenta de invertebrados terrestres, acuáticos y peces.	Gutiérrez, 2003	Especie omnívora con tendencia invertívora consumiendo principal de quironómidos. Se identifican restos vegetales, hormigas y semillas.
<i>Leporinus friderici</i> (Bloch, 1974)	Especie omnívora, que consume material vegetal, insectos acuáticos y frutos. Especie omnívora.	Gutiérrez, 2003 Galvis, <i>et al.</i> , 2007a	Especie omnívora que consume detritus, restos vegetales, quironómido, escamas y material mineral.
<i>Leporinus y-ophorus</i> (Eigenmann 1922)	Especie omnívora	Taphorn, 1992	Especie con preferencia detritívora, además consume restos vegetales y macroinvertebrados acuáticos.
<i>Hemibrycon</i> sp1. (Günter 1984)	Especies del género en su mayoría son omnívoras.	Galvis, <i>et al.</i> , 2007b	Especie insectívora que consume principalmente hormigas, además restos vegetales.
<i>Creagrutus cochoui</i> (Géry 1964)	Restos de semillas, larvas y adultos de insectos, restos de peces.	Vari & Harold, 2001	Especie insectívora que consume principalmente hormigas, además restos vegetales, semillas y otros invertebrados terrestres.
<i>Characidium zebra</i> (Eigenmann 1909)	Pez omnívoro que se alimenta principalmente de larvas de simúlidos. Se alimenta de macroinvertebrados acuáticos, principalmente efemerópteros y trichópteros. Consume larvas de dípteros y efemerópteros.	Galvis, <i>et al.</i> , 2007a Pinto & Uieda, 2007 Celtra, <i>et al.</i> , 2011	Especie invertívora que consume principalmente trichópteros de la familia Hydropsychidae. Además se identificaron trichópteros de la familia Philopotamidae, dípteros de la familia Chironomidae y restos vegetales.
<i>Astyanax abramis</i> (Jenyns 1842)	Especie omnívora o carnívora (insectos acuáticos) dependiendo de la talla.	Barros, 2004	Especie omnívora que consume restos vegetales, semillas, detritus, macroinvertebrados acuáticos e invertebrados terrestres.
<i>Brycoamericus</i> sp. (Eigenmann in Eigenmann, McAtee and Ward 1907)	Especies de este género se alimentan de macroinvertebrados acuáticos y hormigas.	Galvis, <i>et al.</i> , 1997	Especie insectívora que consume hormigas, además se identifican macroinvertebrados acuáticos de la familia Chironomidae.

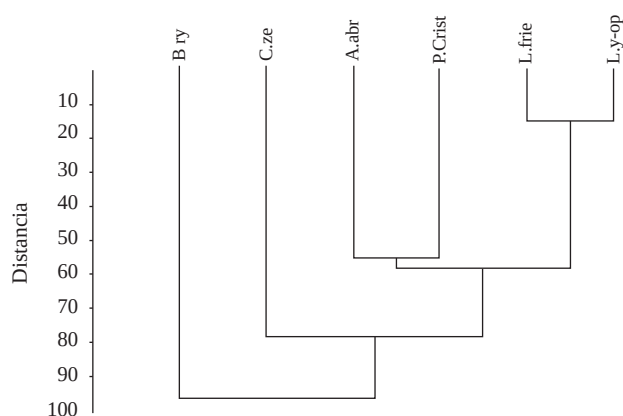


Figura 3. Cluster distancia euclidiana. Las especies se agrupan a partir de los valores obtenidos en los porcentajes de dominancia (%D). *Brycoamericus* sp. (Bry), *Characidium zebra* (Cze), *Astyanax abramis* (A.abr), *Pimelodella cf. cristata* (P.Crist), *Leporinus friderici* (L.frie), *Leporinus y-ophorus* (L.y-op).

depredadora de los peces sobre la comunidad de MA pueden afectar sus abundancias (Flecker, 1984; Gillian, Fraser & Sabat, 1989; Diehl, 1992; Keller & Moore, 2000), por lo que es importante pensar a futuro en un análisis que contraste la disponibilidad y consumo en el medio ambiente por parte de las especies de Characiformes y Siluriformes reportadas en el presente trabajo.

Gráficas de Costello (1990): Teniendo en cuenta estos resultados se puede resaltar que a nivel de hábitos alimenticios de las 9 especies evaluadas, sus orígenes son tanto material alóctono como autóctono. Para el primer origen se agrupan 5 especies, *Pimelodus blochii*, *Hemibrycon* sp., *Brycoamericus* sp. y *Creagrutus cochoui*, cuya principal fuente de alimentación son las hormigas (dominan los formícidos) y *Astyanax abramis*, especie generalista donde los restos vegetales (R.v) sobresalen en comparación al resto de ítems alimenticios. Para el segundo origen, se agrupan las 4 especies restantes, que dependen de acuerdo con los

resultados, de los MA y el detritus; *Pimelodella* cf. *cristata* consume principalmente chironómidos, *Characidium zebra* tricópteros de la familia Hydropsychidae y las especies del género *Leporinus* sp., dependen principalmente del detritus.

Se podría inferir que el consumo de hormigas se relaciona directamente con el aspecto de “deriva” de invertebrados terrestres y el nivel en el que se encuentran las especies de peces nadando, suponiendo que al caer las hormigas accidentalmente o por una posible migración, de alguna rama o vegetación ribereña, flotan en la superficie, son arrastradas por la corriente y los peces deben moverse muy cerca de la superficie para poder percibirlos. **Rezende & Mazzoni** (2006) encuentra una relación significativa entre el consumo de himenópteros por carácidos, teniendo en cuenta su disponibilidad en el medio ambiente y la deriva, al igual **Esteves & Aranha** (1999) resaltan la importancia del material de deriva de invertebrados como alimentación, para el establecimiento de peces en arroyos.

Esto también permitiría pensar a futuro la importancia que tiene la estructuración de un ecosistema, en relación medio acuático – medio terrestre, como factores determinantes de la presencia de diferentes especies y la dinámica del flujo de energía a través de una cadena alimenticia, como lo plantea **Sullivan, Hossler & Cianfrani** (2015), donde además evalúan el efecto de perturbación sobre el aspecto trófico.

Los restos vegetales que consumen *Astyanax abramis*, entre ellos, flores, semillas, frutos y hojas, se pueden relacionar directamente con la vegetación ribereña. **Vannote, et al.** (1980) menciona que la vegetación ribereña es el principal proveedor de alimentos, en zonas donde dominan los procesos heterotróficos, quienes fueron identificados en la cuenca del río Hacha en la mayoría de estaciones.

Las especies que consumen detritus se pueden asociar a fondos o márgenes en el cauce del río. En estos lugares la materia orgánica particulada gruesa (MOPG) empieza a acumularse, para iniciar su proceso de transformación a materia orgánica particulada fina (MOPF), por parte de los hongos, las bacterias y los MA.

En el caso de la comunidad íctica que consume MA, su disponibilidad como alimento está muy relacionada con la heterogeneidad del sustrato y las fuentes de material alóctono disponible (**Vannote, et al.**, 1980; **Merrit, et al.**, 2008).

Solapamiento de nicho: La fauna íctica presenta un nicho trófico muy amplio en comparación con otros vertebrados, existiendo un solapamiento alto a nivel de dietas entre especies (**Jaramillo**, 2009). Este solapamiento puede estar determinado por la disponibilidad (Mathews, 1998) y abundancia (**Eichbaum, et al.**, 2008) del alimento, posición habitual de nado de los peces en la columna del agua y ecomorfología. Las especies del género *Leporinus* habitualmente se encuentran asociadas a barrancos con dominancia de pastizales o árboles (**Galvis et al.**, 2007 a, b), características similares en las que fueron encontrados en esta investigación, identificando un solapamiento de hábitat y de dietas entre esta dos especies.

Conclusiones

De los MA, la clase Insecta fue la categoría taxonómica dominante y en términos de órdenes los tricópteros presentaron la mayor riqueza de géneros dentro de esta comunidad, indicando un mayor nivel de adaptación y aprovechamiento de los recursos en este ecosistema.

Las estaciones 1, 2, 3 y 4 relacionadas con la cuenca alta, media y poca a mediana intervención antrópica, presentaron los mejores valores de diversidad de MA, disminuyendo significativamente en las estaciones 5 y 6, quienes se ubican en la cuenca baja, con alta intervención.

Con respecto a los peces, los Characiformes dominaron en la cuenca del río Hacha, siendo la familia Characidae la que presentó mayor número de especies, sobresaliendo *Astyanax abramis* con mejor distribución y abundancia en la cuenca del río Hacha.

A partir del análisis de contenido estomacal se identificaron 2 grupos tróficos: especies generalistas omnívoras que contienen MA como *Astyanax abramis*, *Leporinus friederici* y *Pimelodella* cf. *Cristata*, esta última con tendencia a especialista (invertívora). Especies especialistas que pueden o no contener MA, como *Pimelodus blochii*, *Hemibricon* sp. *Brycoareicus* sp. y *Creagrutus cochoui*, este último identificado como insectívora, consumiendo principalmente hormigas (Formicidae). *Characidium zebra* es la única especie especialista que depende del consumo principal de macroinvertebrados acuáticos.

Astyanax abramis y *Characidium zebra* están más relacionadas con el consumo de macroinvertebrados acuáticos. La primera, a nivel de riqueza de taxones consumidos dentro de la dieta omnívora y la segunda como principal fuente de alimentación.

Con respecto al solapamiento de nicho, *Leporinus friederici* y *Leporinus y-ophorus* presentaron el mayor similitud dentro de la comunidad estudiada, compartiendo hábitat y dieta en la estación 6, ubicada en la parte baja de la cuenca.

Agradecimientos

A Socios para la Conservación de la Amazonía Colombiana, por su apoyo económico y académico en el desarrollo de la presente investigación. A la Universidad de la Amazonía por su colaboración en el préstamo de equipos e instalaciones para la revisión y análisis de datos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

- Angermeier, P. & Kare, J.** 1984. Fish communities along environmental gradients in a systems of tropical streams. *Environmental Biology of Fishes*. 9: 117 - 135.
- Aten-García V. J., Kergelen-Durango, E., Cura-Dorado, E., Rosado Carcamo, R., Vallejo, A., Valderrama, M.** 2005. Régimen alimentario de siete especies ícticas en el

- embalse de la hidroeléctrica Urrá (Córdoba, Colombia). *Revista Científica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. **10** (2): 614 - 622.
- Amundsen, P. A., Gabler, H. M. & Staldvik, F. J.** 1996. A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data—modification of the Costello (1990) method. *Journal of Fish Biology*. **48**: 607 - 614.
- Barros S. E.** 2004. Alimentación de *Astyanax abramis* (Characiformes: Characidae) en el embalse CabraCorral, Salta, Noroeste de Argentina. *Revista Aquatica*. **20**: 88 - 96.
- Bennemann, T., Casatti, L. & Cristiane de Oliveira, D.** 2006. Alimentação de peixes: proposta para análise de itens registrados em conteúdos gástricos. *Biota Neotropica*. **6** (2): 1 - 8.
- Bleeker, P.** 1862. Atlas ichthyologique des Indes Orientales Néerlandaises, publié sous les auspices du Gouvernement colonial néerlandais. Tome II. Siluroïdes, Chacoïdes et Hétérobranchoïdes. F. Muller, Amsterdam. 1 - 112, Pls. 49 - 101.
- Bloch, M. E.** 1974. Naturgeschichte der ausländischen Fische. Vol 8. *Berlin*. iv + 174: 361 - 396.
- Carpenter S. R., Kitchell, J. F., Hodgson, J. R., Cochran, P. A., Elser, J. J., Elser, M. M., Lodge, D. M., Kretchmer, D., He, X., Von Ende, C. N.** 1987. Regulation of lake primary productivity by food web structure. *Ecology*. **68**: 1863-1876.
- Casas, A. J., Torres, O. C., Lara, R. T. & Lozano-Largacha, Y.** 2005. Composición y diversidad íctica en la quebrada Chaparraido, sistema hídrico del medio Atrato, Chocó-Colombia. *Revista Institucional, Universidad Tecnológica del Chocó D. L. C.* **22**: 56-62.
- Castellanos, C.** 2002. *Distribución espacial de la comunidad de peces en una quebrada de aguas negras amazónicas, Leticia, Colombia* (Tesis de pregrado). Biología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia.
- Celtra, M., Rodríguez Rondineli, G. & Pereira Souza, U.** 2011. Compartilhamento de recursos por duas espécies de peixes nectobentônicas de riachos na bacia do rio Cachoeira (BA). *Biota Neotropica*. **11** (2): 87-95.
- Costello, M. J.** 1990. Predator feeding strategy and prey importance: a new graphical analysis. *Journal. Fish Biology*. **36**: 261-263.
- Courtney, G. W. & Merritt, R. W.** 2008. Aquatic Diptera, Part One. Chapter 22. In: R. W. Merritt, K. W. Cummins, M. B. Berg. (ed). *Introduction to the aquatic insects of North America*, 4th ed. (pp. 687 - 690). Kendall: Hunt publishing Company. USA
- Cuvier, G.** 1816. Le Règne Animal distribué d'après son organisation pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée. Les reptiles, les poissons, les mollusques et les annélides. Edition 1. **2**: i-xviii+1-532, Pls. 9-10, in v. 4.
- Cuvier, G.** 1819. Sur les poissons du sous-genre Hydrocyon, sur deux nouvelles espèces de Chalceus, sur trois nouvelles espèces du Serrasalmes, et sur l'Argentina glossodonta de Forskahl, qui est l'Albula gonorrhynchus de Bloch. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (N. S.) (Série A) Zoologie. **5**: 351-379, Pls. 26-28.
- Cuvier, G. & Valenciennes A.** 1840. Histoire naturelle des poissons. Tome quinzisième. Suite du livre dix-septième. Siluroïdes. **15**: i-xxxii + 1-540, Pls. 421-455.
- Cuvier, G. & Valenciennes, A.** 1850. Histoire naturelle des poissons. Tome vingt-deuxième. Suite du livre vingt-deuxième. Suite de la famille des Salmonoïdes. Table générale de l'Histoire Naturelle des Poissons (pp. 1-91). **22**: i-xx+1 p. + 1-532 + 1-91, Pls. 634-650.
- Diehl, S.** (1992). Fish predation and Benthic community structure: Ther role of omnivory and habitat complexity. *Ecology*. **5**: 1646-1661.
- Domínguez E. & Fernández, H. R.** 2009. *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. (2^{da} edición). Tucuman: Fundación Miguel Lilio. Argentina.
- Eichbaum Esteves, K., Pinto Lobo, A. V. & Renó Faria, M. D.** 2008. Trophic structure of a fish community along environmental gradients of a subtropical river (Paraitinga River, Upper Tiete River Basin, Brazil). *Hydrobiologia*. **598**: 373-387.
- Eigenmann, C. H., McAtee W. L., Ward, D. P.** 1907. On further collections of fishes from Paraguay. *Annals of the Carnegie Museum*. **4** (2): 110-157, Pls. 31-45.
- Eigenmann, C. H.** 1909. Reports on the expedition to British Guiana of the Indiana University and the Carnegie Museum, 1908. Report no. 1. Some new genera and species of fishes from British Guiana. *Annals of the Carnegie Museum*. **6** (1): 4-54.
- Eigenmann, C. H.** 1911. Descriptions of two new tetragonopterid fishes in the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History (Series 8)*. **7** (38): 215-216.
- Eigenmann, C.** 1922. The fishes of western South America, part I. The Fresh-water fishes of northwestern South America, including Colombia, Panama and the Pacific slopes of Ecuador and Peru, together with an appendix upon the fishes of the Río Meta in Colombia. *Memories of Carnegie Museum*. **9** (1): 1-346.
- Eigenmann, C. H. & Allen, W. R.** 1942. Fishes of Western South America. I. The intercordilleran and Amazonian lowlands of Peru. II.- The high pampas of Peru, Bolivia, and northern Chile. With a revision of the Peruvian Gymnotidae, and of the genus *Orestias*. University of Kentucky. i-xv + 1 - 494, Pls. 1-22.
- Epler J. H.** 1995. *Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of Florida*. Tallahassee: Florida Department of Environmental Protection. USA
- Epler J. H.** 1996. *Identification manual of the water beetles of Florida (Coleoptera: Dryopidae, Dysticidae, Elmidae, Gyrinidae, Haliplidae, Hydraenidae, Hydrophilidae, Noteridae, Psephenidae, Ptilodactylidae, Scirtidae)*. Tallahassee: Florida Department of Environmental Protection. USA
- Esteves, K. E. & Aranha, M. R.** 1999. Ecologia trófica de peixes de riachos. In: E. P. Caramashi, R. Mazzoni, Peres-Neto, P. R. (ed). *Ecologia de peixes de riachos*. (pp 157-182). Série Oecologia Brasiliensis. **7**.
- Flecker, A. S.** 1984. The effects of predation and detritus on the structure of a stream insect community: a field test. *Oecologia*. **64**: 300-305.
- Flecker, A.S.** 1992. Fish predation and the evolution of invertebrate drift periodicity: evidence from Neotropical streams. *Ecology*. **73**: 438-448.
- Galvis, G., Mojica, J. I. & Camargo, J. Y. M.** 1997. Peces del Catatumbo. Asociación Cravo Norte. D'Vinni Editorial Ltda. Bogotá.

- Galvis G, Mojica, J. I., Duque, S. R., Castellanos, C., Sánchez-Duarte, P., Arce, M., Gutiérrez, A., Jiménez, L. F., Santos, M., Vejarano, S., Arbeláez, F., Prieto, E. & Leiva, M.** 2006. *Peces del medio Amazonas, Región Leticia. Serie de Guías Tropicales de campo No 5*. Conservación Internacional. Bogotá: Editorial Panamericana, formas e impresos.
- Galvis G., Mojica, J. I., Provenzano, F., Lasso, C. A., Taphorn, D. C., Royero, R., Castellanos, C., Gutiérrez, A., Gutiérrez, M. A., López, Y., Mesa, L. M., P., Sánchez Duarte & Cipamocha, C. A.** 2007a. *Peces de la Orinoquía colombiana con énfasis en especies de interés ornamental*. INCODER y Universidad Nacional de Colombia.
- Galvis, G., Sánchez-Duarte, P., Mesa-Salazar, L. M., Lopez-Pinto, Y., M. A., Gutiérrez-E, Gutiérrez-Cortés, Á., Leiva-Castaño, M. & Castellano-Castillo, C.** 2007b. *Peces de la Amazonia Colombiana con Énfasis en especies de interés ornamental*. INCODER, Universidad Nacional de Colombia y SINCHI.
- Géry, J.** 1964. Poissons characoides nouveaux ou non signalés de l'Ilha do Bananal. Brésil. Vie Milieu Suppl. **17**: 447-471.
- Géry, J.** 1977. *Characids of the World*. Neptune City: T.F.H. Publications. USA
- Gregory, J. D & Maldonado-Ocampo, J. A.** 2006. Peces de la zona hidrogeográfica de la Amazonia, Colombia. Instituto de Investigaciones en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Biota Colombiana. **7** (1): 55-94.
- Gillian, J. F., Fraser, F. D. F. & Sabat, A. M.** 1989. Strong Effects of Foraging Minnows on a Stream Benthic Invertebrate Community. Ecology. **70** (2): 445-452.
- Günter, A.** 1864. Catalogue of the fishes in the Brithish Museum, vol 5. Catalogue of the Physostomi, containing the families Siluridae, Characidae, Haplochromidae, Sternopygidae, Scopelidae, Stomiidae in the collection of the Brithish Museum. Trustees, London. xxii+455.
- Gutiérrez, A.** 2003. Análisis de algunos aspectos tróficos y reproductivos de la comunidad de peces de un caño de aguas negras amazónicas en cercanías de Leticia (Amazonas, Colombia) (Tesis de Pregrado). Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Hahn, N. S., Fugí, R., De Almeida, V. L. L., Russo, M. R. & Loureiro, V. E.** 1997. Dieta e atividade alimentar de peixes do reservatorio de Segredo. In: A. A. Agostinho & L. C. Gomes (ed). *Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo*. (pp 142-162). Maringá: Nupelia, Editora da Universidade Estadual de Maringá (EDUEM).
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D.** 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Paleontología Electrónica 4(1). http://paleo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- Heckman, W. C.** 2008. *Encyclopedia of South America aquatic insects: Odonata-Zigoptera. Illustrated keys to know families, genera and species in South America*. Olympia: Springer editorial. USA
- Hiss, J., Shirley, K. & Aristizabal, W.** 1978. La pesca en la represa de Prado, Tolima, 1974-1978. Bogotá: Publicación del Cuerpo de Paz. Bogotá.
- Hyslop, E. J.** 1980. Stomach contents analysis. A review of methods and their applications. Journal. Fish Biology. **17**: 411-429.
- Isbrücker, I. J. H.** 1980. Classification and catalogue of the mailed Loricariidae (Pisces, Siluriformes). Verslagen en Technische Gegevens, Instituut voor Taxonomische Zoölogie, Universiteit van Amsterdam No. **22**: 1-181.
- Jaramillo Londoño, A.** 2009. "Estudio de la biología trófica de cinco especies de peces bentónicos de la costa de Cullera, Relaciones con la acumulación de metales pesados (Tesis Doctoral). Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente.
- Jenyns, L.** 1842. Fish. In: The zoology of the voyage of H. M. S. Beagle, under the command of Captain Fitzroy, R. N., during the years 1832 to 1836. London: Smith, Elder, and Co. Issued in 4 parts. i-xvi + 1-172, Pls. 1-29.
- Kasprzak, P., Benndorf, J., Mehner, T. & Koschel, R.** 2002. Biomanipulation of lake ecosystems: research progress, water quality and fisheries management. Freshwater. Biology. **47** (12): 2277-2281.
- Kner, R.** 1854. Die Hypostomiden. Zweite Hauptgruppe der Familie der Panzerfische. (Loricata vel Goniodontes). Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe. **7**: 251-286, separate 1 - 36, Pls. 1-5
- Kner, R.** 1858. Beiträge zur Familie der Characinen. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien. **30** (13): 75-80.
- Keller, T. A. & Moore, P. A.** 2000. Context-specific behavior: crayfish size influences crayfish-fish interactions. Journal National America Benthology Society. **19** (2): 344-351.
- Klemm, D. J.** 1995. *Identification guide to the freshwater leeches (Annelida: Hirudinea) of Florida and other southern state*. Tallahasee: Department of Environmental Protection, Division of Water Facilities. USA
- Linnaeus, C.** 1758. Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Editio decima, reformata. Tomus I. Holmiae. ii + 824 p.
- López-Casas, S. & Jiménez-Segura, L. F.** 2007. Reproducción y hábitos alimenticios del nicuro, *Pimelodus blochii* (Valenciennes, 1840) (pisces: pimelodidae), en la ciénaga de Cachimbero, río Magdalena, Colombia. Actualidades Biológicas. **29** (87): 199-207.
- López-Erazo, I. S., Gaspar, S. & Peláez-Rodríguez, M.** 2012. Aplicación de índices bióticos para la evaluación de la calidad del agua en un río Andino Amazónico. Momentos de Ciencia. **9** (2): 106-112.
- McCafferty, W. P.** 1981. *Aquatic entomology the fishermens and ecologists illustrated guide to insect and their relatives*. Boston: Science Books International.
- Maldonado-Ocampo, J. A., Ortega-Lara, A., Usma Oviedo, J. S., Galvis Vergara, G., Villa-Navarro, F. A., Vásquez Gamboa, L., Prada-Pedrerros, S. & Ardila Rodríguez, C.** 2005. *Peces de los andes de Colombia, guía de campo*. Instituto de investigaciones de recursos biológicos "Alexander von Humboldt". Bogotá.
- Marrero, C.** 1994. Métodos para cuantificar contenidos estomacales en peces. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Caracas: Centauro.
- Masiac, Y., Guilbot, R. & Albouy, V.** 2006. *El fascinante mundo de los artrópodos, "insectos, mariposa, arañas y mariquitas*. Barcelona: Editorial De Vecchi.
- Meijer M. L., De Boois, I., Scheffer, M., Portielje, R. & Hosper H.** 1999. Biomanipulation in shallow lakes in the Netherlands: an evaluation of 18 case studies. *Hydrobiologia*. **408/409**: 13-30.

- Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Berg, M.B.** 2008. *An Introduction to the Aquatic Insects of North America* (4th ed). Kendall: Hunt Publishing Company.
- Mojica-C, J. I.** 1999. Lista Preliminar de las especies de peces dulceacuícolas de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. Vol 23, suplemento especial.
- Müller, J. & F. H. Troschel.** 1849. Fische. Pp. 618-644, In: Schomburgk, R. Reisen in Britisch-Guiana in den Jahren 1840-44. Im Auftrag Sr. Majestat des Königs von Preussen. Versuch einer Fauna und Flora von Britisch-Guiana. Leipzig, Verlagsbuchhandlung von J.J. Weber
- Muñoz, I., Romani, A. M., Rodríguez-Capítulo, A., González Esteban, J. & García-Berthou, E.** 2009. Relaciones tróficas en el ecosistema fluvial, Capítulo 19. En: A. Elosegí & S. Sabater (ed). Conceptos y técnicas en ecología fluvial. (pp 345 - 366). Fundación Banco Bilbao Vizcaya Argentaria (BBVA).
- Olaya-Nieto, W. C., Soto-Fernández, P., Barrera-Chica, J.** 2009. Hábitos alimentarios de la mayupa (*Sternopygus macrurus* Bloch & Schneider, 1801) en el río Sinú, Colombia. *Revista Científica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 14 (3): 1787-1795.
- Olaya-Nieto, W. C., Arellano-Padilla, J. J. & Martínez-González, A. L.** 2012. Hábitos alimentarios del barbudo de piedra (*Ariopsis* sp.) en el Río Sinú, Colombia: *Acta biológica Colombiana*. 17 (1): 117-128
- Ortiz M., Martín, R. & López-Ordaz, A.** 2011. Variación espacial y temporal en la composición de peces invertíboros en un río Neotropical, Venezuela. *Revista Biología Tropical*. 59 (3): 1217-1231.
- Pescador, M.L., Rasmussen, A. K. & Harris, S. C.** 2002. *Identification manual for the Caddisfly (Trichoptera) Larvae of Florida*. Tallahassee: Florida Department of Environmental Protection Division of Water Resource Management. USA
- Pescador, M.L. & Barton, A.R.** 2004. *Guide to the Mayfly (Ephemeroptera) Nymphs of Florida*. Tallahassee: Florida Department of Environmental Protection Division of Water Resource Management. USA
- Pinto, T. L. F. & Uieda, V. S.** 2007. Aquatic insects select as food for fishes of a tropical stream: are there spatial and seasonal differences in their selectivity? *Acta Limnologica. Brasiliensia*. 19 (1): 67-78.
- Quirós, R. & Boveri, M. B.** 1999. Fish effects on reservoir trophic relationship. In: J. G. Tundisi & M. Straškraba (ed). *Theoretical reservoir ecology and its applications*. (pp 529-546). Backhuys: Academia Brasileira de Ciencias.
- Ramírez, A. & Viña, G.** 1998. *Limnología Colombiana: Aportes a su conocimiento y estadísticas de análisis*. Bogotá: Editorial Panamericana.
- Ramírez, A. & Pinilla, G.** 2012. Hábitos alimentarios, morfometría y estados gonadales de cinco especies de peces en diferentes períodos climáticos en el río Sogamoso (Santander, Colombia). *Acta Biológica Colombiana*. 17 (2): 241-258.
- Reis, R., James, S. Albert. & Bart, H.** 2011. *Species Richness and Cladal Diversity Chapter 5, Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. Bekerley: University of California Press.
- Remicio J. H.** 2014. *Estructura del orden Characiformes a través del gradiente altitudinal en la cuenca del río Hacha, Florencia-Caquetá* (Tesis de Maestría). Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad de la Amazonia. Florencia. Colombia.
- Renó Braga, R., Bornatowski, H. & Simões Vitule, J. R.** 2012. Feeding ecology of fishes: an overview of worldwide publications. Review in *Fish Biology and Fisheries*. 22: 915-929.
- Rezende C. F. & Mazzoni, R.** 2006. Disponibilidade e uso de recursos aloctones por *Bryconamericus microcephalus* (Miranda-Ribeiro) (Actinopterygii, Characidae), no correjo Andorinha, Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 23 (1): 218-222.
- Roche, K. & Rocha, O.** 2005. *Ecologia Trófica de Peixes, com ênfase na planctivoria em ambientes lênticos de água doce no Brasil*. Sao Carlo: RiMa Editora.
- Roldán, G.** 1988. Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia. Bogotá: Editorial Presencia Ltda.
- Roldán, G.** 1992. *Fundamentos de Limnología Neotropical*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia.
- Roldán G., Posada, J. & Gutierrez, J.** 2001. *Estudio limnológico de los recursos hídricos del Parque de Piedras Blancas*. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Roldán, G. & Ramírez, J.** 2008. *Fundamentos de Limnología Neotropical* (2a ed.). Medellín: Editorial Universidad de Antioquia.
- Román-Valencia C.** 2007. Una nueva especie de pez del género *Hemibrycon* (characiformes: characidae) del alto río Atrato, noroccidente de Colombia. *Caldasia*. 29 (1): 121-131.
- Rubio, E. A.** 2007. Introducción a los Peces Dulceacuícolas de Colombia, una introducción para estudiantes de ictiología. Cali: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad del Valle.
- Sánchez, R. M., Galvis, G. & Victoriano, P. F.** 2003. Relación entre características del tracto digestivo y los hábitos alimentarios de peces del río Yucao, sistema del Río Meta (Colombia). *Gayana*. 67 (1): 75-86.
- Sanabria, A. I, Daza, P. V. & Beltrán I. C.** 2007. Peces de la Amazonia Colombiana con Énfasis en Especies de Interés Ornamental. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. INCODER. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Santos M.** 2000. *Aspectos ecológicos de la fauna íctica dominante en la laguna de Yahuaraca, Leticia (Amazonía Colombiana)* (Tesis de Pregrado). Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Spix, J. B. von & Agassiz, L.** 1829. Selecta genera et species piscium quos in itinere per Brasiliam annos MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I.... colleget et pingendo curavit Dr J. B. de Spix. Monachii. Part 1: i-xvi + i-ii + 1-82, Pls. 1-48; Part 2: 83-138, Pls. 49-101.
- Springer, M., Ramirez, S., Hanson, P.** 2010. Macroinvertebrados de agua dulce de Costa Rica I. *Revista Biología Tropical*. 58.
- Steindachner, F.** 1876. Ichthyologische Beiträge (V). Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien. 74: 49-240, pls. 1-15.
- Sullivan, S. M., Hossler, K., Cianfrani, C. M.** 2015. Ecosystem Structure Emerges as a Strong Determinant of Food-Chain Length in Linked Stream-Riparian Ecosystems.

- Taphorn, D.** 1992. The characiform fishes of the Apure river drainage, Venezuela. *Biollania*. **4**: 1-537.
- Torres, Y., Roldán, G., Asprilla, S., Rivas, T. S.** 2006. Estudio preliminar de algunos aspectos ambientales y ecológicos de las comunidades de Peces y Macroinvertebrados acuáticos en el Río Tutunendo, Chocó, Colombia. *Revista Academia Colombiana de Ciencias*. **30** (114): 67-76.
- Tschudi, J. J. von.** 1846. Ichthyologie. Pp. ii-xxx + 1-35, Pls. 1-6. In: Untersuchungen über die Fauna Peruana. Scheitlin & Zollikofer, St. Gallen. 1844-46, in 12 parts. Parts 1-2 issued in 1844, 3-5 in 1845, 6-12 in 1846. Overall pp. 1-693. Fishes evidently all in 1846.
- Vannote R. L., G. Minshall, W., Cummins, K. W., Sedell, J. R. & Cushing, C.** 1980. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **37**: 130-137.
- Vari, R. & Harold A. S.** 2001. Phylogenetic study of the neotropical fish genera *Creagrutus* Günther and *Piabucina* Reinhardt (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), with a revision of the cis-andean species. *Smithson. Contribution Zoology*. **613**.
- Voshell, J.R.** 2002. A guide to common freshwater invertebrates of North America. Blacksburg: The McDonald y Woodward Publishing Company.
- White D. S. & Rougley R. E.** 2008. *Aquatic Coleoptera. Chapter 20*. In: R.W. Merritt, K.W. Cummins & M.B. Berg (ed). Introduction to the aquatic insects of North America (4th ed). (pp 571-671). Kendall: Hunt publishing Company.
- Zamudio, J., Urbano-Bonilla, A., Maldonado-Ocampo, J. A., Bogota-Gregory, J. D. & Cortes-Millan, G. A.** 2008. Hábitos Alimentarios de diez especies de peces del piedemonte del departamento del Casanare, Colombia. *Dahlia* (Revista Asociación. Colombiana de Ictiólogos). **10**: 43-55.

Primer registro de *Tylos niveus* y nuevo reporte de *Porcellionides pruinosus* (Oniscidea: Tylidae y Porcellionidae) para Colombia

Yesenia M. Carpio-Díaz*, Carlos Mario López-Orozco, Yeison Herrera-Medina,
Gabriel R. Navas-S., Adriana Bermúdez

Universidad de Cartagena, Programa de Biología, Claustro San Pablo, Barrio Zaragocilla, Cartagena de Indias, Colombia

Resumen

Se registra la presencia de *Tylos niveus* para Colombia y de *Porcellionides pruinosus* para la región Caribe colombiana. Los especímenes fueron recolectados en la Isla de Barú, Cartagena, departamento de Bolívar, Colombia. Se incluyen ilustraciones de los caracteres diagnósticos para ambas especies, y comentarios sobre su hábitat, morfología y distribución. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Isópodos terrestres; Neotrópico; Playa Blanca; Bolívar.

First record of *Tylos niveus* and new report of *Porcellionides pruinosus* (Oniscidea: Tylidae and Porcellionidae) for Colombia

Abstract

The presence of *Tylos niveus* and *Porcellionides pruinosus* is recorded from Colombia and the Colombian Caribbean respectively. The specimens were collected on the Baru Island, Cartagena, Bolivar department, Colombia. Illustrations of diagnostic characters, comments about habitat, morphology and distribution are included. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Terrestrial isopods; Neotropics; Playa Blanca; Bolívar.

Introducción

Hasta abril de 2014 se habían descrito 3710 especies de isópodos del suborden Oniscidea (Sfenthourakis & Taiti, 2015). Para Colombia, a pesar de ser un país megadiverso, solo se cuenta con registros de 37 especies (Richardson, 1914; Pearse, 1915; Vandel, 1972; López-Orozco, et al. 2014), 15 de ellas para la región Caribe (Pearse, 1915; Leistikow, 2001), lo cual es un número bajo en comparación con otros países de Suramérica como Brasil para el cual se conocen aproximadamente 161 (Campos-Filho, et al. 2014).

Los isópodos terrestres cumplen un papel esencial en los procesos de descomposición de la materia orgánica (Špaldonová & Frouz, 2014; Abd El-Wakeil, 2015); han servido como organismos modelo de investigación en ecología (Sghaier & Charfi-Cheikhrouha, 2002; Hamaied & Charfi-Cheikhrouha, 2004; Sfenthourakis, et al. 2005), reproducción (Araujo & Bond-Buckup, 2005), fisiología (Lesř, et al. 2008) y han sido utilizados como indicadores de impacto ambiental (Paoletti & Hassall, 1999; Longo, et al. 2013).

El género *Tylos* Audouin, 1826 incluye especies generalmente supralitorales de playas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Brown & Odendaal, 1994). Cuenta con 21 especies descritas, de las cuales *Tylos latreilli* Audouin, 1826

ha sido reportada para Colombia (Pearse, 1915). El género *Porcellionides* Miers, 1878 está compuesto por especies con movimientos rápidos, gregarias y místicas (Souza, et al. 2013). Este género posee 51 especies descritas, de las cuales *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833) es conocida para el centro de Colombia. En este trabajo se registra la presencia de *Tylos niveus* (Budde-Lund, 1885) para Colombia y de *Porcellionides pruinosus* para la región Caribe colombiana, a partir de ejemplares recolectados en la Isla de Barú, departamento de Bolívar.

Materiales y métodos

Área de estudio: la isla de Barú se encuentra ubicada en el departamento de Bolívar, 18 Km al sur de Cartagena, entre los 10° 19' y 10° 18' Norte, 75° 42' y 75° 31' Oeste (Figura 1). Abarca aproximadamente 7550 ha y es considerada como zona de amortiguamiento del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo. La temperatura es de 27.7 °C, con valores mínimos de 21°C y máximos de 33 °C, y la humedad relativa oscila entre 80 y 85 % (Valle, et al. 2011).

*Correspondencia:

Yesenia M. Carpio-Díaz, ycarpiod@unicartagena.edu.co

Recibido: 24 de febrero de 2016

Aceptado: 28 de junio de 2016

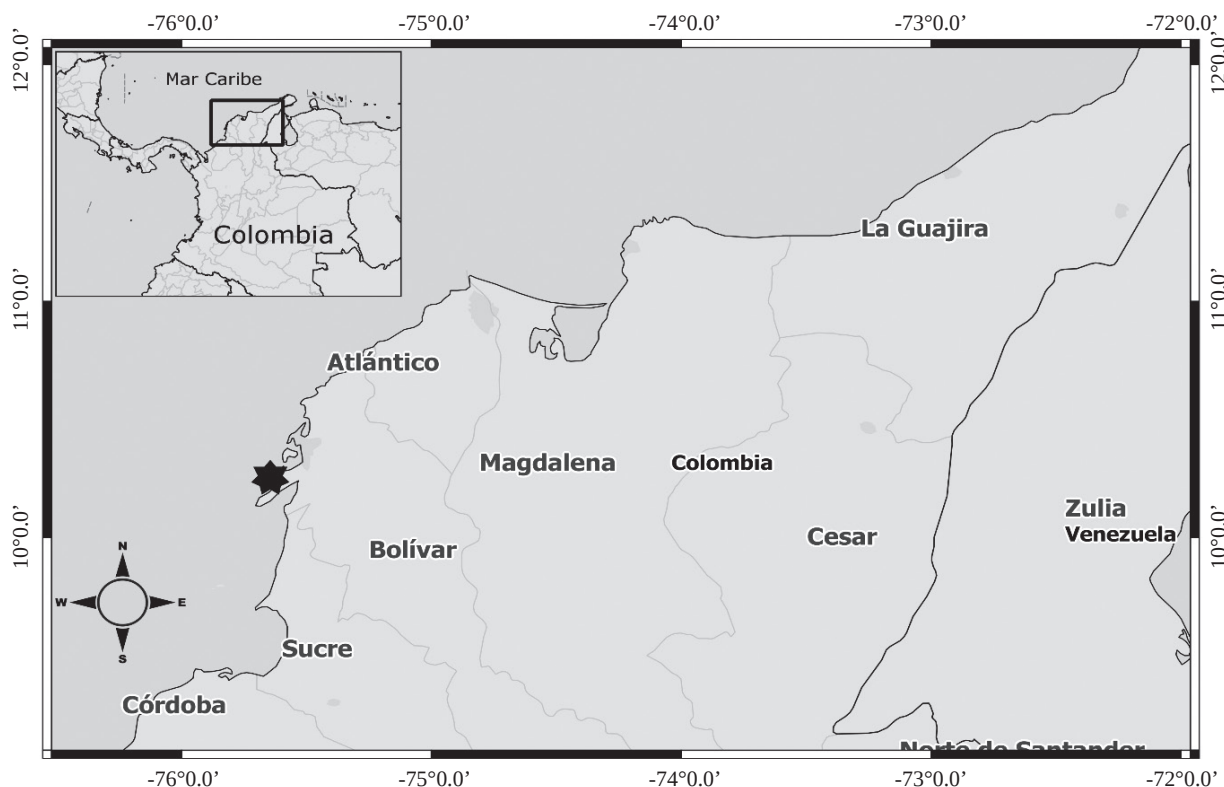


Figura 1. Localidad de muestreo de *T. niveus* y *P. pruinusos*, Colombia, departamento de Bolívar, Isla de Barú, Cartagena, 10°12'52.83" Norte, 75°37'4.70" Oeste.

Trabajo de campo y de laboratorio: los ejemplares fueron recolectados manualmente en Playa Blanca, Isla de Barú en el mes de agosto de 2015.

Los especímenes se preservaron en alcohol al 70% y fueron identificados utilizando los trabajos de **Boone (1934)**, **Schultz (1970)**, **Kensley & Schotte (1989)** y **Souza, et al. (2013)**. Las ilustraciones se realizaron mediante el programa GIMP versión 2.8 siguiendo el método propuesto por **Coleman (2006)**. El material analizado fue depositado en la Colección de Referencia del Programa de Biología de la Universidad de Cartagena (CUDC-CRU) y en la Colección de Crustáceos Isópodos del Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia (ICN-CI).

Resultados y discusión

Porcellionidae Brandt, 1831

Porcellionides Miers, 1877

Porcellionides pruinusos (Brandt, 1833)

Material examinado: Colombia. Bolívar: 2 ♀, 8 mm longitud máxima; 1 ♂, 9 mm longitud máxima, Cartagena, Isla de Barú, Playa Blanca, 10°12' Norte, 75°37' Oeste, 0 m, 8 Agos. 2015, C.M. López-Orozco y Yesenia M. Carpio-Díaz. CUDC-CRU 4.

Diagnosis: *P. pruinusos* posee los epímeros IV-VII con una sombra de color naranja en la parte posterior (Figura 2B,

sombra negra). Antenas alargadas, cuando están extendidas llegan hasta el pereonito IV; flagelo antenal compuesto de dos artículos, el primero aproximadamente el doble del segundo en longitud (Figura 2E). El exopodito y endopodito del pleópodo II como en la figura 2C. Según **Souza, et al. (2013)**, *P. pruinusos* tienen una pigmentación de color marrón en la superficie, con parches brillantes, antes de preservados en alcohol. Pereonitos cubiertos por pequeños tubérculos (Figura 2A). Exopodito del pleópodo I del macho piriforme (Figura 2D); exopoditos de los pleópodos I-II con pulmones pleopodales. Urópodos y epímeros del pleón marcados con una sombra naranja; rama interna del urópodo estrecha distalmente, más o menos tres veces mayor en longitud a la rama interna (Figura 2A). Telson subtriangular, con ápice agudo (Figura 2B).

Distribución: especie cosmopolita, de origen mediterráneo. En Colombia ha sido registrada en Medellín (1547 msnm); en el Cafetal La Camelia, Angelópolis, Antioquia (1820 msnm); cerca del Nevado del Ruíz, Caldas (3700 msnm) (**Richardson, 1914**). **Van Name (1936)** menciona que existen especímenes de *P. pruinusos* reportados para San Andrés Islas en el Museo de América. Recientemente **Martínez, et al. (2014)**, hallaron la especie en cultivos hortícolas en el departamento de Boyacá (2540-2750 msnm). En Suramérica ha sido registrada para Venezuela (**Schmidt, 2001**), Ecuador (**Van Name, 1936**), Brasil y Argentina (**Souza, et al. 2013**).

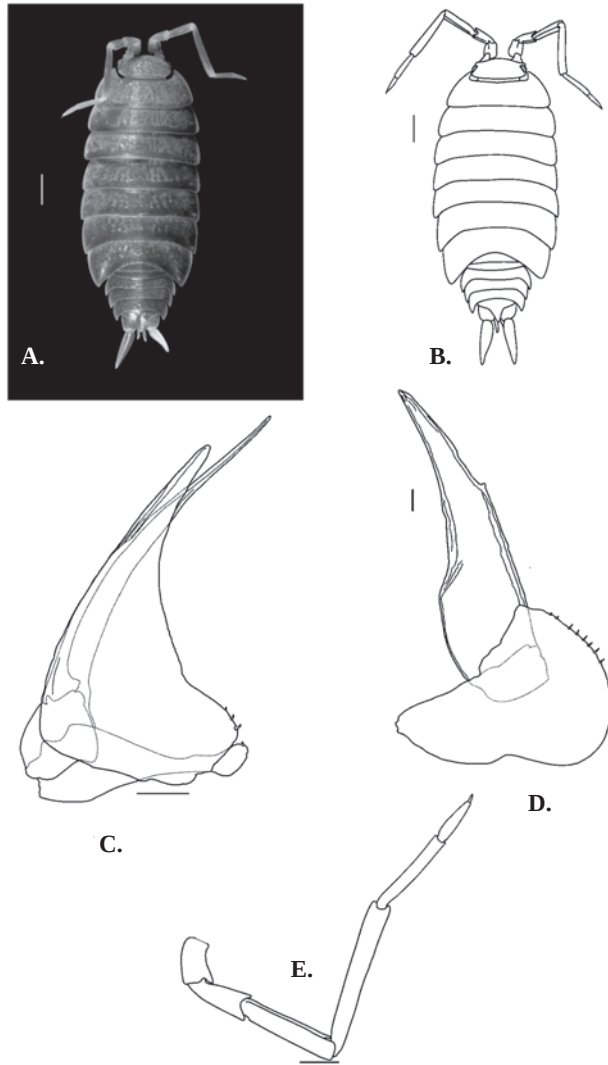


Figura 2. *Porcellionides pruinosus*. A y B. Vista dorsal; C. Exopodito y endopodito del pleópodo II; D. Exopodito y endopodito del pleópodo I; E. Antena. Barras de escala: Figs. A y B, 1 mm; Figs. C y D, 0.1 mm; Fig. E, 0.5 mm.

Comentarios: los especímenes fueron encontrados entre rocas y hojarasca de *Coccoloba uvifera*, a una distancia mínima de 10 m de la línea de costa.

Estudios genéticos entre poblaciones de *P. pruinosus* en Túnez revelaron poca variabilidad entre éstas (Achouri, et al. 2012); sin embargo, mediante el uso de análisis electroforéticos, reproductivos, distribucionales y morfológicos con poblaciones de Norte América, se describió una nueva especie: *Porcellionides floria* Garthwaite & Sassaman, 1985, lo cual indica que existe una variabilidad entre poblaciones lo suficientemente separadas. Un análisis genético y/o morfológico entre las poblaciones de Suramérica podría revelar la existencia de nuevas especies o procesos de especiación, debido a las barreras climáticas y geográficas entre las zonas en las que se encuentran cada una de estas. Teniendo en cuenta la distribución altitudinal de

esta especie en Colombia (0-3700 msnm), sería interesante realizar un estudio detallado de estas poblaciones con el fin de verificar si existen o no diferencias en cuanto a su genética y morfología.

Tylidae Dana, 1852

Tylos Latreille, 1826

Tylos niveus (Budde-Lund, 1885)

Material examinado: Colombia. Bolívar: 14 ♂, 12 mm longitud máxima; 23 ♀, 12 mm longitud máxima, Cartagena, Isla de Barú, Playa Blanca, 10°12' Norte, 75°37' Oeste, 0 m, 8 Agos. 2015, Yeison Herrera-Medina y Ricardo Borja. CUDC-CRU 5. Colombia. Bolívar: 11 ♂, 10 mm longitud máxima; 21 ♀, 11 mm longitud máxima, Cartagena, Isla de Barú, Playa Blanca, 10°12' Norte, 75°37' Oeste, 0 m, 8 Agos. 2015, C.M. López-Orozco y Yesenia M. Carpio-Díaz. ICN-CI-84.

Diagnosis: de acuerdo con Boone (1934), *T. niveus* presenta los ángulos posterolaterales de la cabeza redondeados; margen posterior recto (Figuras 3A y 3B). Segundo par de antenas con pedúnculo antenal compuesto de cinco segmentos; flagelo con cuatro segmentos (Figura 3D). El primer segmento torácico libre es el de mayor tamaño, con margen posterolateral redondeado (Figura 3C); segmentos II-VII de tamaño similar (Figuras 3A y 3B). El epímero del primer segmento es el de mayor tamaño, sin ningún tipo de sutura, con margen lateral proyectado hacia arriba, formando un surco ventral que se alarga posteriormente; epímero del segmento IV es el de menor tamaño; los epímeros II-IV con forma triangular; epímero V más o menos redondeado; epímeros VI-VII con forma cuadrangular (Figura 3C). Según Van Name (1936), Schultz (1970) y Kensley & Schotte (1989), esta especie difiere del resto de las del género en que los filacomeros V, izquierdo y derecho, son más o menos cuadrangulares y se encuentran en contacto en una larga línea medial (Figura 3F).

Distribución: esta especie ha sido considerada como típica de América. Distribuida en el Atlántico en México (Kensley & Schotte, 1989); Florida, Cuba (Van Name, 1936); Bahamas, Tobago, Bonaire (Schultz, 1974); Dominica, Curazao, Islas Vírgenes, Belize, Venezuela (Kensley & Schotte, 1989) y Brasil (Silva & Alves, 2000).

Comentarios: en Florida se ha encontrado enterrada entre rocas y escombros a lo largo de la línea de costa (Schultz, 1974; Schultz & Johnson, 1984). En Bonaire, se ha reportado entre la hojarasca de *Avicenia* sp. y *Rizophora* sp. junto con individuos de *Ligia baudiniana* H. Milne Edwards, 1840; en Curazao habita en la arena entre algas en descomposición, restos de corales con hojarasca de *Laguncularia* sp. y entre la hojarasca de *Hippomane* sp. (Schultz, 1974). En Brasil se ha encontrado viviendo entre gramíneas y entre la vegetación dominada por *Ipomoea pes-caprae*, que existe por encima de la porción de playa (Silva & Alves, 2000). Todos los especímenes recolectados en Playa Blanca fueron encontrados durante el día, viviendo enterrados hasta 10

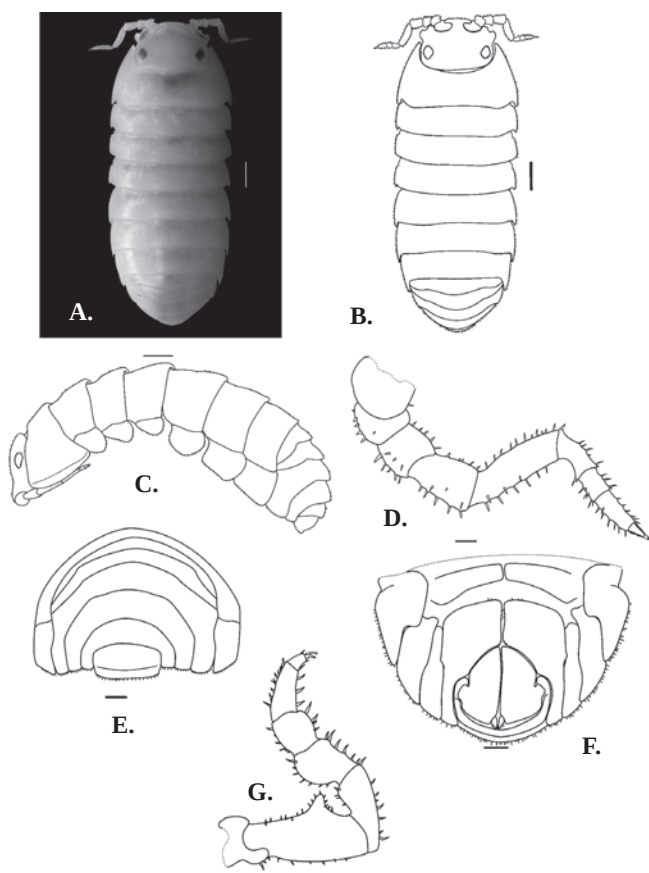


Figura 3. *Tylos niveus*. A y B. Vista dorsal; C. Vista lateral; D. Antena; E. Telson en vista frontal; F. Telson en vista ventral; G. Pereiópodo I del macho. Barras de escala: Figs. A, B y C, 1 mm; Fig. D y G, 0.2 mm; Figs. E y F, 0.5 mm.

cm en la arena, entre hojarasca de *Laguncularia racemosa* y *Coccoloba uvifera*, a una distancia mínima de 10m de la línea de costa.

Históricamente *T. niveus* ha sido identificada erróneamente como *T. latreilli* (Van Name, 1924; Schultz, 1972; Schultz & Johnson, 1984). Arcangeli (1937) considera a *T. niveus* como una subespecie de *T. latreilli*. De acuerdo con lo propuesto por Van Name (1936), Schultz (1970) y Kensley & Schotte (1989), estas dos especies pueden ser fácilmente identificadas teniendo en cuenta que en *T. niveus* los filacómeros V son más o menos cuadrangulares y se encuentran en contacto en una larga línea medial. Silva & Alves (2000) realizaron la redescrición de *T. niveus* a partir de ejemplares recolectados en Santa Catarina, Brasil, mencionando que el filacómero V se encuentra yuxtapuesto en la línea media, en parte, al opuesto, además, en sus ilustraciones no se refleja dicho carácter (Ver Figura 4 en Silva & Alves, 2000). Los especímenes de este estudio no presentan yuxtaposición entre los filacómeros izquierdo y derecho, lo cual concuerda con lo establecido por Van Name (1936), Schultz (1970) y Kensley & Schotte (1989). Nuestros ejemplares presentan el basipodito del pereiópodo

I con proyección en forma de cono (Figura 3G) y un telson rectangular, con el margen posterior doblado hacia arriba (Figura 3E), caracteres diagnósticos que concuerdan con la redescrición de Silva & Alves (2000). Por lo anterior, se requiere de un análisis detallado de las poblaciones de *T. niveus* en las diferentes localidades, con el fin de determinar si existe alguna variación y así establecer su identidad taxonómica. De igual manera, posiblemente un análisis comparativo entre las poblaciones de *T. niveus* y *T. latreilli* revelará la existencia o no de variaciones entre estas.

Conclusiones

Este es el primer registro de *T. niveus* para Colombia, y el segundo de un representante de este género para el país. Con el reporte de *P. pruinus* para el departamento de Bolívar se confirma su presencia en el Caribe colombiano. Con estos dos registros se aumenta a tres el número de isópodos terrestres reportados para el departamento de Bolívar, y a 38 para Colombia, además, se amplía la distribución geográfica de estas dos especies en Suramérica y Colombia.

Es de resaltar la inexistencia de estudios de poblaciones de isópodos terrestres en Colombia, lo cual sería interesante realizar con estas dos poblaciones en el área de estudio, siendo ésta una zona de impacto antropogénico constante.

Agradecimientos

A Ricardo Borja Arrieta y Jaison Torres Pacheco por su colaboración en la colecta e identificación de los especímenes. A Erika Mejía, Daniela Ahumada, María Alejandra Padilla, Waldo Guerra, Elvis Padilla, Roy Gonzales y Hugo Vides por sus comentarios. Al profesor Ivanklin Soares Campos-Filho por su colaboración en la identificación y revisión del manuscrito. Y a los revisores por sus acertadas recomendaciones.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Abd El-Wakeil, A.F. 2015. Effects of terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea) on leaf litter decomposition processes. *The Journal of Basic & Applied Zoology*. **69**: 10-16.
- Achouri, M.S., Bouslama, M.F., Hamaied, S. & Charfi-Cheikhrouha, F. 2012. Genetic differentiation and gene flow of *Porcellionides pruinosus* (Crustacea: Isopoda: Oniscidea) in Tunisia. *Journal of Natural History*. doi:10.1080/00222933.2012.707235.
- Araujo, P.B. & Bond-Buckup, G. 2005. Population structure and reproductive biology of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940. (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in southern Brazil. *Acta Oecologica*. **28**: 289-298.
- Arcangeli, A. 1937. *Tylos latreilli* Aud. et Sav., suoi biotipi, sua area di diffusione. *Boll. dei Musei di Zool. e Anat. Comp.* **46**: 139-151.
- Boone, L. 1934. New and rare Cuban and Haitian terrestrial Isopoda. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **66**: 567-598.

- Brown, A.C. & Odendaal, F.J.** 1994. The Biology of Oniscid Isopoda of the Genus *Tylos*. *Advances in Marine Biology*. **30**: 89-153.
- Campos-Filho, I.S., Araujo, P.B., Bichuette, M.E., Trajano, E. & Taiti, S.** 2014. Terrestrial isopods (Crustacea: Isopoda: Oniscidea) from Brazilian caves. *Zoological Journal of the Linnean Society*. **172**: 360-425.
- Coleman, C.O.** 2006. Substituting time-consuming pencil drawings in arthropod taxonomy using stacks of digital photographs. *Zootaxa*. **1360**: 61-68.
- Hamaied, S. & Charfi-Cheikhrouha, F.** 2004. Life cycle and Population dynamic of *Armadillidium pelagicum* Arcangeli, 1955 (Isopoda, Oniscidea) at Aouina. *Comptes Rendus Biologies*. **327**: 343-352.
- Kensley, B. & Schotte, M.** 1989. *Guide to the marine isopod crustaceans of the Caribbean*. Washington: Smithsonian Institution Press, 308 p.
- Leistikow, A.** 2001. A New Species of Terrestrial Isopoda from the Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia (Crustacea: Oniscidea: Crinocheta). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. **36** (2): 151-158. doi: 10.1076/snfe.36.2.151.2140.
- Lesřer, V., Drobne, D., Vilhar, B., Kladnik, A., Źnidarřiř, N. & řtrus, J.** 2008. Epithelial thickness and lipid droplets in the hepatopancreas of *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda) in different physiological conditions. *Zoology*. **111**: 419-432.
- Longo G., Trovato, M., Mazzei, V., Ferrante, M. & Conti, G.O.** 2013. *Ligia italica* (Isopoda, Oniscidea) as Bioindicator of Mercury Pollution of Marine Rocky Coasts. *PLoS ONE*, **8** (3), e58548. doi:10.1371/journal.pone.0058548.
- López-Orozco, C.M., Bermúdez, A. & Navas, G. R.** 2014. Primer registro de *Ligia baudiniana* (Crustacea: Isopoda: Oniscidea) para el Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. **43** (1): 195-200.
- Martínez, J.W., Pérez, D.F. & Espíndola, C.C.** 2014. Caracterización de isópodos terrestres (Crustacea: Isopoda) y su impacto en cultivos hortícolas de Boyacá. *Revista de Ciencias Agrícolas*. **31** (1): 55-64.
- Paoletti, M.G. & Hassall, M.** 1999. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): their potential for assessing sustainability and use as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **74**: 157-165.
- Pearse, A.** 1915. An account of the Crustacea collected by the Walker Expedition to Santa Marta, Colombia. *Proceedings of the United States National Museum*. **49**: 531-556.
- Richardson, H.** 1914. Terrestrial Isopods of Colombia. In: O. Fuhrmann et Eug. Mayor. Voyage d'exploration scientifique en Colombie. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles Neuchatel*. **5**: 29-32.
- Schmidt, C.** 2001. Lista preliminar de los isópodos terrestres (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Espeleología*. **35**: 1-12.
- Schultz, G.** 1970. A review of the species of the genus *Tylos* Latreille from the new world (Isopoda. Oniscidea). *Crustaceana*. **19**: 297-305.
- Schultz, G.** 1972. Ecology and systematics of terrestrial isopod Crustaceans from Bermuda. *Crustaceana Supplement*. **3**: 79-99.
- Schultz, G.** 1974. Terrestrial Isopod Crustaceans (Oniscoidea) mainly from the West Indies and adjacent regions: 1. *Tylos* and *Ligia*. *Studies on the fauna of Curaçao and other Caribbean islands*. **149**: 162-173.
- Schultz, G. & Johnson, C.** 1984. Terrestrial isopod crustaceans from Florida (Oniscoidea). Tylidae, Ligiidae, Halophilosciidae, Philosciidae and Rhyscotidae. *Journal of Crustacean Biology*. **4** (1): 154-171.
- Sfenthourakis, S. & Taiti, S.** 2015. Patterns of taxonomic diversity among terrestrial isopods. In: S. Taiti, E. Hornung, J. řtrus & D. Bouchon (Eds). Trends in Terrestrial Isopod Biology. *ZooKeys*, **515**: 13-25. doi: 10.3897/zookeys.515.9332.
- Sfenthourakis, S., Anastasiou, I. & Strutenschi, T.** 2005. Altitudinal terrestrial isopod diversity. *European Journal of Soil Biology*. **41**: 91-98.
- Sghaier, M. & Charfi-Cheikhrouha, F.** 2002. Biologie et dynamique de population de *Porcellionides sexfasciatus* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Comptes Rendus Biologies*. **325**: 605-616.
- Silva, J. & Alves, E.** 2000. *Tylos niveus* Budde-Lund, 1885 (Crustacea: Isopoda: Oniscidea: Tylidae): redescrĩa e nova ocorrência para a praia de Taquaras, Santa Catarina, Brasil. *Acta Biológica Paranaense*. **29** (1, 2, 3, 4): 265-285.
- Souza, L.L., Azevedo, H., Vargas, A.B., Senna, A.R. & Souza, L. A.** 2013. First record of *Porcellionides pruinosus* (Brandt, 1833) (Oniscidea: Porcellionidae) from Trindade Island, off Espírito Santo state coast, Brazil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*. **32**: 71-78.
- řpaldonřvř, A. & Frouz, J.** 2014. The role of *Armadillidium vulgare* (Isopoda: Oniscidea) in litter decomposition and soil organic matter stabilization. *Applied Soil Ecology*. **83**: 186-192.
- Valle, A.G., Osorno-Arango, A.M. & Gil-Agudelo, D.L.** 2011. Estructura y regeneraciřn del bosque de manglar de la ciénaga de Cholřn, Isla Barř, Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. **40** (1): 115-130.
- Van Name W.G.** 1924. Isopods from the Williams Galapagos Expedition. *Zoologica*. **5**: 181-210.
- Van Name, W.G.** 1936. The American land and fresh-water isopod Crustacea. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **71**: 1-535.
- Vandel, A.** 1972. Les isopodes terrestres de la Colombie. *Studies on Neotropical Fauna*. **7** (2): 147-172.

Ascomicetos de los guaduales en la reserva natural La Montaña del Ocaso, departamento del Quindío, Colombia

Ricardo Soto-Agudelo¹, Ricardo Valenzuela², Germán. D. Gómez-Marín¹, Tania Raymundo^{2,*}

¹Centro de Estudios e Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío, Armenia, Quindío, Colombia.

²Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Laboratorio de Micología. Plan de Ayala y Carpio s/n, Col. Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo, Ciudad de México, México.

Resumen

Se estudiaron 29 especies de ascomicetos recolectados en los guaduales de la Reserva Natural “La Montaña del Ocaso” del municipio de Quimbaya del departamento del Quindío en Colombia. De las especies encontradas, 15 crecen exclusivamente sobre restos en descomposición de *Guadua angustifolia*, 10 sobre madera en descomposición de árboles que crecen entre los guaduales y cuatro son parásitas de otros ascomicetos. De las especies encontradas, sólo *Cookeina sulcipes* ha sido mencionada para el Departamento del Quindío, las restantes 28 son citadas por primera vez para dicho departamento y de éstas, 19 son nuevos registros para Colombia. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: *Guadua angustifolia*; Hypocreales; Orbiliales; Pezizales; Pleosporales; Xylariales.

Ascomycetes of the guadua forests in the natural reserve “La Montaña del Ocaso”, Quindio department, Colombia

Abstract

Twenty nine species of Ascomycetes collected in the guadua from Natural Reserve of “Montaña del Ocaso” at the municipality of Quimbaya in the Quindío Department from Colombia are studied. Of these, 15 species only grow on decayed debris of *Guadua angustifolia*, 10 were found on decay wood of trees and four are parasites of others ascomycetes fungi. Of the collected species, only *Cookeina sulcipes* has been mentioned for Quindío Department, the remaining species are cited for the first time to this Department, and of these, 19 are new records from Colombia. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: *Guadua angustifolia*; Hypocreales; Orbiliales; Pezizales; Pleosporales; Xylariales.

Introducción

La Reserva Natural “La Montaña del Ocaso” se ubica en las coordenadas 4°34'08” LN y 75°51'03” LO dentro de la finca “El Ocaso” ubicada en la Vereda “El Laurel”, al sur del municipio de Quimbaya (departamento del Quindío) a una altitud entre 975 y 1100 m. El manejo técnico-científico de la reserva está a cargo de la Universidad del Quindío (Agudelo y Gómez, 2001). Los principales relictos de vegetación presentes en la Reserva Natural “La Montaña del Ocaso” son dominados por guaduales y un bosque andino. Los guaduales constituyen recursos florísticos de gran importancia ecológica por presentar condiciones de humedad, luz y temperatura que propician el desarrollo de un gran número de especies vegetales, animales y fúngicas. En este tipo de vegetación, la especie forestal dominante es *Guadua angustifolia* Kunth también conocida como “bambú colombiano” que es considerado el tercer bambú más grande del mundo y puede alcanzar hasta 30 m de

altura (Agudelo y Gómez, 2001; Moreno-M, Trujillo y Osorio, 2007). Ramírez-Díaz y Camargo (2015) realizaron un estudio sobre la diversidad vegetal asociada a los guaduales y encontraron 67 familias y 197 géneros de plantas herbáceas, arbustivas y arbóreas, con las familias Moraceae, Rubiaceae, Solanaceae, Araceae y Lauraceae como las más predominantes. *Guadua angustifolia* es la especie nativa más importante de Colombia. Es un recurso natural que hasta hace pocos años sólo era utilizada para la construcción, pero hoy en día, se perfila como una nueva y excelente alternativa en la industria textil, construcción, artesanía, productos farmacéuticos, cosméticos naturales, alimentos, forraje industrial, y producción de pulpa y papel (Restrepo-F., Vélez-A., Botero-A. y Pulido-V., 2005). Por

*Correspondencia:

Tania Raymundo, traymundoo@ipn.mx

Recibido: 13 de marzo de 2016

Aceptado: 11 de julio de 2016

otro lado, tenemos a los hongos del Phylum Ascomycota que son el grupo más diverso en el planeta con 64.163 especies (Kirk, Canon, Minter y Stalpers, 2008). Sin embargo, en Colombia se han registrado 181 especies de ascomicetos macroscópicos de acuerdo con el trabajo de Vasco-Palacios y Franco-Molano (2013) y de los microscópicos no se ha precisado la cifra. En el departamento del Quindío se han citado dos especies de ascomicetos *Cookeina sulcipes* y *C. tricholoma* por Franco-Molano en 2002 (fide Vasco-Palacios y Franco-Molano, 2013). Los estudios que registran especies de hongos asociadas a los guaduales son escasos, entre ellos tenemos el de Restrepo-F. et al. (2005), quienes aislaron y preservaron cuatro géneros de Agaricomycetes asociados al cultivo de guadua. El conocimiento sobre el bambú colombiano es basto, pero se conoce poco sobre los hongos asociados a ella, por lo que en el presente trabajo se tiene como objetivo determinar la diversidad taxonómica de los hongos del Phylum Ascomycota asociados a los guaduales y en particular a *Guadua angustifolia* en el departamento del Quindío en Colombia.

Material y métodos

En el presente trabajo se realizaron dos exploraciones en octubre y diciembre de 2015, en donde se recolectaron 81 especímenes de ascomicetos asociados a los guaduales y se determinaron 29 especies. Todo el material fue recolectado en la Reserva Natural “La Montaña del Ocaso” del municipio de Quimbaya del departamento del Quindío a una altitud de 1000 m. Se registraron los datos de campo de los ejemplares recolectados como tamaño, forma, color del ascoma, así como el sustrato donde crecían y se les tomaron fotografías *in situ* con una cámara Nikon P510 y una Nikon D7000 con un lente DX Micro 85 mm; después, los ejemplares se deshidrataron, desinfectaron, etiquetaron y depositaron en el Herbario de la Universidad de Quindío (HUQ) con duplicados en la colección de hongos “Dr. Gastón Guzmán Huerta” del Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (ENCB). En el laboratorio se realizaron preparaciones temporales en alcohol al 70% y KOH al 5%, para observar y describir el tamaño, forma, color de las ascas, ascosporas, células estériles, así como la disposición de hifas o células del excipulo medular y ectal del apotecio, o paredes de los peritecios o pseudotecios. Los ejemplares se determinaron con las obras de Breitenbach y Kränzlin (1984), San Martín y Rogers (1989, 1995), Ju y Rogers (1996), Rogers y Ju (1998), Ju, Rogers, San Martín y Granmo (1998), Iturriaga y Pfister (2006), Chaverri, Huhndorf, Rogers y Samuels (2011), Liu, et al. (2011), Stadler, et al. (2014), Herrera, Rossman, Samuels, Liparini y Chaverri (2015). De las especies estudiadas, se indica con (*) a los nuevos registros para el departamento del Quindío y se da su distribución en Colombia, mientras que con (**) las especies que se citan por primera vez para Colombia y se incluye su descripción y distribución en el mundo. Se anexan láminas y fotografías *in situ* de las especies estudiadas.

Resultados

Dothideomycetes, Patellariales, Patellariaceae

*****Rhytidhysteron rufulum*** (Spreng.) Speg., Anal. Soc. Cient. Argent. 90 (1-6): 177, 1921. **Figura 1A**

Histerotecios de 1-4 mm de largo y 0,5-1 mm de ancho, naviculares, alargados, rectos o flexuosos cuando jóvenes, con los extremos agudos, algunos son trirradiados, negros, carbonáceos, errumpentes, superficiales, gregarios, raramente solitarios, cuando maduros o con la humedad abren de forma irregular a discoidal, tomando la forma apotecial, de 2-5 mm de diámetro, mostrando el epitecio de color anaranjado rojizo a negro al madurar y cambiando a rojo a magenta con KOH, con los márgenes involutos. Surco longitudinal conspicuo, con el margen transversalmente estriado. Peridio de 40-72 µm de grosor, adelgazándose hacia el extremo basal y la parte media, parte apical más gruesa, carbonoso, glabro, compuesto por células pseudoparenquimáticas globosas a subglobosas, de 9,6-12 × 8-8,8 µm, de paredes gruesas, de 1,6-2,4 µm de grosor. **Pseudoparáfisis** capitadas, septadas, hialinas, ramificadas hacia el ápice, de 1,6-2,4 µm de diám., fuertemente ensanchadas hacia el extremo apical, hasta 3,2-5,6 µm de ancho, fuertemente anastomosadas por encima de las ascas, formando un epitecio anaranjado, de 25,6-32 µm de grosor, el cual se torna violeta al reaccionar con KOH 5%. **Ascas** de 152-199,5 × 12,2-15,2 µm, bitunicadas, de paredes gruesas, cilíndricas, hialinas, octosporicas, con la base sinuosa. **Ascosporas** de 27,2-30,4 × 11,2-12 µm, elipsoides a oblongas, ligeramente curvadas, uniseriadas, de pared gruesa y lisa, pigmentadas de marrón a marrón rojizo, con tres septos transversales, cingulados.

Material examinado. 29 octubre 2015, R. Soto-Agudelo 3 (HUQ); 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 67 (HUQ); T. Raymundo 5931 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie crece gregaria en ramitas en descomposición de arbustos que crecen en los guaduales. Samuels y Müller (1979) indicaron que es una especie de amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales de América. Murillo, Albertazzi, Carranza, Lumbsch y Tamayo (2009) lo citan de Costa Rica, e incluyen ejemplares de Estados Unidos, Puerto Rico y Venezuela. En México ha sido registrado por Méndez-Mayboca, Checa, Esqueda y Chacón (2010), Chacón, Tapia y Esqueda (2014) y Raymundo, et al. (2014) de bosque tropical seco. En este trabajo se cita por primera vez para Colombia.

Pleosporales, Insertae sedis

*****Astrosphaeriella stellata*** (Pat.) Sacc., Syll. fung. 24 (2): 938, 1928. **Figura 1B**

Pseudotecios gregarios errumpentes, de 500-800 µm de diámetro, piriformes, de color marrón a vináceo oscuro con el ápice negro a completamente negros cuando maduros, textura carbonosa y superficie lisa con restos de sustrato en la base que le confiere una apariencia de estrella. **Ostíolos** papilados, prominentes. Peridio de 36-100 µm de grosor,

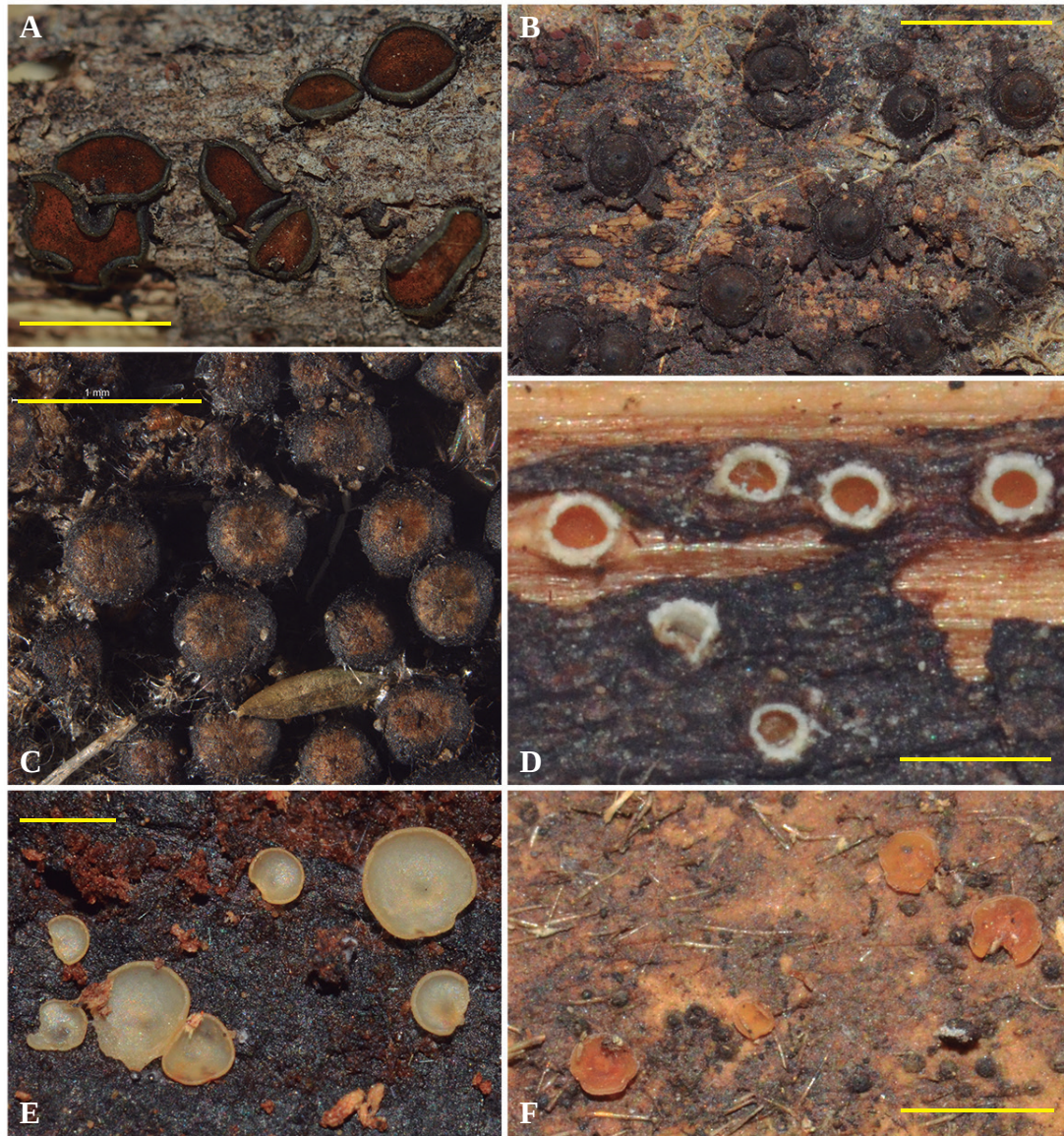


Figura 1. A-F: A. *Rhytidhysteron rufulum*, B. *Astrosphaeriella stellata*, C. *Byssosphaeria rodolphala*, D. *Stictis radiata*, E. *Orbilia sarraziniana*, F. *O. xanthostigma* (escala=1 mm).

poco desarrollado en la base. **Pseudoparáfisis** trabeculares, numerosas anastomosadas en las ramificaciones, hialinas, septadas, de hasta 1,2 de diám., embebidas en una matriz gelatinosa. **Ascas** de $180-225 \times 12-14,6 \mu\text{m}$, bitunicadas, cilíndricas a clavadas, hialinas, octospóricas. **Ascosporas** de $44-52 \times 5,6-7,2 \mu\text{m}$, fusiformes, con un septo central constreñido, hialinas cuando inmaduras a marrón pálido a marrón grisáceo al madurar y están rodeados por una vaina mucilagínosa, vaina truncada o redondeada en los extremos, desaparece con el KOH, los extremos de las ascosporas adelgazados en el ápice, redondeados.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 50, 72, 75, 78, 83 (HUQ); R. Valenzuela 16403, 16421, 16423 (HUQ, ENCB); T. Raymundo 5900, 5916, 5941 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie crece sobre restos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Citada de **Taiwan por Chen y Hsieh (2004a)** y de Australia, China, Filipinas, Francia, Guyana Francesa, India, Indonesia, Japón, Papúa Nueva Guinea, Tailandia y Vietnam por **Liu et al. (2011)**. Se registra por primera vez para Colombia.

Melanommataceae

*****Byssosphaeria rhodomphala* (Berk.) Cooke, Grevillea 15 (no. 75): 81, 1887. Figura 1C**

Pseudotecios superficiales, gregarios, de $350-650 \mu\text{m}$ de diámetro, globosos, subglobosos a turbinados, colapsándose con la edad, con ostiolo de color anaranjado brillante a anaranjado ladrillo, con estrías o surcos que rodean el poro circular, la base es oscura a negra. Subículo bien

desarrollado, formado por un tomento negro. Peridio de 25-80 μm de grosor, formado por células isodiamétricas, pseudoparenquimatosas, rojizas en la parte apical, al contacto con KOH al 5% desprende una coloración vinácea. **Pseudoparáfisis** trabeculares, hialinas, de 1-2 μm , de diám. **Ascas** de 78-110 $\times$ 10-12 μm , bitunicadas, clavadas a cilíndricas, octosporicas. **Ascosporas** de 20-22 $\times$ 6,4-7,2 μm , bicelulares, con septo medio constreñido, fusoides, de color marrón amarillento, con los extremos obtusos.

Material examinado. 29 octubre 2015, *R. Soto-Agudelo* 44 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie se desarrolla sobre madera en descomposición de una leguminosa (*Fabaceae*). Citada de Cuba, EUA, Panama, Trinidad (**Barr**, 1984), Brasil (**Réblov**, 1997), **Taiwan** (**Chen y Hsieh**, 2004b) China (**Li y Zhuang**, 2008), México, Puerto Rico (**Chacón-Zapata y Tapia-Padilla**, 2013) y Argentina (**Gallo, Robledo, Romero y Catania**, 2014), todos mencionan que crece sobre madera en descomposición. No citada previamente de Colombia.

Lecanoromycetes, Ostropales, Stictidaceae

***Stictis radiata** (L.) Pers., *Observ. mycol.* 2: 73, 1800. **Figura 1D**

Material examinado. 29 octubre 2015, *R. Soto-Agudelo* 46 (HUQ); 29 diciembre 2015, *R. Soto-Agudelo* 52 (HUQ); *R. Valenzuela* 16404, 16413, 16414 (HUQ, ENCB); *T. Raymundo* 5902 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Crece en restos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Se conoce previamente de Colombia del Parque Nacional Los Nevados (**Boekhout y Pulido**, 1989; **Pulido y Boekhout**, 1989). En este trabajo se cita por primera vez para el Quindío.

Orbiliomycetes, Orbiliales, Orbiliaceae

****Orbilina sarraziniana** Boud., *Revue mycol.* 7: 221, 1885. **Figura 1E**

Apotecios discoide de 300-850 μm de diámetro, turbinado a discoide, sésiles, de color pálido amarillento a rosado en fresco a anaranjado en seco, translucido. **Excípulo ectal** de 50 μm de grosor, textura angular, hialino en KOH, con células angulares de 11-14 μm de diámetro, pared delgada, pigmentos amarillentos. Células marginales corticales con textura globulosa, células de hasta 20 μm de diámetro. **Excípulo medular** de 60 μm de grosor, de color pálido amarillo a ocráceo, textura intricata. **Paráfisis** hialinas, cilíndricas, ápice fuertemente clavado-capitado, de 2-4 μm de diám. en el ápice y no rebasan la longitud del asca. **Ascas** de (30-) 38-40 (-46) $\times$ 2-3 μm , hialinas, octosporicas, biseriadas. **Ascosporas** de (7-) 8-10 $\times$ 1 μm , cilíndricas a fusiformes, ápice agudo, base ligeramente atenuadas, hialinas, de paredes delgadas y lisas.

Material examinado. 29 diciembre 2015, *T. Raymundo* 5910 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. El espécimen fue recolectado sobre estromas de *Annulohypoxylon multiforme*,

y crece como parásito de esta especie. Citada de Suiza por **Breitenbach y Kränzlin** (1984). No se conocía de Colombia.

****Orbilina xanthostigma** (Fr.) Fr., *Summa veg. Scand.*, Section Post.: 357, 1849. **Figura 1F**

Apotecios discoide de 300-350 μm de diám., cupuliformes a discoidales, sésiles, de color anaranjado rojizo, translucido en fresco, marrón anaranjado en seco. **Excípulo ectal** de 50 μm de grosor, textura angular, de color amarillo pálido en KOH, con células angulares de 11-14 μm de diámetro, pared delgada, pigmentos amarillentos. Células marginales corticales de textura globulosa, hasta de 16 μm de diámetro. **Excípulo medular** de 60 μm de grosor, de color pálido amarillo a ocráceo, textura intricata. **Paráfisis** hialinas, cilíndricas, ápice ligera a fuertemente clavado-capitado, de 1-3 μm de diámetro en el ápice. **Ascas** de (30-) 38-40 (-46) $\times$ 2-3 μm , hialinas, octosporicas, biseriadas. **Ascosporas** de (6-) 8-10 $\times$ 1 μm , cilíndricas a alantoides, ápice agudo, ligeramente atenuadas en la base, hialinas, de paredes delgadas y lisas.

Material examinado. 29 diciembre 2015, *T. Raymundo* 5930 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Creciendo sobre estromas de un hongo de la familia *Diatrypaceae* sobre una rama muerta de angiosperma. Esta especie ha sido citada de Suiza por **Breitenbach y Kränzlin** (1984). En el presente trabajo se menciona por primera vez para Colombia.

Pezizomycetes, Pezizales, Pezizaceae

***Cookeina speciosa** (Fr.) Dennis, *Mycotaxon* 51: 239, 1994. **Figura 2G**

Material examinado. 29 diciembre 2015, *R. Soto-Agudelo* 51 (HUQ); *R. Valenzuela* 16402 (HUQ, ENCB); *T. Raymundo* 5901 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. La especie fue recolectada en restos de tallos en descomposición de *Guadua angustifolia*. En Colombia fue citado por **Guzmán, Torres, Ramírez-Guillen y Ríos-Hurtado** (2004), **Franco-Molano et al.** (2005), **Vasco-Palacios, et al.** (2005) y **Betancour, M, Calderón, Betancourt, O y Sucerquia** (2007) de los departamentos de Amazonas, Antioquia, Choco, Caldas y Caquetá creciendo sobre madera en descomposición de angiospermas. No citada previamente en el Quindío.

Cookeina sulcipes (Berk.) Kuntze, *Revis. gen. pl.* 2: 849, 1891. **Figura 2H**

Material examinado. 29 octubre 2015, *T. Raymundo* 5899 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. La especie se localizó en restos de *Guadua angustifolia*. En Colombia ha sido citado por **Franco-Molano** en 2002 (*vide* **Vasco-Palacios y Franco-Molano**, 2013) del Quindío, y por **Franco-Molano, Vasco-Palacios, López-Quintero y Boekhout** (2005), **Vasco-Palacios, et al.** (2005) de los departamentos de Amazonas, Antioquia, Choco, Caldas y Caquetá sobre madera en descomposición de otros hospederos.



Figura 2. G-N: G. *Cookeina speciosa*, H. *C. sulcipes*, I. *Phillipsia domingensis*, J. *Cosmospora annulohypoxili*, K. *C. ustulinae*, L. *Haematonectria haematococca*, M. *Thelonectria jungeri*, N. *Hypocreopsis macrostoma*. (escala G-I=5 cm, J-N=1mm).

****Phillipsia domingensis*** Berk., J. Linn. Soc. Bot. 18: 388, 1881. **Figura 2I**

Material examinado. 29 octubre 2015, R. Soto-Agudelo 9 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Fue recolectada en madera en descomposición de árboles que crecen entre los guaduales. En Colombia ha sido mencionada en el departamento de Caquetá (*Franco-Molano, et al., 2005; Vasco-Palacios, et al., 2005*). En este trabajo se registra por primera vez para el Quindío.

Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Hypocreales, Nectriaceae

*****Cosmospora annulohypoxili*** C. Herrera & P. Chaverri, in *Herrera, et al. Mycologia* 107: 545, 2015. **Figura 2J**

Peritecios de $192-200 \times 175-200 \mu\text{m}$, subglobosos, con ápices redondeados de $80-85 \times 35-40 \mu\text{m}$, de superficie lisa y colapsados lateralmente cuando secos, de color rojo, cambian a amarillo en ácido láctico; gregarios a solitarios sobre el hospedero. Pared del peritecio de $20 \mu\text{m}$ de diámetro. **Ascos** de $50-60 \times 5-5.5 \mu\text{m}$, octosporicas, cilíndricas, uniseriadas, hialinas en KOH 5%. **Ascosporas** de $(5.6-6.4) \times (2.4-3.4) \mu\text{m}$, elipsoidales, con septo en la parte media, hialinas, verrucosas en azul de algodón y lactofenol.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Valenzuela 16400 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Fue encontrada creciendo sobre estromas de *Annulohypoxylon multiforme*, de la cual es parásita. *Herrera, et al. (2015)* describieron recientemente esta especie para Louisiana, EE UU y

mencionan que solo crece sobre *Annulohypoxylon coharens* y *A. multiforme*. Esta especie se describe por primera vez en Colombia.

****Cosmospora ustulinae** (Teng) C. Herrera & P. Chaverri, in **Herrera, et al.** Mycologia 107: 550, 2015. **Figura 2K**

Peritecios de 209-228 µm de alto y 171-199.5 µm de diámetro, piriforme, de color rojo, estroma inconspicuo. Cuello de 95-110.2 µm de alto y 28.5-43.7 µm de diámetro, en ocasiones se pueden observar las perifisis emergiendo del ostíolo inconspicuo a simple vista. Pared de 18-20 µm de diámetro, tornándose rojo oscuro con KOH al 5% y naranja o amarillento con ácido láctico, lisa; células de 8-12 µm de largo y 2,4-4,8 µm de diámetro, formando textura epidermoidea. **Ascas** de 50,4-57,6 × 5,4-5,6 µm, cilíndricas, hialinas, sin aparato apical aparente, conteniendo ocho ascosporas dispuestas de forma uniseriada. **Ascosporas** de 6,4-8,8 × 4-5 µm, elipsoides, constreñidas por un septo central, hialinas a amarillentas, verrugosas en azul de algodón y lactofenol.

Material examinado. 29 octubre 2015, *R. Soto-Agudelo 11* (HUQ); 29 diciembre 2015, *R. Soto-Agudelo 53* (HUQ); *R. Valenzuela 16405* (HUQ, ENCB); *T. Raymundo 5903* (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Los especímenes colombianos fueron encontrados sobre estromas de *Kretzschmaria pavimentosa* (Hoffm.) P.M.D. Martin. Esta especie se ha citado de China, Japón, Portugal y Estados Unidos de América por **Herrera, et al.** (2015). Se registra por primera vez para Colombia.

***Haematonectria haematococca** (Berk. & Broome) Samuels & Rossman, in Rossman, Samuels, Rogerson & Lowen, Stud. Mycol. 42: 135, 1999. **Figura 2L**

Peritecios de 300-377 µm de diámetro, globosos a piriformes, de color rojo a naranja rojizo, colapsados lateralmente cuando secos, cambiando a rojo oscuro en KOH 5% y amarillo en ácido láctico, la superficie está cubierta de escamas de color naranja; solitarios a gregarios, superficiales en el sustrato. **Ostíolo** inconspicuo, perifisis de 58-60 × 0,8-1 µm, curvadas en el ápice, hialinas en KOH 5%. Pared del peritecio de 70-90 µm de grosor, con dos capas de células, la externa formada por células de 19-26,4 µm de diámetro, formando textura globulosa y las escamas en vista macroscópica, de pared gruesa, hialinas y amarillentas en KOH 5%. La capa interna está formada por células de 15-25,6 µm de diámetro, de pared delgada, formando textura epidermoidea a casi globulosa. **Ascas** de 80-84 × 6,9-7,2 µm, con estípites largos, octosporicas, cilíndricas a clavadas, con un anillo apical visible en ácido láctico, hialinas. **Ascosporas** de 12,8-14,4 × 5,6-6,4 µm, apicalmente biseriadas, elipsoides, con un septo, hialinas y finamente estriadas.

Material examinado. 29 octubre 2015, *R. Soto-Agudelo 3* (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. La especie crece en ramas recién caídas de *Guadua angustifolia*. Se distribuye en

la región pantropical (**Chaverri, et al.**, 2011). Fue registrado de los departamentos de Antioquia, Cundinamarca y Valle del Cauca en Colombia por **Samuels y Dumont** (1982). Se cita por primera vez para el Quindío.

****Thelonectria jungneri** (Henn.) P. Chaverri & C. Salgado, in Chaverri, Salgado, Hirooka, Rossman & Samuels, Stud. Mycol. 68: 76, 2011. **Figura 2M**

Peritecios de 539-623,7 × 308-469,7 µm, obpiriformes, similares a jarrones, superficiales, de color rojo cuando fresco, no colapsados en su mayoría cuando secos aunque en ocasiones colapsados lateralmente, color rojo oscuro en KOH 5% y amarillo en ácido láctico, superficie lisa a ligeramente rugosa, gregarios. **Ostíolo** levemente papilado, de 135-180 µm de diámetro, del mismo color que el resto del peritecio o bien negruzco a casi morado. Pared de 25-38 µm de diámetro. **Ascas** de 70-97 × 12-17 µm, clavadas, octosporicas, biseriadas, hialinas, anillo apical visible en ácido láctico. **Ascosporas** de 26,4-28,8 × 11,2 µm, fusiformes, con un septo en la parte media, hialinas, con marcadas estriaciones longitudinales visibles en KOH.

Material examinado. 29 octubre 2015, *R. Soto-Agudelo 8* (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Fue recolectada sobre restos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Esta especie se ha citado de Japón (**Hirooka y Kobayashi** 2007), de Taiwan (**Guu, Ju y Hsieh**, 2007), de Costa Rica (**Chaverri, et al.**, 2011) y de México (**Raymundo, et al.**, 2014). En este trabajo se registra por primera vez para Colombia.

Hypocreaceae

****Hypocreopsis macrostoma** (Berk. & M.A. Curtis) E. Müll., in Müller & von Arx, Beitr. Kryptfl. Schweiz 11 (no. 2): 650, 1962. **Figura 2N**

Estromas de 1-10 × 1-12 mm de ancho y de 400-1200 µm de alto, bien desarrollados, pulvinados, convexos o irregulares, de color naranja rosado, formados por hifas de 4-5 µm de diámetro, formando textura intricata, hialinas a amarillentas en KOH 5%. **Peritecios** de 140,6-207,9 × 98,8-177,1 µm, globosos a subglobosos, completamente inmersos en el estroma, a excepción del ostíolo. **Ostíolos** apenas visibles, de 70-80 µm de diámetro, color rosa brillante. Pared del peritecio de 9,6-21,6 µm de diámetro, con células de 7,2-8 × 2,4-3 µm, formando textura prismática a casi epidermoidea, con paredes delgadas, de color amarillo dorado. **Ascas** de 70-74,4 × 6-7,2 µm, octosporicas, cilíndricas, con anillo apical. **Ascosporas** de 10,4-11,2 × 4,8 µm, uniseriadas, elipsoides a ligeramente fusiformes, con un septo en el centro, hialinas, ligeramente rugosas o verrucosas en ácido láctico. Su estado asexual era conocido como *Stilbella aleuriata* (Berk. & M.A. Curtis) Seifert, forma **sinemas** de 500-1750 × 80-135 µm, solitarios, de color amarillo-naranja, rectos a ligeramente curvados, con masa conidial en la parte apical. **Conidióforos** colocados en la parte apical del sinema, ramificados, con 2 a 3 fíalides de 12-20 × 1-2 µm; **conidios** unicelulares de 2,4-4 × 1,6-2,4 µm, oblongos a elipsoidales, hialinos.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 57, 58, 79 (HUQ); R. Valenzuela 16408, 16409 (HUQ, ENCB); T. Raymundo 5913, 5914, 5915 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie fue recolectada tanto en tallos vivos como recién caídos de *Guadua angustifolia*. Citada de Taiwán (Guu, et al., 2010), de Costa Rica (Chaverri, et al., 2011) y de México (Raymundo, et al., 2014). No se conocía en Colombia.

***Trichoderma patella** (Cooke & Peck) Jacklitsch & Voglmayr, Mycotaxon 126: 151, 2014. **Figura 3Ñ**

Estroma pulvinado de 1100-1350 × 680-770 µm, superficie plana, peritecios poco evidentes o sobresaliendo el ostíolo a manera de papilas. Capa superficial del estroma de 48-56 µm de grosor, células marrón rojizas, subglobosas a angulares, de 8-9,6 µm, de diámetro, paredes delgadas a gruesas, de hasta 1.5 µm de grosor. **Peritecios** de 162-170 × 126-153 µm; peridio de 24-40 µm de grosor, con células marrón rojizas, subglobosas, de 4-4,5 µm de diámetro. **Ascas** de 67.2-72 × 4-4.4 µm, cilíndricas, hialinas, octosporicas. **Ascosporas** uniseriadas, bicelulares, hialinas, finamente espinulosas, con la parte distal globosa, de 2,8-4 × 2,8-3.2 µm, y la parte proximal subglobosa a oblonga, de 3,6-4,8 × 2,8-3.2 µm.

Material examinado. 29 octubre 2015, R. Valenzuela 16397 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. La especie se encontró en tallos vivos de *Guadua angustifolia*. Chaverri, et al. (2011) la citaron de Costa Rica y Colombia. Se cita por primera vez del departamento del Quindío.

Sordariomycetidae, Chaetosphaeriales, Chaetosphaeriaceae

****Chaetosphaeria lapaziana** (Carroll & Munk) F.A. Fernández & Huhndorf, Fungal Diversity 18: 49, 2005. **Figura 3O**

Peritecios de 600-1000 × 400-800 µm, ovoides a piriformes, marrón oscuro a negros y lisos. Pared gruesa de 50-90 µm de grosor, con textura globosa formada de 12-18 capas de células pseudoparenquimáticas a angulares, isodiamétricas de 30-40 µm de diámetro, marrón pálido y liberando pigmentos purpuras en KOH al 5%. **Ostíolo** de 35-80 µm de diám. **Paráfisis** de 3-4 µm de diámetro, septadas y hialinas. **Ascas** de 160-280 × 12-24 µm, cilíndricas con el ápice redondeado, octosporicas y triseriadas. **Ascosporas** de 45-90 × 4,6-6,8 µm, filiformes a cilíndricas, extremos redondeados, heptaseptadas, ligeramente curvadas, hialinas, de pared delgada, lisas.

Material examinado. 29 diciembre 2015, T. Raymundo 5943 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie se recolectó sobre tallos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Se ha citado de Costa Rica, Guyana Francesa, Jamaica y Puerto Rico (Fernández y Huhndorf, 2005; Chaverri, et al., 2011). En este trabajo se menciona por primera vez para Colombia.

Xylariales, Diatrypaceae

****Diatrype bermudensis** Rappaz, Mycologia Helvetica 2:440, 1987. **Figura 3P-Q**

Estromas de 4-12 mm de largo y 0,5-1 (-2) mm de ancho, lineares, forma hileras múltiples paralelas al tallo, superficie rugosa o granulosa por los cuellos y ostíolos de los peritecios errumpentes, solitarios o confluentes, de color gris oscuro a negro. **Peritecios** de 400-550 × 200-300 µm, globosos a subglobosos, con el cuello de 150-180 × 50-70 µm, cilíndrico, proyectándose ligeramente de la superficie del estroma. **Ascas** de 28-42 × 6-8 µm, cilíndricas a claviformes, pedicelada, con un base delgada alargada, octosporicas. **Ascosporas** de 9-12 × 2-2.5 µm, irregularmente dispuestas, unicelulares, alantoides a fuertemente curvadas, amarillentas a marrón pálido en KOH, de paredes delgadas, lisas.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 66 (HUQ); T. Raymundo 5925, 5940 (ENCB); R. Valenzuela 16415, 16422 (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. La especie fue recolectada en la base de tallos vivos o muertos de *Guadua angustifolia*. Rappaz (1987) la describió de Bermudas sobre bambú muertos y Chacón, Dörge, Weisenborn y Piepenbring (2013) de Panamá creciendo en tallos muertos de *Guadua angustifolia*. No registrada previamente de Colombia.

Xylariaceae

***Annulohypoxylon multiforme** (Fr.) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh, Mycologia 97(4): 859, 2005. **Figura 3R**

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 69 (HUQ); R. Valenzuela 16419 (ENCB); T. Raymundo 5929 (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Se encontró tanto en tallos vivos como recién caídos de *Guadua angustifolia*. Esta especie fue citado del Valle del Cauca por Chardon & Toro en 1930 (fide Vasco-Palacios y Franco-Molano, 2013). Se menciona por primera vez para el Quindío.

****Camillea coroniformis** J. D. Rogers, F. San Martín & Y. M. Ju, Sydowia 54: 87, 2002. **Figura 3S**

Estroma de 20-50 × 20-30 mm, circular, elipsoidal a irregular en forma, errumpente, aplanado en la superficie, de color negro brillante, consistencia carbonosa. **Peritecios** de 700 × 300 µm, tubulares, completamente inmersos en el estroma. **Ascas** de 120-135 × 7-9 µm, con anillo apical amiloide, octosporicas. **Ascosporas** de 14-16 × 5-6 µm, elipsoidales, hialinas, con ápices agudos, sin línea germinal.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 55; T. Raymundo 5908 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Fue recolectada en árboles recién caídos de angiospermas en los guaduales. Citada de Costa Rica (Rogers, San Martín y Ju, 2002) y de México (Raymundo, et al., 2014). Se registra por primera vez para Colombia.

***Daldinia eschscholtzii** (Ehrenb.) Rehm, Annls Mycol. 2(2): 175, 1904. **Figura 3T**

Material examinado. 29 octubre 2015, T. Raymundo 5897 (HUQ).

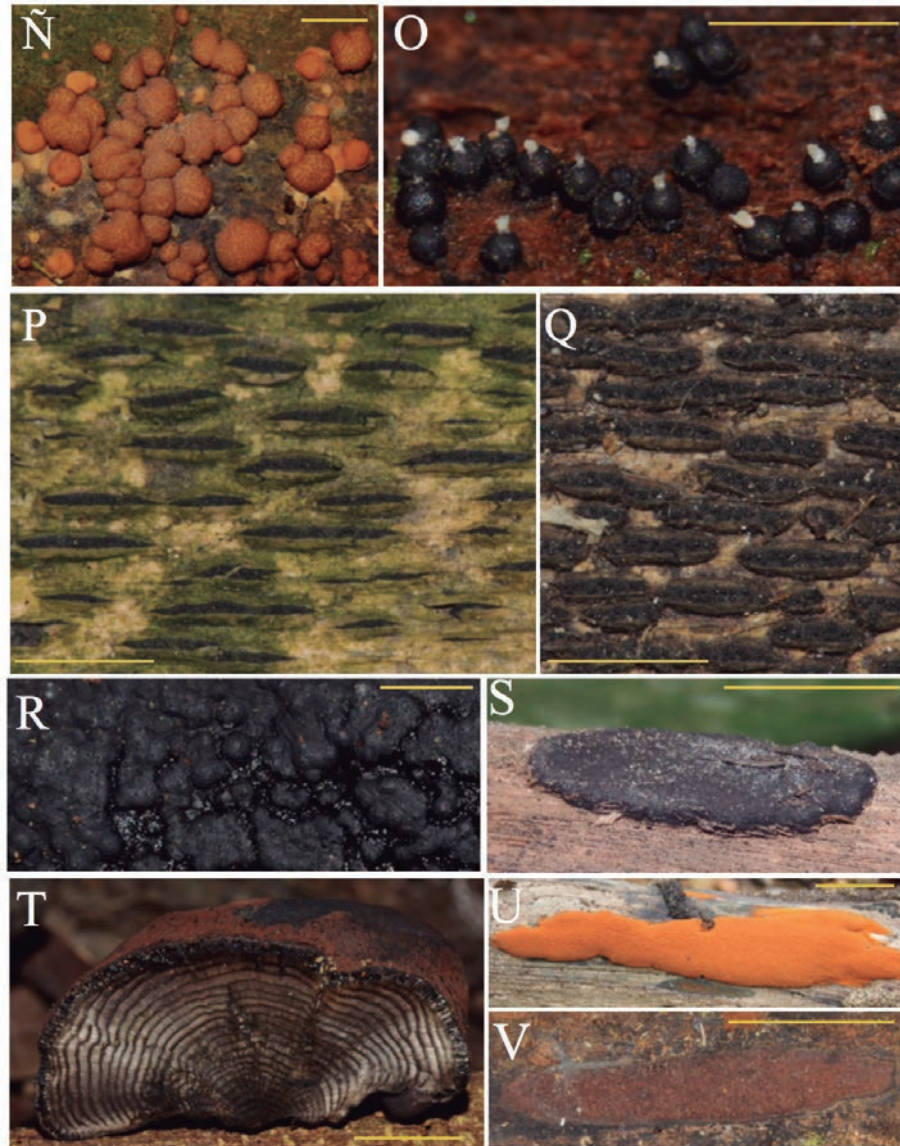


Figura 3. Ñ-V: Ñ. *Trichoderma patella*, O. *Chaetosphaeria lapaziana*, P-Q. *Diatrype bermudensis*, R. *Annulohypoxylon multiforme*, S. *Camillea coroniformis*, T. *Daldinia eschscholtzii*, U. *Hypoxylon haematostroma* V. *Hypoxylon investiens*. (escala = 2 cm).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie se encontró solitaria o gregaria en madera en descomposición de árboles en los guaduales. En Colombia ha sido registrada del Chocó por **Guzmán, et al.** (2004) y de Antioquia por **Stadler, et al.** (2014). No había sido mencionada para el Quindío.

*****Hypoxylon haematostroma*** Mont., in Sagra, Annls Sci. Nat., Bot., sér. 2, 17: 124, 1842. **Figura 3U**

Estroma de 300-500 × 200-400 × 1.5-3 mm, plano a efuso-pulvinado, con peritecios inconspicuos a poco conspicuos, superficie de color naranja brillante con gránulos rojos, a naranja oscuro al madurar, pigmentos extraíbles en KOH de color escarlata a naranja y marrón rojizo en ejemplares más viejos. El tejido entre los peritecios es de color negro, de 500-1000 µm de grosor. **Peritecios**

de 1000-2500 × 300-600 µm, tubulares, de color negro, con ostíolos por debajo de la superficie del estroma. **Ascas** de 80-120 × 9-11 µm, con pedicelos de 160-220 µm, con anillo apical bien desarrollado, de 1,4-2 × 3-4 µm, discoide, amiloide, octosporicas. **Ascosporas** de 14-18 × 6-8,4 µm, elipsoidales con los extremos ampliamente redondeados, marrón obscuro en KOH, poro germinal recto con perisporio dehiscente y episporio liso.

Material examinado. 29 octubre 2015, T. Raymundo 5898 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Crece solitaria o gregaria en madera en descomposición de árboles en los guaduales. Es una especie de amplia distribución en las zonas tropicales (**Ju y Rogers**, 1996). Se cita por primera vez para Colombia.

***Hypoxylon investiens** (Schwein.) M. A. Curtis, Goel. Nat. Hist. Surv. N. Carol., Pt 3: 140, 1867. **Figura 3V**

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 56, 80, 81, 82 (HUQ); R. Valenzuela 16407 (ENCB); T. Raymundo 5909, 5919, 5932, 5934, 5937 (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Se recolectó en tallos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Esta especie fue citada de Colombia del Parque Nacional Natural Los Nevados por Boekhout y Pulido (1989), Pulido y Boekhout (1989). Se registra por primera vez en el Quindío.

****Hypoxylon leneormandii** Berk. & M.A. Curtis apud. Berk., J. Linn. Soc., Bot. 10 (46): 385, 1868. **Figura 4W**

Estroma de 200-350 × 80-150 mm, aglomerado a efusopulvinado, ocasionalmente se observan peritecios solitarios tipo rosselinoide pero unidos por un subículo o estroma muy delgado y fino. **Peritecios** conspicuos de 400-970 × 300-780 µm de diámetro, globosos a subglobosos, de color marrón oscuro a marrón grisáceo, con pigmentos extraíbles en KOH, de color canela, marrón rojizo a ocráceo en ejemplares más viejos, con ostiolas agudas de color negro. **Ascas** de 124-160 × 7-9 µm, cilíndricas, con pedicelos de 32-72 µm de largo, con anillo apical, de 0,8-1,4 × 2-3 µm, discoide, amiloide, octosporicas. **Ascosporas** de 10,4-15 × 4-4,8 (-6) µm, elipsoides, con los extremos redondeados, marrón oscuro, poro germinal ligeramente sigmoide, con perisporio dehisciente y episporio liso.

Material examinado. 29 dic 2015, R. Valenzuela 16401; T. Raymundo 5907 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Crece en tallos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Registrada de Norteamérica (Ju y Rogers, 1996), México (San Martín, Ju y Rogers, 1999; Raymundo, et al., 2014) y Panamá (Carmona, Fournier, Williams y Piepenbring, 2009). No citada previamente de Colombia.

****Kretzschmaria pavimentosa** (Ces.) Cooke, J. S. Afr. Bot. 42(1): 74, 1976. **Figura 4X**

Estromas de 100-380 × 25-40 mm, completamente adherido al sustrato, pulvinados, de color marrón cobrizo a marrón oscuro a negro con la edad, de consistencia carbonácea quebradiza y hueca con la edad, con el margen lobulado. **Peritecios** de 1300-1500 × 500-900 µm de diámetro, ostiolas papiladas. **Ascas** de 500 × 10-14 µm, cilíndricas, con poro apical de 6,4-6,8 × 3,5-5,6 µm, amiloide, octosporicas. **Ascosporas** de 40-48 × 9-14 µm, fusoides, de color marrón oscuro a negras, con línea germinal longitudinal recta y lisa.

Material examinado. 29 octubre 2015, R. Soto-Agudelo 12 (HUQ); 29 diciembre 2015, R. Valenzuela 16406; T. Raymundo 5904 (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie ha sido reportada sobre monocotiledóneas como bambú y palmas, y en este trabajo sobre raíz de *Guadua angustifolia*. Citada de Brasil, Ecuador, Estados Unidos, Guayana Francesa, Honduras, Malasia, México, Nueva Zelanda y Taiwán (Rogers y Ju, 1998; Medel y Chacón, 1997

como *Ustulina pavimentosa* (Ces.) Cooke) y Cuba (Recio-Herrera y Maldonado-González, 2014). Se registra por primera vez para Colombia.

****Nummularia diatrypeoides** Rehm, Annls Mycol. 5(6): 527, 1907. **Figura 4Y**

Estroma de 1-10 mm de diámetro y hasta 1 mm de alto, circular a discoide, errumpente, plano, de color negro brillante, consistencia carbonosa. **Peritecios** de 700-800 × 300-450 µm, ovoides. **Ostiolas** evidentes abriendo de manera puntuada. **Ascas** clavadas, cortamente estipitadas, con poro apical inamilode en forma de corona, octosporicas. **Ascosporas** de 42-56 × 24-32 µm, elipsoidales, marrón oscuro, con poro germinativo recto, lisas.

Material examinado. 29 diciembre 2015, T. Raymundo 5933 (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie crece en ramas de árboles en descomposición. Fue citada de Brasil por Rhem (1907) sobre ramas caídas. Ju, et al. (1998) al estudiar el género *Biscogniauxia*, encontraron que la mayoría de las especies de *Nummularia* pertenecían a este género; sin embargo, al estudiar el espécimen tipo de *Nummularia diatrypeoides* encontraron que no se trataba de una *Biscogniauxia* y coincidieron con lo señalado por Martín en 1961 (fide Ju, et al., 1998), que la señalaba como una verdadera *Nummularia*, pero con posición taxonómica incierta y se requiere de un análisis molecular para definir bien este taxón. La descripción del material estudiado de Colombia coincide con la dada por Ju, et al. (1998) y se considera como la primera cita para el país.

****Rosellinia corticium** (Schwein.) Sacc. Syll. fung. (Abellini) 1: 253, 1882. **Figura 4Z**

Peritecios solitarios a gregarios, de 500-1500 µm de diámetro, globosos, negros, papilados, gregarios sobre un subiculum blanquecino, algodonoso. **Ascas** de 148-208 × 6-6,4 µm, cilíndricas, uniseriadas, con poro apical amiloide, octosporicas. **Ascosporas** de 19-27 × 7,5-10 µm, elipsoidales, inequiláteras, con los extremos redondeados, marrón pálido a oliváceas, con poro germinal recto, lisas.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 71 (HUQ).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie ha sido registrada sobre monocotiledóneas y en esta ocasión sobre *Guadua angustifolia* en descomposición. Citada de Europa y Asia (Petrini, 1992), México (San Martín y Rogers, 1995) y Taiwán (Ju y Rogers, 1999). Se registra por primera vez para Colombia.

****Xylaria bambusicola** Y.M. Ju & J.D. Rogers, Mycotaxon 73: 400, 1999. **Figura 4ZA**

Estromas densamente gregarios, de 20-60 × 1,0-2,5 mm, cilíndricos a clavados, con el ápice agudo y estéril, de color marrón oscuro o negro con la edad, frágil, liso con algunas papilas ostiolares evidentes, de consistencia carbonosa. **Peritecios** de 300-500 µm de diámetro, globosos, con pared gruesa. **Ascas** de 120-150 × 5-7 µm, cilíndricas, octosporicas, con poro apical de 2,4-3 × 2,5-2,8 µm, en forma de sombrero, amiloides. **Ascosporas** de



Figura 4. W-ZA. W. *H. leneormandii*, X. *Kretzschmaria pavimentosa*, Y. *Nummularia diatrypeoides*, Z. *Rosellinia corticium*, ZA. *Xylaria bambusicola*. (escala = 2 cm).

9-12 × 4-5 µm, elipsoidales, inequiláteras con los extremos redondeados, lisas y con poro germinal longitudinal recto a lo largo de la espora.

Material examinado. 29 diciembre 2015, R. Soto-Agudelo 64, 68 (HUQ); R. Valenzuela 16411, 16418 (ENCB); T. Raymundo 5924, 5928 (ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie se había registrado sobre *Bambusa oldhamii* y *Phyllostachys pubescens* en Taiwán y en Colombia se observó abundante sobre raíz y tallos en descomposición de *Guadua angustifolia*. Citada de Taiwán por Ju y Rogers (1999). Se registra por primera vez para Colombia.

***Xylaria cubensis** (Mont.) Fr., Nova Acta R. Soc. Scient., Ser. 3, 1: 126, 1851.

Material examinado. 29 diciembre 2015, T. Raymundo 5906 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie crece sobre madera en descomposición de árboles en

los guaduales. En Colombia fue citada de Caquetá por Chardon y Toro en 1930 (fide Vasco-Palacios y Franco-Molano, 2013) y del Parque Nacional Natural Los Nevados por Boekhout y Pulido (1989) y Pulido y Boekhout (1989). En el presente trabajo se cita por primera vez del Quindío.

****Xylaria grammica** (Mont.) Mont., Nova Acta R. Soc. Scient., Ser. 3, 1: 128, 1851.

Estroma claviforme con el ápice redondeado a agudo y estéril, superficie gris-blanquecina, de color marrón obscuro cuando joven y con estrías o agrietado blanquecinas longitudinales con los ostiolas inmersos. **Peritecios** de 400-600 µm de diámetro, globosos con pared gruesa. **Ascas** de 148-160 × 5-7 µm, cilíndricas, con poro apical amiloide, octosporicas. **Ascosporas** de 10-12 × 4,5-5,5 µm, elipsoidales, inequiláteras, lisas y con poro germinal longitudinal.

Material examinado. 29 diciembre 2015, T. Raymundo 5905 (HUQ, ENCB).

Distribución ecológica y geográfica. Esta especie crece sobre madera en descomposición de árboles en los guaduales. Citada de Argentina, Cuba, Paraguay (Dennis, 1956) y México (San Martín y Rogers, 1989; Medel, Castillo y Guzmán, 2008). Se cita por primera vez para Colombia.

Conclusiones

De las 29 especies estudiadas 15 se encontraron creciendo sobre *Guadua angustifolia*, lo que equivale al 51,7% por lo que el bambú colombiano representa un sustrato de gran importancia para el desarrollo de estos organismos. Los guaduales han sido inducidos en muchas localidades de Colombia para su explotación comercial y no son la excepción los estudiados en el presente trabajo, por lo que la vegetación original fue desplazada (bosque tropical seco y bosque de niebla), y los hongos que crecían sobre ésta, encontraron en *Guadua angustifolia* un excelente sustrato para ser colonizado por varias especies de ascomicetos y basidiomicetos que crecían en la vegetación original. No obstante, los estudios de la micobiota en los guaduales son escasos y hasta ahora no se habían mencionado registros de ascomicetos sobre esta planta, por lo que el presente trabajo contribuye al conocimiento sobre la dinámica de las poblaciones fúngicas de los guaduales. La familia Xylariaceae fue la mejor representada con 12 especies, y los géneros con mayor número de especies fueron *Hypoxylon* y *Xylaria* con tres especies cada una. Es importante mencionar que el alto número de registros nuevos para el país son un buen indicador para continuar con el estudio de los ascomicetos asociados a los guaduales del Departamento del Quindío y de Colombia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a las autoridades de la Reserva Natural Montaña del Ocaso y de la Universidad del Quindío por el apoyo y las facilidades otorgadas para la elaboración del presente trabajo. Valenzuela reconoce el apoyo de la COFAA e IPN en sus investigaciones, además a los proyectos SIP-20150540, SIP-20161164. Raymundo agradece a los proyectos SIP-20151530 y 20161166 del Instituto Politécnico Nacional.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Agudelo, C.A. & Gómez, G.D. 2001. Reserva Natural La Montaña del Ocaso: un nuevo modelo de conservación. (pp.26-41) En: *Monografías de la flora andina*. Importancia de la microcuenca del río Roble. Armenia: Conceptos gráficos Ltda. Universidad del Quindío.
- Barr, M.E. 1984. *Herpotrichia* and its segregates. *Mycotaxon*, **20**: 1-38.
- Betancourt, M.A. Calderon, M.H., Betancourt, O.G. & Sucerquia, A. G. 2007. Hongos macromycetes en dos relictos de bosque húmedo tropical montano bajo de la vereda la cuchilla, Marmato, Caldas. *Boletín Científico del Museo de Historia Natural*, Universidad de Caldas **11**: 19-31.
- Boekhout, T. & Pulido, M. 1989. The occurrence of macrofungi and their habitats in vegetations along the Parque Los Nevados transect, in Van der Hammen T, Díaz-P. S, Alvarez VJ (eds.) *La cordillera central colombiana transecto Parque Los Nevados* (Segunda. Parte). Berlin: J. Cramer; Estudios de Ecosistemas Tropandinos. 3.
- Breitenbach, J. & Kränzlin, F. 1984. *Champignons de Suisse I. Les Ascomycetes*. Ed. Breitenbach y Kränzlin. Lucern.
- Carmona, A., Fournier, J., Williams, C. & Piepenbring, M. (2009). New records of Xylariaceae from Panama. *North American Fungi*. **4** (3): 1-11.
- Chacón-Zapata, S. & Tapia-Padilla, F. 2013. Algunas especies del género *Byssosphaeria* (Melanommataceae, Pleosporales) de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. **84**: 739-745.
- Chacón, S., Dörge, D., Weisenborn, J. & Piepenbring, M. 2013. A new species and a new record of Diatrypaceae from Panama. *Mycologia*. **105**: 681-688.
- Chacón, S., Tapia, F., Esqueda, M. 2014. New records of Dothideomycetes from Mexico. *Mycotaxon*. **128**: 145-157.
- Chaverri, P., Huhndorf, S., Rogers, J.D. & Samuels, G.J. 2011. *Microhongos comunes de Costa Rica y otras regiones tropicales*. 1ª ed. INBIO. Costa Rica.
- Chen, C.Y. & Hsieh, W.H. 2004a. *Astrosphaeriella* from Taiwan, including two new species. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **45**: 171-178.
- Chen, C.Y. & Hsieh, W.H. 2004b. *Byssosphaeria* and *Herpotrichia* from Taiwan, with notes on the taxonomic relationship between these two genera. *Sydowia*, **56**: 24-38.
- Dennis, R.W.G. 1956. Some Xylarias of tropical America. *Kew Bulletin*. **11**: 401-444.
- Fernández, F.A. & Huhndorf, S.M. 2005. New species of *Chaetosphaeria*, *Melanopsammella* and *Tainosphaeria* gen. nov. from the Americas. *Fungal Diversity*. **18**: 15-57.
- Franco-Molano, A.E., Vasco-Palacios, A.M., López-Quintero, C. & Boekhout, T. 2005. *Macrohongos de la región medio Caquetá*. Guía de Campo. Multimpresos. Medellín.
- Gallo, M.C., I, Robledo, G., Romero, A.I. & Catania, M.V. 2014. New records of Ascomycota in the northwestern Argentinean Yungas. *Check List*. **10** (3): 621-631.
- Guu, J.R., Ju, Y.M. & Hsieh, H.H. 2007. Nectriaceae fungi collected from forests in Taiwan. *Botanical Studies*. **48**: 187-203.
- Guu, J.R., Ju, Y.M. & Hsieh, H.H. 2010. Bionectriaceae fungi collected from forests in Taiwan. *Botanical Studies*. **51**: 61-74.
- Guzmán, G., Torres, M., Ramírez-Guillen, F. & Ríos-Hurtado, A. 2004. Introducción a los macromycetes del Chocó, Colombia. *Revista Mexicana de Micología*. **19**: 33-43.
- Herrera, S.C., Rossman, A.Y., Samuels, G.J., Liparini P.O. & Chaverri, P. 2015. Systematics of the *Cosmospora villosula* species complex. *Mycologia*. **107** (3): 532-557.
- Hirooka, T. & T. Kobayashi. 2007. Taxonomic studies of nectrioid fungi in Japan. I: The genus *Neonectria*. *Mycoscience*. **48**: 53-62.
- Iturriaga, T. & Pfister, D.H. 2006. A monograph of the genus *Cookeina* (Ascomycota, Pezizales, Sarcoscyphaceae). *Mycotaxon*: **95**: 137-180.
- Ju, Y.M. & Rogers, J.D. 1996. A revision of the genus *Hypoxylon*. *Mycologia Memoir* no. 20. APS Press, St. Paul, MN. 365 pp.
- Ju, Y.M. & Rogers, J.D. 1999. The Xylariaceae of Taiwan (excluding *Anthostomella*). *Mycotaxon*. **73**: 343-440.

- Ju, Y.M., Rogers, J.D., San Martín, F. & Granmo, F. 1998. The genus *Biscogniauxia*. *Mycotaxon*. **66**: 1-98.
- Kirk, P.M., Canon, P.F., Minter, D.W., & Stalpers, J.A. 2008. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 10 ed. International Mycological Institute, CAB International, Wallingford. 784 p.
- Li, W.Y. & Zhuang, W.Y. 2008. Notes on the genus *Byssosphaeria* (Melanommataceae) from China. *Mycosystema*. **27**: 48-53.
- Liu, J.L., Phookamsak, R., Jones, E.B.G., Zhang, Y., Ko-Ko, T.W., Hu, H.L., Boonmee, S., Doilom, M., Chukeatirote, E., Bahkali, A.H., Wang, Y. & Hyde, K.D. 2011. *Astrosphaeriella* is polyphyletic, with species in *Fissuroma* gen. nov., and *Neoastrorsphaeriella* gen. nov. *Fungal Diversity*. **51**: 135-154.
- Medel, R. y S. Chacón. 1997. Ascomycetes poco conocidos de México VIII. Algunas especies del bosque mesófilo de Veracruz. *Acta Botánica Mexicana*. **39**: 43-52.
- Medel, R., Castillo, R. & Guzmán, G. 2008. Las especies de *Xylaria* (Ascomycota, Xylariaceae) conocidas de Veracruz, México y discusión de nuevos registros. *Revista Mexicana de Micología*. **28**: 101-118.
- Méndez-Mayboca, F., Checa, J., Esqueda, M. & Chacón, S. 2010. New records of Loculoascomycetes from natural protected areas in Sonora, Mexico. *Mycotaxon*. **111**: 19-30.
- Moreno-M, L.E., Trujillo, E.E., & Osorio, L.R. 2007. Estudio de las características físicas de haces de fibra de *Guadua angustifolia*. *Scientia et Technica Año XIII*. **34**: 613-617.
- Murillo, C., Albertazzi, F.J., Carranza, J., Lumbsch, H.T. & Tamayo G. 2009. Molecular data indicate that *Rhytidhysterium rufulum* (Ascomycetes, Patellariales) in Costa Rica consists of four distinct lineages corroborated by morphological and chemical characters. *Mycological Research*. **113**: 405-416.
- Petrini, L. E. 1992. *Rosellinia* species of the temperate zones. *Sydowia*. **44**: 169-281.
- Pulido, M. & Boekhout, T. 1989. Distribution of macrofungi along The Parque Los Necados transect. 485-505, in Van der Hammen, T. S. Díaz y V. Alvarez (eds.). La cordillera Central Colombiana transecto Parque Los Nevados (segunda parte). Studies on Tropical Andean Ecosystems, Volume 3.
- Ramírez-Díaz, F. & Camargo, J.C. 2015. Diversidad vegetal de los bosques de guadua en el Eje Cafetero de Colombia. *Recursos Naturales y Ambiente*, **65-66**: 21-25.
- Rappaz, F. 1987. Taxonomie et nomenclature des diatrypacées à ascas octosporés I. *Mycologia Helvetica*. **2**: 285-648.
- Raymundo, T., Escudero-Leyva, E., Ortega-López, I., Castro-Bustos, D., León-Avendaño, H. & Valenzuela, R. 2014. Ascomicetos del Bosque tropical caducifolio en el Parque Nacional Lagunas de Chacahua, Oaxaca, México. *Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid*. **34**: 9-21.
- Recio-Herrera G.M. & Maldonado-González, S.G. 2014. A revision of the genus *Kretzschmaria* (Ascomycota, Xylariaceae) in Cuba. *Willdenowia*. **44**: 57-64.
- Restrepo-F., G.M., Vélez-A., P.E., Botero-A., P.A., & Pulido-V., C. 2005. Reconocimiento de macromicetos asociados al cultivo de *Guadua angustifolia* en Caldas, Colombia. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* (Costa Rica). **76**: 25-31.
- Réblová, M. 1997. Revision and reclassification of some *Chaetosphaeria* species. *Czech Mycology*. **50**: 73-83.
- Rehm, H. 1907. Ascomycetes novi. *Annales Mycologici*. **5**: 516-546.
- Rogers, J.D. & Ju, Y.M. 1998. The genus *Kretzschmaria*. *Mycotaxon*. **68**: 345-393.
- Rogers, J.D., San Martín, F. & Ju, Y.M. 2002. Three new taxa of *Camillea* from Costa Rica. *Sydowia*. **54** (1): 84-90.
- Samuels, G.J. & Müller, E. 1979. Life-history studies of Brazilian Ascomycetes. 7. *Rhytidhysterium rufulum* and the genus *Eutrybliella*. *Sydowia*. **32**: 277-292.
- Samuels, G.J. & Dumont, K.P. 1982. The genus *Nectria* (Hypocreaceae) in Panama. *Caldasia*. **13**: 379-423.
- San Martín, F. & Rogers, J.D. 1989. A preliminary of account of *Xylaria* of Mexico. *Mycotaxon*. **34** (2): 283-374.
- San Martín, F. & Rogers, J.D. 1995. *Rosellinia* y *Thamnomycetes* in Mexico. *Mycotaxon*. **53**: 115-127.
- San Martín, F., Ju, Y.M. & Rogers, J.D. 1999. Algunas especies de *Hypoxylon* (Pyrenomycetes, Xylariaceae) de México. *Acta Botanica Mexicana*. **47**: 31-53.
- Stadler, M., Laessle, T., Decock, C., Schimieschek, B., Tichy, H.V. & Persoh, D. 2014. A polyphasic taxonomy of *Daldinia* (Xylariaceae). *Studies in Mycology*. **77**: 1-143.
- Vasco-Palacios, A.M., & Franco-Molano, A.E., López-Quintero, C. & T. Boekhout, T. 2005. Macromicetos (Ascomycota, Basidiomycota) de la región del medio Caquetá, departamento de Caquetá y Amazonas (Colombia). *Biota Colombiana*. **6**: 27-159.
- Vasco-Palacios, A.M., & Franco-Molano, A.E. 2013. Diversity of Colombian macrofungi (Ascomycota-Basidiomycota). *Mycotaxon* **121**: 99-504.

Respuesta de quince introducciones de tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L.) al nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp. GOELDI) e identificación de las especies

Luisa Fernanda Cardona-Piedrahita, Jairo Castaño-Zapata*, Nelson Ceballos-Aguirre

Magister en Fitopatología. Programa de Maestría en Fitopatología, Facultad de Ciencias Agropecuarias

Resumen

Meloidogyne spp. es un problema de gran importancia económica en el cultivo de tomate tipo cherry, causando pérdidas en rendimiento del 25 al 50%, lo cual conlleva a la búsqueda de materiales silvestres resistentes o promisorios. El objetivo de este trabajo fue contribuir en el conocimiento de la epidemiología del nematodo del Nudo radical, causado por *Meloidogyne* spp. en quince introducciones de tomate silvestre tipo cereza sembrados a libre exposición y bajo semitecho y, determinar las especies de *Meloidogyne* presentes en el cultivo. Se utilizó un diseño de parcelas divididas, las parcelas principales fueron asignadas a los dos sistemas de producción (libre exposición y semitecho), mientras que las subparcelas fueron asignadas a las introducciones de tomate, con cuatro repeticiones. El tamaño efectivo de la unidad experimental fue de cuatro plantas por repetición. Se evaluó el daño radical causado por el nematodo y se hizo identificación de especies tanto en hembras como en juveniles (J2). Se realizó un análisis de varianza y pruebas de promedio tipo Duncan. En el sistema productivo a libre exposición la población de nematodos osciló entre 29.472 en IAC1624 y 170.804 en IAC421 con un promedio de 97.677 nematodos y en el sistema bajo semitecho, osciló entre 57.871 en IAC391 y 197.800 en LA2692 con un promedio de 108.572 nematodos, lo que demuestra que este sistema reduce el ciclo del nematodo, y por consiguiente, aumenta la población. Las especies identificadas según el método del patrón perineal sobre las hembras fueron *Meloidogyne incognita* (80%) y *Meloidogyne javanica* (20%). © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Tomate, Libre exposición, Semitecho, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*.

Reaction of fifteen introductions of wild tomato cherry (*Solanum lycopersicum* L.) to root knob nematode (*Meloidogyne* spp. GOELDI) and identification of species

Abstract

Meloidogyne spp. is a problem of great economic importance in tomato Cherry, causing yield losses ranging from 25 to 50%, which conduce to look for wild materials resistant or promising. The objective of this work was to contribute to the knowledge of the epidemiology of the root knob nematode, caused by *Meloidogyne* spp. in fifteen introductions of wild tomato Cherry planted at free exposition and semi cover, and to determine the species of *Meloidogyne* present in the crop. The experimental design was a split plots, the main plots were the two production systems, the subplots, the tomato introductions, with four replications and four plants per replication. Was determined the root damage caused by the nematode and the identification of the species in both females and juveniles (J2). It was conducted an analysis of variance and Duncan's tests. According to the analysis, at free exposition, the population of nematodes ranged between 29.472 in IAC1624 and 170.804 in IAC421 with an average of 97.677 nematodes and under semi cover, ranged between 57.871 in IAC391 and 197.800 in LA2692 with an average of 108.572 nematodes, which demonstrate that under this system the cycle of the nematode is reduced, increasing its population. According to the perineal pattern of the females, were identified two species of the nematode: *Meloidogyne incognita* with a frequency of 80% and *M. javanica* with a frequency of 20%. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Tomato, Free exposition, Semi cover, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*.

Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.), es la hortaliza más importante en Colombia y en el mundo. Constituye el 30% de la producción hortícola mundial, con aproximadamente 4,4 millones de hectáreas sembradas y 145.751.507 ton de frutos cosechados en el año 2010. En Colombia, la

producción de tomate para el año 2013 fue de 412.351 ton, con un área de 14.321 ha y un rendimiento de 28,8 ton/ha (AGRONET, 2013).

*Correspondencia:

Jairo Castaño-Zapata, jairo.castano_z@ucaldas.edu.co

Recibido: 15 de abril de 2016

Aceptado: 11 de julio de 2016

Entre las formas silvestres más promisorias del género *Solanum* para aportar características transferibles se encuentra *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, comúnmente llamado “Cherry” o “cereza” (Vallejo & Estrada, 2004), que es el antepasado más probable del tomate cultivado, crece espontáneamente en las regiones tropicales y subtropicales de América y se ha extendido a lo largo de los trópicos del mundo (Nuez, 1999).

Los nematodos son los organismos pluricelulares más numerosos en los agroecosistemas; se conocen unas 20.000 especies y se pueden encontrar en densidades de hasta 30 millones por metro cuadrado. Se encuentran como organismos de vida libre y se alimentan de hongos, bacterias, protozoarios u otros nematodos, o como parásitos de plantas y animales; además, forman parte importante de las cadenas tróficas del suelo (Piedra, 2008). Entre los géneros de nematodos más importantes se encuentra *Meloidogyne*, comúnmente conocido como el nematodo Agallador o Nodulador, que es considerado el más importante en el ámbito mundial, debido a la severidad de los daños y la reducción en producción y calidad del tomate (Guerrero, 2013).

La severidad del nematodo Nodulador (*Meloidogyne* spp.) es favorecida por la siembra continuada de cultivos altamente susceptibles como las solanáceas (pimentón, ají, papa, tomate) y la ausencia de rotación con cereales. Existen también innumerables malezas que son hospedantes de nematodos conservando las poblaciones de estos organismos en raíces y suelo (Jaramillo, et al., 2007).

Los síntomas primarios asociados al nematodo Nodulador se relacionan con la formación de protuberancias pequeñas, nódulos o agallas en las raíces pequeñas, las cuales restringen el movimiento de agua y nutrientes a la planta, y como consecuencia se reduce la capacidad productiva de las plantas. Los síntomas secundarios son retraso en el desarrollo de la planta, debilitamiento generalizado, amarillamiento en las hojas más viejas y una reducción severa de la producción, tanto en cantidad como en calidad. Ocasionalmente, las plantas afectadas por el nematodo pueden presentar marchitamiento foliar temporal en días calurosos o temporadas secas y cuando el ataque del nematodo es muy severo la planta muere (Jaramillo, et al., 2007; Urbina, 2009).

En el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se registran cuatro especies principales de *Meloidogyne* a saber: *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*, las cuales han sido reportadas infectando tomate en zonas tropicales (Sasser, et al., 1979); también se han presentado otros géneros como *Pratylenchus* y *Rotylenchus* (Vallejo, 1999).

Es conocido, y muy utilizado el método de diagnóstico a través de características morfológicas para identificar especies. El método consiste en realizar en las hembras un patrón perineal o huella perineal, y a los estados juveniles (J2) mediciones en diferentes partes del cuerpo; sin

embargo, existen otros métodos de identificación como el uso de hospedantes diferenciales y las técnicas moleculares (Perry et al., 2009).

Este estudio tuvo como objetivo, evaluar la respuesta de quince materiales silvestres de tomate Cherry, al nematodo del Nudo radical (*Meloidogyne* spp. Goeldi) en dos sistemas de producción (semitecho y libre exposición) y determinar las especies de *Meloidogyne* prevalentes en el cultivo.

Materiales y métodos

Localización

La investigación se llevó a cabo en la granja Montelindo, propiedad de la Universidad de Caldas, situada en la vereda Santágueda, municipio de Palestina (Caldas), con temperatura media de 22,8 °C, altitud de 1.010 msnm, precipitación anual de 2.200 mm y humedad relativa promedio del 76 %.

Materiales evaluados.

Se evaluaron quince introducciones de tomate provenientes del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira; empleando como testigo comercial la variedad Sweet million (Tabla 1).

Sistema productivo a libre exposición.

Se emplearon guaduas para el tutorado de las plantas en los surcos a una distancia de 3 m y una distancia entre surcos de 1,5 m. También se empleó una cobertura plástica tipo “mulch” para el suelo tipo negro-negro calibre 1,2.

Sistema productivo bajo semitecho.

Constó de una estructura en guadua con una cubierta en plástico transparente tipo AgrocLEAR calibre 6, a una distancia entre surcos de 1,5 m y entre guaduas para tutorado de 3 m. La cobertura de plástico tipo “mulch” utilizada fue de tipo negro-negro calibre 1,2.

Instalación de bolsas para el experimento con *Meloidogyne* spp.

Después de la incorporación de cal y materia orgánica (100 y 200 g/m por metro lineal, respectivamente) se llevó a cabo la instalación de cuatro bolsas de plástico (20 cm de alta x 25 cm de ancha) con plántulas de 30 días edad de cada introducción en los dos bloques principales (libre exposición y semitecho) las cuales se llenaron con suelo del mismo terreno. No se eliminaron las bolsas plásticas para asegurar la infección de *Meloidogyne* spp., y evitar exponer el suelo del lote experimental al nematodo.

Instalación de cobertura plástica o “mulch”.

Para finalizar con la preparación del terreno, en todos los surcos se instaló una cobertura de plástico tipo negro-negro calibre 1,2 para disminuir el uso de herbicidas en el control de malezas, y obtener una humedad más homogénea, y además aumentar la temperatura del suelo para el mejor desarrollo del cultivo.

Siembra y trasplante de los materiales.

La siembra de los quince materiales y el testigo comercial se realizó el 26 de febrero del 2013, en la granja Tesorito propiedad de la Universidad de Caldas, ubicada

Tabla 1. Identificación y procedencia de los materiales de tomate tipo cereza evaluados.

Código	Origen	Descripción	Código	Origen	Descripción
IAC391*	Brasil	T. red cereza	IAC421*	Brasil	T. cereza
IAC424*	Brasil	T. cereza	IAC1686*	Brasil	T. cereza
IAC426*	Brasil	T. cereza Juliet	LA2076**	Bolivia	T. cereza
IAC445*	Brasil	T. cereza Jundiai	LA1480**	Ecuador	T. cereza
IAC1621*	Brasil	T. cereza alemán 12	LA2131**	Ecuador	T. cereza
IAC1624*	Brasil	T. cereza	LA2640**	Perú	T. cereza
IAC1688*	Brasil	T. “Lili” cereza	LA2692**	Perú	T. cereza
IAC412*	Brasil	T. cereza	<i>Solanum pimpinellifolium</i>		
Testigo	Tomate cereza comercial Sweet million				

*IAC: Introducciones procedentes del Instituto Agronómico de Campinas, Campinas, Brasil.

**LA: Introducciones procedentes del Tomato Genetics Resources Center (TGR), University of California – Davis, Estados Unidos.

a 2.340 msnm, con temperatura promedio de 17,5 °C, humedad relativa del 78 % y precipitación anual de 2.000 mm. Para ésta siembra se utilizaron bandejas de 72 lóculos y un sustrato de turba "sphagnum" grado 3. El 27 de marzo de 2013, se realizó el trasplante de las quince introducciones y el testigo comercial, a la granja Montelindo, cuando habían alcanzado el estado de cuatro hojas verdaderas.

Inoculación de *Meloidogyne* spp.

Se tomaron plantas de tomate de un cultivo comercial localizado en el municipio de Chinchiná, departamento de Caldas, con condiciones climáticas similares a las de la granja Montelindo, que tenían sintomatología típica ocasionada por *Meloidogyne* spp., y se llevaron al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Caldas y allí se realizó la extracción de los nematodos con base en la técnica de flotación en azúcar (Jenkins, 1964; Meredith, 1973), para la cual se procedió de la siguiente manera: las raíces se lavaron con agua corriente, después de dejarlas secar a temperatura ambiente se pesaron 30 g de ellas en una balanza Analytical Plus y con la ayuda de tijeras se cortaron transversalmente en trozos de 1 cm que se depositaron en un vaso de licuadora Osterizer, modelo 565-15, con 500 mL de agua, para licuarlos tres veces por períodos de 10 s, entre cada período se dejaron reposar por 5 s. El licuado se depositó en un tamiz de 250 µm, colocado sobre un tamiz de 106 µm y éste sobre otro de 25 µm. El filtrado obtenido se lavó con agua a presión para desprender los nematodos; al contenido que quedó en el tamiz de 25 µm se le realizó un lavado con agua para depositarlo en tubos de centrifugación de 50 mL de capacidad. Los tubos se centrifugaron a 3.800 rpm durante 5 min. Al terminar la centrifugación se retiraron los tubos y se desechó el sobrenadante y a cada uno se le agregó 25 mL de sacarosa al 50% (solución de azúcar) y se centrifugó otra vez a 3.800 rpm durante 5 min. Como consecuencia de la centrifugación hubo sedimentación de las partículas pesadas en el fondo del tubo. Los nematodos se ubicaron

en una capa intermedia (gradiente de sacarosa). Se tomó el sobrenadante y se colocó en un tamiz de 25 µm para realizar un lavado con agua que permitió retirar la sacarosa. Por último se tomó el contenido del tamiz y se colocó en una caja Petri donde se aforó a 20 mL y se pasaron a una cuadrícula de 36 cuadros de 1 cm² cada uno, para realizar el conteo e identificación de los géneros encontrados con la ayuda de un estereoscopio marca Leica®; finalmente, se recolectaron los estados juveniles y huevos necesarios para realizar la inoculación. Se obtuvo una población de 103.230 huevos y juveniles de *Meloidogyne* spp. en 20 mL de agua; la inoculación se realizó un día después de la extracción de los nematodos, para lo cual se empleó una suspensión con una concentración de 5.161 huevos y juveniles de *Meloidogyne* spp., en 200 mL de agua, los cuales se aplicaron por plántula. En los cuatro puntos cardinales de cada sitio donde estaban sembradas las plántulas se abrieron huecos de aproximadamente 4 cm de profundidad para facilitar que el nematodo colonizara homogéneamente las raíces de las plántulas, y con la ayuda de una jeringa se aplicaron 50 mL de la suspensión en cada hueco, este procedimiento se realizó de igual forma en cada una de las cuatro plántulas de cada introducción, incluyendo al testigo, y en cada repetición.

Evaluación del daño por el nematodo Nodulador.

Ésta se realizó al finalizar el ciclo del cultivo, observando las raíces de las plantas de cada material con sus cuatro repeticiones, a las cuales se les aplicó la escala elaborada por Castaño-Zapata (1989).

Diseño experimental.

Se utilizó un diseño de parcelas divididas, las parcelas principales fueron asignadas a los dos sistemas de producción (libre exposición y semitecho), mientras que las subparcelas fueron asignadas a las introducciones de tomate, con cuatro repeticiones. El tamaño efectivo de la unidad experimental fue de cuatro plantas, para una densidad poblacional de 13.333 plantas/ha.

Identificación de las especies de *Meloidogyne*.

Después de extraer 20 hembras al azar con una aguja de disección, cada una de ellas se montó en un portaobjetos, que luego se llevó al estereoscopio a 35 X, y se siguió el procedimiento de obtención del patrón perineal descrito por **Jepson (1987)**.

Al patrón perineal de cada hembra, se le adicionó una gota de azul de lactofenol al 0,05% (20 g de fenol cristalino + 20 cm³ de ácido láctico + 20 cm³ de glicerina + 20 cm³ de agua destilada y azul de algodón al 5% en agua), y se cubrió con una lámina cubreobjetos, luego se adicionó una gota de aceite de inmersión, para observarse a través del objetivo 100 X de un microscopio marca LW Scientific revelation III®. Las características morfológicas de los patrones perineales (arco dorsal, líneas de campo lateral y estrías) se evaluaron, siguiendo las claves taxonómicas de **Taylor & Sasser (1983)**, **Eisenback (1985)**, **Jepson (1987)** y **Perry, et al. (2009)**, para determinar las especies de *Meloidogyne* asociadas al tomate. A los machos en estado J2 (juvenil 2) se les realizaron pruebas morfométricas, tales como la medición en micrómetros de la longitud del cuerpo, de la cola, de la región hialina de la cola, y del estilete en 20 estados juveniles (J2) de *Meloidogyne* spp., utilizando para ello un microscopio marca LW Scientific revelation III® con un ocular de rejilla previamente calibrada en µm. Adicionalmente, se registró la forma de la terminación hialina de la cola como característica de diagnóstico para los estados juveniles (J2) del fitonemato. Los datos obtenidos de la caracterización morfométrica en hembras y estados juveniles (J2) de *Meloidogyne* spp. se llevaron a hojas de cálculo Excel 2010. Con los datos de las hembras se obtuvo la frecuencia de la especie, expresada en porcentaje, y con los datos de los estados juveniles (J2) de *Meloidogyne* spp. se obtuvieron promedios, rangos y desviación estándar.

Variables climáticas.

Se tomaron los datos climáticos diarios de la estación meteorológica que se encuentra en la granja Montelindo, para correlacionarlos con el daño del nematodo Nodulador. Se registraron datos de: precipitación acumulada cada cuatro días con ayuda de un pluviógrafo, humedad relativa promedio cada cuatro días (HRP) con un termohigrógrafo; y temperatura diaria (termómetros de máxima, media y mínima).

Resultados y discusión

Incidencia del nematodo del Nudo radical (*Meloidogyne* spp.) vs factores climáticos.

El nematodo del Nudo radical causó daños severos en las quince introducciones de tomate, incluyendo el testigo en ambos sistemas de producción, evidenciando así una susceptibilidad generalizada de los materiales evaluados. Después del día en que se realizó la inoculación de *Meloidogyne* spp., las condiciones climáticas fueron propicias para que se diera el desarrollo y posterior penetración del nematodo a las raíces de las plantas de tomate; con una

temperatura promedio de 24 °C, humedad relativa promedio de 78 % y precipitación acumulada desde el 8 de mayo al 25 de junio de 2013 de 604 mm.

La temperatura fue el factor que más influencia tuvo en la duración del ciclo de vida de *Meloidogyne* spp., y cuando este factor se mantiene a niveles bajos, como en un sistema establecido a libre exposición, el número de nematodos incrementa lentamente hasta el momento de la cosecha (**Figura 1**), mientras que con el aumento de la temperatura, como en un sistema establecido bajo semitecho, se reduce la duración del ciclo del nematodo reflejado en una mayor población de nematodos al momento de la cosecha (**Figura 2**). Se sabe, por ejemplo, que a una temperatura de 28 °C, el ciclo de *Meloidogyne incognita* se completa en 21 días y a 22 °C se completa en 43 días (**Ploeg & Maris, 1999**). Esta especie puede producir ocho o más generaciones por año en tomate de mesa (**Luc et al., 2005**). En cada ciclo una hembra produce entre 500 y 1.000 huevos que pueden eclosionar totalmente si las condiciones son favorables (**Guana, 2011**).

Al tener en su óptimo los elementos que conforman el triángulo de la enfermedad: un patógeno genéticamente virulento, el medio ambiente favorable y las introducciones de tomate genéticamente susceptibles, el desarrollo de una epidemia era evidente. Al respecto, **Castaño-Zapata (2002)** indica que “... los tres factores deben estar no sólo en su óptimo, sino que deben permanecer así por un periodo de tiempo, de lo contrario, la epidemia no tendrá éxito”.

Las introducciones evaluadas fueron altamente susceptibles, debido a la ausencia del gen de resistencia *Mi* el cual es dominante de la especie silvestre *Solanum peruvianum*, el cual se ha incorporado en muchos tomates cultivados para resistir los ataques del nematodo del Nudo radical (**Roberts, 1992**). El gen *Mi* normalmente confiere alta resistencia a *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria*. La resistencia se caracteriza fenotípicamente por una respuesta de hipersensibilidad en los sitios donde los nematodos intentan alimentarse (**Jianhua, et al., 2001**).

Efectivamente el resultado final fue una epidemia causada por la presencia simultánea de estos componentes, mostrando resultados contundentes, respecto al daño, número de agallas y cantidad de huevos y juveniles (J2).

Intensidad de daño, número de agallas, huevos y juveniles (J2) producidos por *Meloidogyne* en los dos sistemas de producción.

Según las pruebas comparativas tipo Duncan, las diferencias numéricas en la escala de daño, número de agallas y cantidad de huevos y juveniles (J2) en los dos sistemas de producción no mostraron diferencias estadísticas (**Tabla 2**).

La intensidad de daño en los dos sistemas de producción alcanzó un promedio de 8, lo cual significa que hubo más de 30 nudos por planta, que corresponde al daño más alto ocasionado por el nematodo, al igual que el total de huevos y juveniles (**Tabla 2**).

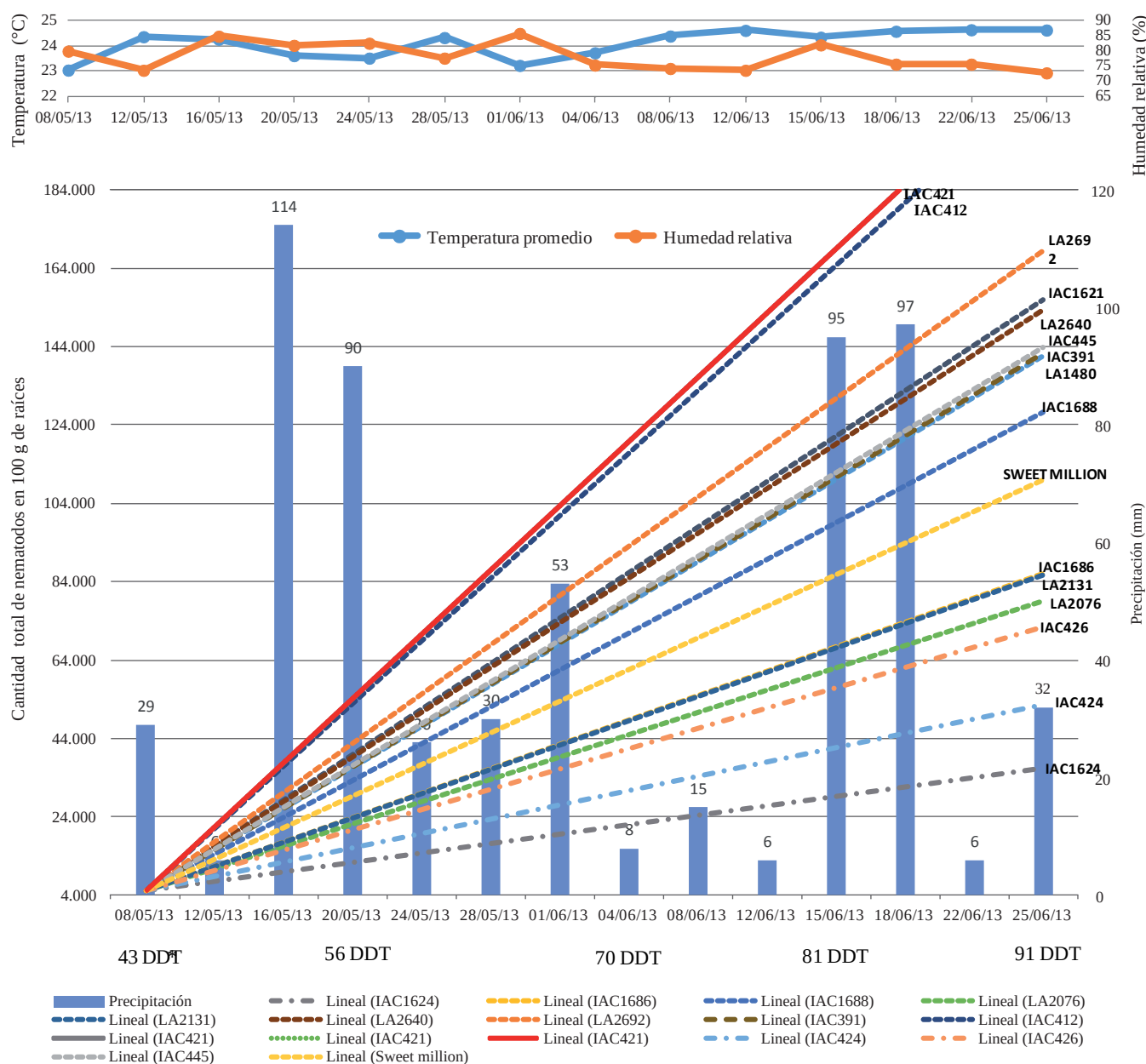


Figura 1. Efecto de las variables climáticas sobre la población de *Meloidogyne* spp., en quince introducciones de tomate Cherry establecidas a libre exposición (mayo 8 – junio 25, 2013).

El suelo cubierto con polietileno incrementa el flujo de calor en profundidad, disminuyendo las pérdidas de energía por calor latente y sensible respecto al suelo sin cobertura (Mormeneo & Cantamutto, 1999). A mayor temperatura del suelo, el aumento poblacional de los nematodos es mayor debido a que acorta el ciclo de vida de ellos (Guana, 2011). Esta es una razón para explicar la cantidad de nematodos presentes en los dos sistemas de producción. Sin embargo, fue evidente un aumento leve en la cantidad de huevos y juveniles (J2) en el sistema bajo semitecho del 9 % y del 14 %, respectivamente, que pudo haberse dado porque además del acolchado estaba el semitecho

construido con AgrocLEAR calibre N° 4, que en los momentos calurosos del día puede aumentar la temperatura interna (Jaramillo *et al.*, 2007). Por ejemplo, Medina, *et al.* (2012), demostraron que en un invernadero de techo retráctil (ITR), es decir para condiciones semi-controladas, la temperatura interna aumentó en 9,5 °C en comparación con la exterior. La interacción del sistema helioarquitectónico de cada bioespacio con el clima circundante, causa diferencias de temperatura al interior de cada bioespacio en relación con la temperatura del exterior (Arellano, *et al.*, 2006); lo que indica, que en el sistema bajo semitecho aquí evaluado, los nematodos tuvieron un tiempo más prolongado de



Incidencia del nematodo del Nudo radical (*Meloidogyne* spp.) en las introducciones en cada sistema de producción.

tomate al nematodo y que las introducciones tuvieron un comportamiento diferencial respecto a las interacciones con el sistema productivo en el cual se desarrolló.

Introducciones a libre exposición.

El 69% de las introducciones incluyendo el testigo (Sweet million) en el sistema a libre exposición tuvieron la máxima calificación según la escala de daño con un valor de 9 y el restante 31%, tuvo una escala de daño de 7; de la misma forma se obtuvo una cantidad elevada de huevos y juveniles (J2) (**Tabla 3**).

Las introducciones en el sistema productivo a libre exposición fueron altamente susceptibles al nematodo del Nudo radical, sin mostrar diferencias estadísticas para las variables escala de daño, número de agallas y cantidad de

huevos/100 g de raíces (**Tabla 3**). En contraste, se observaron diferencias estadísticas ($P \leq 0,05$) entre las introducciones para las variables cantidad de juveniles (J2)/100 g de raíces y cantidad total de nematodos/100 g de raíces (**Tabla 3**). La introducción IAC1624 fue la que mostró el mejor comportamiento con 20 agallas y 29.472 nematodos en 100 g de raíces, con una escala de daño de 7, y presentó una reducción de 136.990 individuos en comparación con la introducción IAC412 que tuvo más de 30 agallas y 166.462 nematodos en 100 g de raíces, además una escala de daño de 9 (**Tabla 3**). Por debajo de la cantidad total de nematodos que presentó el testigo (Sweet million) que fue de 86.591, estuvieron las introducciones IAC1686, LA2131, LA2076, IAC426, IAC424 e IAC1624, con igual escala de daño de 7, a excepción de IAC1686 que presentó una escala de daño de 9. La introducción más susceptible fue IAC421 con un total de 170.804 nematodos (**Tabla 3**).

Tabla 2. Intensidad de daño y número de agallas causados por *Meloidogyne* en los dos sistemas de producción.

Sistema de producción	Escala de daño	Número de agallas	Cantidad de huevos	Cantidad de juveniles (J2)
Libre exposición	8,3 A*	30 A	71,8 A	26,2 A
Semitecho	8,2 A	30 A	78,6 A	30,4 A

*Letras diferentes denotan diferencias significativas entre los dos sistemas de producción según la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5%.

La alta cantidad de huevos y juveniles infectivos en las diferentes introducciones, se debió no sólo a la susceptibilidad en general de estas introducciones, sino también al acolchado que se utilizó, el cual aumentó la temperatura del suelo, como se explicó previamente.

Introducciones bajo semitecho.

Analizando el sistema de producción bajo semitecho también se evidenció una alta susceptibilidad de todas las introducciones al nematodo del Nudo radical con diferencias estadísticas ($P \leq 0,05$) para la variable cantidad de juveniles (J2)/100 g de raíces; mientras que en las demás variables evaluadas no se encontraron diferencias estadísticas (**Tabla 4**).

El 50 % de las introducciones, incluyendo el testigo (Sweet million), se ubicó en una escala de daño de 9, y el restante 50 % en 7, estos fueron los valores más altos registrados en la escala de evaluación utilizada (**Tabla 4**). Dentro de los resultados se encontró que el 66 % de las introducciones mostraron valores por debajo del promedio que fue 30.033 juveniles (J2)/100 g de raíces, siendo las introducciones más promisorias IAC424, LA2076 y IAC391 con valores por debajo de 16.780 juveniles (J2)/100 g de raíces.

La introducción más susceptible fue LA2692 con un total de 197.800 nematodos bajo semitecho; además, la cantidad total de nematodos comparada con la del sistema de producción a libre exposición fue un 33% mayor. Así mismo,

Tabla 3. Variables evaluadas en el sistema productivo a libre exposición.

Materiales	Libre exposición				
	Escala de daño	Número de agallas	Cantidad de huevos/100 g de raíces	Cantidad de juveniles (J2)/100 g de raíces	Cantidad total de nematodos/100 g de raíces*
IAC421	9 A**	>30 A	108.589 A	62.215 A	170.804 A
IAC412	9 A	>30 A	114.513 A	51.949 AB	166.462 A
LA2692	9 A	>30 A	95.200 A	36.950 ABC	132.150 AB
IAC1621	9 A	>30 A	92.929 A	29.359 BC	122.288 AB
LA2640	9 A	>30 A	101.750 A	18.700 C	120.450 AB
IAC445	9 A	>30 A	91.233 A	21.744 BC	112.977 AB
IAC391	9 A	>30 A	93.469 A	18.338 C	111.807 AB
LA1480	9 A	>30 A	83.575 A	27.720 BC	111.295 AB
IAC1688	9 A	>30 A	76.626 A	23.586 BC	100.212 AB
Sweet million	9 A	>30 A	65.425 A	21.166 BC	86.591 AB
IAC1686	9 A	>30 A	36.837 A	31.299 BC	68.136 AB
LA2131	7 A	29 A	40.450 A	27.400 BC	67.850 AB
LA2076	7 A	29 A	52.400 A	10.240 C	62.640 AB
IAC426	7 A	28 A	36.830 A	20.775 BC	57.605 AB
IAC424	7 A	27 A	31.050 A	11.035 C	42.085 B
IAC1624	7 A	20 A	21.390 A	8.082 C	29.472 B
Promedio	8	30	71.392	26.285	97.677

*Sumatoria entre la cantidad de huevos y la cantidad de juveniles infectivos (J2) en el sistema de producción a libre exposición.

**Columnas con letras distintas denotan diferencias estadísticas según prueba Duncan al 5%.

Tabla 4. Variables evaluadas en el sistema productivo bajo semitecho.

Materiales	Semitecho				
	Escala de daño	Número de agallas	Cantidad de huevos/100 g de raíces	Cantidad de juveniles (J2)/100 g de raíces	Cantidad total de nematodos/100 g de raíces*
LA2692	9 A**	>30 A	135.720 A	62.080 AB	197.800 A
IAC1624	9 A	>30 A	96.122 A	55.032 ABC	151.155 A
IAC1688	7 A	29 A	124.800 A	22.320 CD	147.120 A
IAC1686	9 A	>30 A	111.410 A	30.803 BCD	142.213 A
IAC412	9 A	>30 A	106.090 A	35.510 ABCD	141.600 A
LA2131	9 A	>30 A	42.530 A	68.183 A	110.713 A
IAC424	7 A	29 A	89.990 A	16.780 D	106.770 A
IAC426	7 A	23 A	84.960 A	18.687 CD	103.647 A
LA2640	7 A	29 A	78.614 A	20.929 CD	99.543 A
LA2076	9 A	>30 A	77.510 A	13.000 D	90.510 A
IAC421	9 A	>30 A	60.030 A	29.500 BCD	89.530 A
Sweet millon	9 A	>30 A	61.500 A	25.600 CD	87.100 A
IAC445	7 A	25 A	47.092 A	25.388 CD	72.480 A
IAC1621	7 A	24 A	44.868 A	26.505 CD	71.373 A
LA1480	7 A	30 A	45.095 A	22.636 CD	67.732 A
IAC391	7 A	30 A	50.291 A	7.580 D	57.871 A
Promedio	8	30	78.539	30.033	108.572

*Sumatoria entre la cantidad de huevos y la cantidad de juveniles infectivos (J2) en el sistema de producción bajo semitecho.

**Columnas con letras distintas denotan diferencias estadísticas según prueba Duncan al 5%.

la introducción IAC1624 pasó de ser la menos afectada a libre exposición a ser la más afectada bajo semitecho con un aumento del 80 % en la cantidad total de nematodos con 151.155 individuos (**Tabla 4**).

Estos resultados corroboran lo indicado previamente en relación al efecto de la temperatura alta sobre el ciclo de vida del nematodo y en la cantidad de individuos; sin embargo, hubo introducciones como IAC445, IAC1621, LA1480 e IAC391 con un resultado distinto al esperado ya que disminuyeron la cantidad total de nematodos en este sistema productivo comparado con el resultado a libre exposición, con una cantidad total de nematodos de 72.480, 71.373, 67.732 y 57.871, respectivamente (**Tabla 4**). El comportamiento del testigo comercial, Sweet million, fue muy estable en los dos sistemas de producción, con un aumento leve en el total de nematodos en el sistema de producción bajo semitecho de 1 %.

Autores como **Kamran, et al.** (2012), quienes evaluaron la resistencia de siete genotipos de tomate a *Meloidogyne incognita* con inoculaciones de 5.000 huevos empleando una escala de evaluación de 0-5, encontraron resultados similares, en promedio todos los genotipos se ubicaron en un valor de 4, concluyendo que ninguno de los genotipos evaluados mostró resistencia al nematodo.

Ortiz (2015), realizó inoculaciones de 5.000 huevos y juveniles (J2) de *Meloidogyne* spp. en plántulas de guayabo (*Psidium guajava* Linneo), variedad Palmira ICA-1, la cual

es altamente susceptible a *Meloidogyne* spp., encontrando al final del experimento, que en el tratamiento en donde no realizó manejo biológico del nematodo, el índice de daño fue de 9 en la escala de evaluación de 1 – 9, descrita por **Castaño-Zapata** (1989) y una cantidad de 93.977 huevos y 51.937 juveniles (J2) en 100 g de raíces, cantidades similares a las encontradas en este estudio.

Contrario a lo encontrado en este estudio, fue lo que obtuvieron **Jaiteh, et al.** (2012), al evaluar 33 genotipos de tomate, en donde algunos materiales fueron calificados como resistentes y moderadamente resistentes, estos materiales fueron Tomato Mongal T-11, Beef master y Burpee Roma, el número promedio de huevos fue entre 18 y 28,5; el índice de daño osciló entre 3,25 y 4 en una escala de evaluación de 0 – 10; y un factor reproductivo entre 0,53 y 1,38.

Identificación de especies de *Meloidogyne*.

Al finalizar la caracterización morfológica de las hembras de *Meloidogyne* spp. utilizadas en esta investigación, se determinó que de los 20 patrones perineales evaluados, el 80% presentó forma elongada con arco dorsal elevado y cuadrado, campo lateral ausente, señalado por estrías lisas a onduladas con algunas bifurcaciones en las líneas laterales, estrías en la cola más onduladas que en la región de la vulva y a veces en forma de zig-zag, y con estrías gruesas. Estas características coinciden con las descripciones de *Meloidogyne incognita* (**Figura 3**), y corresponden con las claves taxonómicas de **Taylor & Sasser** (1983), **Eisenback**

(1985), **Jepson** (1987) y **Perry, et al.** (2009). El 20% de los patrones perineales restantes presentaron características de arco dorsal bajo que varía de redondeado a aplanado, campo lateral con incisiones definidas que separan las estrías en sectores dorsal y ventral. Muy pocas estrías se extienden sin romperse del sector dorsal al sector ventral. Dichas características coinciden con las descripciones de *Meloidogyne javanica* (**Figura 4**) y corresponden con las claves taxonómicas de **Taylor & Sasser** (1983), **Eisenback** (1985), **Jepson** (1987) y **Perry, et al.** (2009).

En los estados juveniles (J2) evaluados de *Meloidogyne* spp., se encontró que la longitud del cuerpo osciló entre 320 y 380 μm (**Figura 5 A**); la longitud de la cola entre 42 y 52 μm ; la región hialina de la cola entre 5 y 13 μm (**Figura 5 C**), y el estilete entre 9 y 12 μm . La terminación hialina de la cola se caracterizó por ser de forma redondeada; éstas características morfométricas corresponden a *Meloidogyne incognita* (**Tabla 5, Figura 5A, C**).

Así mismo, en los estados juveniles (J2) evaluados de *Meloidogyne* spp., se encontró que la longitud del cuerpo osciló entre 410 y 520 μm (**Figura 5 B**); la longitud de la cola entre 52 y 62 μm ; la región hialina de la cola entre 12 y 19 μm , y el estilete entre 14 y 15 μm (**Figura 5 D**). La

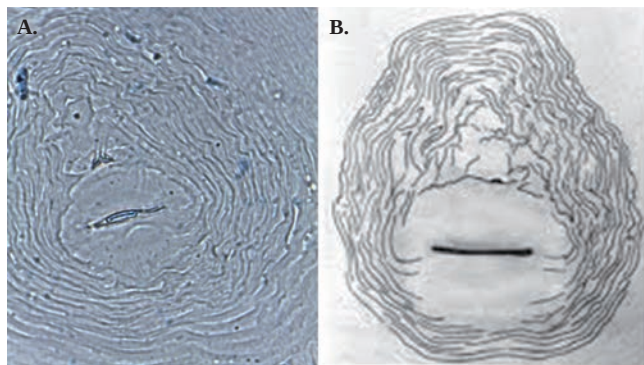


Figura 3. Patrones perineales de hembras de *Meloidogyne*. **A.** *M. incognita*. Aumento 100 X y **B.** Características del modelo perineal de *M. incognita* según Eisenback et al. (1983).

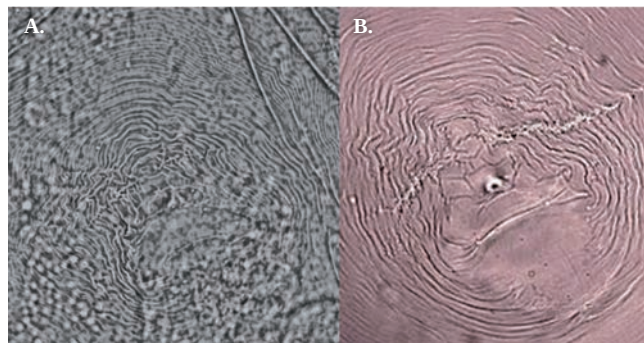


Figura 4. Patrones perineales de hembras de *Meloidogyne*. **A.** *M. javanica*. Aumento 100 X y **B.** Características del modelo perineal de *M. incognita* según Wim M. L. Wesemael (2013).

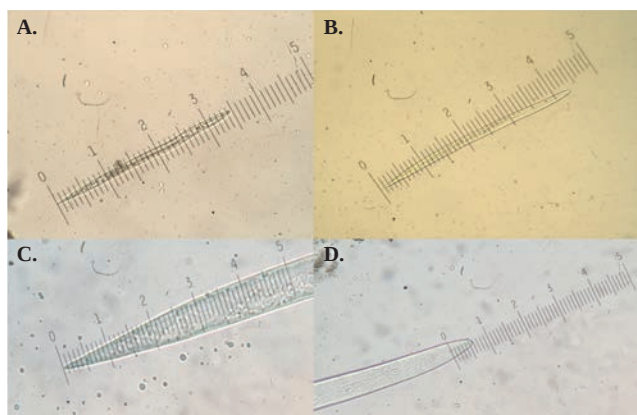


Figura 5. Morfometría de las especies de *Meloidogyne* spp. **A.** Longitud del cuerpo de *M. incognita*. **B.** Longitud del cuerpo de *M. javanica*. **C.** Región hialina de *M. incognita*. **D.** Estilete de *M. javanica*, utilizando un microscopio compuesto con oculares de rejilla a 10 X (**Figura A y B**) y 40 X (**Figuras C y D**).

terminación hialina de la cola se caracterizó por ser finamente redondeada; características morfométricas que corresponden a la especie *M. javanica* (**Tabla 5, Figura 5 B, D**).

Los resultados de las pruebas de caracterización morfométrica de las hembras y los estados juveniles (J2) de *Meloidogyne* spp., coinciden con las claves de **Jepson** (1987), **Eisenback, et al.** (1981) y **Perry, et al.** (2009) para *M. incognita* y *M. javanica*, confirmando que dichas especies son parásitos que forman nudos radicales en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*) (**Tabla 5**).

Perry, et al. (2009) mencionan que las interacciones de diferentes especies de fitonematodos pueden resultar en un beneficio mutuo ya que pueden disminuirle resistencia al hospedante y mejorar la nutrición de los patógenos. Además, afirman que la eficacia o no de las interacciones depende de la susceptibilidad o resistencia del hospedante y de sus interacciones con el medio ambiente. **Eisenback** (1985), por su parte, considera que es común encontrar varias especies de *Meloidogyne* en el mismo sitio, sistema radical y en el mismo nudo radical, lo que coincide con lo observado en este estudio.

Tamayo, et al. (2006) afirman que la especie *Meloidogyne incognita* se encuentra distribuida en plantaciones de tomate de los departamentos de Antioquia, Atlántico, Boyacá, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Nariño y Santander.

Caro (2011) evaluó la susceptibilidad de diferentes introducciones de tomate Cherry a *Meloidogyne* spp., y los resultados del análisis de laboratorio indicaron que la población más alta encontrada en la zona de estudio correspondió a la especie *Meloidogyne incognita* con una población de 11.760 individuos/100g de suelo.

Jaramillo, et al. (2012) mencionan que las plantas de tomate son afectadas principalmente por especies del género *Meloidogyne*, y si bien *M. incognita* es un nematodo de amplia distribución y prevalencia en diferente tipo de ambientes,

Tabla 5. Características morfométricas en estados juveniles (J2) de *M. incognita* y de *M. javanica* hallados en este estudio provenientes de raíces de tomate y su comparación con las obtenidas por Jepson (1987), Eisenback *et al.* (1981) y Perry *et al.* (2009) en las mismas especies.

Característica	<i>M. incognita</i> n=20	<i>M. incognita</i> n= 35 Jepson (1987)*.	<i>M. javanica</i> n=20	<i>M. javanica</i> n=30 Eisenback <i>et al.</i> (1981)**.
Longitud del cuerpo (µm)	354,2 ± 18,3 (320-380) ^a	371,0 (337,0-403,0)	453,7 ± 33,8 (410-520)	481,0 (402,0-560,0)
Longitud de la cola (µm)	48,2 ± 3,2 (42-52)	48,7 (45,0-52,0)	55,1 ± 3,1 (52-62)	57,0 (51,0-63,0)
Longitud de la región hialina (µm)	10,1 ± 2,6 (5-13)	9,9 (6,3-13,5)	14,7 ± 2,1 (12-19)	13,5 (9,0-18,0)
Longitud estilete (µm)	10,3 ± 1,1 (9-12)	10,5 (9,6 -11,7)	14,7 ± 0,4 (14-15)	15,0 (14,0-16,0)
Forma terminal de la región hialina***	Redondeada	Redondeada	Finamente redondeada	Finamente redondeada

^a Promedio ± desviación estándar (rango); n= número de larvas analizadas.

* Medidas tomadas por Jepson (1987).

** Medidas tomadas por Eisenback, *et al.* (1981).

*** Característica reportada por Perry, *et al.* (2009).

es más frecuente en cultivos de tomate ubicados en zonas de clima cálido, mientras que *M. javanica* predomina en las zonas de clima frío moderado. Sin embargo, en esta investigación se encontraron las dos especies, aunque la frecuencia de *M. javanica* fue menor (20 %) que la de *M. incognita* (80 %).

Nono-Womdim, *et al.* (2002), en un estudio realizado en Tanzania sobre la identificación de especies de *Meloidogyne* que atacaban cultivos de tomate, encontraron que tres especies de nematodos, *M. hapla*, *M. javanica* y *M. incognita*, se asocian con tomate en dicho país. *M. javanica* fue la especie más ampliamente distribuida en las regiones donde había cultivos de tomate. Esta especie se registró en el 89 % de las muestras de tomate infectadas, lo cual es consistente con otro informe de la región realizado por Saka (1985), quien informó que *M. javanica* fue la especie más común en Malawi, Zimbabwe y Zambia. Por su parte, *M. incognita* es reportada como la especie más importante de nematodos agalladores en todo el mundo (Lamberti, 1979).

Conclusiones

Todas las introducciones evaluadas fueron altamente susceptibles al nematodo Nodulador, resaltando que a libre exposición la población de nematodos fue inferior en comparación con el sistema bajo semitecho.

La presencia del nematodo Nodulador fue favorecida por el sistema de producción bajo semitecho por efecto del acolchado tipo 'mulch' que pudo aumentar la temperatura del suelo y así acortar el ciclo de vida del patógeno.

Las especies de nematodos identificadas en este estudio fueron *Meloidogyne incognita* y *M. javanica*, con mayor frecuencia *M. incognita*.

Agradecimientos

Los autores del trabajo agradecen a la Universidad de Caldas por la financiación del presente estudio.

Conflicto de intereses

Los autores no presentan ningún conflicto de intereses frente a la información presentada en el presente documento.

Referencias

- AGRONET. 2013. Tomate. <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/ReportesAjax/VerReporte.aspx>. Consulta 20 de enero de 2015.
- Arellano, G.M., Valera, M.D., Urrestarazu, G.M., García, G.S., Sánchez, S.S. & Soria, R.J. 2006. Estudio microclimático en dos subtipos de invernaderos almería. *Agríc. Téc. Méx.* 32 (2): 225-234.
- Caro, J.J. 2011. Evaluación de la incidencia y severidad de enfermedades en 20 introducciones de tomate silvestre tipo Cherry (*Solanum* spp.). Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. 70 p.
- Castañó-Zapata, J. 1989. Estandarización de la estimación de daños causados por hongos, bacterias y nematodos en frijol. *Fitopatología Colombiana* 13 (1): 9-19.
- Castañó-Zapata, J. 2002 Principios básicos de fitoepidemiología. Centro Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 396 p.
- Eisenback, J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser y A.C. Triantaphyllou. 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador (*Meloidogyne* especies). Con una clave pictórica. Traducido por Carlos Sosa Moss. Publicación cooperativa entre: Departamentos de Plant Path. Y Gen. North Carol. State Univ.; Dpto. de Fitopatología del Colegio de Postgraduados, Chapingo, Mex.; y Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos. Raleigh, North Carolina. 48 pp.
- Eisenback, J. D. 1985. Detailed morphology and anatomy of second-stage juveniles, males, and females of the genus *Meloidogyne* (root-knot nematodes). In: Sasser, J.N. & Carter, C.C. (eds). *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Volume I. Biology and Control. A Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology and the United States Agency for International Development, North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina. 477 p.

- Guana, P.** 2011. Manejo integrado de *Meloidogyne* en tomate. Laboratorio de Nematología INTA EEA, Bella Vista. 7 p.
- Guerrero, J.** 2013. Diagnóstico y control del nematodo de los nódulos en tomate. [Versión electrónica]. Recuperado el 04 de febrero de 2013, de <http://www.hortalizas.com/articulo/9214/diagnostico-y-control-del-nematodo-de-los-nodulos-en-tomate>.
- Jaiteh, F., Kwoseh, C. & Akromah, R.** 2012. Evaluation of tomato genotypes for resistance to root-knot nematodes. *African Crop Science Journal* **20** (1): 41-49.
- Jaramillo, J., Rodríguez, V.P., Guzmán, M., Zapata, M. & Rengifo, T.** 2007. Manejo fitosanitario. Protección de Cultivos. En: Jaramillo, J.; Rodríguez, V.P.; Guzmán, M.; Zapata, M. & Rengifo, T. 2007. Manual Técnico Buenas Prácticas Agrícolas –BPA En la producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas. CORPOICA – MANA – Gobernación de Antioquia – Centro de Investigación “La Selva”. FAO. Pp. 179 -180, 199 - 106, 219 - 224.
- Jaramillo, J., Rodríguez, V., Gil, L., García, M., Hío, J., Quevedo, D., Sánchez, G., Aguilar, P., Pinzón, L., Zapata, M., Restrepo, J. & Guzmán, M.** 2012. Tecnología para el cultivo de tomate bajo condiciones protegidas. Bogotá. CORPOICA. 482 p.
- Jenkins, W.R.** 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* **48** (9): 692.
- Jepson, S.** 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). CAB International, United Kingdom. 265 p.
- Maggenti, R.** 1981. General Nematology. Springer Verlag. New York. Pp: 159-200.
- Jianhua, X., Takashi, N., Takayuki, M. & Tadaaki, H.** 2001. A Molecular marker correlated with selected virulence against the tomato resistance gene Mi in *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, and *M. arenaria*. *Phytopathology* **91** (4): 377 -382.
- Kamran, M., Anwar, S. A., Javed, N., Khan, S. A., Haq, I. & Ullah, I.** 2012. Field evaluation of tomato genotypes for resistance to *Meloidogyne incognita*. *Pakistan J. Zool.* **44** (5): 1355-1359.
- Lamberti, F.** 1979. Economic importance of *Meloidogyne* spp. in subtropical and mediterranean climates. In: Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Species): Systematics, Biology and Control. F. Lamberti and C. E. Taylor, eds. Academic Press London. Pp. 341-357.
- Luc, M., Sikora, R.A. & Bridge, J.** 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK. Chapter 2: 11-52.
- Medina, J.B., Ruíz, J., Sosa, J., Moreno, O. & Perales, C.** 2012. Morphological leaf adaptations in tomato grown in warm retractable-roof bio-space. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* **3** (1): 173-186.
- Meredith, J.** 1973. Algunos métodos de campo y laboratorio para trabajar con nematodos. Maracaibo, Venezuela. 44 p.
- Mormeneo, I. & Cantamutto, M.A.** 1999. Modification of soil temperatures for a ‘mulch’ effect. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*. Santa Maria. **7** (2): 169-172.
- Nono-Womdim, R., Swai, I. S., Mrosso, L. K., Chadha, M. L. & Opeña, R. T.** 2002. Identification of root-knot nematode species occurring on tomatoes in Tanzania and resistant lines for their control. *Plant Dis.* **86**: 127-130.
- Nuez, F.** 1999. Desarrollo de nuevos cultivares de tomate. En: F. Nuez [ed.]. El Cultivo del Tomate. Pp. 32-33, 351, 384, 625-669. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Ortiz, R. A.** 2015. Manejo biológico del nematodo del Nudo radical (*Meloidogyne* spp. Goeldi) en guayabo (*Psidium guajava* Linneo), variedad Palmira ICA-1. Tesis para optar al título de Magister en Fitopatología. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. 152 p.
- Perry, R., Moens, M. & Starr, J.** 2009. Root knot nematodes. CAB International. London. 480 p.
- Piedra, N.R.** 2008. Manejo biológico de nematodos fitoparásitos con hongos y bacterias. En: *Tecnología en Marcha* **21** (1): 123-132.
- Ploeg, A.T. & Maris, P.C.** 1999. Greenhouse and field test on control of *Meloidogyne incognita* using marigolds. Abstract XXXII Annual Meeting of ONTA, 16 – 20 Abril, Auburn, Alabama. 69 p.
- Roberts, P.A.** 1992. Current status of the availability, development and use of host plant resistance to nematodes. *J. Nematol.* **24**: 213-227.
- Saka, V. W.** 1985. *Meloidogyne* spp. research in region V of the international *Meloidogyne* project (IMP). In: An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and Control. J. N. Sasser and C. C. Carter, eds. North Carolina State University Graphics, Raleigh. Pp. 361-369.
- Sasser, J. N.** 1979. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. In: Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Species): Systematics, Biology and Control. F. Lamberti and C. E. Taylor, eds. Academic Press, London. Pp. 359-374.
- Tamayo, M., Pablo, J., Jaramillo, N. & Jorge, E.** 2006. Enfermedades del tomate, pimentón, ají y berenjena en Colombia. Guía para su diagnóstico y manejo. Manual Técnico CORPOICA, Centro de Investigación La Selva. 161 p.
- Taylor, A. L. & Sasser, J.** 1983. Biología, identificación y control de nematodos del nódulo de la raíz. Universidad del Estado de Carolina del Norte (Ed.). Carolina del Norte, U.S.A. 111 p.
- Urbina, C.** 2009. Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades. En: Manual de Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Escalona, V.; Alvarado, P.; Monardes, H.; Urbina, C.; Martin, A. (eds.). Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de Chile. 43 p.
- Vallejo, F.A.** 1999. Mejoramiento genético y producción de tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 219 p.
- Vallejo, F. & Estrada, S.** 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Ed. Feriva. Palmira. 94 p.
- Wesemael, W.** 2013. Identification and pathogenicity of root-knot nematodes from tomatoes grown in Kyenjojo and Masaka districts in Uganda. University of Gent Faculty of science Department of biology Academic year 2012 – 2013. (http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/061/313/RUG01-002061313_2013_0001_AC.pdf).

Genetic analysis of Paleo-Colombians from Nemocón, Cundinamarca provides insights on the early peopling of northwestern South America

Marcela Díaz-Matallana^{1,2,*}, Alberto Gómez¹, Ignacio Briceño^{1,3}, José Vicente Rodríguez⁴

¹Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

²Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Genética Forense, Regional Oriente - Seccional Meta, Villavicencio, Colombia

³Facultad de Medicina, Universidad de La Sabana, Chía, Colombia

⁴Laboratorio de Antropología Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

Abstract

The Checua site within Nemocón in the eastern Andean Region of Colombia has produced evidence of hunter-gatherer activities from 9500-8700 cal yr BP. The aim of this work was to analyze genetically the Checua group according to mitochondrial DNA HVR-I sequence data. Following strict criteria of authenticity for studies of ancient DNA, extracted DNA was amplified and sequenced for each of the human remains. Twelve of the 22 human remains from Checua were successfully assessed (54.54%) in this study. Paleo-Colombian Checua revealed the Native American haplogroups A2, B2 and C1, plus the rare haplogroup D4h3a, reported for the first time in ancient Colombia. Comparison between Paleo-American and modern Colombian genetic data demonstrates the continuity of A2, B2, and C1, and a probable discontinuity of D4h3a since prehistoric times in Colombia, if not a shortage of D4h3a records in the literature and/or databases, while D1 is present in modern Colombia. The presence of D4h3a, A2, B2, and C1 haplogroups from Colombian early Holocene burials supports genetic evidence for Paleo-American dispersals downward by the Pacific coast. Our Paleo-Colombian DNA data, along with other genetic, archaeological, and paleoenvironmental published data, allow us to bring forward an *Integrated Migration Model for the early peopling of northwestern South America*, which involved different movements: (1) North-to-South along the coast; (2) West-to-East across the Andean mountain ranges; (3) Riverine discovery and riverside colonization. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Checua site, hunter-gatherers occupation, Paleo-DNA, mitochondrial DNA (mtDNA), Cundinamarca, Colombia, Migration waves.

El análisis genético de paleo-colombianos de Nemocón, Cundinamarca proporciona revelaciones sobre el poblamiento temprano del Noroeste de Suramérica

Resumen

El sitio Checua localizado en Nemocón en la Región de los Andes Orientales Colombianos, ha mostrado evidencia de actividades de cazadores-recolectores desde 9500-8700 cal AP. El objetivo de este trabajo fue analizar genéticamente el grupo Checua mediante datos de secuencia de ADN mitocondrial HVR-I. Siguiendo criterios estrictos de autenticidad para los estudios de ADN antiguo, se extrajo, se amplificó y se secuenció el ADN para cada uno de los restos humanos disponibles. Doce de los 22 restos humanos de Checua se evaluaron con éxito (54,54%) en este trabajo. Los Paleo-Colombianos Checua revelaron los haplogrupos nativos americanos A2, B2 y C1, además del raro haplogrupo D4h3a, reportado por primera vez en Colombia antigua. La comparación de los datos genéticos entre los Paleo-Americanos y Colombia moderna demuestra la continuidad de los haplogrupos A2, B2 y C1, y una probable discontinuidad de D4h3a desde tiempos prehistóricos en Colombia, si no una escasez de registros de D4h3a en la literatura y/o bases de datos, mientras que D1 está presente en Colombia actual. La presencia de los haplogrupos D4h3a, A2, B2, y C1 en entierros Colombianos del Holoceno temprano apoya la evidencia genética para dispersiones de Paleo-americanos hacia abajo por la costa del Pacífico. Nuestros datos Paleo-genéticos de Colombia, junto con otros datos genéticos, arqueológicos y paleoambientales publicados, nos permiten proponer un *Modelo Integrado de Migración para el poblamiento temprano del Noroeste de Suramérica*, que involucró diferentes movimientos: (1) Norte a Sur a lo largo de la costa; (2) Oeste a Este a través de las Cordilleras Andinas; (3) Descubrimiento fluvial y colonización de sus riberas. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras Clave: Sitio Checua; Ocupación de cazadores-recolectores; Paleo-ADN; ADN mitocondrial (ADNmt); Cundinamarca; Colombia, olas de migración.

Introduction

Information obtained from mitochondrial DNA (mtDNA) has been used extensively to clarify the genetic and evolutionary history of hominins, ancient humans, and prehistoric and modern populations (Martínez-Cruzado, *et al.* 2005; Fehren-Schmitz, *et al.* 2010; Chatters, *et al.* 2014). Previous research has revealed five “Pan-American” mtDNA haplogroups, A, B, C, D and X, classified in the major lineages A2, B2, C1, D1 and X2a, with the minor lineages C4c, D2a, D3a and D4h3 (Tamm, *et al.* 2007; Achilli, *et al.* 2008). More recently, complete mtDNA analysis has revealed 15 sub-haplogroups, considered as founder lineages of the New World: A2*, A2a, A2b, B2, C1b, C1c, C1d*, C1d1, C4c, D1, D2a, D3, D4h3a, X2a and X2g (Merriwether, *et al.* 1995; Achilli, *et al.* 2008; Perego, *et al.* 2009). Molecular data generated by different genetic systems and computer simulations has been used to clarify dispersal routes and periods of entry into the Americas. Amongst the proposed models are: (1) *A single migratory wave*, based on mtDNA, SNPs and Y-STR data (Stone and Stoneking 1998; Zegura, *et al.* 2004), either by coastal routes based on analysis of mtDNA and STRs (Yang, *et al.* 2010), or by coastal and riverine colonization by means of computer simulation model (Fix 2005), or specifically along the Pacific coastal route, based on the analysis of autosomal STR or whole mtDNAs (Wang, *et al.* 2007; Fagundes, *et al.* 2008; Goebel, *et al.* 2008; Perego, *et al.* 2012; Llamas, *et al.* 2016). (2) *A dual migration model*, according to the geographical distribution of two rare mtDNA lineages: D4h3 and X2a (Perego, *et al.* 2009). (3) *Multiple waves of migration*, including: a) a tripartite model based on linguistic, dental and genetic evidence (Greenberg, *et al.* 1986); b) a three-wave model based on analysis of complete mtDNAs or SNPs (Tamm, *et al.* 2007; Reich, *et al.* 2012); c) a three-stage model: mtDNA data (Mulligan, *et al.* 2008). Concerning the Caribbean, an indigenous South American origin for the Caribbean Taínos has been confirmed by genetic and genomic analyses carried out on Mestizo mtDNA (Díaz-Matallana 2009; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; Martínez-Cruzado 2010), on Mestizo nuclear SNPs (Moreno-Estrada, *et al.* 2013), and also on ancient DNA (aDNA) studies in the Dominican Republic and Cuba (Lalueza-Fox, *et al.* 2001, 2003). Moreover, a Native American gene flow from Central America to the Caribbean (Lalueza-Fox, *et al.* 2003; Moreno-Estrada, *et al.* 2013), as well as a back migration from South to Central America in ancient times have been proposed (Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; Moreno-Estrada, *et al.* 2013). Regarding South America, different studies have suggested: a) *One migration wave* (Manríquez, *et al.* 2011); b) *One migration wave in two stages* (Fuselli, *et al.* 2003); c) *Two migration waves* (Keyeux, *et al.* 2002); d) *An early colonization from north to south, including subsequent trans-Andean movements in southern South America* (Bodner, *et al.* 2012; de Saint-Pierre, *et al.* 2012).

Archaeological and genetic studies of modern populations indicate an early colonization of the Americas took place sometime prior to 15 Ka. A small number of aDNA results from the Americas would postpone the time of settlement by several thousands of years. The oldest samples studied (≥ 8 ^{14}C ka BP), ostensibly the most informative for studies of the peopling of the continent, usually come from single individuals, while more recent ancient samples are suitable for the regional prehistory (Raff, *et al.* 2011; Pickrell & Reich 2014; Llamas, *et al.* 2016). Several findings of human remains from the Savannah of Bogotá (Figure 1a, 1b) and from Boyacá (eastern Cordillera, Colombia) along with other relevant findings from elsewhere in the Americas (Pleistocene/Holocene) are cited in Table 1. Those already analyzed through mtDNA markers appear in bold and are italicized.

The Checua site. The open-air Checua site extends over the top of a hill, steeper at its western end, rising about 15 feet above the flat surrounding area. It has produced evidence of prehistoric activities by hunter-gatherers in a cultural sequence (8500-3000 ^{14}C yr BP). An archaeological excavation (300 m²) was carried out in 1991 under the coordination of A.M. Groot (Groot 1992, 1995, 2006). The name Checua is derived from the subdivision of the municipality of Nemocón (Figure 1a, 1b), Cundinamarca-Colombia (eastern Andes) that contains the site. This is a region of subtropical lower-montane dry forest: 2600 m.a.s.l. average altitude, 14°C annual mean temperature, and 600-750mm average annual precipitation (Groot 1992). The area is characterized by a native plant (*Condalia thomasi*) that is typical of the *Condalia* forest (Van der Hammen 1997). Nemocón has two major rivers: the Checua River, covering 8334 Ha (85%), and the Neusa River covering 311 Ha (15%) (Groot 1992, 1995, 2006; Minelli, *et al.* 2012). Paleoenvironmental studies suggest great changes in temperature and precipitation took place during the Quaternary period. During the last glaciations (23–18 Ka) the mean annual temperatures of the Savannah of Bogotá were about 8°C lower than at present; the lower Andean zone of Savannah –currently 2500/2600 and 2800m altitude- remained for several thousand years between 1700 and 2000m below. At that time, the weather was relatively dry: annual precipitation in the region was 40% lower than today (Van der Hammen 2011). During Early Holocene (10 – 8 Ka), the climate changed with a sudden rise in average annual temperature that increased evaporation, causing lakes and swampy areas to dry out. The biome reconstructions for the 9 - 8 Ka reveal that there was a notable expansion of mesic biomes (Marchant, *et al.* 2002; Van der Hammen 2011). Paleoeological / paleoenvironmental data predict that an initial wave of human occupation could have used coastal routes as primary adaptation areas. Then around 15–12 Ka, some groups may have turned east, crossing the major river valleys of the eastern highlands (“Altiplano Cundiboyacense”), taking advantage of the relatively dry

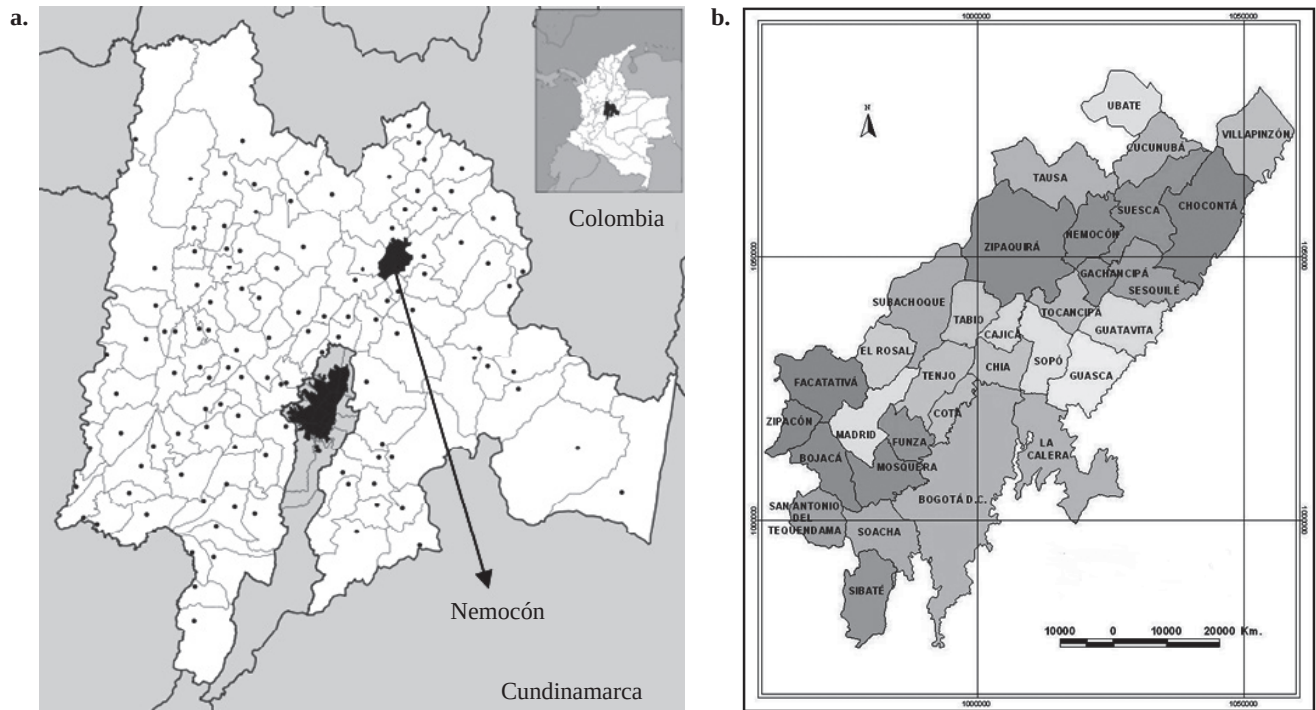


Figure 1. a. Cundinamarca Department of Colombia, Municipality of Nemocón. Source original map: Wikipedia (<https://en.wikipedia.org/wiki/Nemocón>). **b.** Savannah of Bogotá - Colombia, Municipality division. Source map: ICANH (<http://www.icanh.gov.co>). Checua remains were found on the “Finca Extremadura” (Nemocón), 7 km north of the municipality head (5°04' north latitude, 73°53' east longitude of Greenwich), at 60 km northeast of Bogotá, D.C. (Groot 1992; Neves, *et al.* 2007).

and cold environments, as well as lower water levels in fluvial systems (Dillehay, *et al.* 1999; López-Castaño & Cano-Echeverry 2011). Overall, it seems a relatively dry corridor linked Pacific coastal routes with the “Altiplano Cundiboyacense”, favoring the displacement of wildlife and humans from the Magdalena Valley towards the mountains towards the end of the Pleistocene (Van der Hammen 1986; Correal 1993).

Eight stratigraphic levels were identified at the Checua site, identifying two human occupation zones (Groot 1992; Neves, *et al.* 2007). Zone I corresponds to Stratum 4: 9500-8700 cal yr BP [8200 ± 110 ¹⁴C yr BP (Beta)]; Zone II corresponds to Stratum 5: 9100-8300 cal yr BP [7800 ± 160 ¹⁴C yr BP (Beta53924)] (Table 1). A more recent archaeological survey (Minelli, *et al.* 2012) reconstructed a stratigraphic sequence of seven levels (US7 to US1), using fragments of gastropods (snails) and charcoal samples as follows: Level US1 (3000-3500 ¹⁴C yr BP), level US3 (5837 ¹⁴C yr BP), level US4 (6461 ¹⁴C yr BP), and lower levels US5-7 (8500 ¹⁴C yr BP) (Lab CEDAD, Lecce-Italy) [Table 1]. Checua human remains were identified as Paleo-Americans due to anthropological analysis, showing dolichocephalic skulls (Groot 1992; Pucciarelli, *et al.* 2010). Also, found at the Checua site were ancient stone tools and bone elements closely connected with hunter-gatherer activities, as well as faunal remains (Groot 1992, 1995, 2006; Minelli, *et al.* 2012).

The aim of the present study was to analyze skeletal remains of Paleo-Colombian Checua through mtDNA markers in order to: 1) Identify possible Native American haplogroups (A2, B2, C1 and D1) in 22 Checua samples by mtDNA markers of HVR-I region; 2) Contrast the haplotypes obtained with the results from other aDNA and modern DNA studies; 3) Determine the phylogenetic relationships and genetic diversity of the individuals studied; 4) Integrate information from distinct scientific disciplines such as: human genetics (ancient and modern DNA), archaeology, anthropology, and paleoenvironment with the purpose of elucidating eventual human migration patterns for north-western South America.

Materials and methods

Human skeletal remains. Samples from 22 human remains (N=22) from Checua-Nemocón, Cundinamarca, including 21 dental remains (premolars and molars), and 1 cranial (parietal) fragment (Groot 1992) belonging to the Reference Collection of the Physical Anthropology Lab (Universidad Nacional de Colombia-Bogotá) were analyzed. The Instituto Colombiano de Antropología e Historia (ICANH), pursuant to the provisions of the Culture Law 397/1997 (Act 1185/2008; Decrees 833/2002, 763/2009), considering the fulfillment of requirements, granted the *Authorization Statement on Archaeological Heritage* N°4359 to: Marcela Díaz-Matallana, and the other team members (I. Briceño,

Table 1. Human Evidence from North, Meso, Central and South America (Pleistocene / Holocene)

North America	Cultural association	Age ¹⁴ C yr B.P.	Lab Code	Age range Cal yr B.P.	Material dated	Ref.
New World Arctic: -Paleo-Eskimo	Saqqaq (Arctic Small Tool Tradition)	(4044 ± 31) ^a	(OxA-20656)	4170 – 3600	Hair	(Rasmussen, <i>et al.</i> 2010)
Southeast Alaska: -OYKC: “Prince of Wales Island man”	Micro blade industry	9200 (correction) - (9730 ± 60) - (9210 ± 50)	(CAMS-29873) (CAMS-43990)	10300 - 11300 – 10800 ^ε - 10550 – 10200 ^ε	- Bone - charcoal	(Kemp, <i>et al.</i> 2007)
British Columbia, Canada: -Ancient-939	n.i.	(5710 ± 40)	(Beta-317343)	6260 – 5890	Bone	(Cui, <i>et al.</i> 2013)
Montana: - “Anzick-1” Infant	Clovis	(10,705 ± 35) ^a	(CAMS-80538)	12,707 – 12,556	Bone	(Rasmussen, <i>et al.</i> 2014)
Oregon, USA -Paisley Caves	Pre-Clovis	(12,265 ± 25) ^a	(UCIAMS-76190)	~14,300 14,595 – 14,079	Human Coprolite (cave 5)	(Jenkins, <i>et al.</i> 2008)
Santa Rosa Island, California: -Arlington Springs man	Late Pleistocene	(10,960 ± 80)	(CAMS-16810)	13,010 – 12,710	Bone	(Johnson, <i>et al.</i> 2002)
Meso America	Cultural association	Age ¹⁴ C yr B.P.	Lab Code	Age range Cal yr B.P.	Material dated	Ref.
Central Mexico: - Peñón III woman - Tlapacoya I	-Early Preceramic -Early Preceramic	- (10,755 ± 75) ^a - (10,200 ± 65) ^a	n.i. n.i.	-12,770 – 12,560 -12,150 – 11,610	Bone Bone	(González, <i>et al.</i> 2005)
Quintana Roo, Mexico: - Hoyo Negro: “Naia”	Late Pleistocene	(10,976 ± 20) ^a	(Stafford / UCIAMS)	12,910 – 11,750	Tooth enamel	(Chatters, <i>et al.</i> 2014)
Central America	Cultural association	Age ¹⁴ C yr B.P.	Lab Code	Age range Cal yr B.P.	Material dated	Ref.
Turrialba Valley, Costa Rica: - Guardiría site	Early Preceramic / Clovis	n.i.	n.i.	12,000 – 10,000	Charcoal	(Cooke, <i>et al.</i> 2013)
Panamá: - Los Vampiros-1	Early Preceramic / Clovis	(11,550 ± 140)	(Beta-167520)	13,800 – 13,100 ^ε	Organic sediment	(Cooke, <i>et al.</i> 2013)
South America	Cultural association	Age ¹⁴ C yr B.P.	Lab Code	Age range Cal yr B.P.	Material dated	Ref.
Tocaima-Cundinamarca, Colombia: -Pubenza ^d	Pleistocene / Early Preceramic	(16,400 ± 420)	(Col.700, GrN-19.857)	21,000 – 18,500 ^ε	Charcoal	(Van der Hammen & Correal 2001)
Zipaquirá-Cundinamarca, Col.: -El Abra	Early Preceramic	(12,460 ± 160)	(GrN-5556)	15,200 – 14,000 ^ε	Charcoal	(Correal, <i>et al.</i> 1970)
Tocancipá, Cundinamarca, Col.: -Tibitó 1 ^d	Early Preceramic	(11,740 ± 110)	(GrN-9375)	13,800 – 13,300 ^ε	Bone	(Correal 1990)
Junín, Cundinamarca, Col.: -Sueva 1	Early Preceramic	(10,090 ± 90)	(Col. 258, GrN-8111)	13,100 – 11,200 ^ε	Charcoal (associated to human burial)	(Correal 1990, Neves, <i>et al.</i> 2007)
Cundinamarca, Col.: -Tequendama 1	Early Preceramic	(9740 ± 135)	(GrN-7115)	11,700 – 10,600 ^ε	Charcoal (associated to human burials)	(Correal 1990, Neves, <i>et al.</i> 2007)
Gachalá-Cundinamarca, Col.: -Guavio 1	Early Preceramic	(9360 ± 45)	(GrN-8.448)	10,705 – 10,435 ^ε	Charcoal (associated to Burial 8)	(Correal 1990, Neves, <i>et al.</i> 2007)
Cundinamarca, Col.: -Galindo 1	Early Preceramic	(8740 ± 60)	(GrN-16346)	10,150 – 9,500 ^ε	Charcoal	(Pinto 2003)
Nemocón-Cundinamarca, Col.: -Checua (This Study)	Early Preceramic	- (8500 – 3000) ^b - (8200 ± 110) - (7800 ± 160) - (5770 ± 40) - (7850 ± 190) ^c - (5021 ± 202) ^c	(Beta / CEDAD Italy) (Beta) (Beta-53924) (Beta-278827) [♦] (Física-UNAL-EPR) (Física-UNAL-EPR)	- n.i. - 9500 – 8700 ^ε - 9100 – 8300 ^ε - 6660 – 6470 - n.i. - n.i.	- Charcoal; Gastropods (snails) - Charcoal (Stratum 4: Checua I) - Charcoal (Stratum 5: Checua II) - Human Bone (CH I-12) - Tooth enamel (Burial 9: CH I-09) - Tooth enamel (CH II-02)	- (Groot 1992, Minelli, <i>et al.</i> 2012) - (Groot 1992, 1995, 2006; Neves, <i>et al.</i> 2007) - (Sandoval & Almanza 2012) - (Carvajal, <i>et al.</i> 2014)
Cundinamarca, Col.: -Neusa	Early Preceramic	(8370 ± 90)	(Beta-21060)	9600 – 9100 ^ε	Charcoal	(Rivera 1991)

South America	Cultural association	Age ¹⁴ C yr B.P.	Lab Code	Age range Cal yr B.P.	Material dated	Ref.
Nemocón, Cundinamarca, Col.: -Nemocón 4	Early Preceramic	(7530 ± 100)	(GrN-8281)	8600 – 8000 [£]	Charcoal	(Correal 1990)
Cundinamarca, Col.: -Chía 3	Late Preceramic	(5040 ± 100)	(GrN-12122)	6000 – 5500 [£]	Human Bone	(Neves, <i>et al.</i> 2007)
Soacha-Cundinamarca, Col.: -Aguazuque	Late Preceramic	-(5025 ± 40) -(2725 ± 35)	(GrN-14.477) (GrN-14.479)	- 5894 – 5660 [£] - 2917 – 2757 [£]	Charcoal (associated to human burials)	(Correal 1990, Neves, <i>et al.</i> 2007)
Mosquera-Cundinamarca, Col.: -Vistahermosa	Late Preceramic	(3410 ± 35)	n.i.	3820 – 3572 [£]	Charcoal (associated to human burials)	(Correal 1990, Neves, <i>et al.</i> 2007)
Boyacá, Col.: -Floresta	Early Preceramic	(7950 ± 40)	(Beta-299693)	8990 – 8630	Human Bone	(Rodríguez 2011)
Santa Elena Peninsula, Ecuador: -Las Vegas	Early Preceramic	(10,000 – 6000) -(10,100 ± 130) -(8250 ± 120)	n.i. (Tx-4461) (Tx-3413)	~13,000 – 11,000 -12,200 – 11,200 [£] -9600 – 8900 [£]	-Shell -Human Bone	(Stothert 1985)
Valle Chicama, Perú: -Huaca Prieta	Late Pleistocene / Pre-Clovis	-(12,950 ± 50)	(Beta-310274)	-14,200 – 13,300 -14,034 – 13,301	Sea lion Bone	(Dillehay, <i>et al.</i> 2012)
Venezuela: -Taima-taima ^d	Late Pleistocene / Pre-Clovis	(13,000 ± 200)	n.i.	16,200 – 14,900 [£]	Wood twigs	(Bryan, <i>et al.</i> 1978)
Lagoa Santa, Brazil: -Lapa Vermelha IV: “Luzia”	Early Preceramic	(10,030 ± 60)	(SacA17000/ Gif-12418)	11,710 – 11,243	Charcoal (near Luzia’s skull)	(Fontugne 2013)
Lagoa Santa, Brazil: -Cerca Grande 6	Early Preceramic	(8240 ± 40) ^a	n.i.	9400 – 9033 [£]	Human Bone	(González, <i>et al.</i> 2005)
Brazil: -Amazon Region	Ceramic / Pottery	4000 – 500 ^e	n.i.	n.i.	Association between human bone and the ceramic period	(Ribeiro-Dos-Santos, <i>et al.</i> 1996)
Argentinian Pampas: -Arroyo Seco 2 (AS2), Chocorí (Chc), La Tigra (LTi)	Early Preceramic	AS2 (6860 ± 60) ^a Chc (7010 ± 60) ^a LTi (7270 ± 60) ^a	n.i.	AS2: 7850 – 7550 [£] Chc: 8000 – 7700 [£] LTi: 8200 – 7950 [£]	Human Bone	(Figueiro & Sans 2007; Pucciarelli, <i>et al.</i> 2010; Llamas, <i>et al.</i> 2016: Central Andes & Mexico)
Chile: - <i>Northern</i> : Quebrada de Acha; Camarones 14; Playa Miller 8; Morro 1, 1-6. - <i>Central</i> : Tagua-Tagua; St. Amelia. - <i>Southern</i> : Baño Nuevo.	Quebrada de Acha (QA); Tagua-Tagua (TT); Baño Nuevo (BN): Early Preceramic	(9000 – 4000) ^b QA: (8790 ± 255); (8120 ± 90); (7570 ± 40). TT: (8070 – 6105) ^b BN: (8950 ± 50)	n.i.	n.i. QA: 10,600 – 9200 [£] ; 9400 – 9700 [£] ; 8430 – 8324 [£] . TT: n.i. BN: 10,250 – 9900 [£]	Human Bone	(Manriquez, <i>et al.</i> 2011)
Southern Chile -Monte Verde	Pleistocene / Pre-Clovis	n.i. (12,310 ± 40)	(Beta-239650)	14,600 – 14,200 -14,220 – 13,980	-Wood artifacts, charcoal -Seaweed <i>Mazaella</i> sp.	(Dillehay, <i>et al.</i> 2008)

^a Exact Age - AMS, ^b Stratigraphic Age, ^c Age -Electron Paramagnetic Resonance / Electron Spin Resonance (EPR / ESR), ^d Megafauna remains (mastodon) + lithic artifacts, ^e Estimated Age. Cal: Calibrated (“calendar”) years BP.

£ Calibrations in This Study were computed in yr B.P. OxCal v4.2.4, 95.4% (Reimer *et al.* 2013). n.i.: no information. GrN: Groningen Lab, Netherlands. ♦ CHI-12 sample: The 13C/12C stable isotope ratio corresponded to -19.7‰, the 15N/14N stable isotope ratio was equal to +7.3‰. Note 1: In bold and italicized, prehistoric human remains analyzed by mtDNA markers. Note 2: The Age-EPR/ESR of two Checua samples agrees with the stratigraphy of the site.

A. Gómez, J.V. Rodríguez), letter N°130-3692. Additionally, ICANH authorized the Human Genetics Institute to send ancient samples (mtDNA) abroad, letter N°132-4349.

Authenticity Criteria for aDNA results. Initial research was conducted at Pontificia Universidad Javeriana-Bogotá (Human Genetics Institute). A second experimental phase was performed at University of Texas-Austin, USA (Anthropology). Stringent authenticity criteria were followed (Pääbo 2004; Willerslev & Cooper 2005; Bolnick, *et al.* 2012): (1) *aDNA extraction Zone and PCR reactions were setup in one building (pre-PCR).* The ancient DNA lab of the University of Texas at Austin is a restricted-access clean room dedicated to pre-PCR aDNA research with specialized

equipment, overhead UV lights ($\lambda = 254\text{nm}$), positive air pressure, and HEPA-filtered ventilation. DNA extractions and PCR set-up were performed in a laminar flow hood, with UV irradiating the entire lab for two hours after each use. (2) *Post-PCR area located in another building.* Thermal cyclers, electrophoresis, UV trans-illuminator/gel documentation systems were in this area. The flow from the post-PCR area to pre-PCR on the same day was avoided (Knapp, *et al.* 2012). (3) *Several DNA extractions and amplifications were carried out for each sample.* Extractions were carried out as many as three times, and reagents were prepared *de novo* for each extraction. Amplifications were carried out up to five times. (4) *Negative (blank) controls for*

DNA extraction, PCR and sequencing. Two or three negative controls were included in all PCRs. Negative controls served as monitors for potential contamination generated during the extraction and analyses. (5) *Decontamination of reagents and materials* [autoclave/UV light ($\lambda = 254\text{nm}$)]. (6) *Essential disposable supplies and cleaning solutions.* Biosafety suit or coveralls (DuPont™ Tyvek®); two pair of gloves: latex/latex, or, latex/nitrile (Knapp, et al. 2012), facemasks, hair covers, shoe covers, and resealable plastic bags were used. Solutions such as 6% sodium hypochlorite (NaClO) were used to remove bone surface contamination (Kemp & Smith 2005), and samples were treated with both bleach and UV radiation. Solutions of 70% ethanol and DNase (Eshleman & Smith 2001) were used for cleaning micropipettes and acrylics. (7) *Reproducibility was tested at an independent ancient DNA lab* (Third experimental phase). Six samples were also tested independently at Universidad de los Andes-Bogotá, where the Anthropology (aDNA Lab: pre-PCR) and Human Genetics Lab (post-PCR) are located in separate buildings with specialized equipment for each area: starting by sample preparation, teeth/bone fragmentation, DNA extractions (salting-out), amplifications with four-overlapping pair of primers, and sequencing. For archaeological remains, reproducible amplification of the same sequence by independent laboratories using different parts of a specimen (i.e., tooth and femur) provides good support of authenticity (Willerslev & Cooper 2005). (8) *DNA typing of the researchers manipulating the samples.*

Sample Preparation and DNA Isolation. Preparing ancient samples and extraction protocol comprised Non-destructive Silica / Guanidine Thyocyanate (GuSCN) solution (Bolnick, et al. 2012), avoiding any further DNA purification. In addition, the salting-out extraction protocol fully adapted from previous studies (Jara 2007; Silva, et al. 2008), was improved for dental remains in this study (Díaz-Matallana 2015). DNA was purified with the MoBio® Power Clean kit, with silica columns for removing potential PCR inhibitors and humic substances (Lee, et al. 2010).

Amplification and sequencing. Four-overlapping primer pairs specific for mtDNA (HVR-I) reported were implemented (Kemp, et al. 2007; Bolnick, et al. 2012); these not only generate short PCR products but also aDNA sequences of higher quality. The four HVR-I marker pairs were: (1) np 16011-16131, (2) np 16127-16229, (3) np 16210-16330, and (4) np 16250-16382. The advantage of these markers is that no molecular cloning is required, but the consensus sequence from overlapping sequences can be determined (Winters, et al. 2011). These primers have been successfully implemented on human skeletal remains from different periods including Paleo-Americans (Kemp, et al. 2007, 2009; Bolnick, et al. 2012; Mata-Míguez, et al. 2012). At the University of Texas-Austin, PCR reactions were performed in 7.4µl containing 1.25 to 2µl of DNA template, 1X Buffer (Invitrogen), 1X PCR Enhancer MasterAmp (Epicentre®), 0.2mM dNTPs (each), Bovine

Serum Albumin-BSA 15.6µM (Roche®), 1.5mM MgCl₂, 0.8µM primers, and 0.3U of Platinum Taq (Invitrogen®). At Universidad de los Andes-Bogotá, PCR reactions were adjusted to 25µl, using Bioline® reagents. An enhancer was not required, and Dimethyl sulfoxide-DMSO (Sigma®) was used instead of BSA. In this study, the HVR-I region was only analyzed and HVR-II was avoided, the obtention of mtDNA sequences of good quality and authentic results in ancient human remains represents a challenging task, also it consumes so much time, due to *Post-mortem* DNA is usually fragmented and degraded, plus the risk of contamination with human modern DNA (Pääbo, et al. 2004, Willerslev & Cooper 2005, Knapp, et al. 2012). Consequently other ancient DNA studies have focused exclusively in the HVR-I region (Kemp, et al. 2007, 2009; Manríquez, et al. 2011; Bolnick, et al. 2012; Mata-Míguez, et al. 2012; Mendisco, et al. 2014).

PCR conditions. Initial denaturation was carried out at 94°C for 4 min, with 50 cycles (94°C for 30s, annealing temperature for 30s, 72°C for 30s) and a final extension of 72°C for 5min. The PCR (Touch Down-type) was carried out with the annealing temperature reduced 0.1°C after each cycle. It was observed that 58°C worked better to amplify all HVR-I fragments. Initially, 60 cycles were used (Bolnick, et al. 2012), but PCR was reduced to 50 cycles, showing best results in sequencing. Electrophoresis was performed in 1.5% agarose gels stained with GelRed (Biotium®) in 1X TBE buffer. Amplicons were visualized on a UV transilluminator, and a digital record was kept. At modern DNA Lab (University of Texas-Austin, Anthropology), small polyacrylamide gels stained with GelRed (Biotium®) were prepared and displayed on a gel documentation system. These gels have the advantage of requiring minimum volumes of PCR products (2-3µl) and making it quicker to visualize bands. PCR products were purified prior to sequencing using the QIAGEN® QIAquick kit, and were later submitted to the DNA Sequencing Facility at the University of Texas-Austin, as well as to MacroGen Inc., Korea (ABI® 3730/3730XL sequencers), mediated by CorpoGen, Bogotá. Each sample was sequenced in both directions of HVR-I (light/heavy chains) as many as five times.

Data analyses. The following softwares and statistics were used for data analysis: (1) OxCal v4.2.4: To calibrate radiocarbon dates of several human remains from the Americas [61]. (2) Sequencher® v5.0: Multiple sequence alignment with the revised Cambridge Reference Sequence - rCRS (Andrews, et al. 1999) and simultaneous visualization of electropherograms (GeneCodes Corp, Ann Arbor MI, USA). Only the mtDNA sequences that showed the best quality were used for analyses. The HVR-I segments (four overlapping fragments and repetitions) were aligned to the consensus sequence for each sample. (3) Network v4.6.1.2: Construction of phylogenetic networks through Median Joining (MJ) algorithm (Bandelt, et al. 1999) for each one of the mtDNA haplogroups (A2, B2, C1,

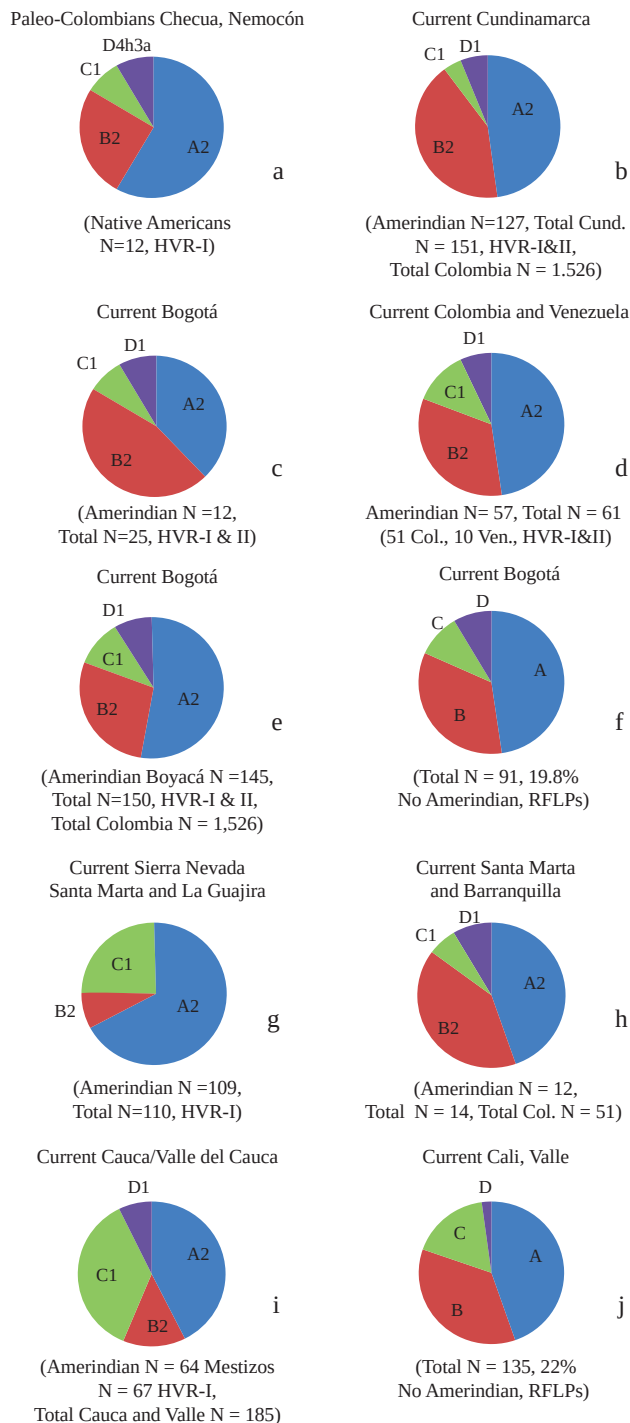


Figure 2. Paleo-DNA Vs. Neo-DNA Native American haplogroup frequencies from Colombia and Venezuela. **a)** *Paleo-Colombian Checua* (This Study) Vs. *Contemporary populations*: **b)** Cundinamarca (Yunis & Yunis 2013); **c)** Bogotá (Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010); **d)** Colombia and Venezuela (Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010); **e)** Boyacá (Yunis & Yunis 2013); **f)** Bogotá (Rodas, *et al.* 2003); **g)** Caribbean Coast: Arsario, Ijka, Kogi, Wayú (Melton, *et al.* 2007); **h)** Santa Marta and Barranquilla (Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010); **i)** Cauca-Valle del Cauca (Salas, *et al.* 2007); **j)** Cali-Valle (Rondón, *et al.* 2008).

and D4h3a) where haplotypes of Paleo-Colombians and the Americas were compared. Haplotypes of 12 Paleo-Colombian Checua (this study) were compared with 962 ancient and modern published datasets (HVR-I) from the Americas (North, Central, Caribbean and South), for a total of 974 sequences contrasted in this way: haplogroup A2: seven (7) Paleo-Colombian Checua were compared with 414 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas; haplogroup C1: one (1) Paleo-Colombian Checua were contrasted with 383 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas; haplogroup D4h3a: one (1) Paleo-Colombian Checua were compared with 30 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas; haplogroup B2: three (3) Paleo-Colombian Checua were contrasted with 135 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas (Figure 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1650>). Each of the sequence positions of HVR-I was weighted in relation to its hyper mutability taking into account the estimated relative rates (Meyer, *et al.* 1999). (4) MEGA v6.06: a) Obtainment Tajima's neutrality test statistics (Tajima, *et al.* 1989) to analyze population expansion and selection for Paleo-Colombian Checua. b) Calculation of Mean genetic diversity measure through the Maximum Composite Likelihood method and Bootstrap method, and genetic distances (Tamura, *et al.* 2013). c) The Neighbor Joining (NJ) method was used to reconstruct a phylogenetic tree (Saitou & Nei 1987) through the Maximum Composite Likelihood model and Bootstrap method to obtain the complete arrangement of the Paleo-Colombian Native American haplogroups. d) Estimation of substitution patterns and rates was carried out under the Tamura-Nei model (Tamura & Nei 1993). A Maximum Likelihood (ML) estimate of Gamma parameter for Site Rates (Gamma distribution), was used to model evolutionary rate differences among sites (5 categories, [+G]: AC=AT=CG=GT, AG=CT) and to estimate nucleotide frequencies. The problem variation located around nucleotide position 16189 is usually associated with the length of heteroplasmy (Catelli, *et al.* 2011); therefore the 16182 and 16183 positions (B2 haplogroup) were ignored to calculate diversity indices, genetic distances, NJ phylogeny, and rates/patterns of nucleotide substitution for the Checua group. (5) DnaSp v5.10.1: Calculation of haplotype diversity and Fu's F_s neutrality test statistic (Fu 1997; Librado & Rozas 2009). (6) ANOVA statistical tests were used to differentiate haplotypes number among various ancient and modern groups (Kirkman 1996, Soper 2015). (7) MaxStat Pro® v3.6: A PCA biplot for understanding and visualizing the HVR-I variation among several ancient and modern groups was carried out.

Genetic diversity indices (MEGA6 and DnaSp5) were calculated for Checua (N=12) and for each haplogroups identified. The computations for each Occupation Zone (I and II) were avoided, since calibrated dates here confirmed overlapping layers (I: 9500-8700 / II: 9100-8300 cal yr

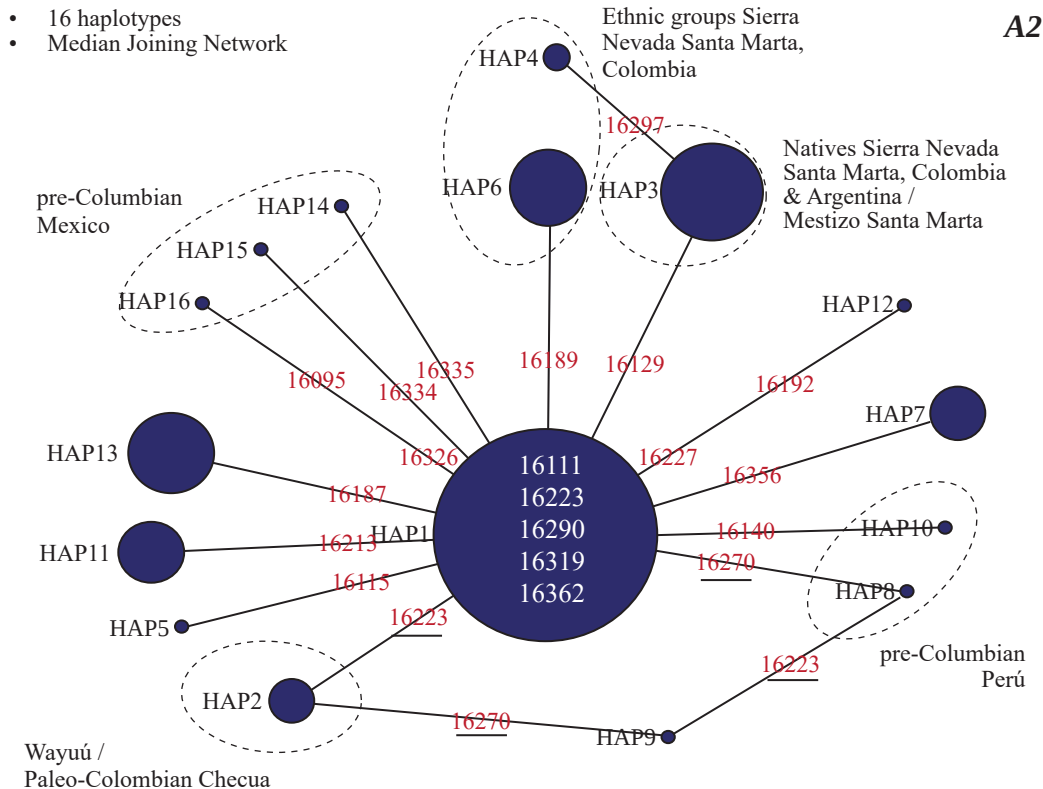


Figure 3. Phylogenetic Network of Haplogroup A2 (421 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas: 16 haplotypes) – Network v4.6.1.2. Seven (7) Paleo-Colombian Checua are represented in haplotypes 1, 2 and 5 (TS). The node size is related to its frequency. **HAP1:** Nodal Sequence of A2. **HAP1**= 5 Checua (TS), ancient Perú, Santa Marta, Col. & Venezuela, Natives Argentina & Chile, Colombians Valle, NA, CA & SA (Salas, *et al.* 2007; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; Fehren-Schmitz, *et al.* 2010; de Saint-Pierre 2012); **HAP2** = 1 Checua (CHII-03) (TS), Wayúú (Melton, *et al.* 2007); **HAP3** = Santa Marta, Col., Natives Argentina & Chile, Arsario, Ijka (Melton, *et al.* 2007; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; de Saint-Pierre 2012); **HAP4** = Kogi (Melton, *et al.* 2007); **HAP5** = 1 Checua (CHI-13) (TS); **HAP6** = Arsario, Kogi (Melton, *et al.* 2007); **HAP7** = Natives Argentina & Chile, Colombians Valle, NA, SA (Salas *et al.* 2007; de Saint-Pierre 2012); **HAP8, HAP10** = ancient Perú (Fehren-Schmitz, *et al.* 2010); **HAP9, HAP12** = Natives Argentina (de Saint-Pierre 2012); **HAP11** = Bogotá & Venezuela, Colombians Valle, SA; **HAP13** = Nicaragua, Colombian Valle, CA, NA (Salas, *et al.* 2007; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010); **HAP14 -16** = ancient Mexico (Mata-Míguez, *et al.* 2012). Mutations underlined mean that repeat several times. A unique reticulation or homoplasy is observed: HAP2 & HAP9 do not show np 16223, and HAP8 & HAP9 show np 16270. TS: This Study. NA, CA & SA: North, Central and South America.

BP); hence is problematic the partition of strata to obtain estimates. It would be more appropriate such division if a great portion of the human remains were dated providing specific information; other Checua samples have been dated (Tables 1, 2).

Ethical considerations. The Scientific Investigation Committee on Medical Ethics of the Universidad Javeriana approved the research protocol of the Project N° 5176 by consensus (Minutes N° 8-2012).

Results

Identification of mtDNA haplogroups and haplotypes. Out of 22 Checua samples, 12 were successfully typed in this study. Haplogroups and haplotypes are shown in Table 2. Results are listed according to Human Occupation Zones. Haplogroup frequencies were observed as follows: A2 = 58.33% (N = 7), B2 = 25% (N = 3), C1 = 8.33% (N = 1) and D4h3a = 8.33% (N = 1). Six of these ancient samples

(CHI-02, CHI-03b, CHI-8, CHI-11, CHI-13 and CHII-06) were verified in an external aDNA Lab at Universidad de los Andes-Bogotá, Colombia (Table 2).

Paleo-American DNA vs. Modern DNA. Figure 2 (a - d) shows the distribution of Native American haplogroups of Paleo-American Checua (HVR-I) obtained in this study in contrast with those from current Amerindian and Mestizo mtDNA haplogroups in Cundinamarca, Bogotá, and elsewhere in northern South America, considering different published samplings based on sequencing results obtained from mtDNA control region (HVR-I and II). A genetic continuity between ancient and modern populations with haplogroups A2, B2, and C1 is evident, as well as perhaps a discontinuity of D4h3a (although haplogroup D1 remains relatively common in modern Colombian populations). Figure 2 (e-j) shows other distributions of Amerindian haplogroups from the Andean and adjacent lowland regions of Colombia, as well as from Mestizos and Native

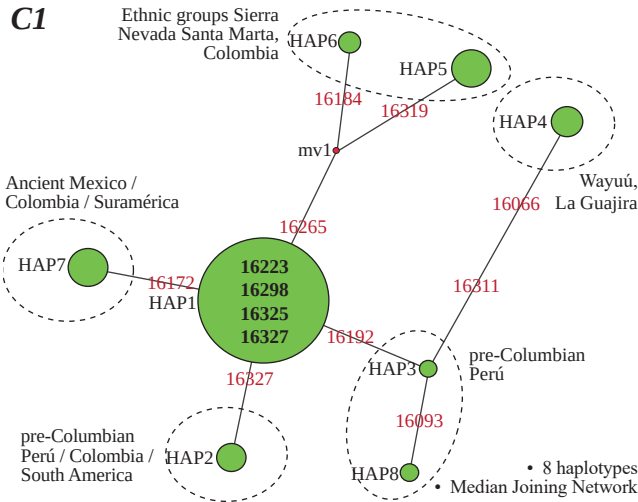


Figure 4. Phylogenetic Network of Haplogroup C1 (384 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas: 8 haplotypes) - Network v4.6.1.2. A single Paleo-Colombian Checua belongs to haplotype 1 (TS). The node size is related to its frequency. **HAP1:** Nodal Sequence of C1. **HAP1** = 1 Checua (CHI-08) (TS), ancient Perú, Wayuú, Colombians Valle, NA, CA, & SA (Melton, *et al.* 2007; Salas, *et al.* 2007; Fehren-Schmitz, *et al.* 2010); **HAP2** = ancient Perú, Colombian Valle, SA (Salas, *et al.* 2007; Fehren-Schmitz, *et al.* 2010); **HAP3, HAP8** = ancient Perú (Fehren-Schmitz, *et al.* 2010); **HAP4 - 6** = Wayuú, Arsario & Kogi (Melton, *et al.* 2007); **HAP7** = ancient Mexico (Mata-Míguez, *et al.* 2012), Colombians Valle, SA (Salas, *et al.* 2007). **Mv1:** Hypothetical ancestral node. TS: This Study. NA, CA & SA: North, Central and South America.

Americans from the Atlantic and Pacific coasts of Colombia. Most results were obtained by mtDNA sequencing (control region), though results from Bogotá and Cali were obtained by RFLPs (Keyeux, *et al.* 2002; Rodas, *et al.* 2003; Rondón, *et al.* 2007). Thus, it was not possible to discriminate subtypes of haplogroup D.

Phylogenetic Networks. Figures 3, 4, 5 show HVR-I haplotypes relationships of Paleo-Colombian Checua (this work, N=12), in contrast with individuals from other published studies for haplogroups A2, C1, D4h3a, and B2 respectively (962 ancient and modern datasets from the Americas) [See Data analyses; network B2 in Suppl. material Figure 1S].

Genetic evidence of early migrations. Figure 6(a) illustrates the ancient human remains identified as belonging to haplogroup D4h3a, as well as the archaeological findings without human remains but interpreted as contributing to evidence for Paleo-American migrations into South America along the Pacific coast; a Paleo-Colombian Checua appears in this map (No. 4). Figure 6(b) illustrates ancient human remains carrying the A2, B2 and C1 haplogroups, as well as relevant archaeological sites with no human remains but interpreted as contributing to evidence for Paleo-American migrations into South America along the Pacific coast; 11 Paleo-Colombian Checua are included in this map (No. 4).

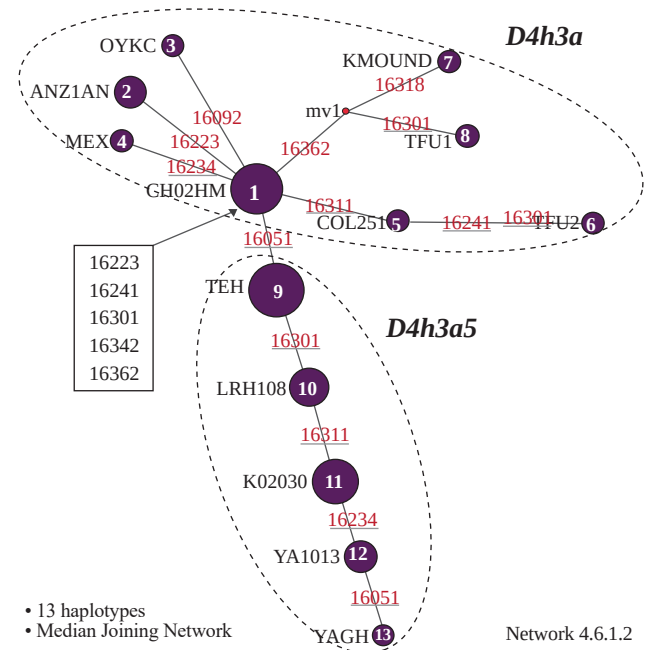


Figure 5. Phylogenetic Network of Haplogroup D4h3a (31 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas: 13 haplotypes) - Network v4.6.1.2. A single Paleo-Colombian Checua (CHI-02) belongs to haplotype 1 (TS). The node size is related to its frequency. **HAP1:** Nodal Sequence of D4h3a. **HAP1** = 1 Checua: CHI-02 (TS), Natives Chile, Mapuche, Mexican-Am (Kemp, *et al.* 2007; de Saint-Pierre 2012); **HAP2** = ANC939, Anzick-1 (Cui, *et al.* 2013; Rasmussen, *et al.* 2014); **HAP3** = OYKC; **HAP4** = Mexican (Kemp, *et al.* 2007); **HAP5** = Colombian (Bryc, *et al.* 2010); **HAP6** = post-Conquest Tierra del Fuego 2 (Kemp, *et al.* 2007); **HAP7** = Klunk Mound (1825 ± 75 ¹⁴C yr BP) [Bolnick 2005; Kemp, *et al.* 2007], 1925–1565 cal yr BP in This study (OxCal v4.2.4, 95.4%) [Reimer, *et al.* 2013], **HAP8** = post-Conquest Tierra del Fuego 1 (Kemp, *et al.* 2007); **HAP9 -13** = Natives Argentina & Chile (Kemp, *et al.* 2007; de Saint-Pierre 2012). **Mv1:** Hypothetical ancestral node. Mutations underlined mean that repeat several times. TS: This Study.

Estimates of genetic diversity. Two measures of selective neutrality (Tajima's D and Fu's *F_s*) were calculated to determine deviations from the Neutral Theory of Molecular Evolution (Table 3). Table 4 shows the estimated Mean genetic diversity (π_T) and haplotype diversity (*H_d*). Mean genetic distances between and within mtDNA haplogroups, are reflected in the arrangement of the NJ phylogenetic tree, in which the four Native American haplogroups (A2, B2, C1 and D4h3a) identified in the Checua remains are exhibited (Figure 2S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/328/1652>). Also pairwise distances between sequences were calculated (Table 1S, <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/328/1659>). Table 5 displays the comparison of total mtDNA genetic diversity (π_T) in Native Americans along the Americas; the π_T values closest to those of the Paleo-Colombian Checua are shown in bold

Table 2. Identification of mtDNA haplogroups and haplotypes (HVR-I) in *Checu* remains according to Human Occupation Zones^a

Occupation Zone II: Stratum 5 9100 – 8300 cal yr BP ^c	Origin ^c	Haplotype	HG	Sequence Read ^d
CHII-03	COL	16111T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16382
CHII-04	COL	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16382
CHII-05 T5A	COL	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16382
CHII-06 ^b	COL	16183C 16189C 16217C	B2	16011-16382
Occupation Zone I: Stratum 4 9500 – 8700 cal yr BP ^c	Origin ^c	Haplotype	HG	Sequence Read ^d
CHI-03a ^g	COL	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16382
CHI-03b ^(b,g)	COL	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16382
CHI-11 ^b	COL	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16375
CHI-13 ^b	COL	16111T 16115T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2	16011-16382
CHI-01	COL	16183C 16189C 16217C	B2	16011-16382
CHI-07	COL	16183C 16189C 16217C 16244A 16274A	B2	16011-16382
CHI-08 ^b	COL	16223T 16298C 16325C 16327T	C1	16011-16367
CHI-02 ^(b,f)	COL	16223T 16241G 16301T 16342C 16362C	D4h3a	16011-16382

^a Most results were obtained at University of Texas-Austin (USA), Dept. Anthropology: aDNA Lab / Modern DNA Lab (Díaz-Matallana et al. 2014, Díaz-Matallana 2015, This Study); ^b Six Sample results were verified at Universidad de Los Andes-Bogotá DC, (Colombia), Dept. Anthropology: aDNA Lab, and Human Genetics Lab (Díaz-Matallana et al. 2014, Díaz-Matallana 2015, This Study); ^c COL= Colombia (Nemocón, Cundinamarca); ^d HVR-I Coverage Region: 16011-16382 = Total 372bp. Identification through revised Cambridge Reference Sequence – rCRS (Andrews et al. 1999); ^e Age ¹⁴C yr BP Stratum 4 and 5 in Table 1; ^f CHI-02: Sub-adult < 6years old. ^g CHI-03a and CHI-03b: Sub-adults 3-4 years and 18-24 months old respectively, calculated by femur longitude and tooth development; ■ Age yr BP of other samples analyzed in This Study (see Table 1).

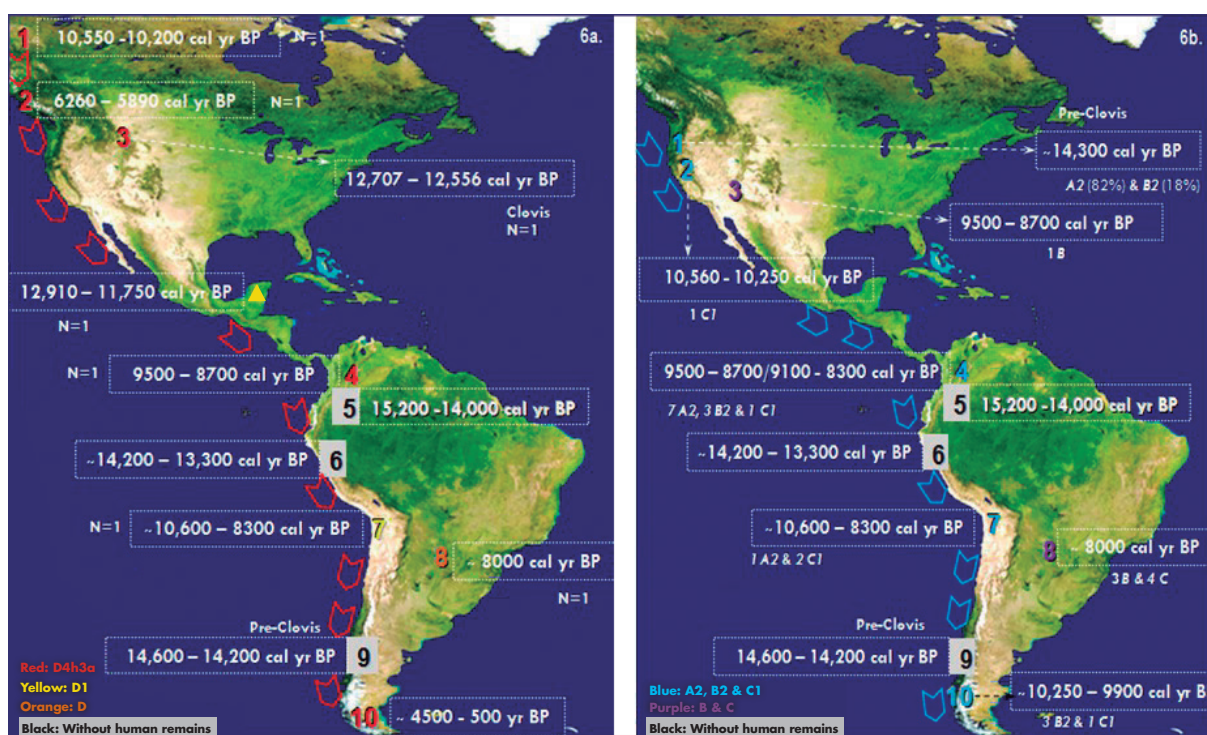


Figure 6. Genetic Evidence of early migrations along the Pacific coastal route: **a. Haplogroups D4h3a, D1 and D:** (1) OYKC; (2) ANC939; (3) Anzick-1; Yellow triangle: Naia ; (4) Checu: CH I-02 (TS); (5) El Abra; (6) Huaca Prieta; (7) Quebrada de Acha; (8) Argentine Pampas; (9) Monte Verde; (10) Tierra del Fuego (Faltyskova et al. 2014). **b. Haplogroups A2, B2 and C1:** (1) Paisley Caves; (2) Wizard's Beach (Chatters et al. 2014); (3) Hourglass Cave (Mosch & Watson 1997); (4) Checu (TS); (5) El Abra; (6) Huaca Prieta; (7) Quebrada de Acha; (8) Argentinian Pampas; (9) Monte Verde; (10) Southern Chile. (See other Refs. cited in Table 1). TS: This Study. Source original map: http://www.mappi.net/Americas_satellite_map.jpg

Table 3. Neutrality Test Statistics

<i>Checua</i>	m	S	p_s^1	Θ^1	π^1	D^1	Fu's F_s^2
Total^a	12	19	0.053371	0.017673	0.015109	-0.634978	0.169
HG A2^b	7	3	0.008197	0.003346	0.002342	-1.358415	-0.237
HG B2	3	2	0.005277	0.003518	0.003518	NAN	1.061

¹ Tajima's test (Tajima 1989) was conducted in MEGA6 (Tamura, et al. 2013). ^a This analysis involved 12 nucleotide sequences. All positions containing gaps and missing data were eliminated; there were a total of 357 positions in the final dataset. ^b This analysis involved 7 nucleotide sequences. All positions containing gaps and missing data were eliminated; there were a total of 366 positions in the final dataset. Abbreviations: m = number of sequences, n = total number of sites, S = Number of segregating sites, $p_s = S/n$, $\Theta = p_s/a$, π = nucleotide diversity, and D is the Tajima test statistic. Estimates for C1 and D4h3a haplogroups were excluded from these analyzes since MEGA6 calculates between at least two sequences. Tajima's D not significant $p > 0.10$. ² Fu's F_s statistic (Fu 1997) was computed in DnaSp5 (Librado & Rozas 2009). Fu's F_s not significant $p > 0.02$.

Table 4. Estimates of Genetic Diversity

<i>Checua</i>	m	d (π) ¹	S.E. ¹	Hd ²	S.D. ²
Total^a	12	0.016	0.004	0.833	0.100
A2	7	0.002	0.001	0.524	0.209
B2	3	0.004	0.003	0.667	0.314

¹ Evolutionary analyses were conducted in MEGA6 (Tamura, et al. 2013). ^a The number of base substitutions per site from mean diversity (d) calculations for the entire population are shown (Nei and Kumar 2000). Standard error estimate(s) are shown in the second column and were obtained by a bootstrap procedure (500 replicates). Analyses were conducted using the Maximum Composite Likelihood model. The analysis involved 12 nucleotide sequences. All positions containing gaps and missing data were eliminated. There were a total of 356 positions in the final dataset. ² Haplotype (gene) diversity (Hd), and Standard Deviation were computed in DnaSP5 (Librado & Rozas 2009).

and are italicized. The Maximum Likelihood (ML) estimate of Gamma parameter for site rates was calculated, and the estimated value of the shape parameter for the discrete Gamma Distribution was equal to 0.5689, denotes a great heterogeneity rate of nucleotide substitution among sites. Mean evolutionary rates in these categories were 0.03, 0.19, 0.52, 1.14, and 3.12 substitutions per site, the last category corresponds to transitions (AG=CT). The nucleotide frequencies were A=33.05%, T=23.24%, C=32.94%, and G=10.77%.

ANOVAs. It may be noted that pre-Columbian communities (A: Checua, Ciboney, Taino, Guane, Palpa-Perú, and this study's Checua) [Lalueza-Fox, et al. 2001, 2003; Fehren-Schmitz, et al. 2010; Casas-Vargas, et al. 2011], in spite of the smaller sample sizes (N), exhibit a greater variety of haplotypes in comparison with modern ethnic groups that have been mentioned, such as Central America (B: Ngobe, Huetar, Kuna) [Batista, et al. 1995; Melton, et al. 2013], Caribbean Colombia (C: Arsario, Ijka, Kogi) [Melton, et al. 2007], and Amazon (D: Guahibo, Gaviao, Zoro, Xavante) [Lewis, et al. 2005; Vona, et al. 2005; Melton, et al. 2007] from which a larger sample sizes have been drawn (Table 2S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1660>; table 3S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1665>; Figure 3S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/>

[downloadSuppFile/328/1653](http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1653) and figure 4S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1654>). ANOVA analysis for Number of haplotypes (HVR-I) showed that the *pre-Columbians* -Group A- exhibit the greatest variation, range of 95% confidence for the media: 6,489 - 10.71 ($p < 0.05$) [Suppl. Table 3S; Suppl. Figures 3S] followed by the other Groups D, B, and C. Moreover, the One-way ANOVA (Between-subjects) shows at least two of the means of haplotypes are dissimilar from each other ($p < 0.05$, $p < 0.01$), but also indicates a greater amount of observed variation within (1,826) than between (1,315) groups (Table 4S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1661>).

PCA biplot of mtDNA HVR-I data in Ancient and Modern population groups.

To determine visual biological relationships of the *Paleo-Colombian Checua* among ancient and modern groups, a PCA biplot was constructed using Amerindian mtDNA (HVR-I) haplogroup frequency data (Figure 7). According to the obtained scores, the closest populations to Paleo-Colombian Checua (1.286) are the following: Guane (1.175), Paracas Palpa (1.709), Wayuú (1.081), Emberá (0.652), Maya (0.477), and Arsario (0.358) (Table 5S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1662>; table 6S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1663>; table 7S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1664> and figure 5S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1655>; figure 6S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1656> and figure 7S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1658>).

Discussion

Identification of mtDNA haplogroups and haplotypes

In summary, 12 of the 22 individuals of the early Holocene at the Checua site yielded good DNA quality from the HVR-I sequences and clearly revealed the presence of the Native American haplogroups' diagnostic mutations (Tables 1, 2). This represents a success rate of 54.54% from the samples analyzed. Similarly, an aDNA Chilean

Table 5. Comparison of mtDNA Genetic Diversity (HVR-I) in Amerindians from North America, Mesoamerica, Central America, Caribbean and South America

Population / Community / Ethnic Group	N	Nucleotide Diversity (π_T)	Region	Ref.
Eskimo	77	0.0084	North America	(Vona, <i>et al.</i> 2005)
Cree	11	0.0104	North America	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
<i>Shuswap-speaking</i> (territory)	31	0.0156	North America	(Malhi, <i>et al.</i> 2010)
<i>Nuu-Chah-Nulth</i>	63	0.016	North America	(Stone & Stoneking 1998)
<i>Yakima</i>	42	0.015	North America	(Stone & Stoneking 1998)
Cheyenne	39	0.0213	North America	(Vona, <i>et al.</i> 2005)
<i>Oneota – pre-Columbian</i>	50	0.015	North America	(Stone & Stoneking 1998)
Pima	44	0.0202	North America	(Vona, <i>et al.</i> 2005)
Mixtec	17	0.0096	Mesoamerica	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
Zapotec	19	0.0114	Mesoamerica	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
Mixe	20	0.0101	Mesoamerica	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
<i>Xaltocan - pre-Conquest</i>	10	0.017	Mesoamerica	(Mata-Míguez, <i>et al.</i> 2012)
<i>Xaltocan - pos-Conquest</i>	15	0.018	Mesoamerica	(Mata-Míguez, <i>et al.</i> 2012)
<i>Xaltocan (full)</i>	25	0.018	Mesoamerica	(Mata-Míguez, <i>et al.</i> 2012)
<i>Maya</i>	34	0.017	Mesoamerica	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Ngöbe	46	0.012	Central America	(Melton, <i>et al.</i> 2013)
Quitirrisí - Huétar	29	0.010	Central America	(Melton, <i>et al.</i> 2013)
<i>Zapotón - Huétar</i>	25	0.017	Central America	(Melton, <i>et al.</i> 2013)
Kuna	63	0.009	Central America	(Batista, <i>et al.</i> 1995)
<i>Emberá</i>	44	0.017	Central America	(Kolman & Bermingham 1997)
Wounan	31	0.019	Central America	(Kolman & Bermingham 1997)
Ciboney – pre-Columbian	15	0.009	Caribbean Cuba	(Lalueza-Fox, <i>et al.</i> 2003)
Taino – pre-Columbian	19	0.008	Caribbean Dom. Rep.	(Lalueza-Fox, <i>et al.</i> 2001)
Arsario	28	0.012	Caribbean Colombia	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Ijka	31	0.004	Caribbean Colombia	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Kogi	21	0.009	Caribbean Colombia	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
<i>Wayúú</i>	30	0.016	Caribbean Colombia	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Zenú	15	0.0054	Caribbean Colombia	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
Santa Marta & Barranquilla – Mestizo ^a	11	0.0118	Caribbean Colombia	(Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010)
Venezuela – Mestizo ^a	8	0.0127	Caribbean Venezuela	(Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010)
Guahibo	59	0.0132	Amazon Venezuela	(Vona, <i>et al.</i> 2005)
Xavante	25	0.009	Amazon Brazil	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Zoró	29	0.011	Amazon Brazil	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Guane – pre-Columbian (Santander)	17	0.0231	Andes Colombia	(Casas-Vargas, <i>et al.</i> 2011)
<i>Checua – Paleo-Colombian (Cundinamarca)</i>	12	0.016	Andes Colombia	(This Study)
Bogotá DC & Villa de Leyva, Boyacá – Mestizo ^a	33	0.0105	Andes Colombia	(Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010)
<i>Cayapa</i>	30	0.018	Andes Ecuador	(Rickards, <i>et al.</i> 1999)
Quechua	18	0.0098	Andes Perú	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
<i>Ancash</i>	34	0.0162	Andes Perú	(Fehren-Schmitz, <i>et al.</i> 2010)
Arequipa	22	0.0140	Andes Perú	(Fuselli, <i>et al.</i> 2003)
<i>Tayacaja</i>	60	0.0166	Andes Perú	(Fuselli, <i>et al.</i> 2003)
Paracas – pre-Columbian (Peninsula)	25	0.0105	Andes Perú	(Fehren-Schmitz, <i>et al.</i> 2010)
<i>Palpa – pre-Columbian (Middle Horizon)</i>	6	0.0174	Andes Perú	(Fehren-Schmitz, <i>et al.</i> 2010)
<i>Pacapaccari</i>	12	0.0169	Andes Perú	(Fehren-Schmitz, <i>et al.</i> 2010)
<i>Mapuche</i>	39	0.017	Andes Argentina	(Melton, <i>et al.</i> 2007)
Huilliche	20	0.0093	Andes Chile	(Yang, <i>et al.</i> 2010)
Africans (Sub-Saharan) ^b	20	0.024	Africa	(Nei & Kumar 2000)
Asians ^b	20	0.019	Asia	(Nei & Kumar 2000)

^a Estimates obtained from HVR-I + HVR-II. ^b Additional estimates from Africa and Asia. Note 1: In bold and italicized, π_T values closest to the Paleo-Colombian Checua (This Study). Note 2: The π measure does not depend on sample size (N), therefore is useful for comparing the extents of polymorphism at sequence level (ADNmt) of different populations (Nei & Kumar 2000).

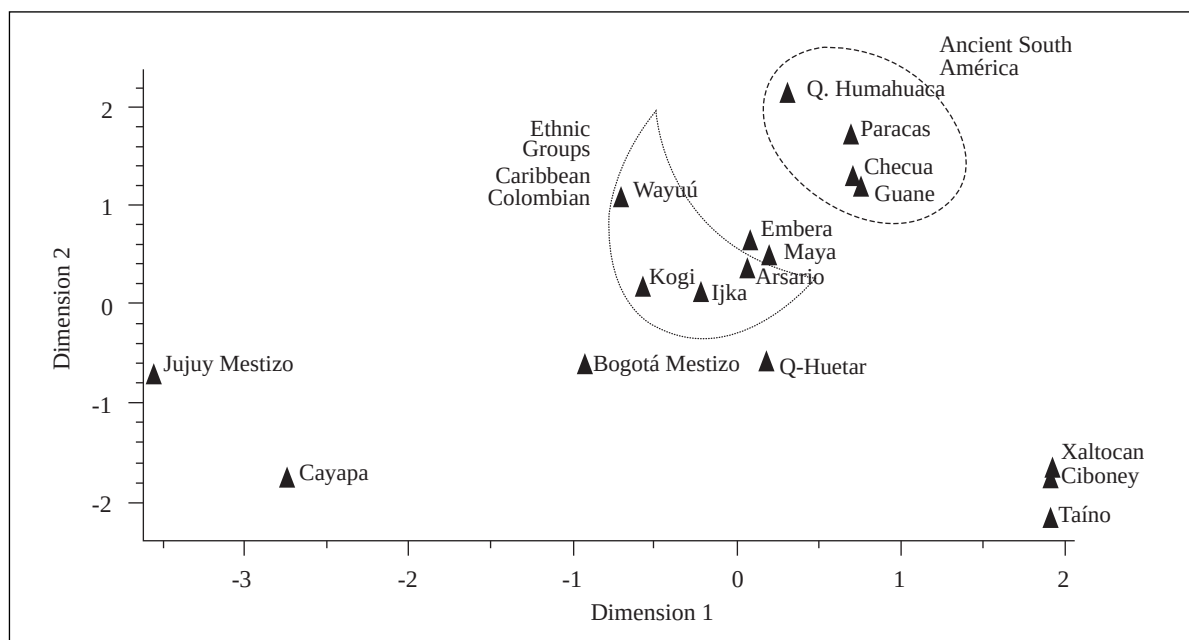


Figure 7. PCA biplot of mtDNA (HVR-I) data in Ancient and Modern Groups - MaxStat Pro v3.60. The mtDNA variation among Paleo-Colombian Checua (This Study) and other ancient and modern groups is shown (Kolman & Bermingham 1997; Rickards, et al. 1999; Lalueza-Fox, et al. 2001, 2003; Melton, et al. 2007; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; Fehren-Schmitz, et al. 2010; Casas-Vargas, et al. 2011; Mata-Míguez, et al. 2012; Cardoso, et al. 2013; Melton, et al. 2013; Mendisco, et al. 2014). Checua is related to other ancient and modern South American groups; also it is close to Emberá and Maya Amerindians from Central and Mesoamerica, respectively [See Suppl.Tables 5-7, and Suppl. Figs. 5-7].

study obtained positive results from 30 out of 55 analyzed samples (Table 1), a success rate of 54.54% (Manríquez, et al. 2011). Lower success rates were achieved in a RFLP study of the Arroyo Seco 2 site, Argentina (Table 1), with 8 out of 23 individuals (34.7%) [Figueiro & Sans 2007]; as well as in an analysis of the Peruvian Conchopata population [Wari: AD 600-800, post-Wari: AD 1100-1400], with 16 out of 49 individuals (33%) [Kemp, et al. 2009]. Haplogroups observed in Checua remains, listed from highest to lowest frequency, were: A2 (N = 7), B2 (N = 3), C1 (N = 1) and D4h3a (N = 1) (see Table 2). The X2a haplogroup was not detected in Checua samples, which is not surprising since X2a is restricted to northern North America and Europe (Perego, et al. 2009, Rasmussen, et al. 2015). The observed haplogroups can be distinguished according to human occupation zones [I = Stratum 4, and II = Stratum 5 (Tables 1, 2)]. Indeed, in the earliest Zone I haplogroups, A2 (N = 4), B2 (N = 2), C1 (N = 1) and D4h3a (N = 1) were detected, while in Zone II only the predominant haplogroups A2 (N = 3) and B2 (N = 1) were detected. Native American haplogroups found in the earliest Checua Zone I, A2, B2, C1 and D4h3a, are considered founding New World lineages (Tamm, et al. 2007), and are simultaneously present in this particular site. Previously, the prevalence of lineage A into the New World supported the one migration hypothesis, and this lineage varied independently of any associated linguistic group (Merriwether, et al. 1995). Likewise, a

Panamanian mtDNA study (N=1565) performed by Perego, et al. (2012) found that 83% clustered into pan-American lineages, most commonly represented by haplogroup A2 (51%). A2 subclades confirmed the key role of the Pacific coastal path in the peopling of the Americas and support the Native American continuity of mtDNA genomes in Panama prior to 10 ka. Similarly, another mtDNA analysis from Nicaragua and Costa Rica (N=131) with 94.6% assigned to the Amerindian A2 and B2 haplogroups (Melton, et al. 2013). In line with mentioned studies, for Paleo-Colombian Checua (N=12), A2 and B2 were the most frequent haplogroups (83.3%), while A2 was prevalent with 58.3% (see first paragraph: pag. 16).

The presence of mtDNA haplogroup D4h3a in the early Holocene human remains from Checua in this study provides new evidence in supporting Paleo-American migrations along the Pacific coastal route proposed in previous works (Kemp, et al. 2007; Tamm, et al. 2007; Wang, et al. 2007; Achilli, et al. 2008; Dillehay, et al. 2008; Fagundes, et al. 2008, O'Rourke 2009; Bodner, et al. 2012; de Saint-Pierre, et al. 2012; Dillehay, et al. 2012; Rasmussen, et al. 2014; Llamas, et al. 2016). In ancient Chilean populations (Manríquez, et al. 2011) were identified the founder haplogroups A, B, C and D sustaining one wave model. Perego, et al. (2009), based on a mtDNA analysis proposed a Pacific coastal route (lineages A, B, C and D) from Siberia to South America around 20-15 kya, followed by a second

migration (lineage X) in North America once the ice-free corridor appeared; which is compatible with the genomic analysis based on the geographical distribution of two rare lineages: D4h3 (Pacific of North and South America), and X2a (northern North America). Three distinct haplotypes of A2 were detected in seven Paleo-Colombian Checua; two different haplotypes of B2 were evident in three individuals; while C1 and D4h3a were represented by one haplotype each. The presence of the same haplotype A2 in five individuals (three in Occupation I, and two in Occupation II), suggests that the same maternal line could have been present at this site during 400-600 years approximately, according to radiocarbon / calibrated dates of each stratum (Tables 1, 2), this means that Checua occupants of Zone II (A2) could be descendants from the Zone I, associated to their pairwise genetic distances (0.000) [Suppl. Table 1S]. However, in future studies the inclusion of radiocarbon dating for each individual, the analysis of HVR-II, as well as whole mtDNA genomes of these five A2 individuals might discriminate better among these individuals sharing the same A2 haplotype (Table 2; main node A2 in Figure 3).

Paleo-DNA vs. Neo-DNA

Figure 2 (a-j), show the distribution of Native American mtDNA haplogroups found in the Paleo-American Checua in contrast to those found in other modern DNA studies in Colombia. These demonstrate a genetic continuity of the Native American haplogroups A2, B2 and C1, and probably a genetic discontinuity of sub-haplogroup D4h3a (detected in Checua) in Colombia throughout time, but also could be a shortage of publications and/or records in databases of D4h3a from Colombia, given that the most common haplogroup in modern Colombia is D1 [Melton, *et al.* 2007 N=110; Salas, *et al.* 2008 N=185; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010 N=51 Col.; Yunis & Yunis 2013 N=1,526; Xavier, *et al.* 2015 N=154 modern total N=2,026; see Figure 2 (a-j)]. After searching in the mtDNA database EMPOP v3/R11 (www.empop.org) [Parson & Dür 2007] for the literal D4h3a haplotype (HVR-I) obtained in this study, in the results of the Americas is reported a frequency of 18 / 34,617 records in this database (HVR-I: 16024-16365) as follows: California-USA (2), Ohio-USA (1), Chile (12), Argentina (3). Therefore most of the D4h3a records come from Chile and Argentina, which is consistent with Perego, *et al.* (2009), de Saint-Pierre, *et al.* (2012), and Cardoso, *et al.* (2013) [See Figure 5]. Future ancient DNA studies of Colombian populations might possibly find more evidence of D4h3a.

Currently, similar haplogroup frequencies to those found in the Checua remains (Figure 2a) were observed in several studies from northern South America (Figures 2b – f, h). Current mtDNA analysis on the ethnic groups of Caribbean Colombia showed haplogroups A2, B2, C1 (not D1) (Figure 2g). Nonetheless, Mestizos from the Caribbean, Colombia (Figure 2h) showed haplogroups A2, B2, C1, D1. A study on pre-Columbian Guane, Santander-

Colombia (N=17) (Casas-Vargas, *et al.* 2011), found haplogroups A2, B2, D1 (not C1). In contrast, in the Paleo-Colombian Checua with 12 of 22 individuals analyzed, the Native American haplogroups A2, B2, C1, and D4h3a were identified (This study).

Whilst, haplogroup frequencies of populations from the Colombia's Pacific Coast (Figure 2i and 2j) are dissimilar from those found in the samples from Checua, as well from other mentioned studies, such populations contain the haplogroups A2, B2, C1 and D1 (A2 and C1 the most frequent) in this zone. Such distribution is shared with the ethnic groups described for Colombia's Atlantic coast (Figure 2g), Venezuela (Vona, *et al.* 2005; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010), and Puerto Rico [Martínez-Cruzado, *et al.* 2005; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; Martínez-Cruzado 2010]. Presently, the D4h3a clade is more frequent in South America, especially in the Southern Cone (O'Rourke 2009; de Saint-Pierre, *et al.* 2012, Rasmussen, *et al.* 2014). A Colombian Mestizo exhibited the D4h3a haplotype, though it was simply identified as haplogroup D (Bryc, *et al.* 2010). In the Caribbean, D4h3a has so far not been reported [Lalueza-Fox, *et al.* 2001, 2003 (N=19, N=47); Martínez-Cruzado 2010 (N=122); Vilar, *et al.* 2014 (N=326), Caribbean total N=514].

D4h3a is present at 1% (approximately) of current Native American populations, but has been mostly observed in ancient Native Americans (≥ 8 ^{14}C ka BP) from mtDNA sequence data (Kemp, *et al.* 2007; Perego, *et al.* 2009; Rasmussen, *et al.* 2014). Overall, haplogroup frequencies obtained in this work are consistent with other studies (Kolman & Bermingham 1997; Mesa, *et al.* 2000, Keyeux, *et al.* 2002; Rodas, *et al.* 2003; Lewis, *et al.* 2007, Watkins, *et al.* 2012, Usme-Romero, *et al.* 2013). Although, there is some variation in the haplogroup frequencies or estimates by population, often associated with geographic location, language or cultural affiliation (O'Rourke, *et al.* 2000, Emery, *et al.* 2015). Native American haplogroups A2, B2, C1, and D1 are present in the current Colombian territory. However, haplogroup C4c was also detected in modern Caribbean Colombia: Ijka 72 (Tamm, *et al.* 2007; Malhi, *et al.* 2010).

Previous modern DNA studies of Colombia based on RFLPs (Mesa, *et al.* 2000, Keyeux, *et al.* 2002; Rodas, *et al.* 2003; Rondón, *et al.* 2007; Usme-Romero, *et al.* 2013) are limited, as they could not detect point mutations from mtDNA control region for A2, B2, C1 and D1 haplogroups nor discriminate sub-haplogroups. Previous ancient DNA studies from Brazil and Colombia (Ribeiro-Dos-Santos, *et al.* 1996; Monsalve, *et al.* 1996; Fernández 1999), such as: Ribeiro-Dos-Santos, *et al.* (1996) analyzed Brazilian samples (Table 1), obtaining haplogroups A and D. Fernández (1999), analyzed a single Checua sample (T9: Stratum 4), and classified as haplogroup C; also, three Aguazuque samples (Table 1), amongst others, were determined as B. Monsalve, *et al.* (1996), studied six

Muisca mummies (AD 470-1849) using RFLPs, detecting major haplogroups A, C, D. Most of these studies, however, predate the emergence of recognized authenticity criteria for aDNA (**Cooper & Poinar** 2000). Though, it is striking that T9 sample was identified as C (**Fernández** 1999), and CHI-08 sample in this study was determined as C1, suggesting that the earlier result may have been valid.

Phylogenetic Networks for haplogroups A2, B2, C1 and D4h3a

Network A2: Figure 3 was constructed using 421 American mtDNAs. Haplotype 1 is the central node defined by mutations 16111, 16223, 16290, 16319 and 16362. Hap.1 consists of 274 individuals, including Paleo-Colombian Checua (This study), pre-Columbian Peruvians (**Fehren-Schmitz, et al.** 2010), Chilean Native Americans (**de Saint-Pierre, et al.** 2012), admixed Pacific Coast-Colombia, as well as on the whole America (**Salas, et al.** 2007), Colombian and Venezuelan Mestizos (**Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado** 2010), and also constitute the central node A2 (HVR-I) of Puerto Rico (**Martínez-Cruzado** 2010). This supports the notion that Hap.1-A2 is widely distributed in the Americas, also indicates a genetic continuity of haplogroup and haplotypes from the Paleo-American and pre-Columbian periods to current indigenous and Mestizo populations. Haplotype 2 is found in a Paleo-Colombian Checua (CHII-03), also in Wayuú (**Melton, et al.** 2007), Hap.2 is enclosed at bottom-left. Haplotype 5 is represented by a Paleo-Colombian Checua (CHI-13). In general, a phylo-geographical sense can be observed in the A2 network; also its star-like type suggests a remarkable demographic expansion.

Network C1: Figure 4 was assembled with 384 American mtDNAs. Haplotype 1 is the central node with mutations 16223, 16298, 16325 and 16327, composed of 348 individuals, including: Wayuú (**Melton, et al.** 2007), Paleo-Colombian Checua (CHI-08), Colombians (**Bryc, et al.** 2010), admixed Pacific Coast-Colombia, as well as on the whole America (**Salas, et al.** 2007), plus pre-Columbian Peruvians (**Fehren-Schmitz, et al.** 2010). Hap.1 is part of the main node of the C1 lineage of Puerto Rico (**Martínez-Cruzado** 2010). A South American link has also been found with a Venezuelan Mestizo (Caracas) [whole mtDNA genome VE6: C1b, a lineage found so far mostly in South America, but not in Central America], and shared with the ancient CII lineage of Puerto Rico, it was estimated that it arrived in Puerto Rico around to 2800 ± 1600 or 2731 ± 1931 yr BP (**Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado; Martínez-Cruzado** 2010). Recently an Amerindian South American origin for the Caribbean was confirmed (**Moreno-Estrada, et al.** 2013). The C1b lineage has been reported in another Venezuelan (**Martínez-Cruzado** 2010), in Puerto Rico (**Vilar, et al.** 2014), and in ancient Argentina (**Mendisco, et al.** 2014). This evidence shows that Hap. 1-C1 is widely distributed in the Americas, and it shows a genetic continuity both at haplogroup and haplotype level, as it has been found

in Paleo-Americans, pre-Columbians and Mestizos. A particular phylo-geographical sense can be observed in the C1 network combined with its star-like shape indicative of demographic expansion.

Network D4h3a: Figure 5 was constructed with 31 American mtDNAs. Haplotype 1 is the main node, characterized by mutations 16223, 16241, 16301, 16342 and 16362, found in six individuals: a Mexican (**Kemp, et al.** 2007), a Paleo-Colombian Checua (this study: CHI-02); Native Chileans (**de Saint-Pierre, et al.** 2012). Haplotype 2 contains Paleo-Americans: ANC939 (**Cui, et al.** 2013), and Anzick-1 (**Rasmussen, et al.** 2014). Haplotype 3 is the Paleo-American OYKC (**Kemp, et al.** 2007). Haplotypes 1 to 8, belong to D4h3a lineage, delimited at the top. D4h3a also been reported in 22% Cayapa-Ecuador (**Rickards, et al.** 1999; **Malhi, et al.** 2010), in Brazilian-Mestizo (**Kemp, et al.** 2007), in Quechua-Perú (**Fuselli, et al.** 2003), and in modern California, USA (**Perego, et al.** 2009). D4h3 originated in eastern China, subsequently its distribution through the Americas, mostly in South America (**Perego, et al.** 2009, **Rasmussen, et al.** 2014). To date, D4h3a has not been reported in the Caribbean, only D1 has been detected [**Lalueza-Fox, et al.** 2001, 2003 (N=19, N=47); **Martínez-Cruzado** 2010 (N=122); **Vilar, et al.** 2014 (N=326), the Caribbean total N=514]. In Colombia, D4h3a was detected in a Paleo-Colombian Checua (this study, Hap.1) and in a Mestizo: Haplotype 5, nevertheless it was simply classified as haplogroup D (**Bryc, et al.** 2010). After searching in the mtDNA database EMPPOP v3/R11 (www.empop.org) [Parson & Dür 2007] for the literal D4h3a haplotype (HVR-I) obtained in this study, in the results of the Americas is reported a frequency of 18 / 34617 records in this database (HVR-I: 16024-16365) as follows: California-USA (2), Ohio-USA (1), Chile (12), Argentina (3). Thus most of the D4h3a records come from Chile and Argentina, which is consistent with **Perego, et al.** (2009), **de Saint-Pierre, et al.** (2012), and **Cardoso, et al.** (2013) [See Figure 5].

Haplotypes 9 to 13 belong to D4h3a5 lineage (N=17), demarcated at the bottom, including: several Natives from Chile and Argentina (**de Saint-Pierre, et al.** 2012). D4h3a and D4h3a5 lineages are fully distinguished, D4h3a5 exhibits np 16051 and is restricted to the Southern Cone (**de Saint-Pierre, et al.** 2012; **Rasmussen, et al.** 2014). Furthermore, it has a pattern of star-like phylogeny.

Network B2: was assembled from 138 American mtDNAs. Haplotype 2 is the central node, with mutations 16183, 16189 and 16217, and consists of 115 individuals, including: Paleo-Colombian Checua (CHI-01 and CHII-06), a pre-Columbian mummy, Santander-Colombia (**Díaz-Matallana, et al.** 2010; **Díaz-Matallana** 2015), pre-Columbian Peruvians (**Fehren-Schmitz, et al.** 2010), admixed Pacific Coast-Colombia, as well as overall America (**Salas, et al.** 2010). This shows that Hap.2 is widely distributed in the Americas, also indicates a genetic continuity seen in Paleo-Americans, pre-Columbians, and contemporary Mestizos. Haplotype 3, found in a Paleo-

Colombian Checua (CHI-07). Haplotype 1 is found in 20 individuals: Ijka and Wayuú (Melton, *et al.* 2007), Colombian Mestizos (Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010), also a pre-Columbian Peruvian (Fehren-Schmitz, *et al.* 2010). Haplotypes 3 and 9, found in a Paleo-Colombian Checua (This study) and in a Colombian Mestizo - Pacific Coast (Salas, *et al.* 2007); they are grouped on the right. A phylo-geographical sense can be observed in the B2 network combined with its star-like phylogeny diagnostic of population expansion (Suppl. Figure 1).

Genetic and archaeological evidence of early migrations

Figure 6 (a, b) shows a spatio-temporal distribution of Paleo-Americans, providing information on migrations throughout America based on studies of mtDNA haplogroups A2, B2, C1 and D4h3a from different sites. Results obtained from Paleo-Colombian Checua (Díaz-Matallana, *et al.* 2014; Díaz-Matallana 2015; This study), ancient Chile (Manríquez, *et al.* 2011; Faltyskova, *et al.* 2014, de la Fuente, *et al.* 2014, Llamas, *et al.* 2016), central Andes (Perú, Bolivia, México and Argentinian Pampas) [Llamas, *et al.* 2016], provide the most up-to-date data with implications for the early peopling of South America. Additionally, recent findings from America, such as NAIA (Chatters, *et al.* 2014), ANC939 (Cui, *et al.* 2013), Anzick-1 (Rasmussen, *et al.* 2014), among others are in Figure 6. Along with recent findings such as Huaca Prieta, Perú (Dillehay, *et al.* 2012), Monte Verde-Chile dated to 14,600-14,200 cal yr BP (Dillehay, *et al.* 2008) [Table 1], has become a key reference with regards to the American colonization along the Pacific coast (Tamm, *et al.* 2007; Fagundes, *et al.* 2008; Perego, *et al.* 2009; Bodner, *et al.* 2012; Llamas, *et al.* 2016). Previously, a Pacific coastal route was proposed as the initial entry to America on linguistic and archaeological grounds (Gruhn 1994). Figure 6a shows the distribution of D4h3a and D1 Native American haplogroups, providing evidence for early migrations extending along the Pacific coast from Alaska to Tierra del Fuego, corroborating the spatial distribution of whole mtDNA lineages described by Perego, *et al.* (2009), in which haplogroup D4h3a likewise suggests a Pacific coastal route. D4h3a is uncommon in North America, being most common in South America (de Saint-Pierre, *et al.* 2012, Cardoso, *et al.* 2013; Rasmussen, *et al.* 2014), whilst this work provides the first instance from Colombia. Figure 6b, shows a combined distribution of the A2, B2 and C1 Native American haplogroups, and also suggests an early migration into South America along the Pacific coast from Oregon (USA) to southern Chile. Taken together, these distributions correlate with the roles proposed for mtDNA haplogroups A2, B2, C1 and D4h3a as founder lineages of the New World (Tamm, *et al.* 2007; Achilli, *et al.* 2008). The mtDNA distribution reported by Perego, *et al.* (2009) confirms a strong geographical structure of mtDNA and autosomal diversity in the Americas (O'Rourke and Raff 2010).

The paucity of early data from the migration route into South America along Colombia's Pacific coast (1300km length) is not surprising, this region has been characterized by extremely complex geological dynamics (tectonic plates movement causing significant seismic activity), dramatic changes in sea level, and elevated environmental humidity since the Holocene throughout the Darién Gap and Chocó, Colombia. These conditions are very different from those in Ecuador, Perú and Chile (Stoothert 1985; Dillehay, *et al.* 2008, 2012). Moreover, the socio-cultural conflict in this area has discouraged archaeological research, contributing to the scarcity of preceramic remains (Van der Hammen 2006; López-Castaño & Cano-Echeverry 2011). Similarly, no conclusive evidence of human activity from the Pleistocene-Holocene transition has yet been found along Colombia's Atlantic coast (Correal 1990, Aceituno, *et al.* 2013).

On the contrary, zones situated between the Colombia's mountain ranges, as well within the mid-and high-altitude Andean ecosystems, extensive plateaus, have revealed significant densities of preceramic populations (Table 1). Many findings have been reported in the "Altiplano Cundiboyacense" and Savannah of Bogotá (Aceituno, *et al.* 2013), the second (2600 m.a.s.l., Figure 1), offers ideal conditions for the preservation of ancient evidence (Correal 1990). The wide corridor of Colombia's Magdalena River valley is an area of outstanding potential for investigating the settlement of early inhabitants, along its length have revealed different stages of human occupation (Dillehay 1999; López-Castaño & Cano-Echeverry 2011; Aceituno, *et al.* 2013). It is not unlikely that human evidence predating 12,5 ¹⁴C ka BP will eventually be found in Colombia (the earliest site is Pubenza, without human remains).

Anthropological analysis of three Paleo-American skulls from the Argentine Pampas (Table 1), concluded that these skulls are morphologically alike to others of the Early Holocene (Lagoa Santa-Brazil; Tequendama, Checua and Aguazuque-Colombia; Lauricocha-Perú; and Mexico). Archaeological evidence suggests that fishery resources were able to support relatively large human populations along the Pacific coasts of the Americas even before the development of agriculture (Melton, *et al.* 2007; Dillehay, *et al.* 2012). The prehistoric hunting tool "boleadora" found in Checua, previously detected about at Monte Verde (12,5 ¹⁴C Ka BP), in eastern Brazil (11,5 ¹⁴C Ka BP), and in the Southern Cone (Minelli, *et al.* 2012), provides further evidence for early American settlers.

Based on the combined evidence of the present study's Paleo-DNA data, along with findings from several genetic and archaeological studies, computer simulation models, and paleo-environmental studies mentioned here, we propose an *Integrated Migration Model for Northwestern South America*. This model consists of: (I) a North-to-South route along the Pacific coast; (II) Sequential movements across the Andes from West-to-East (the evidence for early human activity in the Colombian Andean region is concentrated in

the easternmost of the three north-south mountain ranges); (III) The discovery and utilization of the regions river systems (including the Magdalena, Bogotá, Checua, and Neusa rivers) as resources for food and travel (Correal 1990,1993; Gruhn 1994; Dillehay 1999; Keyeux, *et al.* 2002; Fix 2005; Dillehay, *et al.* 2008, 2012; Perego, *et al.* 2009; López-Castaño & Cano-Echeverry 2011; Bodner, *et al.* 2012; de Saint-Pierre, *et al.* 2012; Minelli, *et al.* 2012; Aceituno, *et al.* 2013). Further archaeological, genetic or genomic studies should permit the refinement of this model.

Estimates of genetic diversity

Regarding Tajima's neutrality test for the Checua remains (Table 3), the value of segregating sites observed where $S > \pi$ is indicative of either a population expansion or positive selection, both for the 12 individuals, and for haplogroups A2 and B2. These observations are related to the negative value of the Tajima's D ; although statistically not significant D values were detected ($p > 0.10$), population expansion is more noticeable for A2 (-1.358415) and is also evident in comparison with total Tajima's D (-0.634978), explained by the higher frequency of A2, identified in 7 of 12 individuals. According to Fu's F_s statistic, the only negative value was observed in the haplogroup A2 (-0.237) which agrees with Tajima's D value, thus it is indicative of population expansion, although statistically not significant ($p > 0.02$). Whereas F_s -values for full Checua group (0.169) and for haplogroup B2 (1.061) were positive, these values suggest population differentiation, as would be expected from a recent population bottleneck or from over dominant selection. Likewise, previous studies on Central and northern South American populations (Chibchan-speaking) were shown to have positive F_s -values (Melton, *et al.* 2013).

Concerning mtDNA Haplotype diversity (H_d) measures (Table 4), full Paleo-Colombian Checua showed an H_d value = 0.833, followed by the haplogroups B2 and A2 values (0.667 and 0.524). Other Central and northern South American populations exhibited similar H_d values, such as: Emberá (0.942), Maya (0.930), Zapatón-Huetar (0.806), Quitirrisí-Huetar (0.709), Guane (0.875), Wayuú (0.788), Arsario (0.725) [Kolman & Bermingham 1997; Casas-Vasgas, *et al.* 2011; Melton, *et al.* 2007, 2013].

By comparing mtDNA nucleotide diversity (π_T) in Native Americans (Table 5), the closest π_T values to those estimated for the *Paleo-Colombian Checua* (0.016) (This Work); were: Shuswap-speaking territory (0.0156); Nuuchah-Nulth (0.016); Yakima (0.015); Oneota, pre-Columbian (0.015); pre-Conquest (0.017) and post-Conquest Xaltocan (0.018); Maya (0.017); Zapatón-Huetar (0.017); Emberá (0.017); Wayuú (0.016); Cayapa (0.018); pre-Columbian Palpa (0.0174); Pacapaccari (0.0169); Ancash (0.0162); Tayacaja (0.0166); and Mapuche (0.017). Overall, these closest π_T values reflect a molecular trend between North America (Canada, USA), Mesoamerica (ancient Mexico, Maya), Central America (Panamá, Costa Rica), Caribbean Colombia (La Guajira), and South America (Colombia,

Ecuador, ancient / modern Perú, and Argentina). Such shared molecular trend is quite consistent with other investigations based on different molecular markers, as follows: *genetic and genomic mtDNAs* (Melton, *et al.* 2007; Tamm, *et al.* 2007; Fagundes, *et al.* 2008; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010, Yang, *et al.* 2010, Watkins, *et al.* 2012; Llamas, *et al.* 2016), *autosomal-STRs* (Wang, *et al.* 2007), *chromosome X-STRs* (Yang, *et al.* 2010), and *nuclear-SNPs microarrays or Ancestry Informative Markers-AIMs* (Bryc, *et al.* 2010; Reich, *et al.* 2012, Watkins, *et al.* 2012). In summary, these studies highlight the importance of the coast and the Pacific coast on the early American colonization (Tamm, *et al.* 2007; Wang, *et al.* 2007; Fagundes, *et al.* 2008; Yang, *et al.* 2010; Reich, *et al.* 2012; Llamas, *et al.* 2016), as well as a dynamic bidirectional gene flow between Central and South America in prehistoric times (Melton, *et al.* 2007; Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado 2010; Yang, *et al.* 2010; Reich, *et al.* 2012; Melton, *et al.* 2013; Moreno-Estrada, *et al.* 2013).

There are marked similarities with regards to certain haplotypes of A and C [Figure 3: Hap2 and Figure 4: Hap1], as well as close π_T values, between the Paleo-Colombian Checua (this study) and the modern Wayuú (Melton, *et al.* 2007). The Wayuú speak an Arawakan language (Aikhenvald 1999), and has been assigned to an Equatorial-Tucanoan linguistic stock (Ruhlen 1991), they are usually considered distinct from Chibchan-speaking populations (e.g. Muisca) [Melton, *et al.* 2007]. However, the Checua remains also have π_T values similar to those of the Panamanian Emberá, who speak a Chocoan language (Aguirre-Licht 2006). Another study suggested that the Chocoan and Chibchan families may be related (Constenla-Umaña 2005), which would be compatible with Ruhlen's assignment (Ruhlen 1991) of the Emberá language to the Chibchan-Paezan linguistic stock.

The PCA biplot allows visualizing biological relationships among ancient and modern population groups (Figure 7); it was possible to identify clearly: (a) an ancient South American Andes cluster (Guane, Checua, Palpa, and Q.Humahuaca) in the top right ellipse of the plot. (b) The contemporary northern South American cluster (Arsario, Ijka, Kogi, and Wayuú) is demarcated in a semi-circle. (c) In the middle of the ancient cluster and the modern cluster pointed out, there is a mixture of Meso / Central American (Maya, Emberá) and South American populations, such depiction have been observed before (Melton, *et al.* 2007, 2013). This mixed distribution coincides with other genetic diversity indices: Tajima's D and F -values (e.g. population expansion of A2), H_d and π_T values, also it is related to phylogenetics networks; therefore it reiterates an active interaction between Central and South America since prehistoric times. (d) Mestizo Bogotá is in the bottom of the modern cluster close to Q-Huetar, these share similar scores and π_T value. (e) Ciboney is nearer to Xaltocan (full) than Taíno in the lower right of the plot; this relation is in

agreement with a recent study (**Moreno-Estrada, et al.** 2013). Overall distribution of populations in the PCA was in line with their geographic locations [Suppl. Tables 5-7, and Suppl. Figures 5-7].

Conversely, the π_T value of Paleo-Colombian Checua (=0.016) [This work] appears some what lower than that of the pre-Columbian Guane (=0.0231) [**Casas-Vargas, et al.** 2011], although this variation may be due to the distinct HVR-I coverage ranges used in each study, for Guane was np 16217-16362, with most polymorphisms in this region (A, B and D haplogroups). In contrast, the range for Checua is np 16011-16382, with improved chances of measuring the π_T value; the same issue occurs for the Hd measure. Nonetheless, the PCA biplot yielded similar scores between Checua and Guane; without forgetting that both ancient groups inhabited the eastern Andes, Colombia (Figures 7).

Conclusion

For the first time D4h3a was reported in ancient Colombia (This study: Paleo-Colombian Checua N=12/22), and not detected in previous aDNA studies such as Muisca period (**Monsalve, et al.** 1996 N=6 RFLP), Herrera period (**Silva, et al.** 2008 N= 6/11), and pre-Columbian Guane (**Casas-Vargas, et al.** 2011 N=17). There is a genetic continuity of the A2, B2, C1 haplogroups, and presumably a discontinuity of D4h3a in Colombia since prehistoric times, but also could be a shortage of publications and/or records in databases of D4h3a from Colombia, while D1 (HVR-1) is more common in modern populations [**Melton, et al.** 2007 N=110; **Salas, et al.** 2008 N=185; **Díaz-Matallana & Martínez-Cruzado** 2010 N=51 Col.; **Yunis & Yunis** 2013 N=1,526; **Xavier, et al.** 2015 N=154 modern total N=2,026; see Figure 2 (a-j)]. It seems not unlikely that future ancient DNA studies of Colombian human remains may find more evidence of D4h3a. D4h3a was also present in ancient populations from the Southern Cone, while A2, B2, C1, D1 and D4h3a haplogroups are also found in current populations. D4h3a mtDNA haplogroup in early Holocene human remains from South America, as shown in this study, supporting early migrations into South America along the Pacific Coast, as does the distribution of A2, B2, and C1 haplogroups in Paleo-Americans. Based on the combined evidence of the present study's ancient DNA data, along with findings from other genetic and archaeological studies, computer simulation models, and paleo-environmental studies previously

mentioned, we propose an *Integrated Migration Model for Northwestern South America*. This model consists of: (1) a North-to-South route along the Pacific coast; (2) sequential movements across the Andes from West-to-East (the early human evidence in Colombia is concentrated in the eastern Andean range); (3) the Riverine finding and colonization next to the river. We found an unexpected close relationship between a Paleo-Colombian Checua (eastern highlands Colombia: This work) and the Wayúú (La Guajira Peninsula, Colombia), in terms of certain haplotypes A and C (Figures 3, 4), with equivalent total nucleotide diversity. Similarities in nucleotide diversity values were also found between Paleo-Colombian Checua and the Emberá (Panamá). Shared values of total mtDNA nucleotide diversity among Paleo-Colombian Checua, pre-Columbians and modern Natives (Table 5), other diversity indices cited, the PCA clusters observed, in conjunction with the results of various other studies on distinct molecular markers, indicate a dynamic two-way gene flow between Central and South America in ancient times. It may be hoped –or even expected– that new archaeological data will provide further clues that help establish a better understanding of when and how humans moved across the Americas.

It would be advisable in future studies related to Checua samples, the incorporation of radiocarbon dating for each individual, the analysis of HVR-II, as well as whole mtDNA genomes for these five A2 individuals sharing the same haplotype (HVR-I) might discriminate better among these A2 individuals; on the other hand, try to re-process the remaining samples with negative results obtained herein.

Cross-disciplinary research and newer genomic methods applied to aDNA studies (e.g. full control region (HVR-I and HVR-II), whole mtDNAs, nuclear genome sequencing, and next generation sequencing) should reveal a clearer radiography of the human past.

Acknowledgments

Our gratitude to D.A. Bolnick & group and C. Harkey at U.Texas-Austin, for their valuable assistance and recommendations to this work; also to C.H. Langebaek and H. Groot, both from U. de Los Andes-Bogotá, and to C.A. Barragán from U. California-Davis, for their cooperation and helpful discussions to this study. Thanks to C.E. Anderson from U. de La Sabana-Chía, for the review of English, plus the support of authors Institutions.

Supplemental materials

Figure 1S. Phylogenetic Network of Haplogroup B2 (138 ancient and modern mtDNAs HVR-I of the Americas). See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/328/1650>

Figure 2S. N-J Phylogenetic Tree of Paleo-Colombian Checua haplogroups. See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/328/1652>

Table 1S. Estimates of Pairwise distances between sequences (Checua). See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/328/1659>

Table 2S. Number of HVR-I Haplotypes in Amerindians from Central, South America, and the Caribbean. See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/328/1660>

Table 3S. ANOVA: Results. See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1665>

Figure 3S. Plot the Means Group of HVR-I Haplotypes with 95% Confidence Intervals. See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1653>

Figure 4S. Box Plot for HVR-I haplotypes data. See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1654>

Table 4S. One-Way ANOVA from Summary Data. See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1661>

Table 5S. Estimated frequencies of HVR-I Amerindian haplogroups in Ancient and Modern Groups. See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1662>

Table 6S. Results PCA. See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1663>

Table 7S. Scores PCA. See Supplemental table in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1664>

Figure 5S. PCA biplot: Scores and coefficients. See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1655>

Figure 6S. Final PCA biplot. See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1656>

Figure 7S. Comparison of HVR-I frequencies of Amerindian haplogroups in Ancient and Modern Groups. See Supplemental figure in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/328/1658>

[See pdf file attached].

Financial support

COLCIENCIAS full Ph.D. Scholarship (2010-2014) awarded to M.D.M; Ph.D. Grant N° 5176 -Vicerectorate for Research, U. Javeriana (2012-2014); Financial aid Graduate Office - Science Faculty, U. Javeriana (2011); and Grant N° 241-2008 COLCIENCIAS (2010-2011).

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Aceituno, F.J., Loaiza, N., Delgado-Burbano, M.E., Barrientos, G. 2013. The initial human settlement of Northwest South America during the Pleistocene/Holocene transition: Synthesis and perspectives. *Quat. Int.* **301**: 23-33.
- Achilli, A., Perego, U.A., Bravi, C.M., Coble, M.D., Kong, Q.P., Woodward, S.R., *et al.* 2008. The phylogeny of the four Pan-American mtDNA haplogroups: Implications for evolutionary and disease studies. *PLoS One*. **3** (3): e1764.
- Aguirre-Licht, D. 2006. Choco Languages. In: K. Brown (editor). *Encyclopedia of Language and Linguistics*. Elsevier, Amsterdam. p. 367-381.
- Aikhenvald, A. 1999. Arawak. In: R.M.W. Dixon, A. Aikhenvald (editors). *The Amazonian Languages*. Cambridge University Press. p. 65-106.
- Andrews, R.M., Kubacka, I., Chinnery, P.F., Lightowlers, R.N., Turnbull, D.M., Howell, N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat. Genet.* **23** (2): 147.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Rohl, A. 1999. Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* **16** (1): 37-48.
- Batista, O., Kolman, C., Bermingham, E. 1995. Mitochondrial DNA diversity in the Kuna Amerinds of Panama. *Hum. Mol. Genet.* **40**: 921-929.
- Bodner, M., Perego, U.A., Huber, G., Fendt, L., Röck, A.W., Zimmermann, B., *et al.* 2012. Rapid Coastal spread of First Americans: Novel Insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. *Genome Res.* **22**: 811-820.
- Bolnick, D.A. 2005. *The genetic prehistory of eastern North America: Evidence from ancient and modern DNA* (Ph.D. Dissertation-Anthropology). University of California-Davis, USA.
- Bolnick DA, Bonine HM, Mata-Míguez J, Kemp BM, Snow MH, Leblanc S. 2012. Nondestructive sampling of human skeletal remains yields ancient nuclear and mitochondrial DNA. *Am. J. Phys. Anthropol.* **147**: 293-300.
- Bryan, A.L., Casamiquela, R.M., Crucent, J.M., Gruhn, R., Ochsenius, C. 1978. An El Jobo Mastodon Kill at Taima-taima, Venezuela. *Science*. **200** (4347): 1275-1277.
- Bryc, K., Vêlez, C., Karafet, T., Moreno-Estrada, A., Reynolds, A., Auton, A., *et al.* 2010. Genome-wide patterns of population structure and admixture among Hispanic/Latino populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107** (2): 8954-8961.
- Cardoso S, Palencia-Madrid L, Valverde L, Alfonso-Sánchez MA, Gómez-Pérez L, Alfaro E, *et al.* 2013. Mitochondrial DNA control region data reveal high prevalence of Native American lineages in Jujuy province, NW Argentina. *Forensic Sci. Int. Genet.* **7**: e52-e55.
- Carvajal, E., Montes, L., Almanza, O.A. 2014. Datación de restos arqueológicos encontrados en Checua (Cundinamarca-Colombia) mediante Resonancia Paramagnética Electrónica. *Rev. Acad. Col. Cienc.* **38** (147): 124-129.
- Casas-Vargas, A., Gómez, A., Briceño, I., Díaz-Matallana, M., Bernal, J.E., Rodríguez, J.V. 2011. High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from Guane territories in northwestern Colombia. *Am. J. Phys. Anthropol.* **146**: 637-649.
- Catelli, M.I., Álvarez-Iglesias, V., Gómez-Carballa, A., Mosquera-Miguel, A., Romamini, C., Borosky, A., *et al.* 2011. The Impact of modern migrations on present-day multi-ethnic Argentina as recorded on the mitochondrial DNA genome. *BMC Genet.* **12**: 77.
- Chatters, J.C., Kenneth, D.J., Asmeron, Y., Kemp, B.M., Polyak, V., Blank, A.N., *et al.* 2014. Late Pleistocene human skeleton and mtDNA link Paleoamericans and modern Native Americans. *Science*. **344** (6185): 750-754.
- Constenla-Umaña, A. 2005. ¿Existe relación genealógica entre lenguas misumalpas y chibchenses? *Estudios de Lingüística Chibcha*. **24**: 7-85.

- Cooke R, Ranere A, Pearson G, Dickau R.** 2013. Radiocarbon chronology of early human settlement on the Isthmus of Panama (13,000-7,000 BP) with comments on cultural affinities, environments, subsistence, and technological change. *Quat. Int.* **301**: 3-22.
- Cooper, A., Poinar, H.N.** 2000. Ancient DNA: Do it Right or Not at All. *Science*. **289** (5482): 1139.
- Correal, G., Van der Hammen, T., Lerman, L.C.** 1970. Artefactos líticos de abrigos rocosos en el Abra, Colombia. *Rev. Colomb. Antropol.* **14**: 9-53.
- Correal, G.** 1990. Evidencias culturales durante el Pleistoceno y Holoceno de Colombia. *Rev. Arqueol. Americana*. **1**: 33-68.
- Correal, G.** 1993. Nuevas Evidencias culturales Pleistocénicas y Megafauna en Colombia. *Boletín de Arqueología*. **8** (1): 3-12.
- Cui, Y., Lindo, J., Hughes, C.E., Johnson, J.W., Hernandez, A.G., Kemp, B.M., et al.** 2013. Ancient DNA analysis of Mid-Holocene individuals from the Northwest coast of North America reveals different evolutionary paths for mitogenomes. *PLoS One*. **8** (7): e66948.
- de la Fuente, C., Galimany, J., Kemp, B., Judd, K., Reyes, O., Moraga, M.** 2014. *Cazadores recolectores australes: Aproximación a la historia poblacional de grupos canoeros de Patagonia y Tierra del Fuego*. XIII Congreso Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica (ALAB). Santiago de Chile.
- de Saint-Pierre, M., Bravi, C.M., Motti, J.M., Fuku, N., Tanaka, M., Llop, E., et al.** 2012. An alternative model for the Early Peopling of Southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. *PLoS One*. **7** (9): e43486.
- Díaz-Matallana, M.** 2009. *In search of pre-Columbian migrations to the Caribbean: Indigenous Mitochondrial DNA from northern South America* (M.Sc. Thesis - Biology). University of Puerto Rico-Mayaguez, PR. ProQuest. 88p.
- Díaz-Matallana, M., Martínez-Cruzado, J.C.** 2010. Estudios sobre ADN mitocondrial sugieren un linaje predominante en la Cordillera Oriental de Colombia y un vínculo Suramericano para los arcaicos de Puerto Rico. *Universitas Médica*. **51** (3): 241-272.
- Díaz-Matallana, M., Briceño, I., Borda-Camacho, E., Gómez, A., Bernal, J.E., Rodríguez, J.V.** 2010. *Uso de imágenes diagnósticas para el estudio de una momia proveniente de San José de Suaita, Santander (Colombia)*. XI Congreso Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica (ALAB). Facultad Ciencias Humanas, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Díaz-Matallana, M., Briceño, I., Borda-Camacho, E., Gómez, A., Bernal, J.E., Rodríguez, J.V.** 2014. *Molecular characterization of early Holocene skeletal human remains belonging to Checua culture from Colombia-South America*. 22nd Annual Meeting, Society for Molecular Biology & Evolution (SMBE). San Juan, Puerto Rico (USA).
- Díaz-Matallana, M.** 2015. *Caracterización Genética de un grupo Paleoamericano Checua proveniente de Nemocón-Cundinamarca, Colombia: Implicaciones para el Poblamiento Temprano de Suramérica* (Tesis Ph.D. Ciencias Biológicas). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 104 p.
- Dillehay, T.D.** 1999. The Late Pleistocene culture of South America. *Evol. Anthropol.* **7** (6): 206-216.
- Dillehay, T.D., Ramírez, C., Pino, M., Collins, M.B., Rossen, J., Pino-Navarro, J.D.** 2008. Monte Verde: Seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science*. **320**: 784-786.
- Dillehay, T.D., Bonavia, D., Goodbred Jr, S.L., Pin, M., Vásquez, V., Rosales-Tham, T.** 2012. A late Pleistocene human presence at Huaca Prieta, Perú, and early Pacific Coastal adaptations. *Quat. Res.* **77**: 418-423.
- Emery, L.S., Magnaye, K.M., Bigham, A.W., Akey, J.M., Bamshad, M.J.** 2015. Estimates of Continental Ancestry vary widely among Individuals with the same mtDNA Haplogroup. *Am. J. Hum. Genet.* **96**: 183-193.
- Eshleman, J.A., Smith, D.G.** 2001. Use of DNase to eliminate contamination in ancient DNA analysis. *Electrophoresis*. **22**: 4316-4319.
- Fagundes, N.J.R., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, A.S., Bogo, M.R., Salzano, F.M., et al.** 2008. Mitochondrial population genomics supports a single Pre-Clovis origin with a coastal route for the Peopling of the Americas. *Am. J. Hum. Genet.* **82**: 583-592.
- Faltyskova, Z., et al.** 2014. *Population history of South America: ancient DNA study of extinct people from Tierra del Fuego*. 22nd Annual Meeting, Society for Molecular Biology & Evolution (SMBE). San Juan, Puerto Rico (USA).
- Fehren-Schmitz, L., Reindel, M., Cagigao, E., Hummel, S., Herrmann, B.** 2010. Pre-Columbian population dynamics incoastal Southern Peru: A Diachronic Investigation of mtDNA patterns in the Palpa Region by ancient DNA Analysis. *Am. J. Phys. Anthropol.* **141**: 208-221.
- Fernández, C.** 1999. *La arqueología molecular aplicada a la solución de problemas prehistóricos: análisis de ADNmt en momias y restos óseos prehispánicos* (Tesis pregrado-Antropología). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Figueiro, G., Sans, M.** 2007. Primeros resultados del análisis de ADN Mitocondrial del Sitio Arroyo Seco 2, Buenos Aires, Argentina. *Rev. Arg. Antropol. Biol.* **9** (1): 78.
- Fix, A.G.** 2005. Rapid deployment of the five founding Amerind mtDNA haplogroups via coastal and riverine colonization. *Am. J. Phys. Anthropol.* **128**: 430-436.
- Fontugne, M.** 2013. New Radiocarbon Ages of Luzia woman, Lapa Vermelha IV site, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil. *Radiocarbon*. **55** (2-3): 1187-1190.
- Fu, Y.X.** 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitch-hiking, and background selection. *Genetics*. **147**: 915-925.
- Fuselli, S., Tarazona-Santos, E., Dupanloup, I., Soto, A., Luiselli, D., Pettener, D.** (2003). Mitochondrial DNA Diversity in South America and the genetic history of Andean highlanders. *Mol. Biol. Evol.* **20**: 1682-1691.
- Goebel, T., Waters, M.R., O'Rourke, D.H.** 2008. The Late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science*. **319**: 1497-1502.
- González, J.R., Neves, W.A., Lahr, M.M., González, S., Pucciarelli, H., Hernández-Martínez, M., et al.** 2005. Late Pleistocene/Holocene craniofacial morphology in Mesoamerican Paleoindians: Implications for the peopling of the New World. *Am. J. Phys. Anthropol.* **128**: 772-780.
- Greenberg, J.H., Turner, C.G. II, Zegura, S.L.** 1986. The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Curr. Anthropol.* **27**: 477-497.

- Groot, A.M.** 1992. Checua: Una secuencia cultural entre 8,500 y 3,000 años Antes del Presente. Bogotá: Fundación Investigaciones Arqueológicas, Banco de La República; 100p.
- Groot, A.M.** 1995. Checua: Un aporte para el conocimiento del precerámico de la sabana de Bogotá. En: I. Cavelier, S. Mora (editores). *Ámbito y Ocupaciones Tempranas de la América Tropical*. Instituto Colombiano de Antropología, Bogotá.
- Groot, A.M.** 2006. Arqueología y Patrimonio: Conocimiento y Apropiación Social. *Rev. Acad. Col. Cienc.* **30** (114): 5-17.
- Gruhn, R.** 1994. The Pacific Coast route of initial entry: An overview. In: R. Bonnicksen, D.G. Steele (editors). *Method and theory for investigating the peopling of the Americas*. Oregon State University, Corvallis, USA. p. 34-44.
- Jara, N.P.** 2007. *Determinación de la estructura genética en un grupo poblacional Muisca mediante el análisis de polimorfismos en el ADNmt* (Tesis Maestría-Biología). Facultad Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Jenkins, D.L., Davis, L.G., Stafford, T.W. Jr., Campos, P.L., Conolly, T.J., Cummings, L.S., et al.** 2008. Geochronology, Archaeological Context, and DNA at the Paisley Caves. In: K.E. Graf, C.V. Ketron, M.R. Waters (editors). *The Paleoamerican Odyssey*. College Station, Center for the Study of First Americans, USA. p. 485-520.
- Johnson, J.R., Stafford, T.W. Jr., Ajie, H.O., Morris, D.P.** 2002. Arlinton Springs Revisited. In: D.R. Brooks, K.C. Mitchell, H.W. Channey (editors). *Santa Barbara Museum of Natural History*, California, USA. p. 541-545.
- Kemp, B.M., Smith, D.G.** 2005. Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surfaces of bones and teeth. *Forensic Sci. Int.* **54**: 53-61.
- Kemp, B.M., Malhi, R.S., McDonough, J., Bolnick, D.A., Eshleman, J.A., Rickards, O., et al.** 2007. Genetic analysis of Early Holocene skeletal remains from Alaska and its Implications for the settlement of the Americas. *Am. J. Phys. Anthropol.* **132**: 605-621.
- Kemp, B.M., Tung, T.A., Summar, M.L.** 2009. Genetic continuity after the collapse of the Wari Empire: mitochondrial DNA profiles from Wari and post-Wari populations in the ancient Andes. *Am. J. Phys. Anthropol.* **140**: 80-91.
- Keyeux, G., Rodas, C., Gelvez, N., Carter, D.** 2002. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations. *Hum. Biol.* **74** (2): 211-233.
- Kirkman, T.W.** 1996. Statistics to Use, ANOVA: Analysis of Variance between groups. Date Query: 21-01-2015. Available in: <http://www.physics.csbsju.edu/stats/>
- Knapp, M., Clarke, A.C., Horsburgh, K.A., Matisoo-Smith, E.A.** 2012. Setting the stage: Building and working in an ancient DNA Lab. *Ann. Anat.* **194**: 3-6.
- Kolman, C.J., Bermingham, E.** 1997. mtDNA and nuclear DNA diversity in the Chocó and Chibcha Amerinds of Panamá. *Genetics.* **147**: 1289.
- Lalueza-Fox, C., Calderon, Fl., Calafell, F., Morera, B., Bertranpetit, J.** 2001. mtDNA from extinct Tainos and the peopling of the Caribbean. *Ann. Hum. Genet.* **65**: 137-151.
- Lalueza-Fox, C., Gilbert, M.T.P., Martínez-Fuentes, A.J., Calafell, F., Bertranpetit, J.** 2003. Mitochondrial DNA from pre-Columbian Ciboneys from Cuba and the pre-historic colonization of the Caribbean. *Am. J. Phys. Anthropol.* **121** (2): 97-108.
- Lee, H.Y., Park, M.J., Kim, N.Y., Sim, J.E., Yang, W.I., Shin, K.J.** 2010. Simple and highly effective DNA extraction methods from old skeletal remains using silica columns. *Forensic Sci. Int. Genet.* **4**: 275-280.
- Lewis, C.M., Tito, R.Y., Lizárraga, B., Stone, A.C.** 2005. Land, language, and loci: mtDNA in Native Americans and the genetic history of Peru. *Am. J. Phys. Anthropol.* **127**(3): 351-60.
- Lewis, C.M., Buikstra, J.E., Stone, A.C.** 2007. Ancient DNA and genetic continuity in the South Central Andes. *Lat. Am. Antiq.* **18**: 145-160.
- Librado, P., Rozas, J.** 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics.* **25**: 1451-1452.
- Llamas, B., Fehren-Schmitz, L., Valverde, G., Soubrier, J., Mallick, S., Rohland, N., et al.** 2016. Ancient mitochondrial DNA provides high-resolution time scale of the peopling of the Americas. *Sci. Adv.* **2**: e1501385.
- López-Castaño, C.E., Cano-Echeverry, M.C.** 2011. En torno a los primeros poblamientos en el Noroccidente de Sudamérica: Acercamientos desde el valle Inter-Andino del Magdalena, Colombia. *Boletín de Arqueología PUCP.* (15): 43-79.
- Malhi, R., Cybulski, J.S., Tito, R.Y., Johnson, J., Harry, H., Dan, C.** 2010. Brief Communication: mitochondrial haplotype C4c confirmed as a founding genome in the Americas. *Am. J. Phys. Anthropol.* **141** (3): 494-497.
- Manríquez, G., Moraga, M., Santoro, C., Aspillaga, E., Arriaza, B.T., Rothhammer, F.** 2011. Morphometric and mtDNA analyses of archaic skeletal remains from south western South America. *Chungará (Arica).* **43** (2): 283-292.
- Marchant, R., Behling, H., Berrío, J.C., Cleef, A., Duivenvoorden, J., Hooghiemstra, H., et al.** 2002. Pollen-based biome reconstructions for Colombia at 3000, 6000, 9000, 12000, 15000 and 18000¹⁴C yr ago: Late Quaternary tropical vegetation dynamics. *J. Quat. Sci.* **17**: 113-129.
- Martínez-Cruzado, J.C., Toro-Labrador, G., Viera-Viera, J., Rivera-Vega, M.Y., Startek, J., Latorre-Esteves, M., et al.** 2005. Reconstructing the population history of Puerto Rico by means of mtDNA phylogeographic analysis. *Am. J. Phys. Anthropol.* **128**: 131-155.
- Martínez-Cruzado, J.C.** 2010. The history of Amerindian mitochondrial DNA lineages in Puerto Rico. In: S.M. Fitzpatrick, A.H. Ross (editors). *Island Shores, Distant Pasts: Archaeological and Biological approaches to the pre-Columbian settlement of the Caribbean*. University Press of Florida, Gainesville-Florida, USA. p. 54-80.
- Mata-Míguez, J., Overholtzer, L., Rodríguez-Alegría, E., Kemp, B.M., Bolnick, D.A.** 2012. The Genetic Impact of Aztec Imperialism: Ancient Mitochondrial DNA Evidence from Xaltocan, Mexico. *Am. J. Phys. Anthropol.* **149** (4): 504-516.
- Melton, P.E., Briceño, I., Gomez, A., Devor, E.J., Bernal, J.E., Crawford, M.H.** 2007. Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: Evidence from mtDNA. *Am. J. Phys. Anthropol.* **132**: 753-770.
- Melton, P.E., Baldi, N.F., Barrantes, R., Crawford, M.H.** 2013. Microevolution, migration, and the population structure of five Amerindian populations from Nicaragua and Costa Rica. *Am. J. Hum. Biol.* **25** (4): 480-490.
- Mendisco, F., Keyser, C., Seldes, V., Rivolta, C., Mercolli, P., Cruz, P., et al.** 2014. Genetic diversity of a late prehispanic group of the Quebrada de Humahuaca, northwestern Argentina. *Ann. Hum. Genet.* **78**: 367-380.

- Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrel RE.** 1995. Distribution of the four founding lineage haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *Am. J. Phys. Anthropol.* **98**: 411-430.
- Mesa, N.R., Mondragón, M.C., Soto, I.D., Parra, M.V., Duque, C., Ortíz-Barrientos, D., et al.** 2000. Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America. *Am. J. Hum. Genet.* **67**: 1277-1286.
- Meyer, S., Weiss, G., Von Haeseler, A.** 1999. Pattern of nucleotide substitution and rate heterogeneity in the Hypervariable Regions I and II of human mtDNA. *Genetics.* **152** (3): 1103-1110.
- Minelli, A., Cozzolino, M., Di Nucci, A., Guglielmi, S., Giannantonio, M., Dámore, D., et al.** 2012. The Prehistory of the Colombian Territory: The results of the Italian archaeological investigation on the Checua Site (Municipality of Nemocón, Cundinamarca Department). *J. Biol. Res.* **85** (1): 95-97.
- Monsalve, M.V., Cárdenas, F., Guhl, F., Delaney, A.D., Devine, D.V.** 1996. Phylogenetic analysis of mtDNA lineages in South American mummies. *Ann. Hum. Genet.* **60**: 293-303.
- Moreno-Estrada, A., Gravel, S., Zakharia, F., Mchauley, J.L., Byrnes, J.K., Gignoux, C.R., et al.** 2013. Reconstructing the Population Genetic History of the Caribbean. *PLoS Genet.* **9** (11): e1003925.
- Mosch, C.J., Watson, P.J.** 1997. An Ancient Rocky Mountain Caver. *J. Caves Karst Stud.* **59** (1): 10-14.
- Mulligan, C.J., Kitchen, A., Miyamoto, M.M.** 2008. Updated three-stage model for the Peopling of the Americas. *PLoS One.* **3** (9): e3199.
- Nei, M., Kumar, S.** 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics.* New York, USA: Oxford University Press.
- Neves, W.A., Hubbe, M., Correal, G.** 2007. Human skeletal remains from Sabana de Bogotá, Colombia: A case of Paleoamerican morphology late survival in South America? *Am. J. Phys. Anthropol.* **133** (4): 1080-1098.
- O'Rourke, D.H., Hayes, M.G., Carlyle, S.W.** 2000. Spatial and temporal stability of mtDNA haplogroup frequencies in native North America. *Hum. Biol.* **72**: 15-34.
- O'Rourke, D.H.** 2009. Human Migrations: The Two Roads Taken. *Curr. Biol.* **19** (5): 203-205.
- O'Rourke, D.H., Raff, J.A.** 2010. The Human Genetic History of the Americas: The Final Frontier. *Curr. Biol.* **20**: 202-207.
- Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Despres, V., Hebler, J., Rohland, N., et al.** (2004). Genetic analyses from ancient DNA. *Annu. Rev. Genet.* **38**: 645-679.
- Parson, W., Dür, A.** 2007. EMPOP--a forensic mtDNA database. *Forensic Sci Int Genet.* **1** (2): 88-92.
- Perego, U.A., Achilli, A., Angerhofer, N., Accetturo, M., Pala, M., Olivieri, A., et al.** 2009. Distinctive Paleoamerican migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups. *Curr. Biol.* **19** (1): 1-8.
- Perego, U.A., Lancioni, H., Tribaldos, M., Angerhofer, N., Ekins, J.E., Olivieri, A., et al.** 2012. Decrypting the mitochondrial gene pool of modern Panamanians. *PLoS One.* **7** (6): e38337.
- Pickrell, J., Reich, D.** 2014. Towards a new history and geography of human genes informed by ancient DNA. *Trends Genet.* **30** (9): 377-389.
- Pinto, M.** 2003. *Galindo, un Sitio a Cielo Abierto de Cazadores-Recolectores en la Sabana de Bogotá.* Bogotá: Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de La República.
- Pucciarelli, H., Perez, I., Politis, G.** 2010. Early Holocene human remains from the Argentinean Pampas: Additional evidence for distinctive cranial morphology of Early South Americans. *Am. J. Phys. Anthropol.* **143**: 298-305.
- Raff, J.A., Bolnick, D.A., Tackney, J., O'Rourke, D.H.** 2011. Ancient DNA Perspectives on American colonization and population history. *Am. J. Phys. Anthropol.* **146**: 503-514.
- Rasmussen, M., Li, Y., Lindgreen, S., Pedersen, J.S., Albrechtsen, A., Moltke, I., et al.** 2010. Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo. *Nature.* **463**: 757-762.
- Rasmussen, M., Anzick, S.L., Waters, M.R., Skoglund, P., DeGiorgio, M., Stafford, T.W., et al.** 2014. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in Western Montana. *Nature.* **506** (7487): 225-229.
- Rasmussen, M., Sikora, M., Albrechtsen, A., Korneliussen, T.S., Moreno-Mayar, V., Poznik, G.D., et al.** 2015. The ancestry and affiliations of Kennewick Man. *Nature.* **523**: 455-458.
- Reich D, Patterson N, Campbell D, Tandon A, Mazieres S, Ray N, et al.** 2012. Reconstructing Native American population history. *Nature.* **488** (7411): 370-374.
- Reimer, P.J., Bard, E., Bayliss, A., Beck, J.W., Blackwell, P.G., Bronk-Ramsey, C., et al.** 2013. IntCal13 and Marine13 Radiocarbon Age Calibration Curves 0-50,000 years Cal BP. *Radiocarbon.* **55** (4): 1869-1887.
- Ribeiro-Dos-Santos, A.K.C., Santos, E.C.B., Machado, A.L., Guapindaia, M., Zago, M.A.** 1996. Heterogeneity of mitochondrial DNA haplotypes in pre-Columbian natives of the Amazon region. *Am. J. Phys. Anthropol.* **101** (1): 29-37.
- Rickards, O., Martínez-Labarga, C., Lum, J.K., De Stefano, G.F., Cann, R.L.** 1999. mtDNA history of the Cayapa Amerinds of Ecuador: Detection of additional lineages for the Native American populations. *Am. J. Hum. Genet.* **65**: 519-530.
- Rivera, S.** 1991. *Neusa 9000 Años de Presencia Humana en el Páramo.* Bogotá: Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Rodríguez, J.V.** 2011. *Los Chibchas: Hijos del sol, la luna y los Andes. Del mito a la historia natural.* Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, IDU-UNC. 286p.
- Rodas, C., Keyeux, G., Gelvez, N.** 2003. Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and Mestizo populations. *Hum. Biol.* **75** (1): 13-30.
- Rondón F, Braga Y, Barreto G.** 2007. Análisis de la diversidad y el grado de estructura genética presente en poblaciones humanas colombianas a partir del uso de marcadores RFLPs de mtDNA. *Rev. Asoc. Colomb. Cienc. Biol.* **19**: 94-103.
- Ruhlen, M.** 1991. *A guide to the world's languages, Vol. 1: Classification.* CA: Stanford University Press.
- Salas, A., Acosta, A., Álvarez-Iglesias, V., Cerezo, M., Phillips, C., Lareu, M.V., et al.** 2008. The mtDNA ancestry of admixed Colombian populations. *Am. J. Hum. Biol.* **20** (5): 584-591.
- Saitou, N., Nei, M.** 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406-425.

- Sandoval, J.A., Almanza, O.** 2012. Datación de esmalte dental prehispanico proveniente del sitio arqueológico Checua (Cundinamarca) por Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR). *Rev. Col. Fis.* **44** (3): 248-252.
- Silva, A., Briceño, I., Burgos, J., Torres, D., Villegas, V., Gómez, A., et al.** 2008. Análisis de ADNmt en una muestra de restos óseos arcaicos del período Herrera de la Sabana de Bogotá. *Biomédica.* **28** (4): 569-77.
- Soper, D.S.** 2015. Analysis of Variance (ANOVA) Calculator - One-Way ANOVA from Summary Data. Date Query: 21-01-2015. Available in: <http://www.danielsoper.com/statcalc>
- Stone, A.C., Stoneking, M.** 1998. mtDNA Analysis of a Prehistoric Oneota population: Implications for the peopling of the New World. *Am. J. Hum. Genet.* **62**: 1153-1170.
- Stothert, K.** 1985. The preceramic Las Vegas culture of coastal Ecuador. *American Antiquity.* **50**: 613-637.
- Tajima F.** 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics.* **123**: 585-595.
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D.G., Mulligan, C.J., Bravi, C.M., et al.** 2007. Beringian Standstill and spread of Native American founders. *PLoS One.* **9**: e829.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S.** 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis 6.0. *Mol. Biol. Evol.* **30**: 2725-2729.
- Tamura, K., Nei, M.** 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* **10**: 512-526.
- Usme-Romero, S., Alonso, M., Hernández-Cuervo, H., Yunis, J.E., Yunis, J.J.** 2013. Genetic differences between Chibcha and Non-Chibcha speaking tribes based on mtDNA haplogroups from 21 Amerindian tribes from Colombia. *Genet. Mol. Biol.* **36** (2): 149-157.
- Van der Hammen, T.** 1986. Cambios medio-ambientales y la extinción del mastodonte en el norte de los Andes. *Revista de Antropología.* **2**: 27-33.
- Van der Hammen, T.** 1997. El Bosque de Condalia. *Caldasia.* **19** (1-2): 355-359.
- Van der Hammen, T., Correal, G.** 2001. Mastodontes en un humedal Pleistocénico en el valle del Magdalena (Colombia) con evidencias de la presencia del hombre en el pleniglacial. *Boletín de Arqueología.* **16**: 4-36.
- Van der Hammen, T.** 2006. Bases para una prehistoria ecológica amazónica y el caso de Chiribiquete. En: G. Morcote, S. Mora, C. Franky (editores). *Pueblos y Paisajes antiguos de la selva amazónica.* Universidad Nacional de Colombia, Facultad Ciencias, Taraxacum, Bogotá. p. 19-28.
- Van der Hammen, T.** 2011. Aspectos ambientales y paleo-ambientales de los enclaves secos y el caso particular del valle del Checua (Nemocón, Colombia). *Pérez Arbelaeza.* **19**: 35-47.
- Vilar, M.G., Melendez, C., Sanders, A.V., Walia, A., Gaieski, J.B., Owings, A.C., et al.** 2014. Genetic diversity in Puerto Rico and its implications for the peopling of the Island and the West Indies. *Am. J. Phys. Anthropol.* **155** (3): 352-368.
- Vona, G., Falchi, A., Moral, P., Calo, C., Varesi, L.** 2005. Mitochondrial sequence variation in the Guahibo Amerindian population from Venezuela. *Am. J. Phys. Anthropol.* **127**: 361-369.
- Wang, S., Lewis, C.M., Jakobsson, M., Ramachandran, S., Ray, N., Bedoya, G., Rojas, W., et al.** 2007. Genetic variation and population structure in Native Americans. *PLoS Genet.* **3** (11): e185.
- Watkins, W.S., Xing, J., Huff, C., Whitterspoon D.J., Zhang, Y., Perego, U.A., et al.** 2012. Genetic analysis of ancestry, admixture and selection in Bolivian and Totonac populations of the New World. *BMC Genetics.* **13**: 39.
- Willerslev, E., Cooper, A.** 2005. Ancient DNA. *Proc. Biol. Sci.* **272**: 3-16.
- Winters M, Barta JL, Monroe C, Kemp B.** 2011. To Clone or Not To Clone: Method analysis for retrieving consensus sequences in ancient DNA Samples. *PLoS One.* **6**(6): e21247.
- Xavier, C., Builes, J.J., Gomes, V., Ospino, J.M., Aquino, J., Parson, W., et al.** 2015. Admixture and Genetic Diversity Distribution Patterns of Non-Recombining Lineages of Native American Ancestry in Colombian Populations. *PLoS One* **10** (3): e0120155.
- Yang, N.N., Mazières, S., Bravi, C., Ray, N., Wang, S., Burley, M.W., et al.** 2010. Contrasting patterns of nuclear and mtDNA diversity in Native American populations. *Ann. Hum. Genet.* **74** (6): 525-538.
- Yunis, J.J., Yunis, E.J.** 2013. mtDNA haplogroups in 1526 unrelated individuals from 11 Departments of Colombia. *Genet. Mol. Biol.* **36** (3): 329-335.
- Zegura, S.L., Karafet, T.M., Zhivotovsky, L.A., Hammer, M.F.** 2004. High-Resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol. Biol. Evol.* **21** (1): 164-175.

Reptiles en corredores biológicos y mortalidad por atropellamiento vehicular en Barbas-Bremen, Quindío, Colombia

Daniel Felipe López-Herrera¹, Mateo León-Yusti¹, Stefanny Caroline Guevara-Molina², Fernando Vargas-Salinas^{2,*}

¹Programa de Biología, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

²Grupo de Investigación en Evolución, Ecología y Conservación (EECO).

Programa de Biología, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

Resumen

Los corredores biológicos de Barbas-Bremen son una estrategia de conservación implementada en el departamento del Quindío, Colombia, con el objetivo de reestablecer la conectividad entre poblaciones bióticas presentes en los dos fragmentos de bosque más grandes de la región. No obstante, pocos estudios han evaluado la efectividad de estos corredores como hábitat para especies de fauna local y como facilitadores de dispersión de individuos entre las reservas naturales de Barbas-Bremen. En 18 salidas de campo realizadas entre julio de 2014 y marzo de 2015 caracterizamos la fauna de reptiles en tres corredores biológicos y se evaluó si la mortalidad de reptiles por atropellamiento vehicular en una carretera que atraviesa dichos corredores biológicos está correlacionada con la distancia hasta ellos. Utilizamos encuentros visuales libres y trampas de caída para muestrear la riqueza de reptiles en cada corredor biológico y áreas de pastizal adyacentes; los individuos atropellados los registramos durante 34 caminatas en la carretera. Encontramos 42 individuos pertenecientes a 16 especies; los reptiles en los corredores biológicos tienden a ser arbóreos mientras que los de pastizales tienden a ser terrestres. No se observaron lagartos atropellados en carretera y no hubo relación entre el número de atropellos (64 serpientes, 9 especies) y la distancia al corredor biológico más cercano. En general, los corredores biológicos de Barbas-Bremen ofrecen un hábitat boscoso para numerosas especies de reptiles que probablemente no podrían subsistir en la matriz de pastizales que predomina en el área de estudio; sin embargo, se requieren más estudios para establecer si dichos corredores biológicos favorecen el flujo de individuos entre Barbas-Bremen y cómo la carretera que los atraviesa afectaría este proceso. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Ofidios; Lagartos; Conservación; Atropellamiento.

Reptiles in biological corridors and roadkills in Barbas-Bremen, Quindío, Colombia

Abstract

The biological corridors of Barbas-Bremen are a conservation strategy implemented in the department of Quindío, Colombia, in order to reestablish connectivity between biotic populations in the two largest forest fragments in the region. However, very few studies have evaluated the effectiveness of those corridors as habitat for local wildlife and as facilitators of dispersal of individuals between the natural reserves of Barbas-Bremen. Between July 2014 and March 2015 we performed 18 fieldtrips to characterize the reptile fauna in three biological corridors to test whether mortality of reptiles on a road that crosses the biological corridors is correlated with the distance to them. We used visual sampling and pitfall traps to sample the richness of reptiles in each biological corridor and adjacent grassland; roadkills were recorded during 34 walks on the road. We found 42 reptiles belonging to 16 species; reptiles in biological corridors tend to be arboreal, the species in grassland tend to be terrestrial. There was no relationship between the number of roadkills (64 snakes, 9 species) and the distance to the nearest biological corridor. We did not observe lizards killed on the road. In general, the Barbas-Bremen biological corridors offer a forested habitat to numerous species of reptiles that probably could not survive in the grassland that prevails in the study area; however, more research is required to determine whether these biological corridors encourage the flow of individuals between Barbas-Bremen, and the role that the road there plays in this process. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Snakes; Lizards; Conservation; Roadkills

Introducción

La destrucción y la consecuente fragmentación de hábitats naturales en Colombia es cada vez más alta (Correa, Ruiz, Arévalo, 2006), lo que sugiere un efecto negativo cada vez mayor en las poblaciones silvestres. Los Andes Colombianos albergan cerca del 70 % de la población humana en el país,

lo cual ha conllevado a una deforestación de 82.661 ha/año y la modificación de más del 80 % de los bosques montanos y pre-montanos en la región (Franco & Ruiz,

*Correspondencia:

Fernando Vargas-Salinas, fvargas@uniquindio.edu.co

Recibido: 8 de febrero de 2016

Aceptado: 2 de agosto de 2016

2014). Lo anterior ha creado en los Andes colombianos un paisaje compuesto por potreros, cultivos agrícolas, franjas de vegetación riparia y parches de bosque secundario (Kattan, *et al.*, 2004; Cabrera, *et al.* 2011). El efecto en pérdida de biodiversidad producida por la deforestación en los Andes colombianos es particularmente preocupante, pues es la región con mayor riqueza de especies en el país, muchas de ellas endémicas y con rangos de distribución altamente restringidos (Myers, *et al.*, 2000; Forero-Medina & Joppa, 2010; Graham, *et al.* 2014).

Una de las estrategias para mitigar la pérdida de diversidad biológica por la destrucción y fragmentación de hábitats naturales es la implementación de corredores biológicos. Los corredores biológicos como estrategia de conservación se han implementado en diversos ecosistemas del planeta desde principios de los años 70 con resultados positivos en grupos como anfibios y reptiles (Reyes-Puig, *et al.* 2012), aves (Stanley, *et al.*, 1977; Kroodsma, 1982; Betts, *et al.* 2014), mamíferos (Simberloff, *et al.*, 1992; Hodgson, *et al.*, 2009; LaPoint, *et al.*, 2013) e insectos (Valle, *et al.*, 2013). Sin embargo, el establecimiento de corredores biológicos también ha sido controversial, ya que su implementación es costosa y en muchos casos no se evalúa su eficacia en la conectividad de poblaciones (Simberloff, *et al.* 1992; Lapoint, *et al.* 2013); además, los corredores biológicos pueden favorecer la dispersión de enfermedades, plagas, depredadores o la propagación de incendios forestales (Beier & Noss, 1998; Bennet, 1998; Ryall & Fahrig, 2006; Resasco, *et al.* 2014; Atobe, *et al.*, 2014).

Se conocen más de 80 iniciativas de corredores biológicos en Sur América, y en ese contexto, Colombia es uno de los países con mayor número de proyectos, 17 hasta hoy (Graham & Kalemani, 2006). El proyecto de los corredores biológicos de Barbas-Bremen en el departamento del Quindío, Andes centrales de Colombia, ha sido calificado como uno de los mejores a nivel internacional, pues integra áreas protegidas, promueve la conectividad funcional, conserva la biodiversidad y presenta una planificación del uso de la tierra como un medio para alcanzar los objetivos de conservación (Renjifo, 2004; Graham & Kalemani, 2006). La efectividad de los corredores de Barbas-Bremen como conectores entre la biota del Cañón del río Barbas y la Reserva Forestal de Bremen se ha evaluado en las aves y los insectos (Marín-Gómez, *et al.* 2009; Ortiz-Movliav, 2014; Montealegre-Talero, 2014); sin embargo, los resultados en estos estudios no pueden generalizarse, ya que la respuesta a la fragmentación de hábitat y a las estrategias de manejo y conectividad varían entre grupos biológicos (Schelhas & Greenberg, 1996; Pardini, *et al.* 2009).

Los reptiles no han sido tenidos en cuenta ni durante la planeación de los corredores biológicos de Barbas-Bremen ni después de su implementación. Su inclusión en las estrategias de manejo y conservación es importante, pues son vertebrados que hacen parte integral del flujo de nutrientes ya sea como depredadores o presas (Reagan & Waide, 1996;

Greene, 1997; Lynch, 2012). A pesar de su importancia ecológica y de que cerca del 20 % de las especies de reptiles están en riesgo de extinción, se han estudiado poco desde el punto de vista de la biología de la conservación (Gibbons, *et al.*, 2000, Bohm, *et al.*, 2013). En este estudio registramos los reptiles presentes en los corredores biológicos de Barbas-Bremen y sus áreas adyacentes. Además, dado que los corredores biológicos son atravesados por una carretera con alta tasa de atropellamiento de reptiles (Quintero-Ángel, *et al.*, 2012), nos propusimos examinar si los individuos que utilizan los corredores biológicos son especialmente susceptibles a morir atropellados, ya sea porque intentan cruzar la carretera para alcanzar los corredores en la margen contraria de la vía, o porque utilizan el asfalto de la carretera como una superficie cálida para su termorregulación (Ashley & Robinson, 1996; Shine, *et al.*, 2004).

Materiales y métodos

Área de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada sobre la vertiente occidental de la Cordillera Central de Colombia; la vegetación nativa en el área es de bosque muy húmedo montano y premontano (Franco & Bravo, 2005), pero actualmente los bosques remanentes están ubicados en una matriz donde predominan pastizales utilizados para ganadería, pinos y eucaliptos, y monocultivos de mora, sábila y aguacate, entre otros (Etter, 1998; Renjifo, 2001). El Cañón del río Barbas (04°42'N y 75°38'O; que en adelante se denominará Barbas) y la Reserva Forestal Bremen (04°40'N y 75°37'O; que en adelante se denominará Bremen) están ubicados entre los 1.500 y los 2.600 msnm, en los departamentos de Quindío y Risaralda (Renjifo, 2004). El área combinada de Barbas-Bremen tiene cerca de 1.600 ha, siendo el área de bosque con mayor tamaño de toda la región (Gómez-Posada, *et al.*, 2006; Pérez, 2007).

En el área de estudio el Instituto de Investigaciones Biológicas Alexander von Humboldt estableció cinco corredores biológicos (Colibríes, Pavas, Laureles, Monos y otro al cual no se le asignó nombre) para favorecer la conectividad de fauna y flora entre las poblaciones en Barbas-Bremen (Lozano, *et al.*, 2006; Vargas, *et al.*, 2009). Estos corredores biológicos están localizados en el municipio de Filandia (Quindío) el cual exhibe temperaturas que oscilan entre los 12 y los 27°C y una precipitación media anual de 2.739 mm; los meses de julio y agosto son los más secos mientras que, los meses de marzo-mayo y octubre-diciembre son los más lluviosos (Arcila, *et al.*, 2011). El ancho actual de los corredores biológicos varía de 28 a 289 m (Montealegre-Talero, 2014) y consisten en bosques lineales de especies vegetales nativas (arbóreas y arbustivas) que fueron establecidos hace más de diez años (Lozano, *et al.*, 2006). Los corredores biológicos en el área de estudio son atravesados por una carretera de aproximadamente ocho metros de ancho que conecta al pueblo de Filandia con la Autopista del Café, la cual va de Armenia a Pereira (Lozano, *et al.* 2006).

Fase de campo

Para nuestro estudio seleccionamos tres corredores biológicos (Colibríes, Pavas y Monos) con base en su continuidad desde Barbas hasta Bremen y su accesibilidad debido a la topografía, la logística y los permisos en predios privados. Para conocer las especies de reptiles que utilizan estos tres corredores biológicos hicimos muestreos de encuentros visuales libres (Visual encounter surveying, VES; **Crump & Scott**, 1994; **Rueda-Almonacid, et al.**, 2006) en áreas del corredor biológico tanto cerca (± 15 m) como lejos (>400 m) de la carretera que lo atraviesa. Para examinar y comparar la fauna de reptiles en los corredores biológicos con la que se encuentra en áreas abiertas adyacentes, se utilizó este mismo tipo de muestreo en los pastizales que rodean los corredores biológicos tanto en áreas cercanas a la carretera como lejos de ella.

Entre julio de 2014 y marzo de 2015 se hicieron 18 salidas de campo, con una duración promedio de tres a cuatro días cada una. La metodología de muestreo consistió en caminatas diurnas (9:00 am – 3:00 pm) y nocturnas (7:00 pm – 12:00 pm) durante las cuales buscamos individuos sobre ramas, arbustos y en cavidades de troncos. Además, utilizamos tridentes para remover la materia orgánica del suelo (para el caso de los corredores biológicos) y para rastrillar los pastizales más altos. Como un complemento a la búsqueda visual de reptiles, entre octubre de 2014 y marzo de 2015 utilizamos trampas de caída distribuidas en los corredores biológicos y en áreas abiertas cerca y lejos de la carretera. Estas trampas consistieron en cubetas plásticas de 50 cm de profundidad y 30 cm de diámetro enterradas con su abertura a ras del suelo; para llevar a los individuos hacia la trampa de caída pusimos una banda de polipropileno de 8 m de largo y 40 cm de alto, enterrada a 10 cm de profundidad que atravesaba la abertura de la cubeta. Estas trampas se revisaron diariamente durante los lapsos del trabajo en campo; al finalizar el muestreo se cubrían las cubetas para evitar la caída de individuos.

Para examinar si los reptiles que utilizan los corredores biológicos son particularmente propensos a morir por atropellamiento, registramos el número de reptiles atropellados y su distancia hasta el borde del corredor biológico más cercano. Para este análisis tuvimos en cuenta todos los corredores biológicos en el área de estudio. Los registros de cadáveres en carretera se hicieron durante 34 caminatas en 3,8 km de la carretera realizadas por dos personas entre agosto de 2014 y marzo de 2015. Las caminatas se hicieron a diferentes horas del día; a cada cadáver se le hizo una fotografía, se registró su posición con un GPS Garmin Oregón 550t que posteriormente se removió para evitar un doble conteo. La identificación taxonómica de los individuos atropellados se hizo con base en las especies registradas en los corredores biológicos y pastizales aledaños, y su posible presencia en el área (**Peters & Orejas-Miranda**, 1970; **Colorado & Ramírez**, 2001; **Quintero-Ángel, et al.**, 2012, **Vanegas-Guerrero, et al.**, 2015; **Vanegas-Guerrero, et al.**, 2016).

Análisis de datos

Para saber qué tan completos fueron nuestros muestreos en los corredores biológicos, los pastizales y la carretera, se analizó la cobertura de muestreo (**Chao & Jost**, 2012) en la plataforma virtual de iNEXT (**Hsieh, et al.**, 2015). Este análisis estima la proporción del número total de individuos en una comunidad que pertenece a una especie registrada en el muestreo (**Chao & Jost**, 2012). Además, el análisis de cobertura de muestreo corrige sesgos existentes en metodologías tradicionales que se basan en curvas de acumulación de especies para comparar la diversidad entre sitios después de estandarizar por tamaño de muestra (principio de duplicidad *sensu* **Chao & Jost** 2012 y **Chao, et al.** 2014). El recambio en la composición de especies entre los corredores biológicos (diversidad beta) y los pastizales aledaños, se examinó con el índice de similitud de Chao-Jaccard (**Chao, et al.**, 2005, 2006), el cual se calculó en Estimates 9,0 (**Colwell, et al.** 2012) y se graficó en un dendrograma utilizando PAST 3,0 (**Hammer, et al.**, 2013). mediante la prueba de correlación de Pearson se analizó si la frecuencia de atropellos de reptiles por segmentos de carretera de 50 m seguía un patrón aleatorio o no con respecto a la distancia al corredor biológico más cercano; para este análisis calculamos la distancia al corredor biológico desde el punto medio de cada segmento de carretera.

Resultados

Se registraron 16 especies de reptiles (seis lagartos y diez serpientes, Tabla 1 y Figura 1). Seis especies son endémicas para Colombia pero ninguna está incluida en categoría de amenaza (**Castaño-Mora**, 2002). Siete especies son de actividad arbórea y nueve son terrestres o fosoriales. Los reptiles en los corredores biológicos tienden a ser especies arbóreas, mientras que las especies en los pastizales son de actividad principalmente terrestre (Tabla 1).

El muestreo de reptiles en los corredores biológicos y los pastizales alcanzó una cobertura de muestreo de 0,89 y 0,67, respectivamente (Figura 2). A estos valores de cobertura de muestreo se asoció una riqueza media de doce especies en corredores biológicos y cuatro en pastizales. Ninguna de las especies registradas en los corredores biológicos se registró en los pastizales (Tabla 1) lo cual, es congruente con los resultados del análisis de similitud (Figura 3).

En 34 caminatas a lo largo de la carretera no se observó ningún lagarto atropellado, sin embargo, registramos 64 cadáveres de serpientes pertenecientes a por lo menos nueve especies, siete géneros y tres familias; 12 individuos no pudieron ser identificados debido a su estado avanzado de descomposición (Tabla 2). Con base en las especies identificadas, se logró una cobertura de muestreo equivalente a 0,97 para la carretera (Figura 2C). La serpiente *Atractus* cf. *melanogaster* Werner 1916 fue la especie con mayor número de registros (28 individuos atropellados, 45 % de los

Tabla 1. Riqueza de especies, abundancia de individuos y patrones de actividad para reptiles registrados en el área de estudio: corredores biológicos de Filandia (Colibríes, Pavas, Monos) y pastizales aledaños, Quindío, Andes Centrales de Colombia. El área abierta (pastizal) aledaña al corredor biológico de Pavas no pudo ser evaluada por acceso restringido a propiedad privada. Las especies señaladas con asterisco (*) son endémicas en Colombia.

TAXA	Hábito		Colibríes		Pavas	Monos	
	Terrestre	Arbóreo	Corredor	Pastizal	Corredor	Corredor	Pastizal
ORDEN SQUAMATA							
SUBORDEN LACERTILIA							
Dactyloidae							
<i>Anolis ventrimaculatus*</i>		♦			4	5	
<i>Anolis antonii*</i>		♦			3		
<i>Anolis eulaemus</i>		♦			2		
Gymnophthalmidae							
<i>Anadia rhombiphera</i>	♦		2		1	1	
<i>Gymnophthalmus</i> sp	♦		1		1		
Sphaerodactylidae							
<i>Lepidoblepharis duolepis*</i>	♦				1		
SUBORDEN SERPENTES							
Dipsadidae							
<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	♦			3			2
<i>Leptodeira annulata</i>		♦			1		
<i>Dipsas pratti</i>		♦			1	1	
<i>Atractus</i> cf. <i>melanogaster*</i>	♦			1			
<i>Atractus titanicus*</i>	♦			1			
Colubridae							
<i>Tantilla melanocephala</i>	♦						1
<i>Chironius exoletus</i>		♦			1		
Leptotyphlopidae							
<i>Trilepida joshuai*</i>	♦		1		2	3	
Elapidae							
<i>Micrurus mipartitus</i>	♦					1	
Viperidae							
<i>Bothriechis schlegelii</i>		♦				2	

registros). Las serpientes atropelladas se registraron entre 0 y 696 metros de distancia del borde del corredor biológico más cercano; la mayoría (94,1 %) de individuos atropellados corresponden a siete especies de áreas abiertas (Figura 4). Encontramos una relación inversa entre la frecuencia de atropellos y la distancia al corredor biológico más cercano ($r = -0.527$, $p = 0.044$); sin embargo, cuando hicimos el mismo análisis sin incluir el valor extremo de 18 serpientes observadas adyacente a los corredores biológicos (Figura 4), dicha relación desapareció ($r = -0.234$, $p = 0.117$).

Discusión

Nuestros resultados corroboran que los corredores biológicos de Barbas-Bremen son utilizados como hábitat por diversas especies de reptiles (lagartos, serpientes) y que

estas tienden a ser diferentes de aquellas en pastizales. La baja cobertura de muestreo, especialmente para las áreas de pastizal, podría haber incrementado los cálculos de diversidad beta entre los corredores biológicos y sus alrededores (Kattan, *et al.* 2006). Sin embargo, aunque algunas especies pudiesen estar presentes en ambos tipos de hábitat y no haber sido registrado en los muestreos, creemos que el patrón que sugiere nuestro análisis de similitud es real y no un artificio debido al número de individuos en la muestra. El alto recambio de especies entre los corredores biológicos y los pastizales adyacentes sería el reflejo de diferencias abruptas en microclima, estructura vegetal y de diferencias en requerimientos específicos de recursos tales como el sitio de percha, ítems alimenticios y riesgo de depredación (Carvajal-Cogollo & Urbina-

Cardona, 2015; Lion, *et al.*, 2016). Los lagartos *Anolis ventrimaculatus* Boulenger 1911 y *A. eulaemus* Boulenger 1908, por ejemplo, duermen en perchas arbóreas que no están presentes en áreas de pastizal, los pequeños lagartos del género *Sphaerodactylus* son comunes en microhábitats húmedos que se dan entre la hojarasca y troncos caídos que



Figura 1. Imagen de algunos de los reptiles registrados en los corredores biológicos, áreas de pastizal y carretera. A) *Tantilla melanocephala*, B) *Sibon nebulatus*, C) *Dipsas pratti*, D) *Erythrolamprus epinephelus*, E) *Anadia rhombifera*, F) *Lepidoblepharis duolepis*. Fotografías: Fernando Vargas-Salinas (A, B, D), Caroline Guevara-Molina (C, F) y Daniel López-Herrera (E).

predominan en áreas con cobertura arbórea (Savage, 2002), mientras que la serpiente *Bothriechis schlegelii* Berthold 1986 frecuenta ramas y hojas donde se alimenta de aves, ranas y pequeños mamíferos (Campbell & Lamar, 2004).

No se puede determinar si las especies de reptiles presentes en los corredores biológicos provienen o no de las reservas de Barbas-Bremen, pues es factible que provengan de remanentes boscosos presentes en el paisaje antes y durante la implementación del proyecto de conservación. En cualquier caso, es de esperar que los reptiles hayan colonizado los corredores biológicos a medida que los procesos de sucesión vegetal avanzaron. Diversos estudios han documentado que con el avance de un proceso de sucesión vegetal hacia el establecimiento de áreas boscosas, la fauna va recolonizando a medida que se incrementa la complejidad vegetal y la disponibilidad de recursos (Johnston & Odum, 1956; Huey, *et al.*, 1989; Goode, *et al.* 2005; Hernández-Ordoñez, *et al.*, 2015). Por ejemplo, microhábitats húmedos en troncos caídos, hoyos y grietas son de vital importancia para la recolonización de especies de reptiles terrestres (Goode, *et al.*, 2005), mientras que las especies arbóreas requieren del establecimiento de una cobertura vegetal leñosa y la disponibilidad previa de ítems tales como insectos y pequeños vertebrados (Ríos-López & Aide, 2007).

La ausencia de lagartos atropellados podría deberse a que su tamaño corporal pequeño hace que los cadáveres no persistan mucho tiempo sobre el asfalto de la carretera y, por lo tanto, nuestros registros estarían sesgados. Esta posibilidad encuentra sustento en que otros estudios de fauna atropellada en Colombia usualmente no registran lagartos a menos que sean especies de tamaño corporal relativamente grande (e.g. *Iguana iguana*) (Argotte & Monsalvo, 2002; Payan, *et al.*, 2013; De la Ossa & De la Ossa, 2013; De la Ossa & Galván-Guevara, 2015). Sin embargo, en nuestro caso descartamos esta posibilidad, ya

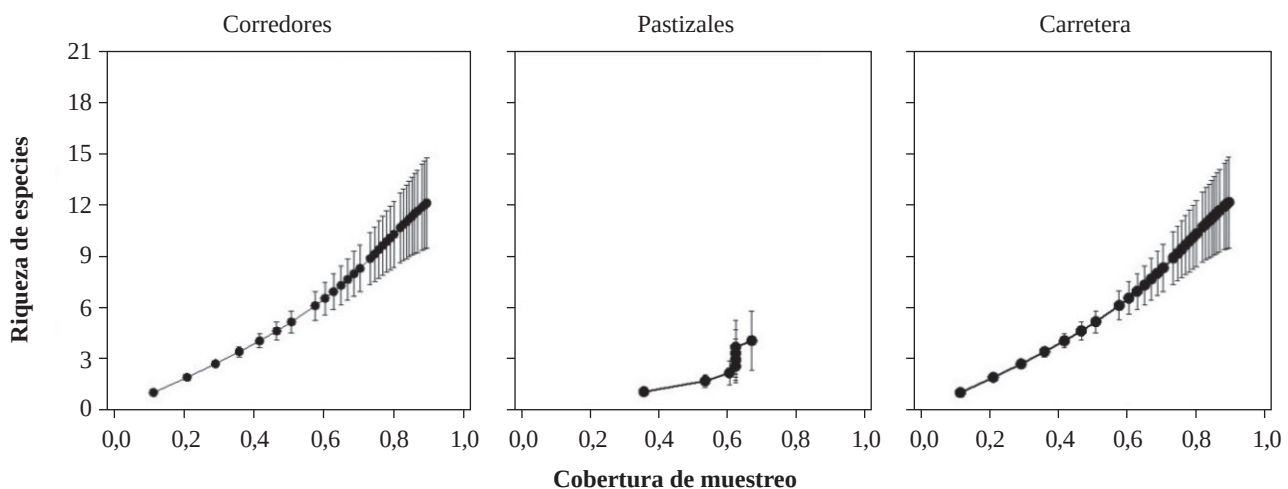


Figura 2. Curvas de cobertura de muestreo para reptiles en corredores biológicos, pastizales y carretera. En los pastizales no se observaron lagartos y en la carretera solo se registraron serpientes atropelladas.

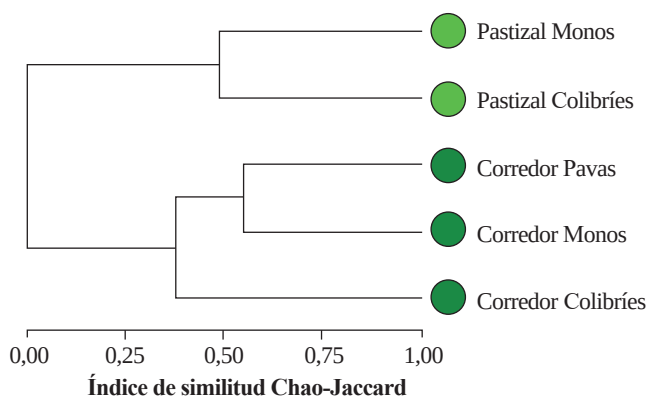


Figura 3. Nivel de similitud de especies de reptiles en tres corredores biológicos y dos áreas de pastizal aledañas a ellos en el área de estudio (vía entre Autopista del Café y municipio de Filandia, Andes centrales de Colombia)

Tabla 2. Reptiles atropellados en 3,8 kilómetros del tramo de la carretera entre la autopista del Café y el municipio de Filandia, en Quindío, Andes Centrales de Colombia

	2014				2015		
TAXA	Ago	Oct	Nov	Ene	Feb	Marzo	Total
Dipsadidae							
<i>Atractus cf. melanogaster</i>	7	4	4	4	3	7	29
<i>Atractus titanicus</i>	1	1	0	1	0	0	3
<i>Atractus sp.</i>	0	0	0	0	1	0	1
<i>Dipsas pratti</i>	0	1	0	1	0	0	2
<i>Erythrolamprus epinephelus</i>	1	1	0	0	1	0	3
<i>Sibon nebulata</i>	1	0	0	0	0	0	1
Colubridae							
<i>Tantilla melanocephala</i>	2	0	2	3	1	2	10
<i>Urotheca cf. decipiens</i>	1	0	0	1	0	0	2
Viperidae							
<i>Bothriechis schlegelii</i>	1	0	0	0	0	0	1
No identificados	5	2	1	1	1	2	12
Total	19	9	7	11	7	11	64

que por lo menos tres especies de lagartos (*A. eulaemus*, *A. ventrimaculatus*, *Anadia rhombifera*) tienen igual o mayor masa corporal que algunas de las serpientes registradas en la carretera (*Atractus cf. melanogaster*, *Tantilla melanocephala* Linnaeus 1758). Creemos que la ausencia de lagartos atropellados en la carretera se debe a varias posibilidades no excluyentes entre sí y que en un futuro deben ser evaluadas para entender mejor los procesos que explican las diferencias entre las tasas de atropellos de diferentes grupos faunísticos. Primero, entre los lagartos los atropellos de los individuos y especies que se inhiben al cruzar la vía habrían sido más frecuentes (Forman, et al. 2003); segundo, los lagartos de áreas boscosas podrían evitar áreas abiertas donde pueden

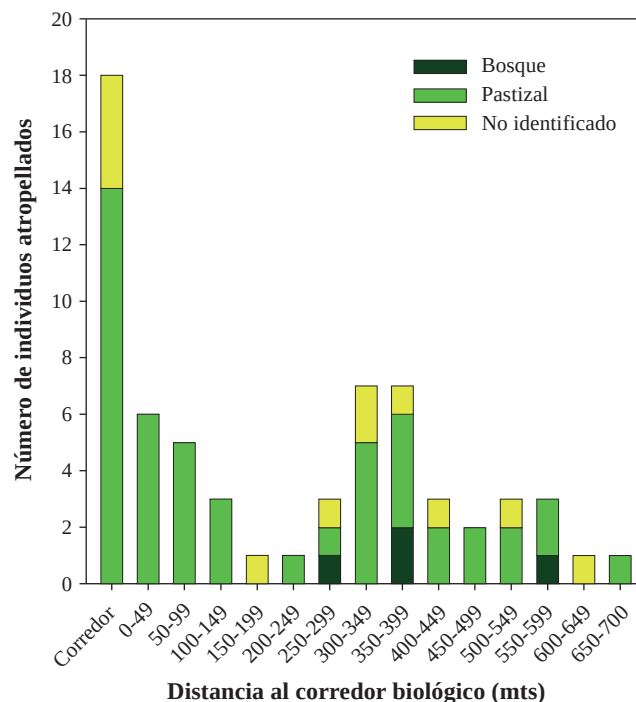


Figura 4. Frecuencia de serpientes atropelladas en segmentos de carretera con respecto a rangos de distancia al corredor biológico más cercano y tipo de hábitat predominante para cada especie

ser fácilmente depredados por aves (Roughgarden, 1995; Losos, 2009); tercero, contrario a las serpientes, las especies de lagartos en el área de estudio no utilizan el asfalto de la carretera como superficie para termorregularse, y cuarto, los lagartos no asumen una postura estática y defensiva ante los vehículos como se ha reportado en serpientes (Andrews & Gibbons, 2005; Shine, et al. 2004).

La relación inversa entre el número de serpientes atropelladas en la carretera y la distancia al corredor biológico no es concluyente; es decir, las especies que utilizan los corredores biológicos no son especialmente susceptibles a morir atropelladas. Concluimos esto, en primera instancia por que dicha relación está altamente influenciada por un registro extremo de serpientes (18 individuos) en segmentos de la carretera adyacentes a los corredores; segundo, la mayoría de dichas serpientes son de especies asociadas a áreas abiertas y no a áreas boscosas. La mayoría de serpientes en los corredores biológicos son de hábito arbóreo y dicho comportamiento posiblemente reduce su tendencia a cruzar áreas abiertas y carentes de vegetación. Nuestros resultados concuerdan con los reportados por Quintero-Ángel, et al. (2012), quienes encontraron que las serpientes atropelladas en esta misma área de estudio fueron en su gran mayoría especies asociadas a pastizales. Este patrón sugiere que las especies de hábitos terrestres tienden a acercarse y cruzar la carretera con mayor frecuencia que las especies con hábitos arbóreos o arbustivos (Jochimsen, et al., 2014). Una tendencia similar se ha registrado en

mamíferos, lagartos y anfibios (Fahrigr, *et al.* 1995; Ashley & Robinson, 1996; Argotte & Monsalvo, 2002; Baskaran & Boominathan, 2010).

En general, el alto número de serpientes atropelladas en el Neotrópico sugiere que las carreteras representan una amenaza para la conservación de estos vertebrados (Gibbons & Semlitsch, 1987; Ashley & Robinson, 1996; Shine, *et al.*, 2004; Andrews & Gibbons, 2008; Hartmann, *et al.*, 2011; Vargas-Salinas, *et al.*, 2011; Quintero-Ángel, *et al.*, 2012). No obstante, un alto número de individuos atropellados no necesariamente significa un impacto negativo a nivel poblacional (Fahrigr & Rytwinski, 2013; Fahrigr, *et al.*, 2013); por lo tanto, es necesario hacer observaciones más prolongadas antes de concluir si las poblaciones de serpientes en el área de estudio estarían experimentando una reducción (Reading, *et al.*, 2010).

La reforestación que implicó el establecimiento de los corredores biológicos en el área de estudio pudo incrementar la cobertura boscosa disponible para algunas especies de reptiles que requieren de este tipo de hábitat. En este sentido, los corredores de Barbas-Bremen podrían estar jugando un rol similar al de pequeños fragmentos boscosos en la conservación de reptiles (Turner & Corlett 1996; Lion, *et al.*, 2016). Por otro lado, nuestros resultados no permiten corroborar si dichos corredores biológicos están conectando las poblaciones presentes en los fragmentos boscosos de Barbas-Bremen, tal como se ha sugerido para arañas y aves (Marín-Gómez, *et al.*, 2009; Montealegre-Talero 2014; Ortiz-Movliav 2014).

Conclusiones

Los corredores biológicos de Barbas-Bremen sirven de hábitat a especies de reptiles que probablemente no podrían subsistir en la matriz de pastizales y cultivos que predominan en el paisaje del área de estudio, pero aún no se puede inferir si hay flujo de individuos entre las reservas naturales de Barbas-Bremen. La carretera en el área de estudio crea una alta mortalidad de serpientes, pero la mayoría de los individuos atropellados son de especies de pastizales y no de aquellas registradas en los corredores biológicos. En futuros estudios se deben evaluar si los pocos atropellamientos de individuos de especies registradas en los corredores biológicos se debe a que se inhiben de cruzar la carretera o a su gran capacidad para cruzar la vía sin morir en el intento.

Agradecimientos

Gracias a Sebastián Tabares, Benjamín Rivero, Alejandro Ochoa y Gustavo Arias por su ayuda en el trabajo de campo; al grupo de Herpetología de la Universidad del Quindío (GHUQ) por reconfirmar la identificación de algunos individuos; a Jorge Iván Salazar y Juan Carlos García por facilitar nuestra estadía en campo; a la UMATA y a los residentes del Municipio de Filandia por permitir nuestro ingreso a los corredores biológicos. El Instituto Alexander Von Humboldt permitió la utilización de los datos de

reptiles obtenidos bajo la ejecución del proyecto Planeación Ambiental para la Conservación de la Biodiversidad en las áreas operativas de Ecopetrol S.A, en Barbas-Bremen, Filandia-Quindío (2014).

Conflicto de intereses

Los autores no tienen ningún conflicto de intereses frente a la información presentada en este documento.

Referencias

- Agostinho, A.A., Gómez, L.C., Fernández, D.R., & Suzuki, H. 2002. Efficiency of fish ladders for neotropical ichthyofauna. *River Research and Applications*. **18** (3): 299-306.
- Andrews, K.M., & Gibbons, W.J. 2005. How do highways influence snake movement? behavioral responses to road and vehicles. *Copeia*. **4**: 772-782.
- Andrews, K.M., & Gibbons, W.J. 2008. Ecological effects of roads on amphibians and reptiles: A literature review. *Herpetological Conservation*. **3**: 121-143.
- Arcila, P.J., Ramírez, B.V.H., & Jaramillo, R.A. 2011. Patrones de distribución de la lluvia en la zona cafetera. *Cenicafé*. 5-11.
- Argotte, S.D., & Monsalvo, M.J.D. 2002. *Incidencia de la carretera Barranquilla-Ciénaga sobre la mortalidad de vertebrados y su relación con el medio ecológico en la vía Parque Isla de Salamanca, Magdalena, Colombia* (tesis de pregrado). Universidad del Atlántico, Barranquilla, Colombia.
- Ashley, E.P., & Robinson, J.T. 1996. Road mortality of amphibians, reptiles and other wildlife on the long point causeway. *The Canadian Field-Naturalist*. **110** (3): 403-412.
- Atobe, T., Osada, Y., Takeda, H., Kuroe, M., & Miyashita, T. 2014. Habitat connectivity and resident shared predators determine the impact of invasive bullfrogs on native frogs in farm ponds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **281** (1786): 1-10.
- Baskaran, N., & Boominathan, D. 2010. Road kills of animals by highway traffic in the tropical forest of mudumalai tiger reserve, southern India. *Journal of Threatened Taxa*. **2** (3): 753-759.
- Beier, P., & Noss, R.F. 1998. Do habitat corridors provide connectivity?. *Conservation Biology*. **12** (6): 1241-1252.
- Bennett, A.F. 1998. *Enlazando el Paisaje: el papel de los corredores biológicos y la conectividad en la conservación de la vida silvestre*. IUCN, Gland, Suiza y Cambridge.
- Betts, M.G., Fahrigr, L., Hadley, A.S., Halstead, K.E., Bowman, J., Robinson, W.D., & Lindenmayer, D.B. 2014. A species-centered approach for uncovering generalities in organism responses to habitat loss and fragmentation. *Ecography*. **37** (6): 517-527.
- Bohm, M., Collen, B., Baillie, J.E.M., Bowles, P., Chanson, J., Cox, N., & Rhodin, A.G. 2013. The conservation status of world's reptiles. *Biological Conservation*. **157**: 372-385.
- Cabrera, E., Vargas, D.M., Galindo, G., García, M.C., Ordóñez, M.F., Vergara, L.K., Pachecho, A.M., Rubiano, J.C., & Giraldo, P. 2011. *Memoria técnica de la cuantificación de la deforestación histórica nacional – escala gruesa y fina*. IDEAM. Bogotá, D.C., Colombia.
- Campbell, J.A., & W.W. Lamar. 2004. *The venomous reptiles of the western hemisphere*. Comstock Publishing, Cornell University. Ithaca, New York, Estados Unidos. 475 pp.

- Carvajal-Cogollo, J.E. & J.N. Urbina-Cardona.** 2015. Ecological grouping and edge effects in tropical dry forest: reptile-microenvironment relationships. *Biodiversity and Conservation*. **24** (5): 1109-1130.
- Castaño-Mora, O.V.** 2002. *Libro rojo de reptiles de Colombia. La serie libro rojos de especies amenazadas de Colombia.* (Castaño-Mora, O.V. ed.). Bogotá, D.C. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia.
- Chao, A., Chazdon, R.L., Colwell, R.K., & Shen, T.** 2005. A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. *Ecology*. **8**: 148-159.
- Chao, A., Chazdon, R.L., Colwell, R.K., & Shen, T.** 2006. Abundance-based similarity indices and their estimation when there are unseen species in samples. *Biometrics*. **62** (2): 361-371.
- Chao, A., & Jost, L.** 2012. Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. *Ecology*. **93** (12): 230-250.
- Chao, A., Gotelli, N.J., Hsieh, T.C., Sander, E.L., Ma, K.H., Colwell, R.K., & Ellison, A.M.** 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecological Monographs*. **84** (1): 45-67.
- Colorado, A.M., & Ramírez, W.** 2001. *Diversidad y distribución de las comunidades de serpientes en 11 localidades del Quindío* (tesis de pregrado). Universidad del Quindío, Colombia.
- Colwell, R.K., Chao, A., Gotelli, N.J., Lin, S., Mao, C.X., Chazdon, R.L., & Longino, J.T.** 2012. Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *Journal of Plant Ecology*. **5** (1): 3-21.
- Correa, H., Ruiz, S., & Arévalo, L.** 2006. *Plan de Acción en la biodiversidad de la cuenca del Orinoco-Colombia 2005-2015.* Propuesta técnica. Corporinoquia, Cormacarena, IAvH, Unitrópico, Fundación Omacha, Fundación Horizonte Verde, Universidad Javeriana, Unillanos, WWF-Colombia. Bogotá D.C.
- Crump, M.L., & Scott, N.J.** 1994. Visual Encounter Surveys. En: W. Heyer, M.A. Donnelly, R.A. McDiarmid, L.C. Hayec, M.C. Foster (eds). *Measuring and Monitoring Biological Diversity*. (pp. 84-92). Washington DC: Smithsonian Institution Press.
- De La Ossa, N.O., & De La Ossa, V.J.** 2013. Fauna silvestre atropellada en dos vías principales que rodean los Montes de María, Sucre, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. **5** (1): 158-164.
- De La Ossa, V.J. & Galván-Guevara, S.** 2015. Registro de Mortalidad de Fauna Silvestre por Colisión Vehicular en la Carretera Tolú Viejo – Ciénaga la Caimanera, Sucre Colombia. *Biota Colombiana*. **16** (1): 67-77.
- Etter, A.** 1998. *Mapa general de ecosistemas de Colombia (Escala 1: 2'000.000).* Instituto Alexander von Humboldt. Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Fahrig, L., Pedlar, J.H., Pope, S.E., Taylor, P.D., & Wegner, J.F.** 1995. Effect of road traffic on amphibian density. *Biological Conservation*. **73** (3): 177-182.
- Fahrig, L., & Rytwinski, T.** 2013. Effects of roads on animal abundance: an empirical review and synthesis. *Ecology and Society*. **14** (1): 21.
- Forero-Medina, G., & Joppa, L.** 2010. Representation of global and national conservation priorities by Colombia's protected area network. *PlosONE*. **5** (10): 3210.
- Forman, R.T.T., Sperling, D., Bissonette, J., Clevenger, A., Cutshall, C., Dale, V., Fahrig, L., France, R., Goldman, C., Heanue, K., Jones, J., Swanson, F., Turrentine, T., & Winter, T.** 2003. *Road Ecology: Science and Solutions.* Island Press, Washington, DC. 481 pp.
- Franco, A.M., & Bravo, G.** 2005. Áreas Importantes para la Conservación de las Aves en Colombia. En: K. Boyla, A. Estrada (eds). *Áreas Importantes para la Conservación de las Aves en los Andes Tropicales: sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad.* Quito, Ecuador. Serie de Conservación de Birdlife.
- Franco, V.L., & Ruiz, J.P.** 2014. *V Informe Nacional de Biodiversidad de Colombia, ante el convenio de diversidad biológica.* Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá D.C. Colombia.
- Gibbons, J.W., & Semlitsch, R.D.** 1987. Activity patterns. En: R.A. Seigel, J.T. Collins, S.S. Novak (eds). *Snakes: Ecology and Evolutionary Biology.* MacMillan, Nueva York. 529 pp.
- Gibbons, J.W., Scott, D.E., Ryan, J.T., Buhlmann, K.A., Tuberville, T.D., Metts, B.S., & Winne, C.T.** 2000. The global decline of Reptiles, Deja Vu Amphibians. *Bioscience*. **50**: 653-666.
- Gómez-Posada, C., Giraldo, C.G., Zulima, I.A., & Londoño, J.** 2006. *Evaluación de la densidad poblacional del mono aullador rojo (Alouatta seniculus) en bosques del eje cafetero.* Fundación Ecoandina /Wildlife Conservation Society, Cali, Colombia.
- Goode, M.J., Horrace, W.C., Sredl, M.J., & Howland, J.M.** 2005. Habitat destruction by collectors associated with decreased abundance of rockdwelling lizards. *Biological Conservation*. **125** (1): 47-54.
- Graham, B., & Kalemari, J.M.** 2006. *Review of Experience with Ecological Networks, Corridors and Buffer Zones.* Secretariat of the Convention on Biological Diversity.
- Graham, C.H., Carnaval, A.C., Cadena, C.D., Zamudio, K.R., Roberts, T.E., Parra, J.L., & Schneider, C.J.** 2014. The origin and maintenance of montane diversity: integrating evolutionary and ecological processes. *Ecography*. **37**: 711-719.
- Greene, H.W.** 1997. *Snakes, the evolution of mystery in nature.* California, USA. Editorial University of California press. 351 pp.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., & Ryan, P.D.** 2013. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *PalaeoE*. **4** (1): 9.
- Hartmann, P.A., Hartmann, M.T., & Martins, M.** 2011. Snake road mortality in a protected area in the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology*. **6** (1): 35-42.
- Hernández-Ordóñez, O., Urbina-Cardona, N., & Martínez-Ramos, M.** 2015. Recovery of amphibian and reptile assemblages during old-field succession of tropical rain forests. *Biotropica*. **47** (3): 377-388.
- Hodgson, J.A., Thomas, C.D., Wintle, B.A., & Moilanen, A.** 2009. Climate change, connectivity and conservation decision making: back to basics. *Journal of Applied Ecology*. **46** (5): 964-969.
- Hsieh, T., Ma, K., & Chao, C.** 2015. iNEXT: An R package for interpolation and extrapolation in measuring species diversity.

- Huey, R.B., Peterson, C.R., Arnold, S.J., & Porter, W.P. 1989. Hot rocks and not-so-hot rocks: retreat-site selection by garter snake and its thermal consequences. *Ecology*. **70**: 931-944.
- Jochimsen, D.M., Peterson, C.R., & Harmon, L.J. 2014. Influence of ecology and landscape on snake road mortality in a sagebrush-steppe ecosystem. *Animal Conservation*. **17** (6): 583-592.
- Johnston, D.W., & Odum, E.P. 1956. Breeding bird populations in relation to plant succession on the piedmont of Georgia. *Ecology*. **37**: 50-62.
- Kattan, G.H., Franco, P., Rojas, V., & Morales, G. 2004. Biological diversification in a complex region: a spatial analysis of faunistic diversity and biogeographic of the Andes of Colombia. *Journal of Biogeography*. **31** (11): 1829-1839.
- Kattan, G.H., Franco, P., Saavedra-Rodríguez, C.A., Valderrama, C., Rojas, V., Osorio, D., & Martínez, J. 2006. Spatial components of bird diversity in the Andes of Colombia: Implications for designing a regional reserve system. *Conservation Biology*. **20**: 1203-1211.
- Kroodsma, R.L. 1982. Bird community ecology on power-line corridors in East Tennessee. *Biological Conservation*. **23** (2): 79-94.
- LaPoint, S., Gallery, P., Wikelski, M., & Kays, R. 2013. Animal behavior, cost-based corridor models, and real corridors. *Journal of Landscape Ecology*. **28** (8): 1615-1630.
- Lion, M.B., Garda, A.A., Santana, D.J., & Fonseca, C.R. 2016. The conservation value of small fragments for Atlantic forest reptiles. *Biotropica*. **48** (2): 265-275.
- Losos, J.B. 2009. *Lizards in an evolutionary tree: ecology and adaptive radiation of anoles*. London, England. Editorial University of California Press. 528 pp.
- Lozano, F.H., Vargas, A.M., Vargas, W., Jiménez, E., Mendoza JE, Caicedo, P., Aristizabal, S.L., Ramírez, D.P., Murillo, X., & Ríos, C.I. 2006. *Modelo de manejo sostenible de paisajes rurales para la conservación de la biodiversidad en la región andina colombiana*. Línea de investigación conservación de la biodiversidad en paisajes rurales Instituto Alexander Von Humboldt. Colombia.
- Lynch, J.D. 2012. El contexto de las serpientes de Colombia con un análisis de las amenazas en contra de su conservación. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **36** (140): 435-449.
- Montealegre-Talero, C. 2014. *Uso de hábitat y rangos de hogar de especies focales de aves en un paisaje andino fragmentado* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C., Colombia.
- Marín-Gómez, O.H., Banguera, N.Y., & Carmona, P.J. 2009. "Monitoreo" de la avifauna amenazada del Aica Barbas-Bremen y evolución de la población de pava caucana (*Penelope perspicax*) en el cañón del río Barbas. *Fundación Ornitológica del Quindío*. Instituto Alexander Von Humboldt.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. **403**: 853-858.
- Ortiz-Movliav, C. 2014. *Evaluación de la diversidad de arañas como indicadores de la efectividad de las estrategias de restauración implementadas en el corredor biológico Barbas-Bremen, Filandia (Quindío-Colombia)* (tesis de pregrado). Universidad Icesi. Cali, Colombia.
- Pardini, R., Fariaa, D., Accacio, G.M., Laps, R.R., Mariano-Neto, E., Paciencia, M.L.B., Dixon, M., & Baumgarten, J. 2009. The challenge of maintaining Atlantic forest biodiversity: A multi-taxa conservation assessment of specialist and generalist species in an agro-forestry mosaic in southern Bahia. *Biological Conservation*. **142**: 1178-1190.
- Payan, E., Soto, C., Diaz-Pulido, A., Benítez, A., & Hernández, A. 2013. *Wildlife road crossing and mortality: lessons for wildlife friendly road design in Colombia*. Proceedings of the 2013 International Conference on Ecology and Transportation (ICOET).
- Pérez, A. 2007. *Aplicación del enfoque ecosistémico en latinoamérica*. Commission on Ecosystem Management. Bogotá, D.C., Colombia. Unión Internacional Para La Conservación de la Naturaleza.
- Peters, J.A., & Orejas-Miranda, B. 1970. *Catalogue of the neotropical squamata: Part I. Snakes*. Bulletin-United States National Museum. 297 pp.
- Quintero-Ángel, A., Osorio-Domínguez, S., Vargas-Salinas, F. & Saavedra-Rodríguez, C.A. 2012. Roadkill rate of snakes in a disturbed landscape of central Andes of Colombia. *Herpetology Notes*. **5**: 99-105.
- Reading, C.J., Luiselli, L.M., Akani, G.C., Bonnet, X., Amori, G., Ballouard, J.M., & Rugiero, L. 2010. Are snake populations in widespread decline?. *Biology Letters*. **11** (11): 1-4.
- Reagan, D.P., & Waide, R.B. 1996. *The food web of a tropical forest*. Chicago USA. Editorial The University of Chicago Press. 616 pp.
- Renjifo, L.M. 2001. Effect of natural and anthropogenic landscape matrices on the abundance of sub Andean bird species. *Ecological Applications*. **11** (1): 14-31.
- Renjifo, L.M. 2004. *Aplicación del enfoque ecosistémico a la gestión de corredores en América del Sur*. Quito, Ecuador. Unión internacional para la conservación de la naturaleza en América del Sur.
- Resasco, J., Haddad, N.M., Orrock, J.L., Shoemaker, D., Brudvig, L.A., Damschem, E.I., & Levey, D.J. 2014. Landscape corridors can increase invasion by an exotic species and reduce diversity of native species. *Ecology*. **95** (8): 2033-2039.
- Reyes-Puig, J.P., & Yáñez-Muñoz, M.H. 2012. Una nueva especie de *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) del corredor ecológico Ilangantes-sangay, Andes de Ecuador. *Papeís Avulsos do Departamento de Zoologia*. **52** (6): 81- 91.
- Ríos-López, N., & Aide, T.M. 2007. Herpetofaunal dynamics during secondary succession. *Herpetologica*. **63** (1): 35-50.
- Roughgarden, J. 1995. *Anolis lizards of the Caribbean*. New York, USA. Editorial Oxford University Press. 226 pp.
- Rueda-Almonacid, J.V., Castro, F., & Cortéz, C. 2006. Técnicas para el inventario y muestreo de anfibios: una compilación. En: Ángulo, A., Rueda-Almonacid, J.V., Rodríguez-Mahecha, J.V., & La Marca, E. (eds.). *Técnicas de inventario y monitoreo para los anfibios de la región tropical andina*. (Panamericana ed.). Bogotá DC, Colombia. 300 pp.
- Ryall, K.K., & Fahrig, L. 2006. Response of predators to loss and fragmentation of prey habitat: a review of theory. *Ecology*. **87** (5): 1086-1093.
- Savage, J.M. 2002. *The amphibians and reptiles of Costa Rica: a herpetofauna between two continents, between two seas*. London, England. Editorial University of Chicago Press. 934 pp.

- Schellhas, J., & Greenberg, R.S.** 1996. *Forest patches in tropical landscapes*. Washington D.C., USA. Editorial Island Press. 337 pp.
- Shine, R., Lemaster, M., Wall, M., Langkilde, T., & Mason, R.** 2004. Why did the snake cross the road? Effects of roads on movement and location of mates by garter snakes (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Ecology and Society*. **9** (1): 9-21.
- Simberloff, D., Farr, J.A., Cox, J., & Mehlman, D.W.** 1992. Movement corridors: conservation bargains or poor investments. *Conservation Biology*. **6** (4): 493-504.
- Stanley, H.A., Shugart, J., Herman, H., & Kathleen, M.** 1977. The effect of transmission-line corridors on bird populations. *The American Midland Naturalist*. **97** (1): 216-221.
- Turner, I.M., & Corlett, R.T.** 1996. The conservation value of small, isolated fragments of lowland tropical rain forest. *Trends in Ecology and Evolution*. **11**: 330-333.
- Vanegas-Guerrero, J., Gómez-Hoyos, D.A., Gómez-López, C.M., & Londoño-Guarnizo, C.A.** 2015. Reptilia, Sauria, Gymnophthalmidae, *Anadia rhombifera* (Günther, 1859): distribution extensión and first records from Quindío department, Colombia. *Check List*. **11** (1): 1512.
- Vanegas-Guerrero, J., Fernández, C.A., Buitrago-González, W.E., & Vargas-Salinas, F.** 2016. Urban Remnant Forests: Are they important for herpetofaunal conservation in the Central Andes of Colombia?. *Herpetological Review*. **47** (2): 180-185.
- Vargas, W., Renjifo, L.M., Aristizábal, S.L., Lozano-Zambrano, F.H., Vargas, A.M., & Ramírez, D.P.** 2009. Herramientas de manejo para la conservación de biodiversidad en paisajes rurales. *Capítulo 4: Diseño de la estrategia de conservación en el paisaje rural (Fase II)*, Instituto Alexander Von Humboldt. Bogotá D.C., Colombia.
- Vargas-Salinas, F., Delgado-Ospina, I., López-Aranda, F.** 2011. Mortalidad por atropello vehicular y distribución de anfibios y reptiles en un bosque sub andino en el occidente de Colombia. *Caldasia*. **33** (1): 121-138.
- Valle, I.C., Buss, D.F., & Baptista, D.F.** 2013. The influence of connectivity in forest patches, and riparian vegetation width on stream macroinvertebrate fauna. *Brazilian Journal of Biology*. **73** (2): 231-238.

Fenología y brotación vegetativa de una nueva especie de *Vriesea* (Bromeliaceae) de Colombia en condiciones *ex situ*

Adriana Pico-V.

Subdirección Científica, Jardín Botánico de Bogotá “José Celestino Mutis”, Bogotá, D.C., Colombia

Resumen

El Jardín Botánico de Bogotá (JBB) conserva en condiciones *ex situ* una nueva especie de bromelia epífita de Colombia del género *Vriesea*, la cual fue parcialmente descrita en el 2001 por **Betancur** en una publicación local; fue hallada en el municipio de Suachoque, Cundinamarca, pero hasta ahora no ha sido determinada ni publicada. La especie tiene roseta y, a la vez, es de tipo atmosférica estricta. En este estudio se describe el hábitat del área donde se la encontró, los forófitos en los que se sostenía y el rango de altura en donde crecía. También se describe el comportamiento de la fenología reproductiva *ex situ* durante 30 semanas, los tiempos de floración, de 1,8 semanas en promedio, la polinización *ex situ* natural, el tiempo de los frutos en desarrollo, de 3,5 semanas en promedio, y la permanencia de los frutos evidentes en el transcurso de 20,9 semanas. La maduración y la liberación de las semillas se produjeron entre las semanas 17 y 28 después del inicio de la floración. Se determinó, asimismo, la brotación vegetativa *ex situ* 12 meses después del inicio de la floración, con 1,9 brotes en promedio (0 a 3 por planta). El ciclo de vida de la especie por propagación vegetativa debe ser superior a 16 meses y se espera recolectar las semillas para evaluarlo también por la vía de la propagación sexual. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Bromelias; Colombia; Epífitas; Bosques andinos; Fenología; Propagación vegetativa.

Fenology and vegetative growth in *ex situ* conditions of a new species of *Vriesea* (Bromeliaceae) from Colombia

Abstract

The Botanical Garden of Bogotá (JBB) has conserved in *ex situ* conditions a new species of epiphytic bromeliad of the genus *Vriesea*, partially described in 2001 by **Betancur** in a local publication. It was found in the municipality of Subachoque, Cundinamarca, but it had not been determined or published until now. The species exhibits a rosette and, simultaneously, it is strictly atmospheric. In the present study we describe the habitat where it was found, the phorophytes where it grew and its height range on them. We recorded the reproductive phenology behavior *ex situ* for 30 weeks, as well as the flowering times for an average of 1.8 weeks, the natural *ex situ* pollination, as well as the average fruit growing time for 3.5 weeks and the evident permanence of fruits for 20.9 weeks. Seed maturation and release occurred 17 to 28 weeks after flowering initiation. We also determined the *ex situ* vegetative growth 12 months after flowering initiation, with 1.9 buds on average (0 to 3 per plant). The species life cycle by vegetative propagation was over 16 months. We expect to collect seeds to evaluate the life cycle also via sexual propagation. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Bromeliads; Colombia; Epiphytes; Andean forests; Phenology; Vegetative propagation.

Introducción

Este artículo corto hace referencia a estudios realizados en Colombia sobre una nueva especie de *Vriesea*, epífita que combina las características de las bromelias tipo tanque y de las estrictamente atmosféricas. La alta densidad de tricomas sobre toda su superficie, la hace ver de color gris plateado, como sucede con la mayoría de las especies del género *Tillandsia*. Esta especie fue parcialmente descrita en el 2001 (**Departamento Administrativo del Medio Ambiente – DAMA**), pero no ha sido formalmente descrita ni publicada hasta la fecha (**Betancur**, comunicación personal).

Investigadores del Jardín Botánico de Bogotá (JBB) recolectaron especímenes de esta especie entre el 2001 y el 2003 (**Pico**, 2001 y 2004), y nuevamente en el 2013, logrando

adaptarla a condiciones *ex situ* (**Pico**, 2014). En Colombia, la familia Bromeliaceae está conformada por 543 especies distribuidas en 25 géneros, y de ellas, 33 son especies de *Vriesea* (**Betancur**, 2015). Según el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 153 especies de bromelias, es decir, 28,2 %, están bajo algún nivel de amenaza (**Betancur & García**, 2006, **Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible**, 2014, **Pico**, 2002). La importancia ecológica de las bromelias epífitas es determinante debido al incremento de la biomasa vegetal total y por área, del área fotosintética

Correspondencia:

Adriana Pico-V, apico@jbb.gov.co

Recibido: 09 de mayo de 2016

Aceptado: 23 de agosto de 2016

de los ecosistemas por área, de la retención y regulación de agua a lo largo del tiempo, y de la generación de microclimas y de nichos específicos sobre árboles y arbustos, lo cual permite la supervivencia de diversos artrópodos, algas y anfibios sobre ellos y no solo sobre el suelo.

Dada la relevancia de las nuevas especies en la capital de Colombia y en sus alrededores, el Jardín Botánico de Bogotá (JBB) tiene como objetivo primordial garantizar la conservación del patrimonio genético de la biodiversidad de plantas del bosque altoandino y del páramo (**Jardín Botánico de Bogotá**, 2015), especialmente de plantas endémicas, de aquellas amenazadas, de las especies de uso local y de nuevas especies, para lo cual desarrolla mecanismos que permitan su conservación *ex situ* (**Jardín Botánico de Bogotá**, 2015; **Pico**, 2002, 2014 y 2015). En este contexto, en el presente estudio se presentan algunas alternativas de conservación de la nueva especie endémica de los bosques andinos de la cordillera Oriental de Colombia, ecosistema altamente amenazado por las dinámicas de expansión agrícola y el cambio del uso del suelo.

Materiales y métodos

Se describió el hábitat del lugar de recolección, se hizo el seguimiento *ex situ* a la fenología reproductiva durante 30 semanas (fenofases de floración hasta dehiscencia y liberación de semillas), y se registró el número de brotes vegetativos 12 meses después de la iniciación de la floración.

Área de estudio

Entre el 2001 y el 2003 el Jardín Botánico (JBB) organizó salidas de campo y recolectó esta nueva especie de *Vriesea* en la vía El Tablazo del municipio de Subachoque, departamento de Cundinamarca (**Pico**, 2001 y 2004). La nueva especie se recolectó en julio de 2013 en la vía mencionada, en las coordenadas 4°57'863'' N y 74°57'881'' O, a 2.998 msnm, y se encontró distribuida en un área de 500 m a la redonda sobre forófitos al borde de la carretera destapada y dentro de predios con pastizales para ganadería (**Pico**, 2014 y 2015). Se herborizó un espécimen para el herbario del JBB (APICO # 969) (Figuras 1 a 3).

Se recolectaron 33 individuos vivos y se ubicaron sobre forófitos en el JBB en las secciones correspondientes a las zonas de páramo, criptogamio, glosológico y orquidiario-tropicario, y se logró su adaptación *ex situ* (**Pico**, 2014 y 2015).

Fenología y propagación vegetativa

La fenología se define como el estudio de la cronología de las diferentes fases del ciclo de vida de las plantas. Las fenofases reproductivas (floración y fructificación) son las mas conspicuas y su estudio es fundamental, puesto que con ellas se logra la variabilidad genética necesaria para mantener o aumentar el valor adaptativo y el éxito reproductivo, determinado este por factores selectivos bióticos y abióticos como el clima, el suelo o el sustrato, entre otros (**Bonilla & Zuloaga**, 1994; **Dafni**, 1992, **Fagua**, 2002, **Mora, et al.**, 2007; **Pico**, 2014 y 2015, **Post & Stenseth**, 1999, **Rathcke & Lacey**, 1985; **Salisbury & Ross**, 1994).



Figura 1. Dos individuos de *Vriesea* sp. nov. florecidos sobre encenillo en bosque altoandino del municipio de Subachoque, Cundinamarca, 2013



Figura 2. Planta sobre aliso en fenofase de frutos vacíos o no evidentes (pétalos secos y frutos no evidentes). Subachoque, 2013



Figura 3. Plántulas vegetativas de origen sexual, epífitas a 5 y 6 m de altura. Subachoque, 2013

A continuación se presenta la descripción parcial de la nueva especie, pues de su morfología depende la descripción específica de las características de cada fenofase.

Epífita, de 44 a 48 cm de altura. Hojas arrosetadas de 26 a 35 cm de largo, sin pseudopetiole; lepidotas en ambas superficies, triangulares, de margen entera. Inflorescencia terminal, visible, péndula de 25 a 28 cm de largo, bipinnada, raquis oculto. Brácteas florales imbricadas con carina de 65 mm de largo, más largas que los sépalos, rojas, tomentosas, de ápice recto y margen entera. Flores con pedicelo de 2 a 3 mm de largo, dísticas. Sépalos simétricos de 50 mm de largo, todos libres, todos sin carina. Pétalos de 95 mm de largo con la base crema y el ápice verde limón, con lígula. Se distribuye en los bosques húmedos de Cogua y El Tablazo. Tiene preferencia por el dosel y los bordes de los bosques (**Departamento Administrativo del Medio Ambiente, 2001**).

En junio de 2013 se seleccionaron en el JBB 10 bromelias similares de las 33 pertenecientes a la nueva especie, sin pétalos o con unos pocos (máximo 8 en promedio de 55 flores estimadas, 14,5 % emergidas), para investigar durante 30 semanas (7,5 meses) la duración de las fenofases desde la etapa reproductiva hasta la dehiscencia (liberación de semillas), con registros cada dos semanas. Las fenofases definidas para el estudio fueron las siguientes.

1. Floración: emergencia de pétalos. En esta especie los tres pétalos son tubulares y más largos que las brácteas y evidentes junto con el estilo y los estambres (Figura 1).

2. Frutos vacíos o no evidentes: pétalos secos y sin evidencia de formación de frutos. En esta fase no se detectó el desarrollo de frutos al tacto. Cuando las flores no fueron polinizadas, la planta permaneció en este estado hasta finalizar la semana 30 (Figura 2).

3. Frutos: desarrollo de frutos, engrosamiento de ovario o cambio de coloración. En esta especie, los frutos son gruesos, coriáceos, triangulares y longitudinales, y solo se detectan al tacto inicialmente (coloración verde-café claro), luego se tornan marrón y marrón oscuro y se pueden observar parcialmente o al mover un poco la bráctea floral (Figuras 4 y 5).

4. Dehiscencia: rompimiento del fruto y liberación de semillas. En esta especie se deshidratan los tres carpelos longitudinalmente (coriáceos y negro brillante por dentro), y entonces liberan de manera muy evidente las semillas con velamen (aladas, para dispersión anemófila) (Figuras 4 y 5).

Las 10 plantas se ubicaron como epífitas sobre árboles, expuestas al riego natural por lluvias; ocasionalmente se agregó agua a las rosetas. El registro del número de brotes vegetativos por planta se hizo 12 meses después de iniciar la floración (julio de 2014). Por otra parte, 24 y 28 meses después de iniciar la floración (julio y noviembre de 2015) se registró el estado fenológico de los brotes (vegetativo o reproductivo), con el fin de describir el ciclo de vida de la nueva especie por propagación vegetativa (Pico, 2014 y 2015).

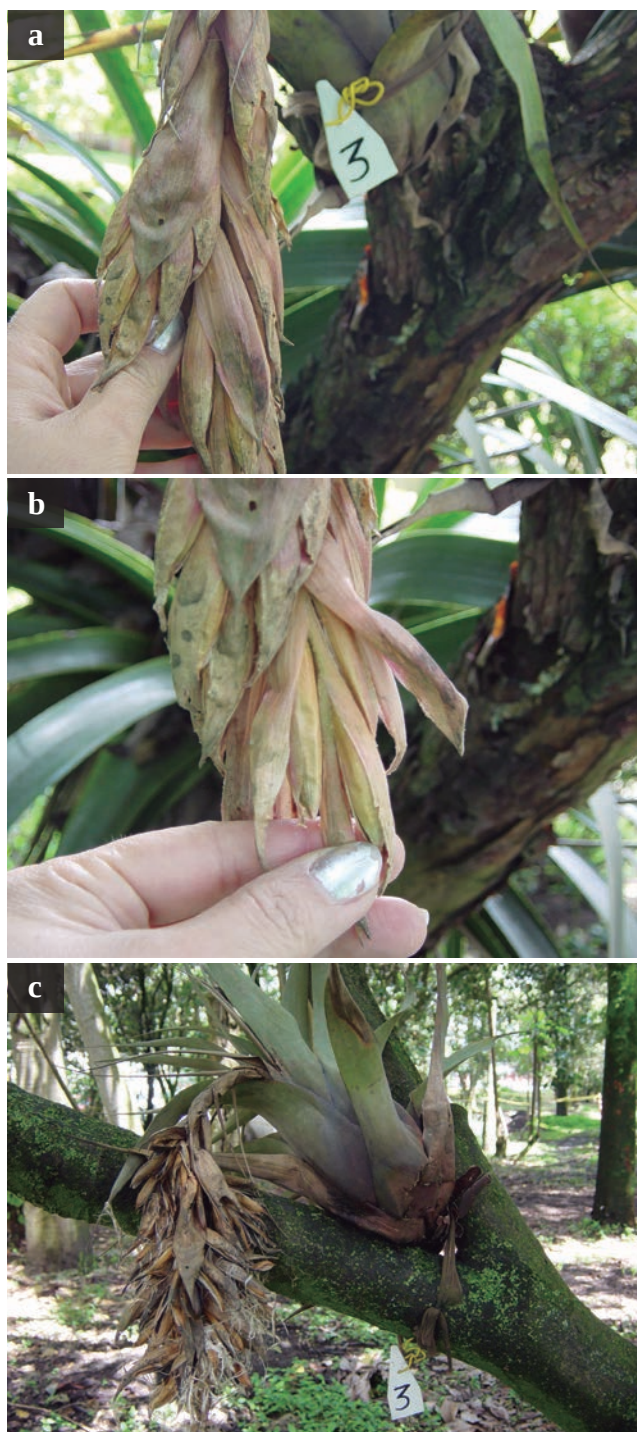


Figura 4. Desarrollo de la bromelia No.3: **a)** en fenofase de frutos; **b)** detalle de frutos; **c)** la planta 12 meses después del inicio de la floración, sin brotes vegetativos y con semillas liberadas

Resultados y Discusión

Hábitat

La nueva especie de *Vriesea* crece en Subachoque, sobre forófitos a borde de la carretera destapada y dentro de predios con pastizales para ganadería, sobre árboles ubicados



Figura 5. Individuo No.9: **a)** en fenofase de frutos; **b)** 12 meses después, con tres brotes vegetativos y con semillas liberadas

junto a pequeños cursos de agua, en linderos de predios parcialmente arbolados, junto a amplias áreas de pastos para ganadería y en parches de bosque altoandino alterado (Pico, 2014 y 2015) (Figuras 1 - 3).

Los forófitos registrados en el 2013 en esta área fueron en su mayoría alisos (*Alnus acuminata* Kunth) y encenillos (*Weinmannia tomentosa* L.f.). A nivel de estructura altitudinal, la nueva *Vriesea* crece sobre troncos y ramas entre los 1,3 y 6 m de altura, en ángulos de 25° a 90° con respecto a dichos troncos y ramas. Se observaron grupos de dos a cinco plantas por área epifitada. Esta nueva especie se desarrolla junto con epífitas generalistas como *Tillandsia fendleri*, *T. compacta*, *T. pastensis* y *T. complanata* (Pico, 2014 y 2015; *The Plant List*, 2013) (Figuras 1 - 3).

Fenología y propagación vegetativa

La floración de la nueva especie de *Vriesea* tuvo una duración promedio de 1,8 semanas (2 a 5 semanas), y dado que algunas plantas ya habían iniciado la floración, esta etapa pudo haber durado 1 o 2 semanas más, es decir, un máximo de 6 a 7 semanas. Se polinizaron en condiciones *ex situ* por acción del viento, los insectos o los colibríes 7 de 10 plantas experimentales (Figuras 4 - 8) (Cuadro 1).

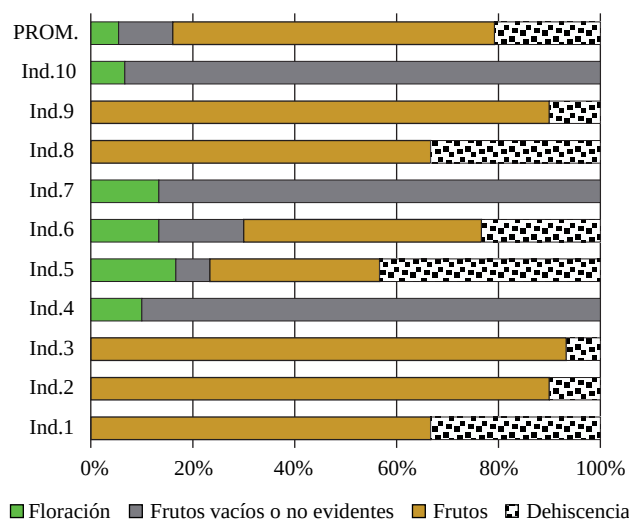


Figura 6. Fenología reproductiva de *Vriesea* sp. nov. durante 30 semanas (porcentaje acumulado de tiempo)

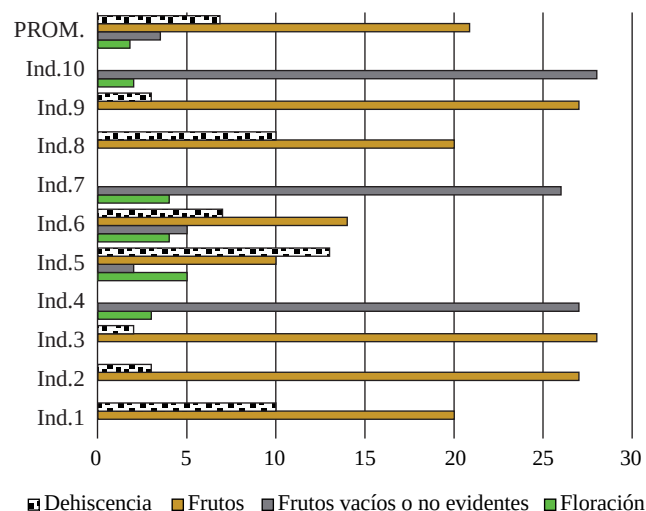


Figura 7. Fenología reproductiva de *Vriesea* sp. nov. según fenofase durante 30 semanas

En los siete individuos polinizados no se detectaron los frutos en desarrollo (2 a 5 semanas) durante 3,5 semanas. La fenofase de frutos tuvo una duración promedio de 20,9 semanas (10 a 28 semanas). La maduración y la liberación de semillas se produjeron entre las semanas 17 a 28 después de iniciarse la floración. Vale la pena aclarar que las bromelias en que se registró la fenofase de dehiscencia durante pocas semanas continuaron liberando semillas varias semanas después de finalizado el periodo de estudio.

La información recabada permite señalar que la nueva *Vriesea* no tiene polinizadores específicos, dado que se polinizó en el JBB, y su grado de adaptación *ex situ* fue alto. Se hace necesario conocer el tiempo de formación de la inflorescencia y ajustar el tiempo de duración de la fenofase de floración.

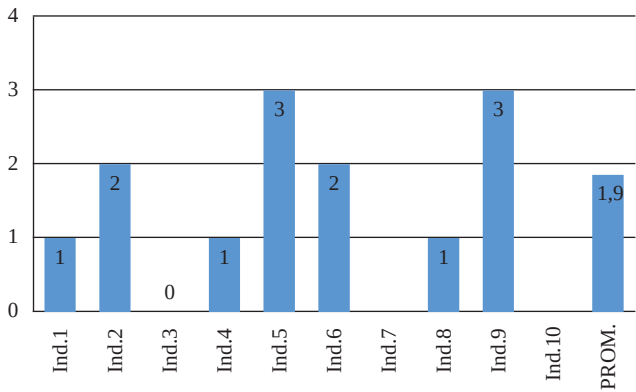


Figura 8. Número de brotes vegetativos de *Vriesea sp. nov.* 12 meses después del inicio de la floración

Cuadro 1. Registro fenológico reproductivo de *Vriesea sp. nov.* durante 30 semanas

Semanas/ fenofase	Floración	Frutos vacíos o no evidentes	Frutos	Dehiscencia
Individuo 1	0	0	20	10
Individuo 2	0	0	27	3
Individuo 3	0	0	28	2
Individuo 4	3	27	0	0
Individuo 5	5	2	10	13
Individuo 6	4	5	14	7
Individuo 7	4	26	0	0
Individuo 8	0	0	20	10
Individuo 9	0	0	27	3
Individuo 10	2	28	0	0
Promedio	1,8	3,5	20,9	6,9

Nota: Promedio de floración de diez individuos; promedio de los demás datos de los siete individuos polinizados

Cuadro 2. Número de brotes vegetativos por planta de *Vriesea sp. nov.* 12 meses después de la floración

Número de brotes vegetativos/ individuo	Número de brotes vegetativos
Individuo 1	1
Individuo 2	2
Individuo 3	0
Individuo 4	1
Individuo 5	3
Individuo 6	2
Individuo 7	Sin dato
Individuo 8	1
Individuo 9	3
Individuo 10	Sin dato

Nota: no se registraron datos de los individuos 7 y 10 por pudrición de la planta semanas antes de la fecha de recolección de la información

Brotación vegetativa

La producción de brotes vegetativos 12 meses después del inicio de la floración fue de 1,9 brotes en promedio, y fluctuó entre 0 y 3 brotes por individuo (Figuras 4, 5, 8; Cuadros 1 y 2). Los brotes vegetativos 24 y 28 meses después del inicio de la floración de las plantas madre continuaron en estado vegetativo, es decir que su ciclo de vida sería superior a 16 meses, y en el JBB se tiene planeado estimarlo. Se espera continuar con los registros de los brotes vegetativos para evaluar la duración del ciclo de vida de esta nueva especie, así como germinarla *ex situ* en el 2016 para estimar de aquí a unos años el ciclo de vida mediante la propagación sexual.

La especie tiene un alto potencial ornamental por su condición mixta de ser tipo tanque y atmosférica estricta, así como por la duración de la floración, los colores salmón de las brácteas semipéndulas y el verde claro de los pétalos.

Agradecimientos

Al Jardín Botánico de Bogotá (JBB) por los aportes económicos y los materiales gestionados para el desarrollo de la colección viva de bromelias entre los años 1999 a 2004 y 2013 a 2016. A David Rivera, Alfonso López y Mauricio Diazgranados, por sus directrices en las colecciones vivas del JBB y el apoyo en las investigaciones en Bromeliaceae. A Vilma Jaimes, Nohora Espejo y Nohora Peña por su apoyo, lineamientos y coordinación en esos años, y a Vilma Jaimes, Fabio Ávila, Mauricio Bernal y Germán Barrera del JBB, por la revisión del manuscrito.

Conflicto de intereses

Declaro que no existe conflicto de intereses con respecto a los registros y la ubicación en Subachoque, o a la investigación de los temas de fenología y propagación vegetativa desarrollados en el Jardín Botánico de Bogotá.

Referencias

Betancur, J. C. (2016). *Bromeliaceae*. En: R. Bernal, S. R. Gradstein & M. Celis (editores). Catálogo de plantas y líquenes de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Disponible en: <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co>. [2016, 14 de marzo].

Betancur, J. & García, N. (2006). Las bromelias. En: N. García y G. Galeano (editores), *Libro Rojo de las Plantas de Colombia. Volumen 3: Las Bromelias, Las Labiadas y Las Pasifloras*. (pp. 51-384). Bogotá: Instituto Alexander Von Humboldt e Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional.

Departamento Administrativo del Medio Ambiente – DAMA. (2001). Guía de las bromelias de Bogotá y sus alrededores. (Primera edición). Bogotá: Impresol Ediciones, Ltda.

Fagua, C. (2002). Estrategias de reproducción sexual de una población de *Espeletia grandiflora* H & B en el Parque Nacional Natural Chingaza, Cundinamarca. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

- Jardín Botánico de Bogotá.** (2015). Objetivos estratégicos y estrategias del JBB. Disponible en: <http://www.jbb.gov.co/jardin/nuestro-jardin-inicio/objetivos-estrategicos>. [2015, 13 de febrero].
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.** (2014). Resolución 0192 de 2014, por la cual se establece el listado de las especies silvestres amenazadas de la diversidad biológica colombiana que se encuentran en el territorio nacional, y se dictan otras disposiciones. Bogotá. Disponible en: http://www.icbf.gov.co/cargues/avance/docs/resolucion_minambienteds_0192_2014.htm. Fecha de consulta: 02 de mayo de 2016.
- Mora, F., Chaparro A., Vargas, O., Bonilla, A.** (2007). Dinámica de la germinación, latencia de semillas y reclutamiento de plántulas en *Puya cryptantha* y *P. trianae*, dos rosetas gigantes de los páramos colombianos. *Revista Ecotrópicos*. **20** (1): 31-40.
- Pico-V., A.** (2002). *Informe final, Programa de flora amenazada, Familia Bromeliaceae*. Jardín Botánico José Celestino Mutis No. 108-2002. Manuscrito no publicado.
- Pico-V., A.** (2014). *Registros fenológicos de Vriesea sp. nov. (Bromeliaceae) durante 30 semanas. En: Informe final del contrato con el Jardín Botánico José Celestino Mutis No. 586-2013*. Manuscrito no publicado.
- Pico-V., A.** (2015). *Notas acerca de hábitat, fenología y germinación de Vriesea sp. nov. y Puya sp. nov. (BROMELIACEAE), Colombia*. Trabajo presentado en: VIII Congreso Colombiano de Botánica. Universidad de Caldas – FAUC Herbario Universidad de Caldas – Asociación Colombiana de Botánica. Manizales.
- Salisbury, F. B. & Ross, C. M.** (1994). *Fisiología Vegetal*. México: Grupo editorial Iberoamérica. 1116 p.
- The Plant List.** (2013). The Plant List, género *Puya*. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/>. [2016, 14 de marzo].

Estado del conocimiento y prioridades de investigación sobre las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae (Mammalia: Carnivora) en Colombia

Gabriel Patricio Andrade-Ponce^{1,*}, Sandra Milena Montaña-Salazar², Luis Miguel Riveros-Loaiza¹,
Héctor E. Ramírez-Chávez³, Andrés Felipe Suárez-Castro⁴

¹ Grupo de mastozoología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

² Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

³ School of Biological Sciences, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia

⁴ School of Geography, Planning and Environmental Management, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia

Resumen

A pesar de la gran diversidad de ecosistemas que habitan y de su importancia económica, ecológica y cultural, la información sobre las especies del orden Carnivora es escasa en Colombia. Con el fin de ejemplificar los sesgos y los avances en el conocimiento que se tiene sobre tres de las familias de Carnivora (Canidae, Mephitidae y Procyonidae) en el país, se evaluó el estado de la investigación sobre ellas con base en el número de publicaciones dedicadas a cada especie. Además, se estableció una escala de prioridades según el estado de amenaza y el esfuerzo de investigación de cada familia. Se encontraron 78 estudios sobre las tres familias y se constató que existen grandes vacíos relacionados con la ecología y la historia natural de la mayoría de las especies evaluadas, aun cuando el 80 % de ellas se registraron por primera vez a nivel nacional hace más de 60 años. La mayoría de los estudios relacionados con la distribución y los registros correspondió a la familia Procyonidae, en tanto que la mayor parte de los estudios ecológicos se registró en torno a la familia Canidae, específicamente sobre la especie *Cerdocyon thous*. Aunque la prioridad más alta correspondió a *Bassaricyon neblina*, la mayoría de los estudios sobre las demás especies correspondió a evaluaciones locales en escalas temporales y espaciales pequeñas. El presente estudio muestra que la asignación de algunas especies a las diferentes categorías de amenaza se ha basado en supuestos erróneos que no han sido verificados en campo. Además, la presunta ausencia de ciertas especies en algunas provincias biogeográficas es señal de la existencia de grandes vacíos de información. Esta revisión sirve como marco de referencia para priorizar las investigaciones sobre los patrones de distribución y el estado de amenaza de las especies de estas familias en el país. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Carnívoros; Conservación; Prioridades de investigación.

State of knowledge and research priorities for Canidae, Mephitidae and Procyonidae (Mammalia: Carnivora) families in Colombia

Abstract

Despite the wide diversity of ecosystems inhabited by species of the order Carnivora, and their ecological, economic and cultural relevance, the information on the distribution, ecology, and taxonomy of these species in Colombia is limited. In order to show biases and advances on the state of knowledge of three families of Carnivora (Canidae, Mephitidae y Procyonidae) in the country, we evaluated research efforts based on the number of publications available for each species. In addition, we established a research priority scale based on how threatened they are and on the research effort for each species. We found a total of 78 studies in the country for the three families. There are research gaps related with ecology and natural history for most of the species, even though 80% of them were registered for the first time in Colombia more than 60 years ago. Most studies on distribution correspond to Procyonidae, whilst Canidae showed the largest number of ecological studies. However, these are mainly related with the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). Although *Bassaricyon neblina* had the highest research priority score, most of the studies for all the species are local assessments with small temporal and spatial scales. Our study shows that the assignment of the category of threatened to some species has been based on erroneous assumptions not verified in the field. In addition, the absence of some species in different biogeographic provinces is an indication of knowledge gaps. This review serves as a framework for prioritizing research associated with patterns of distribution and threatened status of the species of these families in the country. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Carnivores; Conservation, Research priorities.

*Correspondencia:

Gabriel Patricio Andrade-Ponce, ggrandradep@unal.edu.co; **Recibido:** 28 de febrero de 2016; **Aceptado:** 02 de agosto de 2016

Introducción

Hasta el momento, en Colombia se han registrado siete familias (Canidae, Felidae, Mephitidae, Mustelidae, Otariidae, Procyonidae y Ursidae) y 33 especies del orden Carnivora (Suárez-Castro & Ramírez-Chávez, 2015). Estas especies se distribuyen a lo largo de todas las regiones biogeográficas del país, desde el nivel del mar hasta los 4.100 m (Solari, *et al.*, 2013). En los últimos años ha habido avances en cuanto al estado del conocimiento sobre este grupo de fauna en Colombia (Suárez-Castro & Ramírez-Chávez, 2015). El establecimiento de prioridades de investigación (González-Maya, *et al.*, 2011a), así como la recolección de datos en trabajos de campo (Delgado & Zurc, 2007; Sánchez-Lalinde & Pérez-Torres, 2008) y las colecciones biológicas (Marín, *et al.*, 2012; Helgen, *et al.*, 2013), han permitido entender la taxonomía, la ecología y los patrones de distribución de varias especies.

El desarrollo de dichos estudios ha permitido el registro del 89 % (8 de 9) de las especies sudamericanas de la familia Procyonidae, el 45 % (5 de 11) de la familia Canidae y el 33 % (1 de 3) de la familia Mephitidae en el país (Hunter, 2011). Entre estas especies, grupos como el de los mapaches (*Procyon* spp.) y el de los olingos (*Bassaricyon* spp.) cuentan con revisiones taxonómicas recientes, en las cuales se destaca la descripción de una nueva especie con presencia en Colombia (Helgen, *et al.*, 2013). Además, se han compilado nuevos registros de distribución para especies de coatíes (González-Maya, *et al.*, 2011b) y cánidos (Ramírez-Chávez, *et al.*, 2013).

A pesar de estos avances, no existe un análisis cuantitativo que permita determinar a ciencia cierta el estado del conocimiento sobre la ecología, la taxonomía o el estado de conservación de varias especies, aun cuando algunas de ellas son comunes y de amplia distribución (Suárez-Castro & Ramírez-Chávez, 2015). Dado que el análisis sobre el estado del conocimiento en torno a un grupo es el primer paso para plantear investigaciones, así como planes de manejo y conservación acordes con las necesidades locales y regionales (Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 2006), en el presente trabajo se evaluó el esfuerzo de investigación con base en los diferentes temas tratados en las publicaciones dedicadas a cada especie nativa de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae en Colombia. Además, se señalaron los vacíos de información y los avances de la investigación en los últimos años de acuerdo con las prioridades de investigación propuestas por otros autores (González-Maya, *et al.*, 2011a). Se espera que esta información facilite la priorización de los proyectos de investigación teniendo en cuenta las limitaciones de tiempo y de recursos financieros y humanos.

Materiales y métodos

Se hizo una búsqueda de literatura (artículos científicos y libros) en torno a cada una de las especies de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae presentes en

Colombia en el motor de búsqueda *Web of Science* (<http://thomsonreuters.com/>), así como en trabajos de grado, tesis e informes técnicos. Para ello se emplearon los nombres de las familias, los géneros y Colombia como palabras clave en la búsqueda.

En cada fuente bibliográfica encontrada se determinó la especie o grupo de especies objetivo, el tema tratado y la provincia biogeográfica continental en la cual se realizó el estudio (*sensu* Morrone 2014: Chocó-Darién, Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca, Ecuador occidental, Napo, Imerí y Páramo). Los temas estudiados se dividieron en siete categorías: 1) amenazas y relación con el ser humano; 2) anatomía y morfología; 3) distribución y registros; 4) ecología; 5) genética; 6) generalidades, y 7) taxonomía y sistemática (Figura 1).

Para establecer la escala de prioridad de la investigación se siguió la metodología de Cossios, *et al.* (2012) con algunas modificaciones. Cada especie recibió un puntaje comprendido entre cero y uno en cada una de las siguientes categorías: estado de amenaza y esfuerzo de investigación. La manera de asignar los valores a cada categoría fue la siguiente.

a) Estado de amenaza: con base en las categorías de la **Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza - IUCN** (2014), la Resolución 192 del 10 de febrero de 2014 del **Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible - MADS**, (2014), y los Apéndices de la **Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres - CITES** (2014), se asignó un valor al estado de amenaza. El valor máximo de esta categoría fue de uno, por lo cual cada subcategoría representaba una fracción del total. La lista roja de la UICN y las categorías de la Resolución 0192 del 2014 representaron 2/5 del total del puntaje de cada una, mientras que los apéndices del CITES representaron 1/5; esto con el fin de evitar la sobrevaloración de los puntajes de amenaza de especies en los apéndices I y II. El puntaje mínimo de cada subcategoría se estableció dividiendo el número de categorías de conservación (siete, incluida la categoría de 'no evaluada') sobre la fracción correspondiente, por lo que especies no evaluadas (NE) en la lista de la UICN y en la Resolución 192 recibieron un puntaje de 2/35. Conforme aumentaba la categoría de riesgo se sumaba el valor mínimo al valor de la categoría anterior. En el caso de los apéndices del CITES, el valor mínimo se obtuvo de la división de 1/5 en cuatro categorías, por lo cual una especie no listada en los apéndices recibía un puntaje de 1/20 (Tabla 1). Los tres puntajes obtenidos por cada especie en cada lista se sumaron para obtener el puntaje final. Así, una especie clasificada como "en peligro crítico (CR)" tanto por la IUCN (2014) como por la Resolución 192, así como en el Apéndice I del CITES, obtenía un puntaje final de uno, mientras que una especie no incluida en alguna de las categorías de conservación y en los apéndices del CITES obtenía un puntaje de 0,16.

b) Esfuerzo de investigación: el puntaje de esta categoría se asignó con base en la cantidad de temas estudiados para cada especie. En este apartado solo se tomaron en cuenta las listas de especies si presentaban datos no disponibles previamente en otras publicaciones. El máximo puntaje de esta categoría fue de uno y cada tema de la bibliografía obtuvo un valor de 1/7, de modo que por cada tema en el cual una especie presentara al menos un estudio, se restaba 1/7 del valor máximo de esa categoría. Así, las especies sin información publicada en algún tema recibieron un puntaje de uno, mientras que las especies para las cuales se registró información en los siete temas obtuvieron un puntaje de cero (Tabla 2).

Distribución y esfuerzo de investigación por provincia biogeográfica

Con el fin de establecer el esfuerzo de investigación en diferentes regiones del país, se contó el número de estudios en cada provincia biogeográfica según el método de **Morrone**

(2014). Además, se determinó la presencia de cada especie en cada provincia a partir de la revisión de las siguientes bases de datos: *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF, www.gbif.org/), *VertNet* (www.vertnet.org/) y el Sistema de Información sobre Biodiversidad de Colombia (SiB, <http://data.sibcolombia.net/>), en las cuales se obtuvo información sobre ejemplares procedentes de diez museos extranjeros (Anexo 1, <http://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/downloadSuppFile/327/1189>). Asimismo, se obtuvo información de las especies depositadas en la colección de mamíferos del Instituto de Investigaciones Biológicas “Alexander von Humboldt” (IAvH), la Colección “Alberto Cadena García” del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (ICN), el Museo de Historia Natural de la Universidad de Nariño (PSO-CZ) y el Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca (MHNUC). Con el fin de complementar las localidades en provincias que no tenían registros conocidos con ejemplares

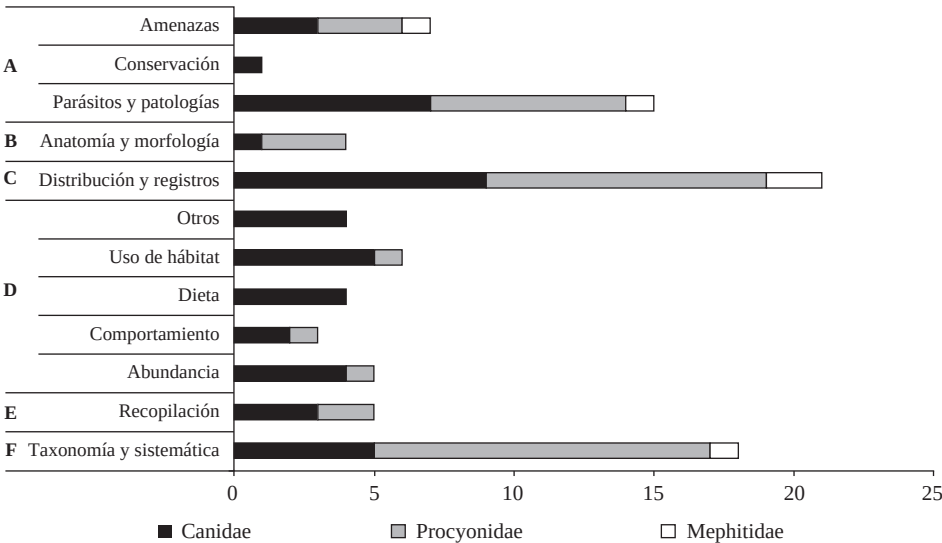


Figura 1. Número de estudios registrados sobre cada tema. Estudios registrados para cada categoría y subcategoría de temas con sus respectivas descripciones para las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae. **A.** Amenazas y relación con el ser humano. **B.** Anatomía y morfología. **C.** Distribución y registros. **D.** Ecología. **E.** Generalidades. **F.** Taxonomía y sistemática

Tabla 1. Puntaje por categoría de la variable de estado de amenaza según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza – IUCN, la Resolución 192 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial y la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres - CITES. Su sumatoria da como resultado el puntaje final de la categoría de estado de amenaza para cada especie.

Categorías según IUCN	CR	EN	VU	DD	NT	NC	No evaluado
Puntaje	2/5	12/35	2/7	8/35	6/35	4/35	2/35
Categorías según Resolución 192	CR	EN	VU	DD	NT	NC	No evaluada
Puntaje	2/5	12/35	2/7	8/35	6/35	4/35	2/35
Categorías de la CITES	Apéndice I		Apéndice II		Apéndice III		No incluido
Puntaje	1/5		3/20		1/10		1/20

Abreviaciones categoría de estado de amenaza: CR: En peligro crítico, EN: En peligro, VU: Vulnerable, DD: Datos deficientes, NT: Casi amenazada, NC: No considerada

Tabla 2. Prioridades de investigación para las especies de las familias Canidae, Procyonidae y Mephitidae en Colombia. Escala de prioridades de investigación para cada especie y sus respectivos puntajes (P)

Familia	Especie	Estado de amenaza				Esfuerzo de investigación		
		Provincias habitadas	UICN	Res. 192	CITES	P	Temas	P
Canidae	<i>Atelocynus microtis</i>	Sabana, Imerí	LC	NE	II	0,32	1, 2, 3, 6	0,43
	<i>Cerdocyon thous</i>	Chocó-Darién, Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca, Imerí, Páramo	LC	NE	II	0,32	1, 2, 3, 4, 6, 7	0,14
	<i>Lycalopex culpaeus</i>	Cauca	LC	VU	II	0,55	1, 2, 3, 6	0,43
	<i>Speothos venaticus</i>	Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca, Imerí, Napo	NT	NE	I	0,43	2, 3, 4, 6	0,43
	<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca, Páramo	LC	NE	NI	0,22	1, 2, 4, 6	0,43
Procyonidae	<i>Bassaricyon alleni</i>	Guajira, Magdalena, Sabana, Imerí Páramo	LC	NE	NI	0,22	2, 6, 7	0,57
	<i>Bassaricyon medius</i>	Chocó- Darién, Magdalena, Cauca,	LC	NE	NI	0,22	3, 6, 7	0,57
	<i>Bassaricyon neblina</i>	Magdalena, Cauca, Páramo	NT*	NE	NI	0,27	6, 7	0,71
	<i>Nasua narica</i>	Chocó-Darién, Cauca	LC	NE	NI	0,22	3, 6, 7	0,57
	<i>Nasua nasua</i>	Magdalena, Sabana, Cauca, Napo, Imerí, Páramo	LC	NE	II	0,32	2, 4, 6, 7	0,43
	<i>Nasuella olivacea</i>	Magdalena, Cauca, Páramo	DD	NE	NI	0,33	1, 2, 3, 4, 6, 7	0,14
	<i>Potos flavus</i>	Chocó-Darién, Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca, Napo, Páramo	LC	NE	II	0,32	2, 4, 5, 6, 7	0,29
	<i>Procyon cancrivorus</i>	Chocó-Darién, Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca, Ecuador occidental, Napo	LC	NE	NI	0,22	2, 3, 6, 7	0,43
Mephitidae	<i>Procyon lotor</i>	Guajira	LC	NE	NI	0,22	3, 6, 7	0,57
	<i>Conepatus semistriatus</i>	Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca,	LC	NE	NI	0,22	1, 6, 7	0,57

• Categoría de amenaza UICN para *B. neblina* tomada de **Helgen, et al.** (2013).

de colección, se tuvieron en cuenta los registros novedosos publicados en revistas científicas y en inventarios que presentaban una localidad específica y evidencia sustentada en referencias (Anexo 1).

Resultados

Estado del conocimiento

Se encontraron 78 estudios sobre las tres familias en Colombia (Anexo 2, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/327/1189>). De estos, el 74,3 % correspondía a artículos científicos, 8,9 % a libros y capítulos de libros, 6,4 % a notas cortas, 5,1 % a informes técnicos y 5,1 % a trabajos de grado y tesis. La familia con mayor número de estudios (n=44) fue Canidae (Figura 1), y la menos estudiada fue Mephitidae (n=5). Entre los estudios encontrados para las tres familias, los temas más recurrentes se relacionaban con registros novedosos de distribución y ecología (Figura 1). Aunque la familia Procyonidae cuenta con más especies que la familia Canidae (nueve y cinco, respectivamente), solo tres de ellas (*Nasuella olivacea*, *Nasua nasua*, *Potos flavus*) aparecen mencionadas en más de cinco estudios (Figura 2). En cuanto a la abundancia de estudios por provincia (Anexo 2, Figura 3), Cauca fue la

provincia con el mayor esfuerzo de investigación (n=25), seguida por Sabana (n=16), Magdalena (n=14), Guajira (n=10), Chocó-Darién y Páramo (n=6 cada una), mientras que Imerí, Napo y Ecuador occidental fueron las menos estudiadas. A continuación se presentan breves sinopsis del estado del conocimiento y la distribución de cada una de las especies evaluadas.

Familia Canidae

Atelocynus microtis (Sclatter, 1882). Se encontraron registros provenientes de los departamentos de Amazonas, Caquetá, Guaviare y Meta, en las provincias de Sabana e Imerí (Figura 4). Se desconoce su presencia en otros departamentos de dichas provincias. A nivel nacional solo cuenta con estudios sobre su distribución (Hershkovitz, 1961; Deffer & Santacruz, 1994; Ayure & González-Maya, 2014), abundancia relativa (Payán & Escudero, 2016), horarios de actividad (Payán, 2009), endoparásitos (Thatcher, 1971), medidas craneales y externas (Andrade-Ponce, Jiménez-Ramírez, Montaña-Salazar & Riveros-Loaiza, 2015) y generalidades (Hershkovitz, 1957; Hershkovitz, 1961).

Cerdocyon thous (Linnaeus, 1766). Con base en los registros encontrados, la especie se distribuye en siete de nueve provincias consideradas para el país (Figura 4), y está

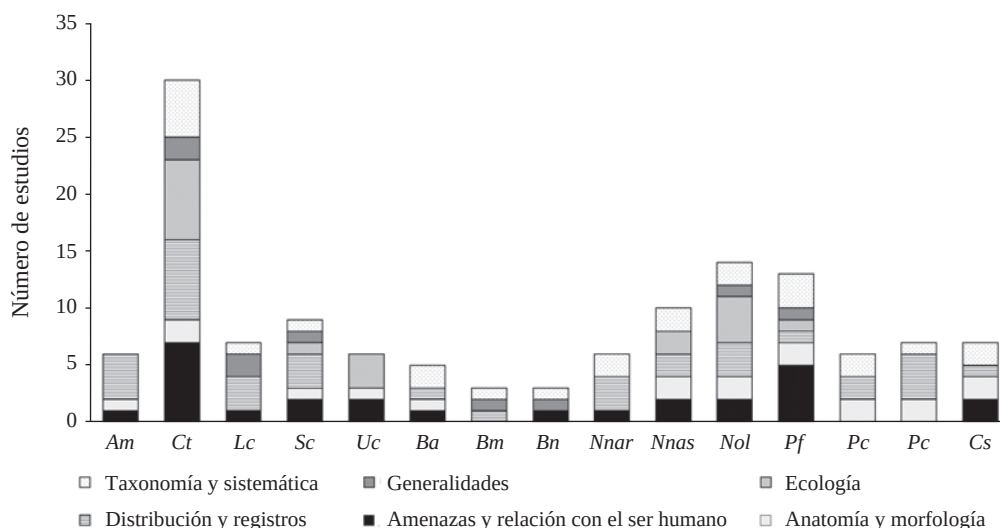


Figura 2. Publicaciones (artículos científicos, notas cortas, tesis de pregrado y capítulos de libros) encontradas sobre cada tema en las especies investigadas. Los totales no corresponden a la sumatoria de temas debido a que un estudio puede registrarse en diferentes categorías.

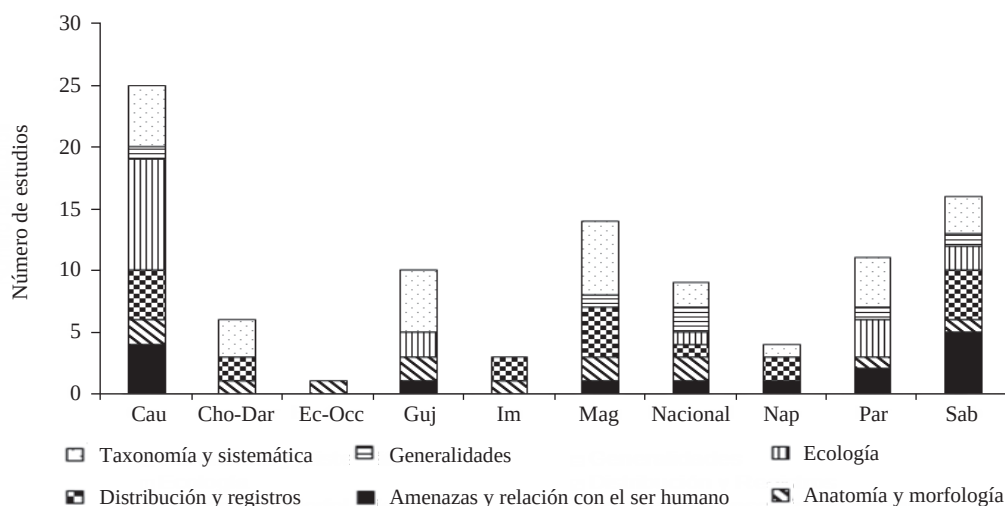


Figura 3. Número de estudios registrados para carnívoros de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae en cada provincia biogeográfica de Colombia.

ausente en las provincias de Ecuador occidental y Napo, al suroccidente de Colombia. Los temas estudiados (Figura 2) incluyeron la caracterización de la dieta (Delgado-V, 2002; 2005; 2009; Delgado-V & Zurc, 2007), las estimaciones de abundancia (Rodríguez-Rojas, 2005; Sánchez, et al., 2008; Boron & Payán, 2013), el uso del hábitat (Martínez & Cadena, 2000; Sánchez-Lalinde & Pérez-Torres, 2008; Mejía-G. & Londoño-S., 2012), el comportamiento (Sánchez-Londoño, 2014), los aspectos taxonómicos (Bangs, 1898; Thomas, 1918; Allen, 1923), los ectoparásitos (Boshell & Kerr, 1942; Wells, et al., 1981; Torres-Mejía & De La Fuente, 2006), los endoparásitos y patógenos (Morales, et al., 1979; D'Alessandro, et al., 1981; 1984; Rojas-Arbeláez, et al., 2008), las medidas craneales y

externas (Andrade-Ponce, et al., 2015), la distribución y las generalidades (Hershkovitz, 1957; Díaz-Pulido, et al., 2014; Pardo & Payan, 2015; Ramírez-Cháves & Pérez, 2015; Suárez-Castro, et al., 2015).

Lycalopex culpaeus (Molina, 1782). Esta especie presentó tres registros confirmados (Figura 4) que la restringen al departamento de Nariño y, por lo tanto, a la provincia de Cauca. Cuenta únicamente con estudios sobre su distribución (Hershkovitz, 1957; Ramírez-Chaves & Noguera Urbano, 2011; Ramírez-Chaves, et al., 2013), su taxonomía (Hershkovitz, 1957), una revisión de la categoría de amenaza (Jorgenson, et al., 2006), las medidas craneales y externas (Andrade-Ponce, et al., 2015) y las generalidades (Hershkovitz, 1957; Jorgenson, et al., 2006) (Figura 2).

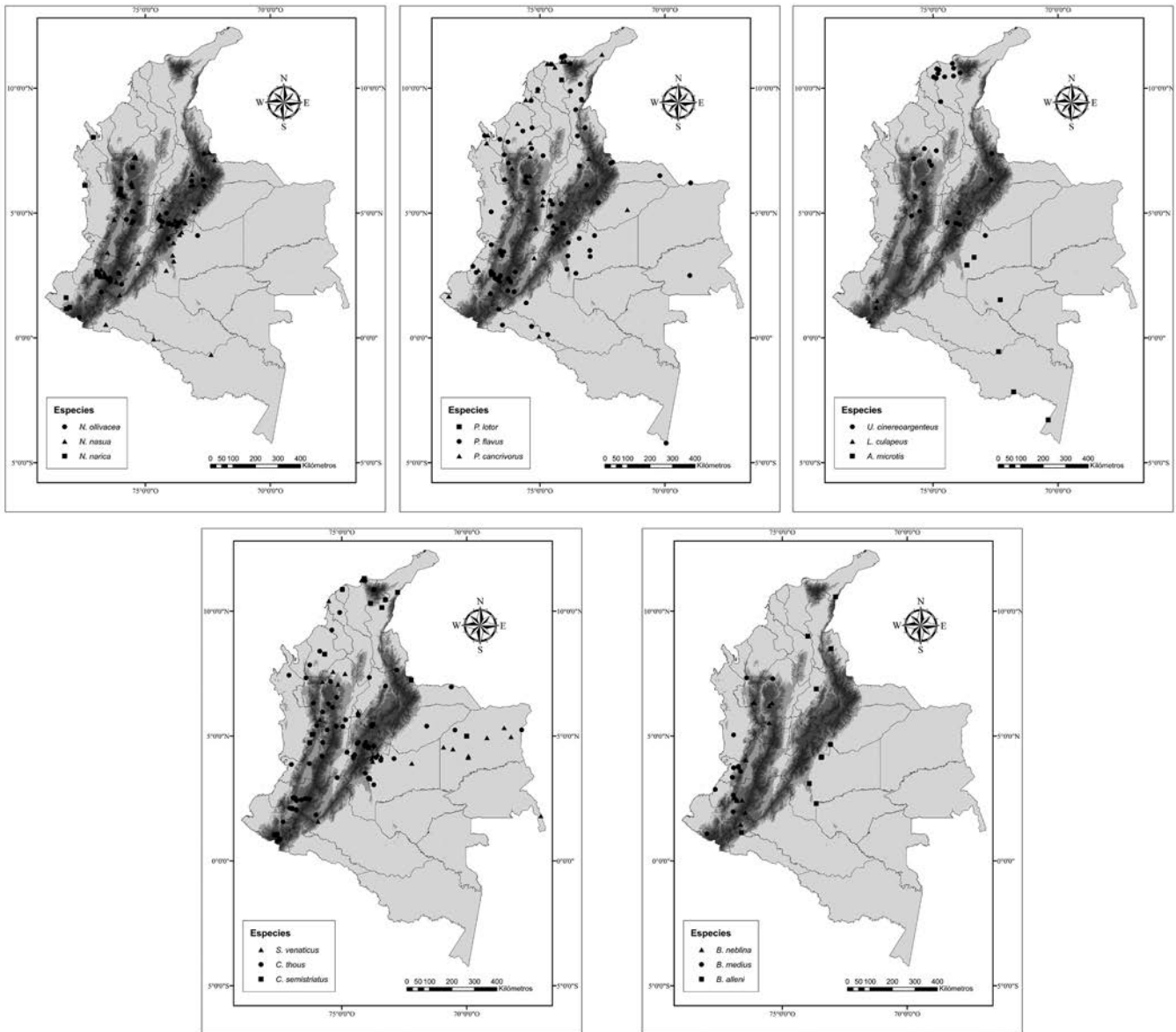


Figura 4. Mapas con localidades marginales para las especies de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae en Colombia

Speothos venaticus (Lund, 1842). La especie cuenta con registros provenientes de las provincias de Guajira, Magdalena, Sabana, Amazonas, Cauca, Napo e Imerí (Figura 4). Los temas estudiados (Figura 2) incluyeron la distribución (Defler, 1986; De Armas-Mendoza, 2007; Carretero-Pinzón, 2013; Negret, et al., 2015), su comportamiento en cautiverio (Bates, 1944), las medidas craneales (Andrade-Ponce, et al., 2015), las amenazas por atropellamientos en las vías (De La Ossa-Nadjar & De La Ossa, 2013), la taxonomía y las generalidades (Hershkovitz, 1957), así como un estudio sobre ectoparásitos (Boshell, et al., 1942).

Urocyon cinereoargenteus (Schreber, 1775). Se encontraron registros procedentes de las provincias de Guajira, Magdalena, Sabana, Cauca y Páramo (Figura 4). Los estudios abarcaron temas referentes a su abundancia y ecología

(Orjuela & Jiménez, 2004; Baptiste, 2009; Mejía-G. & Londoño-S., 2012), las medidas craneales y externas (Andrade-Ponce, et al., 2015), los patógenos (Rojas-Arbeláez, et al., 2008), y la incidencia de la rabia (Páez, et al., 2005), aunque estos últimos registros pueden tratarse, en su mayoría, de casos en *C. thous*, ya que las fotos publicadas corresponden a esta especie (Suárez-Castro, et al., 2015).

Familia Mephitidae

Conepatus semistriatus (Boddaert, 1785). Se encontraron registros de esta especie distribuidos en las provincias de Guajira, Magdalena, Sabana y Cauca (Figura 4). La especie es mencionada en varias listas de mamíferos del país (Allen, 1916: como *Conepatus mapurito*; Moreno-Bejarano & Álvarez-León, 2003; Solari, et al., 2013; Díaz-Pulido, et

Tabla 3. Primeras menciones bibliográficas de las especies de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae para Colombia

Especie	Referencia	Comentarios
<i>A. microtis</i>	Herskovitz (1957)	
<i>C. thous</i>	Bangs (1898)	Bangs (1898) describió a <i>Urocyon aquilus</i> (= <i>Cerdocyon thous aquilus</i>), con localidad tipo en Santa Marta
<i>L. culpaeus</i>	Herskovitz (1957)	
<i>S. venaticus</i>	Bates (1944)	
<i>U. cinereoargenteus</i>	Herskovitz (1957)	
<i>C. semistriatus</i>	Howel (1906)	Howel (1906), menciona que la especie fue descrita con base en observaciones realizadas por Mutis.
<i>B. alleni</i>	Thomas (1927)	Thomas (1927) describió a <i>Bassaricyon medius siccatus</i> , que se considera como sinónimo de <i>B. alleni</i> (Helgen, et al., 2013).
<i>B. medius</i>	Thomas (1909)	Thomas (1909) describió la especie basándose en un ejemplar procedente de Colombia (BMNH 9.7.17.10, Jiménez, montañas de Chocó).
<i>B. neblina</i>	Helgen, et al. (2013)	
<i>N. narica</i>	Emmons & Feer (1990)	
<i>N. nasua</i>	Allen (1912), o Thomas (1912)	Allen (1912) registró a <i>Nasua quichua</i> basado en un ejemplar proveniente de Popayán. Thomas (1912) describió a <i>Nasua candace</i> , localidad en Medellín
<i>N. olivacea</i>	Gray (1865)	Localidad tipo en los alrededores de Santa Fe de Bogotá
<i>P. flavus</i>	Martin (1836), Allen (1904b)	Martin (1836) describió a <i>Cercoleptes megalotus</i> , con localidad tipo desconocida. Allen (1904b) consideró a <i>C. megalotus</i> como una subespecie de <i>P. flavus</i> , con localidad tipo en Santa Marta, Colombia.
<i>P. cancrivorus</i>	Allen (1904a)	Descripción de <i>Procyon proteus</i> , localidad tipo en Bonda, Santa Marta, sinónimo de <i>P. cancrivorus</i> .
<i>P. lotor</i>	Cuervo-Díaz, et al. (1986).	

al., 2014), en un estudio sobre infecciones con *Echinococcus* (D'Alessandro, et al., 1981) y en uno sobre fauna víctima de atropellamientos (De la Ossa-Nadjar & De la Ossa, 2013). Además, en la revisión taxonómica del género se mencionan algunas localidades en las que se han encontrado ejemplares colombianos (Dragoo, et al., 2003), y también se hallaron discusiones sobre otros aspectos taxonómicos (Howell, 1906; Ramírez-Chávez & Noguera-Urbano, 2011).

Familia Procyonidae

Bassaricyon alleni (Thomas, 1880). Los registros encontrados proceden de las provincias de Guajira, Magdalena, Sabana, Napo, Imerí y Páramo (Figura 4). En la revisión de Helgen, et al. (2013), quien sinonimizó a *B. siccatus* (descrito a partir de un ejemplar colombiano por Thomas, 1927) con esta especie, se utilizaron ejemplares colombianos. Además, se han reportado medidas craneales y externas de ejemplares no incluidos en la revisión antes mencionada (Andrade-Ponce, et al., 2015) y registros de distribución en la Amazonia colombiana (Suárez-Castro & Ramírez-Chávez, 2015). La especie aparece mencionada en un estudio de parasitología (como *Bassaricyon gabbi*, Wells, et al., 1981).

Bassaricyon medius (Thomas, 1909). La especie cuenta con registros procedentes de las provincias de Chocó-Darién, Magdalena y Cauca (Anexo 1, Figura 4), y fue descrita a partir de ejemplares procedentes de Colombia

(Thomas, 1909; Tabla 3). Además, se la menciona en un estudio sobre la extensión de su distribución en el departamento del Valle del Cauca (registrada como *B. gabbi*; Saavedra-Rodríguez & Velandia-Perilla, 2011). Asimismo, se han empleado ejemplares colombianos en colecciones extranjeras para la revisión del género (Helgen, et al., 2013).

Bassaricyon neblina (Helgen, et al., 2013). Se encontraron en total 20 registros (Anexo 1, Figura 4), de los cuales solo uno no se menciona en la descripción de la especie (Helgen, et al., 2013) y corresponde a un espécimen (ICN 3729) proveniente del departamento de Putumayo, lo que sitúa a la especie en las provincias de Magdalena, Cauca y Páramo (Figura 4). Solo existe un estudio que abarca temas relacionados con la taxonomía, la distribución y las amenazas (Helgen, et al., 2013).

Nasua narica (Linnaeus, 1766). Los registros encontrados provienen de los departamentos de Antioquia, Chocó y Nariño, en las provincias de Chocó-Darién y Cauca (Figura 4). Se encontraron tres estudios sobre su distribución y sus registros en el país (Emmons & Feer, 1990; González-Maya, et al., 2011b; Morales-Martínez, et al., 2015). Además, varios ejemplares colombianos se emplearon para la revisión taxonómica del género (Decker, 1991) y la revisión preliminar de la familia Procyonidae en el país (Guzmán-Lenis, 2004).

Nasua nasua (Linnaeus, 1766). La especie se distribuye en las provincias de Magdalena, Sabana, Cauca, Napo, Imerí y Páramo (Figura 4). Los temas tratados (Figura 2) en los estudios encontrados incluían datos sobre su comportamiento (Castellanos, 1999), las estimaciones de la abundancia (Rodríguez-Rojas, 2005; Payán, 2009; Boron & Payán, 2013; Pardo & Payán, 2015), sobre la parasitología (D'Alessandro, et al., 1981; Torres-Mejía & De La Fuente, 2006), los aspectos taxonómicos y sistemáticos (Allen, 1912; Thomas, 1912; Thomas, 1914; Decker, 1991; Guzmán-Lenis, 2004), la morfología (Decker, 1991; Andrade-Ponce, et al., 2015) y la distribución (Decker, 1991; Morales-Martínez, et al., 2015).

Nasuella olivacea (Gray, 1865). La distribución conocida para la especie abarca las provincias de Magdalena, Cauca y Páramo (Figura 4). Es la especie más estudiada de la familia Procyonidae (Figura 2). Los temas tratados en las publicaciones abordaban su ámbito de acción y hábitos alimenticios (Rodríguez, 1995), las relaciones tróficas (Rodríguez-Bolaños, et al., 2000), sus patrones de actividad y área de acción (Rodríguez-Bolaños, et al., 2003), su abundancia (Sánchez, et al., 2008), taxonomía y distribución (Gray, 1865; Allen, 1916; Guzmán-Lenis, 2004; Helgen, et al., 2009) y su morfología (Helgen, et al., 2009; Andrade-Ponce, et al., 2015). Además, la especie se menciona en un estudio sobre atropellamiento de fauna (Delgado-V, 2007) y presas de pumas de páramo (Hernández-Guzmán, et al., 2011). El estado del conocimiento sobre la especie y su distribución en el país fueron evaluados recientemente por Balaguera-Reina, et al. (2009).

Potos flavus (Schreber, 1774). La especie presenta registros que proceden de todas las provincias biogeográficas de Colombia, con excepción de Ecuador occidental (Figura 4). Se encontraron 13 estudios realizados para el país (Figura 2) relacionados con la taxonomía, la distribución y la filogeografía (Martín, 1836; Guzmán-Lenis, 2004; Ruiz-García, et al., 2013), con su comportamiento en cautiverio (Morales & Sánchez, 2000), la parasitología y los patógenos (Overstreet, 1970; Trapido & Sanmartín, 1971; Morales, et al., 1979; D'Alessandro, et al., 1981; Wells, et al., 1981; D'Alessandro, et al., 1984; Torres-Mejía & De La Fuente, 2006), y su morfología y anatomía (Hernández-Camacho, 1977; Andrade-Ponce, et al., 2015), así como una monografía sobre la biología general de la especie (Hernández-Camacho, 1977).

Procyon cancrivorus (G. Cuvier, 1798). Los registros encontrados para esta especie provienen de todas las provincias biogeográficas terrestres de Colombia, excepto Imerí y Páramo (Figura 4). Se encontraron estudios sobre su taxonomía (Allen, 1904a; Marín, et al., 2012), morfología y anatomía (Guzmán-Lenis, 2004; Andrade-Ponce, et al., 2015), su distribución y registros (Marín, et al., 2012; Noguera-Urbano & Ramírez-Chávez, 2015; Pardo & Payán, 2015) y su abundancia relativa (Boron & Payán, 2013).

Procyon lotor (Linnaeus, 1758). La especie ha sido registrada en los departamentos de Bolívar, Magdalena y Sucre, todos dentro de la provincia de Guajira (Figura 4), y a pesar de aparecer mencionada en varias listas locales (Cuervo-Díaz, et al., 1986; Moreno-Bejarano & Álvarez-León, 2003), solo cuenta con datos cráneo-dentales y externos (Guzmán-Lenis, 2004; Marín, et al., 2012).

Prioridades de la investigación

En la familia Canidae, las especies con los valores más altos según las prioridades de la investigación dedicada al estado de amenaza (Tabla 2) fueron *L. culpaeus* (0,55) y *S. venaticus* (0,43), mientras que en términos de esfuerzo de investigación, *C. thous* ha sido la más ampliamente estudiada (0,14). En la familia Procyonidae, *N. olivacea* (0,33) y *N. nasua* (0,32) presentaron los valores más altos en términos del estado de amenaza, mientras que *B. neblina* (0,71) tuvo la mayor prioridad en términos de esfuerzo de investigación debido al escaso número de estudios encontrados (Tabla 2). En el caso de *C. semistriatus*, esta especie presenta valores intermedios en los dos aspectos evaluados en comparación con todas las especies de las familias Canidae y Procyonidae (Tabla 2).

Discusión

A pesar de los avances investigativos en torno a los grupos evaluados, los resultados de la revisión indican que aún existen vacíos importantes en el conocimiento de varias especies en Colombia. En lo relacionado con pequeños carnívoros de las familias Mephitidae y Procyonidae, se han definido varias prioridades de investigación asociadas a temas como los patrones de distribución, la ecología y las amenazas (González-Maya, et al., 2011), pero solo se ha llevado a cabo la verificación de especímenes y la confirmación de la presencia de especies de los géneros *Procyon* y *Bassaricyon* (Marín, et al., 2012; Helgen, et al., 2013).

Dado que las prioridades de investigación en términos del estado de amenaza y el esfuerzo de investigación representan diferentes tipos de objetivos, a continuación se presenta un análisis independiente de cada uno de estos aspectos.

Esfuerzo de investigación

El esfuerzo de investigación sobre las familias estudiadas ha sido heterogéneo. Los resultados indican que la mayoría de estudios sobre la familia Procyonidae se han relacionado con su distribución y registros, en tanto que la mayor parte de los estudios ecológicos ha correspondido a la familia Canidae (Figura 1). Sin embargo, existe un sesgo asociado a las investigaciones sobre *C. thous*, una especie común que puede habitar en los perímetros urbanos (Rodríguez, 2005; Sánchez, et al., 2008). Por el contrario, no se cuenta con información acerca de la ecología de especies como *L. culpaeus* y *A. microtis* en el país.

En la única valoración previa del estado del conocimiento en la cual se incluía el orden Carnivora en Colombia (Stevenson, et al., 2006), se señalaba que las

familias Procyonidae y Felidae eran las más estudiadas a nivel nacional, seguidas por la familia Canidae, aunque, infortunadamente, estos autores no reportaron el número exacto de trabajos revisados. Sin embargo, desde la fecha de publicación de dicho estudio, el incremento en el número de estudios ha sido mayor para Canidae (23) que para la familia Procyonidae (15; Anexo 2). Aun cuando se ha encontrado que las especies de menor tamaño tienden a ser menos estudiadas (Oliveira, 2006), en este caso los factores que inciden en el estado del conocimiento sobre las familias evaluadas fueron heterogéneos. Aspectos como el acceso a regiones remotas y los cambios taxonómicos recientes han afectado la distribución del esfuerzo de investigación en estos grupos. Por ejemplo, hay pocos estudios sobre especies como *A. microtis* (Amazonia) y *N. narica* (Chocó biogeográfico), que habitan regiones de difícil acceso.

De forma similar, *Bassaricyon* spp. han sufrido cambios taxonómicos en los últimos años, por lo que son escasos los estudios sobre las especies de este género recientemente descritas. Sirva de ejemplo *B. neblina*, la cual obtuvo el mayor puntaje de prioridad en esta categoría debido a que la información sobre ella solo proviene del trabajo de Helgen, et al. (2013) (Tabla 2).

La mayoría de los estudios sobre las demás especies correspondió a evaluaciones puntuales con escalas temporales y espaciales pequeñas. En general, no se registraron estudios sobre el estado de sus poblaciones a nivel nacional, ni sobre las relaciones ecológicas en áreas de simpatria, especialmente de los géneros *Nasuella*, *Nasua* y *Conepatus* (González-Maya, et al., 2011a). En este sentido, es necesario adelantar actividades de monitorización a largo plazo que permitan determinar las variaciones temporales en los patrones de abundancia y distribución de todas las especies (Walker, et al., 2000).

Por otro lado, se requieren valoraciones morfológicas o genéticas para determinar los patrones de variación intra-específica (por ejemplo en *Bassaricyon* spp.), o como en el caso del género *Nasuella*, que permitan determinar caracteres precisos para confirmar la posible presencia en el país de *N. meridensis* (González-Maya, et al., 2011). Además, es necesario hacer revisiones adicionales para géneros como *Procyon* y *Nasua*, con el fin de determinar patrones de variación externa que permitan discriminar entre especies del género, de manera que funcionen como herramienta para evaluar su distribución en el país (González-Maya, et al., 2011a).

Estado de amenaza

Aunque la opinión de los expertos es un componente esencial para determinar el estado de amenaza de las especies, en muchas ocasiones existen sesgos que limitan la precisión de dicha aproximación (Regan, et al., 2005). La carencia generalizada de estudios básicos sobre las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae influye en la capacidad de valorar el estado de amenaza de algunas de sus especies a nivel nacional. La escasa documentación sobre la distribución de las especies y su estado poblacional

ha conducido a un gran desconocimiento del impacto de las áreas protegidas en el mantenimiento y la perpetuidad de estas especies.

A pesar de que la disminución del hábitat y la cacería indiscriminada representan las principales amenazas que se ciernen sobre las especies del orden Carnivora (Rodríguez-Mahecha, et al., 2011a), no hay datos compilados en torno a estos aspectos que permitan precisar cuáles poblaciones son las más vulnerables. Por otra parte, los estudios sobre la relación entre las amenazas, la salud, y el ser humano, considerados de la máxima prioridad en la investigación sobre pequeños carnívoros (González-Maya, et al., 2011a), han sido los menos frecuentes (Figura 1). Sin estos estudios es difícil determinar los factores importantes para la mitigación de riesgos o presiones negativas sobre las especies (Rodríguez-Mahecha, et al., 2006; Cossios, et al., 2012), información necesaria para integrar de manera eficaz estas especies en planes de manejo y conservación (Suárez-Castro & Ramírez-Chaves, 2015).

Aunque ninguna de las especies de estas tres familias se encuentra en la categoría de amenaza según la IUCN (2014), algunas de ellas deben ser valoradas de manera urgente. *B. neblina* es una de ellas, pues es una especie descrita recientemente. Hasta el momento, se ha sugerido incluirla en la categoría de “casi amenazada (NT)” debido a la pérdida de hábitat (Helgen, et al., 2013). En cuanto a *N. olivacea*, una de las especies más estudiadas en Colombia si se la compara con las demás especies de las familias evaluadas, la prioridad de la investigación es alta en cuanto al estado de conservación, ya que se la ha incluido en la categoría de “datos insuficientes” (DD) a nivel global. A nivel nacional, se han abordado aproximaciones para la reevaluación de la categoría de esta especie, y se ha sugerido clasificarla como “casi amenazada (NT)” debido a la disminución en su área de ocupación producto de la pérdida de hábitat, así como a su cacería como alimento y para usar su piel, y a la persecución a que es sometida por considerarla en algunos sitios como peste (Balaguera-Reina, et al., 2009).

En la familia Canidae, el lobo colorado (*L. culpaeus*) es la única especie categorizada como “vulnerable (VU)” tanto en el libro rojo de las especies amenazadas de mamíferos de Colombia (Rodríguez-Mahecha, et al., 2006) como en la Resolución 192 del 10 de febrero de 2014 (MAVDT, 2014), debido a la cacería, el tráfico de pieles y la pérdida y transformación de su hábitat (Jorgenson, et al., 2006). Sin embargo, Ramírez-Chaves, et al., (2013) sugirieron una reevaluación de la categoría de amenaza, debido a que se desconoce la información sobre los criterios utilizados anteriormente en el país, y a los registros recientes de la especie en el departamento de Nariño. Este ejemplo en particular demuestra que en varias ocasiones la clasificación de estas especies en las diferentes categorías de amenaza se ha basado en supuestos que requieren una recopilación de información mucho más detallada en campo, así como el consenso de un mayor número de asesores (Regan, et al., 2005).

Distribución

Las diferencias en el número de investigaciones por provincias biogeográficas se deben, en parte, al papel de algunos centros investigativos de dichas regiones (Stevenson, *et al.*, 2006) en el fortalecimiento del conocimiento sobre la diversidad, en este caso, de las provincias de Cauca, Páramo y Sabana, las cuales presentaron el mayor número de estudios (Figura 3). A pesar de los avances recientes en el estudio de la distribución de algunas de las especies de las familias evaluadas en este trabajo (Balaguera-Reina, *et al.*, 2009; Marín, *et al.*, 2012; Helgen, *et al.*, 2013; Ramírez-Cháves, *et al.*, 2013; Ramírez-Cháves & Pérez, 2015; Suárez-Castro & Ramírez-Cháves, 2015; Noguera-Urbano & Ramírez-Cháves, 2015), aún es necesario hacer nuevas evaluaciones en campo y revisar las colecciones regionales para clarificar la distribución nacional biogeográfica y política de varias especies.

En las provincias de Imerí y Ecuador occidental se requieren inventarios más exhaustivos, ya que la ausencia de registros de algunas especies en estas zonas se debe, principalmente, a la falta de muestreos. Este es el caso de *P. flavus*, que no ha sido registrada en la provincia de Ecuador occidental en Colombia, pero sí en esta provincia del Ecuador (Ford & Hoffmann, 1988).

La presente revisión también permitió incluir algunos registros omitidos en listas recientes (Solari, *et al.*, 2013). La distribución de *U. cinereoargenteus* se extiende hacia la región de la Orinoquia, a partir de ejemplares procedentes de Puerto López, Meta (ICN 3222) y los llanos orientales (ICN 342). Además, existe un registro procedente de Dabeiba, Antioquia, (ICN 816) cuya localidad se ubica a una altura de 450 m, muy por debajo del intervalo altitudinal mencionado por otros autores (Solari, *et al.*, 2013; Suárez-Castro & Ramírez-Cháves, 2015). Algunos registros históricos (Allen, 1916) respaldan la inclusión de *N. olivacea* en departamentos como Quindío (American Museum of Natural History [AMNH 33045-33049]) y Huila (MHNUC-M00098). Asimismo, no ha sido posible confirmar algunos registros de otras especies mencionados en la literatura científica. Este es el caso de *S. venaticus*, cuya distribución se ha sugerido para la región Pacífica (Muñoz-Saba & Alberico, 2004; Solari, *et al.*, 2013), a pesar de que no existe evidencia que permita confirmar esta información.

Conclusiones

Existen grandes vacíos de información sobre la ecología y la historia natural de la mayoría de las especies evaluadas (Suárez-Castro & Ramírez-Cháves, 2015), a pesar de que gran parte de ellas (80 %) fueron registradas a nivel nacional por primera vez hace más de 60 años (Tabla 3). Incluso con respecto a las especies más estudiadas como *C. thous* y *N. olivacea*, la información sobre temas de importancia para la conservación como la ecología básica, la distribución y las amenazas es escasa (Suárez-Castro

& Ramírez-Cháves, 2015). Es importante resaltar el papel que vienen cumpliendo los centros e instituciones de investigación en el avance del conocimiento, ya que la mayoría de los estudios se centran en ubicaciones de provincias como Cauca, Sabana y Magdalena donde se concentran las instituciones y centros de investigación más grandes del país. Por lo tanto, el fortalecimiento de las entidades regionales es fundamental para cubrir los vacíos de información reportados en este trabajo. Además, la información generada a partir del conocimiento tradicional puede ayudar a consolidar aquella relacionada con el comportamiento, la historia de vida o la ecología de las especies evaluadas (Ramírez-Cháves, *et al.*, 2008, Saavedra-Rodríguez & Velandia-Perilla, 2011). Por último, se espera que este trabajo sirva como marco de referencia para priorizar la elaboración de planes de manejo y monitorización, así como las investigaciones sobre los patrones de distribución y el estado de amenaza de estas familias en el país.

Debe aclararse, asimismo, que el enfoque utilizado para evaluar las prioridades de investigación tuvo un componente de subjetividad, dada la elección hecha y el peso de los valores escogidos. Sin embargo, dicha metodología ofrece una visión general del estado del conocimiento en torno a las especies estudiadas, lo cual permite utilizar los resultados obtenidos en la adopción de decisiones sobre las estrategias de conservación y en la definición del enfoque de futuras investigaciones.

Información suplementaria

Anexo 1. Lista de registros de las especies de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae, con sus respectivas fuentes y localidades. Acrónimos de las instituciones con ejemplares registrados. Vea el anexo 1 en: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/327/1189>

Anexo 2. Lista de estudios registrados para las especies de las familias Canidae, Mephitidae y Procyonidae en Colombia, divididos por categorías y provincias. Vea el anexo 2 en: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/327/1189>

Agradecimientos

A las personas e instituciones que nos permitieron el acceso a la información sobre las familias evaluadas en el presente trabajo, entre quienes se destacan Hugo López (ICN), Claudia Medina, Socorro Sierra (IAvH) y Pilar Rivas (MHNUC). Al grupo de mastozoología de la Universidad Nacional de Colombia. Héctor E. Ramírez-Cháves agradece las becas concedidas por los programas *Centennial Scholarship* y *Graduate School International Travel Awards* de la Universidad de Queensland, y por la Universidad

Quetzalcóatl durante la elaboración de este documento. Andrés Felipe Suárez-Castro agradece a Colciencias y a su programa de becas para estudios de doctorado en el exterior.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

- Alberico, M., Cadena, A., Hernández-Camacho, J., Muñoz-Saba, J. (2000). Mamíferos (Synapsida: Theria) de Colombia. *Biota Colombiana*. **1** (1): 43-75.
- Allen, G.M. (1923). The pampa fox of the Bogota Savanna. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **36**: 55-58.
- Allen, J.A. (1904a). New mammals from Venezuela and Colombia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **20**: 327-335.
- Allen, J. A. (1904b). Mammals from Southern México and Central and South America. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **20**: 30-80.
- Allen, J.A. (1912). Mammals from Western Colombia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **31**: 71-95.
- Allen, J.A. (1916). List of mammals collected in Colombia by the American Museum of Natural History expeditions, 1910-1915. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **25**: 191-238.
- Andrade-Ponce, G.P., Jiménez-Ramírez, J.S., Montaña-Salazar, S.M., Riveros-Loaiza, L.M. (2015). Generalidades del orden Carnívora. En Suárez-Castro, A.F. & Ramírez-Chaves (editores). *Los carnívoros terrestres y semiacuáticos continentales de Colombia*. Guía de campo (p. 23-25). Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia.
- Ayure, S. & González-Maya, J.F. (2014). Registro notable del perro de orejas cortas *Atelocynus microtis* (Carnívora: Canidae) en el trapezio amazónico, Colombia. *Mammalogy Notes*. **1** (1): 6-7.
- Balaguera-Reina, S., Cepeda, A., Zárrate-Charry, D., González-Maya, J. (2009). The state of knowledge of Western Mountain Coati *Nasua olivacea* in Colombia, and extent of occurrence in the Northern Andes. *Small Carnivore Conservation*. **41**: 35-40.
- Bangs, O. (1898). Description of a new fox from Santa Marta, Colombia. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **12**: 93-94.
- Baptiste, M.P. (2009). Abundancia y ecología básica del zorro plateado (*Urocyon cinereoargenteus*) en el área de la planta de cemento Holcim, Nobsa, Boyacá. IAVH - 01352. 40 p.
- Boron, V. & Payán, E. (2013). Abundancia de carnívoros en el agropaisaje de las plantaciones de palma de aceite del valle medio del río Magdalena, Colombia. En C. Castaño-Urbe, J. F. González-Maya, C. Ange, D. Zárrate-Charry & M. Vela-Vargas (editores). *Plan de Conservación de Felinos del Caribe Colombiano, 2007-2012: los felinos y su papel en la planificación regional integral basada en especies clave*. p. 165-176). Santa Marta: Fundación Herencia Ambiental Caribe, ProCAT Colombia, The Sierra to Sea Institute.
- Boshell, J. & Kerr, J. A. (1942). Veinticinco especies nuevas de Trombidiídeos en Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **5** (17): 110-117.
- Bates, M. (1944). Notes on captive *Iticynon*. *Journal of Mammalogy*. **25**: 152-154.
- Cáceres-Martínez, C.H., Acevedo-Rincón, A.A., Sánchez-Montaña, L.R. (2015). Registros de plásticos en la ingesta de *Tremarctos ornatus* (Carnívora: Ursidae) y de *Nasua olivacea* (Carnívora: Procyonidae) en el Parque Nacional Natural Tamá, Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. **86** (3): 839-842.
- Carretero-Pinzón, X. (2013). Bush dog sighting in a large forest fragment in the Colombian Llanos. *Canid Biology and Conservation*. **15**: 16-17.
- Castellanos, O. (1999). Breves observaciones etológicas del *Nasua nasua* (Procyonidae) en la reserva forestal Rioblanco, Manizales, Caldas. *Boletín Científico, Centro de Museos, Museo de Historia Natural, Universidad de Caldas*. **3**: 53-55.
- Cossíos, E.D., Alcázar, P., Fajardo, U., Chávez, K., Alfaro-Shigueto, J., Cárdenas-Alayza, S., Valqui, J., Montero, F.G., Lescano, J., Quevedo, M., Vivar, E., Leite, R., Ledesma, K., Medina, C., Maffei, L., Amanzo, J., Chávez, C., Enciso, A. García, M.A., Mangel, J.C., Mendoza, J.A., Rojas, G., Silva, L., Villegas, L., Williams, R. S.R., Zúñiga, A., Cruz, A., IMAPRE, Ruiz, E., DGFFSS. (2012). El orden Carnívora (Mammalia) en el Perú: estado del conocimiento y prioridades de investigación para su conservación. *Revista Peruana de Biología*. **19** (1): 017-026.
- Cuartas-Calle, C. A. & Muñoz-Arango, J. (2003). Lista de mamíferos (Mammalia: Theria) del departamento de Antioquia, Colombia. *Biota Colombiana*. **4** (1): 65-78.
- Cuervo-Díaz, A., Hernández-Camacho, J., Cadena, G. (1986). Lista actualizada de mamíferos de Colombia. Anotaciones sobre su distribución. *Caldasia*. **15** (71-75): 471-502.
- D'Alessandro, A., Barreto, P., Saravia, N., Barreto, M. (1984). Epidemiology of *Trypanosoma cruzi* in the Oriental plains of Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **33** (6): 1084-1095.
- D'Alessandro, A., Rausch, R.L., Morales, G. A., Collet, S, Ángel, S. (1981). *Echinococcus* infections in Colombian animals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **30** (6): 1263-1276.
- De Armas-Mendoza, E. (2007). Levantamiento preliminar de medianos y grandes mamíferos no voladores en dos localidades del municipio de Arauca (Colombia). Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Orinoquia.
- De la Ossa-Nadjar, O. & De la Ossa V.J. (2013). Fauna silvestre atropellada en dos vías principales que rodean los Montes de María, Sucre, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Animal*. **5** (1): 158-164.
- Defler, T.R. & Santacruz, A. (1994). A capture of and some notes on *Atelocynus microtis* (Slater, 1883) (Carnívora: Canidae) in the Colombian Amazon. *Trianea*. **5**: 417-419.
- Defler, T.R. (1986). A bush dog (*Speothos venaticus*) pack in the eastern Llanos of Colombia. *Journal of Mammalogy*. **67**: 421-422.
- Decker D. M. (1991). Systematics of the Coatis, genus *Nasua* (Mammalia, Procyonidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **104**: 370-386.
- Delgado-V., C.A. (2002). Food habits and habitat of the crab-eating fox *Cerdocyon thous* in the highlands of eastern Antioquia, Cordillera Central, Colombia. *Mammalia*. **66**: 599-602.
- Delgado-V., C.A. (2005). New record of *Olallamys albicauda* (Rodentia: Ehimyidae) in Antioquia, Colombia. *Brenesia*. **64**: 131-132.

- Delgado-V., C.A.** (2007). Muerte de mamíferos por vehículos en la vía del Escobero, Envigado. *Actualidades Biológicas*. **29**: 235-239.
- Delgado-V., C.A.** (2009). Depredación de *Neusticomys monticolus* (Rodentia: Sigmodontinae) por *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae). *Brenesia*, **71** (72): 77-78.
- Delgado-V., C.A. & Zurc, D.** (2007). Diet of the Crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae) in the Páramo de Belmira, Antioquia, Colombia. *Brenesia*. **67**: 73-74.
- Díaz-Pulido, A., A. Benítez, D. Gómez-Ruiz, C. Calderón-Acevedo, A. Link, A. Pardo, F. Forero, G. De Luna, E. Payán, Solari, S.** (2014). Mamíferos del bosque seco: una mirada al caribe colombiano. En: Pizano, C y H. García (editores). *El bosque seco tropical en Colombia*. p. 128-165. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH).
- Dragoo, J.W., Honeycutt, L.R., Schmidly, D.J.** (2003). Taxonomic status of white-backed hog-nosed skunks, genus *Conepatus* (Carnivora: Mephitidae). *Journal of Mammalogy*. **84**: 159-176.
- Emmons, L. H. & Feer, F.** (1990). Neotropical rainforest mammals: A field guide. Chicago, USA: University of Chicago Press.
- Ford, L.S., & Hoffmann, R.S.** (1988). *Potos flavus*. *Mammalian Species*. **1988** (321): 1-9.
- González-Maya, J.F., Cepeda, A.A., Belant, J.L., Zárrate-Charry, D.A., Balaguera-Reina, S.A., Rodríguez-Bolaños, A.** (2011a). Research priorities for the small carnivores of Colombia. *Small Carnivore Conservation*. **44**: 7-13.
- González-Maya, J.F., Rodríguez-Bolaños, A., Pinto, D., Jiménez-Ortega, A.** (2011b). Recent confirmed records and distribution of the white-nosed coati *Nasua narica* in Colombia. *Small Carnivore Conservation*. **45**: 26-30.
- Gray, J.E.** (1865). A revision of the genera and species of ursine animals (Ursidae) founded on the collection in the British Museum. *Proceedings of the Zoological Society of London*. **1864**: 677-709.
- Guzmán-Lenis A.R.** (2004). Revisión preliminar de la familia Procyonidae en Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. **9**: 69-76.
- Helgen, K.M., Kays, R., Helgen, L., Tsuchiya-Jerep, M.T.N., Pinto, M., Koepfli, K.P., Eizirik, E., Maldonado, J.** (2009). Taxonomic boundaries and geographic distributions revealed by an integrative systematic overview of the mountain coatis, *Nasuella* (Carnivora: Procyonidae). *Small Carnivore Conservation*. **41**: 65-74.
- Helgen, K.M., Pinto, C.M., Kays, R., Helgen, L.E., Tsuchiya-Jerep, M.T.N., Quinn, A., Wilson, D.E., Maldonado, J.E.** (2013). Taxonomic revision of the Olingos (*Bassaricyon*), with description of a new species, the Olinguito. *ZooKeys*. **324**: 1-83.
- Hernández-Camacho, J.** (1977). Notas para una monografía de *Potos flavus* (Mammalia: Carnivora) en Colombia. *Caldasia*. **11**: 147-181.
- Hernández-Guzmán, A., Payán, E., Monroy-Vilchis, O.** (2011). Hábitos alimentarios de *Puma concolor* (Carnivora: Felidae) en el Parque Nacional Natural Puracé, Colombia. *International Journal of Tropical Biology*. **59**: 1285-1294.
- Herskovitz, P.** (1957). A synopsis of the wild dogs of Colombia. *Novedades Colombianas, Museo de Historia Natural, Universidad del Cauca*. **3**: 157-161.
- Herskovitz, P.** (1961). On the South American small-eared zorro *Atelocynus microtis* Sclater (Canidae). *Fieldiana Zoology*. **39**: 505-523.
- Howell, A. H.** (1906). The proper name for the white-backed skunk of Colombia. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. **19**: 45.
- Hunter L.** (2011). *Carnivores of the world*. Princeton: Princeton University Press. 240 p.
- Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza – IUCN.** 2014. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>. Fecha de consulta: 6 de septiembre, 2014.
- Jorgenson, J.P., Rodríguez-Mahecha, J.V., Constantino, E., Barrera de Jorgenson, A.** (2006). Lobo colorado *Lycalopex culpaeus*. En: Rodríguez-Mahecha, J. V., Alberico, M., Trujillo, F. & Jorgenson, J. (editores). *Libro rojo de los mamíferos de Colombia*. p. 237-241. Bogotá: Conservación Internacional Colombia, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- Marín, D., Ramírez-Chaves, H.E., Suárez-Castro, A.F.** (2012). Revisión cráneo-dentaria de *Procyon* (Carnivora: Procyonidae) en Colombia y Ecuador, con notas sobre su taxonomía y distribución. *Mastozoología Neotropical*. **19**: 259-270.
- Martín, W.** (1836). Description of two new species of the genus *Cercoleptes*. *Proceedings of the Zoological Society of London*. **1836**: 81-83.
- Martínez, Y. & Cadena, A.** (2000). Caracterización, evaluación y uso de hábitats del zorro perruno (*Cerdocyon thous*) en los llanos orientales de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **24**: 383-391.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible - MADS.** (2014). Resolución No. 192, “Por la cual se declaran las especies silvestres que se encuentran amenazadas en el territorio nacional y se toman otras determinaciones”. 25 de septiembre de 2010. 29 p.
- Mejía-G., A. & Londoño-S., P.** (2012). Uso del hábitat e importancia de los parches de bosque y corredores ribereños para carnívoros en un paisaje fragmentado en la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Mastozoología Neotropical*. **19**: 179-195.
- Morales G.A., Guzmán, E.A., Wells, E.A., Ángel, D.** (1979). Polycystic echinococcosis in Colombia: The larval cestodes in infected rodents. *Journal of Wildlife Diseases*. **15**: 421-428.
- Morales A. & Sánchez F.** (2000). *Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el comportamiento de los perros de monte (Potos flavus) en el centro de recepción de fauna silvestre del Dama – Engativá*. Documento preliminar.
- Moreno-Bejarano, L.M. & Álvarez-León, R.** (2003). Fauna asociada a los manglares y otros humedales en el delta estuarino del río Magdalena, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **27**: 517-534.
- Muñoz-Saba, Y. & Alberico, M.** (2004). Mamíferos en el Chocó biogeográfico. En: Rangel-Ch., O. (editores). *Colombia. Diversidad Biótica IV. El Chocó Biogeográfico/Costa Pacífica*. p. 559-597. Bogotá D.C: Universidad Nacional de Colombia Instituto de Ciencias Naturales.

- Morales-Martínez, D.M., Suárez-Castro, A.F., Cárdenas-González, C., Fernández-Rodríguez, C.** (2015). Familia Procyonidae. En Suárez-Castro, A.F. & Ramírez-Chaves (editores). Los carnívoros terrestres y semiacuáticos continentales de Colombia. Guía de campo. p. 134-165. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia.
- Negret, P.J., Garzón, O., Stevenson, P.R.** (2015) First preliminary inventory of non-flying mammals of the Alto Fragua Indí-Wasi National Park, Colombia. *Mammalogy Notes*. **2**: 32-35.
- Noguera-Urbano, E.A. & Ramírez-Chaves, H.E.** (2015). Confirmation of the presence of Crab-eating Raccoon *Procyon cancrivorus* (Procyonidae) in the Colombian Amazon, hypothesis of distributional area, and comments on juvenile specimens. *Small Carnivore Conservation*. **52** & **53**: 84-92.
- Oliveira, T. G.** (2006). Research in terrestrial Carnivora from Brazil: Current knowledge and priorities for the new millennium. En Morato, R. G, Rodrigues, F.H.G., Eizirik, E., Mangini, P.R., Azevedo, F.C.C. & Marinho-Filho, J. (editores). Manejo e Conservação de Mamíferos neotropicais. p. 39-45. São Paulo: Ibama
- Orjuela, C., O.J. & Jiménez, G.** (2004). Estudio de la abundancia relativa para mamíferos en diferentes tipos de coberturas y carretera, finca Hacienda Cristales, área Cerritos, La Virginia, municipio de Pereira, departamento de Risaralda, Colombia. *Universitas Scientiarum*. **9**: 87-96.
- Overstreet, R.M.** (1970). *Baylisascaris procyonis* (Stefansky and Zarnowski, 1951) from the kinkajou, *Potos flavus* in Colombia. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. **37**: 192-195.
- Páez, A., Saad, C., Núñez, C., Boshell, J.** (2005). Molecular epidemiology of rabies in northern Colombia 1994-2003. Evidence for human and fox rabies associated with dogs. *Epidemiology and Infection*. **133**: 529-536.
- Pardo, L.E., & Payán, E.** (2015). Mamíferos de un agropaisaje de palma de aceite en las sabanas inundables de Orocué, Casanare, Colombia. *Biota Colombiana*. **16**: 54-66.
- Payán, E.** (2009). Hunting sustainability, species richness and carnivore conservation in Colombian Amazonia. PhD thesis. University College London, London.
- Payán, E. & Escudero, S.** (2016) Densidad de jaguares (*Panthera onca*) y abundancia de grandes mamíferos terrestres en un área no protegida del Amazonas colombiano. En E. Payán, C. A. Lasso & C. Castaño-Urbe (editores). Conservación de grandes vertebrados en áreas no protegidas de Colombia, Venezuela y Brasil. p. 225-242. Bogotá: Instituto Alexander von Humboldt.
- Ramírez-Chaves, H.E. & Noguera-Urbano, E.A.** (2011). Lista preliminar de los mamíferos (Mammalia: Theria) del departamento de Nariño, Colombia. *Biota Colombiana*. **11**: 117-140.
- Ramírez-Chaves, H. E. & Pérez, W. A.** (2015). New record of crab-eating fox *Cerdocyon thous* in Southwestern Colombia with comments on its distribution in Colombia and Ecuador. *Canid Biology & Conservation*. **18**: 6-9.
- Ramírez-Chaves, H. E., Pérez, W., Ramírez-Mosquera, J.** (2008). Mamíferos presentes en el municipio de Popayán, Cauca-Colombia. *Boletín Científico Museo de Historia Natural Universidad de Caldas*. **12**: 65-89.
- Ramírez-Chaves H.E., Chaves-Salazar, J.M., Mendoza-Escobar, R.E.** (2013). Nuevo registro del lobo de páramo *Lycalopex culpaeus* (Mammalia: Canidae) en el suroccidente de Colombia con notas sobre su distribución en el país. *Acta Zoológica Mexicana*. **29** (2): 412-422.
- Rangel-Ch., J.O. & Aguilar-P, M.** (1995). Una aproximación sobre la diversidad climática en las regiones naturales de Colombia. En: J.O. Rangel-Ch. (editor). Colombia Diversidad Biótica I. Instituto de Ciencias Naturales p. 25-77. Universidad Nacional de Colombia.
- Regan, T.J., Burgman, M.A., McCarthy, M.A., Master, L.L., Keith, D.A., Mace, G.M., Andelman, S.J.** (2005). The consistency of extinction risk classification protocols. *Conservation Biology*. **19**: 1969-1977.
- Reid, F. & Helgen, K.** (2008). *Nasuella olivacea*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Disponible en: www.iucnredlist.org. Fecha de consulta: 7 de octubre, 2014.
- Rodríguez, A.** (1995). Rango de acción y hábitat alimenticio del coati de montaña (*Nasuella olivacea*) en la Reserva Biológica Carpanta (Cundinamarca). (Tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá D. C.
- Rodríguez-Rojas, C.** (2005). Abundancia relativa de mamíferos en dos tipos de cobertura vegetal en la margen nororiental del santuario de flora y fauna Otún, Quimbaya, Risaralda. (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C.
- Rodríguez-Bolaños A., Sánchez, P., Cadena, A.** (2003). Patterns of activity and home range of Mountain Coati *Nasuella olivacea*. *Small Carnivore Conservation*. **29**: 16-19.
- Rodríguez-Bolaños, A., Cadena, A., Sánchez, P.** (2000). Trophic characteristics in social groups of the Mountain Coati, *Nasuella olivacea* (Carnivora: Procyonidae). *Small Carnivore Conservation*. **23**: 1-5.
- Rodríguez-Mahecha, J.V., Alberico, M., Trujillo, F., Jorgenson, J.** (2006). Libro Rojo de los Mamíferos de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá D.C., Colombia. Conservación Internacional Colombia, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- Rojas-Arbeláez, L.V., Rodríguez-Ruiz, V., Árias-Bernal, L., Rodríguez-Álvarez, C., Pereira-Bengoa, V.E.** (2008). Determinación de anticuerpos de *leptospira* [sic.] spp. en pequeños mamíferos no voladores en un fragmento de bosque andino en la montaña del Zoológico Jaime Duque. *Revista de Medicina Veterinaria*. **16**: 27-42.
- Ruiz-García, M., Lichilín-Ortiz, N., Jaramillo, M.F.** (2013). Molecular phylogenetics of two Neotropical carnivores, *Potos flavus* (Procyonidae) and *Eira barbara* (Mustelidae): No clear existence of putative morphological subspecies. En: M. Ruiz-García & Shostell, J.M. (editores). Molecular population genetics, evolutionary biology, and biological conservation of Neotropical carnivores. p. 37-84. New York, Estados Unidos: Nova Publishers.
- Saavedra-Rodríguez, C.A. & Velandia-Perilla, J.H.** (2011). *Bassaricyon gabbii* Allen, 1876 (Carnivora: Procyonidae): New distribution point on western range of Colombian Andes. *Check List*. **7**: 505-507.
- Sánchez, F., Sánchez-Palomino, P., Cadena, A.** (2008). Species richness and indices of abundance of medium-sized mammals in Andean forest and reforestation with Andean alder: A preliminary analysis. *Caldasia*. **30**: 197-208.
- Sánchez-Lalinde, C. & J. Pérez-Torres.** (2008). Uso de hábitat de carnívoros simpátricos en una zona de bosque seco tropical de Colombia. *Mastozoología Neotropical*. **15**: 67-74.

- Sánchez-Londoño, J.C.** (2014) Uso compartido de una letrina por el zorro *Cerdocyon thous* y perros domésticos *Canis familiaris* (Carnívora: Canidae) en una zona periurbana del Valle de Aburrá (Antioquia, Colombia). *Mammalogy Notes*. **1**: 12-14.
- Solari, S., Muñoz-Saba, Y., Rodríguez-Mahecha, J.V., Defler, T.R., Ramírez-Cháves, H.E., Trujillo, F.** (2013). Riqueza, endemismo y conservación de los mamíferos de Colombia. *Mastozoología Neotropical*. **20**: 301-365.
- Stevenson, P.R., Pérez-Torres, J., Muñoz-Saba, Y.** (2006). Estado de conocimiento sobre los mamíferos terrestres y voladores en Colombia. Tomo II. En: Cháves, M.E. y Santamaría, M. (editores). 2006. Informe sobre el avance en el conocimiento y la información de la biodiversidad 1998 -2004. p. 151-169. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá D.C., Colombia. 2 Tomos.
- Suárez-Castro, A.F., Pinto-Sarmiento, I.D., García-Villalba, J.E.** (2015). Familia Canidae. En: Suárez-Castro, A.F. & Ramírez-Cháves (editores). Los carnívoros terrestres y semiacuáticos continentales de Colombia. Guía de campo. p. 56-77. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia.
- Suárez-Castro, A.F. & Ramírez-Cháves, H.E.** (editores) (2015). Los carnívoros terrestres y semiacuáticos continentales de Colombia. Guía de campo. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia. 220 p.
- Thatcher, V.** (1971). Some Hookworms of the genus *Ancylostoma* from Colombia and Panama. The Helminthological Society of Washington. **36**: 79-116.
- Thomas O.** (1909). Notes on some South American mammals, with descriptions of new species. *Annals and Magazine of Natural History*. **4** (8): 230-242.
- Thomas O.** (1912). Two new species of *Nasua*. *Annals and Magazine of Natural History*. **8** (10): 228-230.
- Thomas O.** (1914). New *Nasua*, *Lutra*, and *Proechimys* from South America. *Annals and Magazine of Natural History*. **8** (14): 57-61.
- Thomas, O.** (1918). A new wild dog from the Bogota cordillera. *Annals and Magazine of Natural History*. **13**: 345-363.
- Thomas, O.** (1927). A new subspecies of *Bassaricyon* from Colombia. *Annals and Magazine of Natural History*. **20** (9): 80.
- Torres-Mejía, A. & De La Fuente, J.** (2006). Risks associated with ectoparasites of wild mammals in the Department of Quindío, Colombia. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. **4**: 187- 192.
- Trapido, H. & Sanmartín, C.** (1971). Pichindé virus a new virus of the Tacaribe group from Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **20**: 631-641.
- Walker, R. S., Novaro, A. J., Nichols, J. D.** (2000). Consideraciones para la estimación de abundancia de poblaciones de mamíferos. *Mastozoología Neotropical*. **7** (2): 73-80.
- Wells, E.A., D'Alessandro, A., Morales, G.A., Angel, D.** (1981). Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an area of the Llanos Orientales of Colombia. *Journal of Wildlife Diseases*. **17**: 153-162.

Análisis de la relación entre variables morfométricas y biofísicas en la estimación de características probabilísticas para la oferta hídrica superficial en Colombia

Jaime Burbano-Girón^{1,*}, Efraín Domínguez², Oscar Barón-Ruiz³

¹ Facultad de Estudios Ambientales y Rurales, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

² Departamento de Ecología y Territorio, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

³ Pregrado en Ecología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Resumen

Actualmente, el recurso hídrico superficial enfrenta una alta presión antrópica por las transformaciones del paisaje natural y los altos niveles de demanda de agua de las actividades socioeconómicas. Ante esta situación, la modelación integrada del ciclo hidrológico se convierte en una herramienta necesaria para evaluar y predecir las consecuencias de las transformaciones del paisaje sobre los elementos del ciclo hidrológico. Su exitosa aplicación depende de la disponibilidad de información y la escala de estudio. Con base a lo anterior, se determinó que la información existente actualmente en el país no permite aplicar con rigurosidad ninguno de ellos, por ende se trabajó en un modelo estadístico de Análisis de Componentes Principales para relacionar información morfométrica, biofísica e hidrológica derivada para la caracterización de 421 cuencas generadas en Colombia. El 91% de las cuencas tuvo un error relativo respecto al área de la cuenca reportada por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios ambientales (IDEAM) inferior al 15%, y la significancia de las relaciones entre las variables hidrológicas, morfométricas y biofísicas fue en la gran mayoría de los casos significativa. Lo anterior valida aun las relaciones establecidas, señalando que los resultados del modelo estadístico construido, permiten estimar la oferta hídrica en lugares sin registro hidrológico a través de los parámetros morfométricos y biofísicos de las cuencas sin instrumentación hidrológica. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Modelamiento hidrológico integrado; Ciclo hidrológico y oferta hídrica superficial.

Analysis of the relationship between morphometric and biophysical variables in the estimation of probability characteristics for surface water supply in Colombia

Abstract

Currently, superficial hydrological resources face high anthropogenic pressures due to the natural landscape transformation and the high demand levels of water for socioeconomic activities. Given this situation, the integrated modeling of the hydrological cycle has become a necessary tool for evaluating and predicting the consequences of landscape transformation over elements of the water cycle. Its successful application depends on the available information and the scale of the study. Based on the above, it was determined that the existing information in the country doesn't allow the rigorous application of neither of them, therefore, efforts were made on a statistical model of Principal Component Analysis in order to relate derived morphometric, biophysical and hydrological information for the characterization of 421 basins generated in Colombia. As reported by the Hydrology, Meteorology and Environmental Studies Institute (IDEAM – acronym in Spanish) 91% the basins had a relative error regarding the basin area lower than 15%, the significance of the relationships between the morphometric, hydrological and biophysical variables was for most of the cases, significant. The above, validates even more the established relationships, highlighting that the results of the statistical model developed allows an estimation of the water demand in places without a hydrological register throughout morphometric and biophysical parameters of the basins without a hydrological instrumentation. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Integrated hydrological modeling; Hydrological cycle and surface water supply.

Introducción

En el pasado se ha calificado a Colombia como una potencia en términos de su disponibilidad hídrica, sin embargo, debido a la creciente necesidad por el uso del espacio para su desarrollo socioeconómico se han desencadenado conflictos en términos de la protección de la oferta hídrica natural

(Domínguez, Rivera y Sarmiento, 2008). El crecimiento poblacional actual ha concentrado la demanda hídrica sobre regiones donde su oferta es escasa y en las cuales la presión

*Correspondencia:

Jaime Burbano-Girón, burbano.j@javeriana.edu.co

Recibido: 14 de octubre de 2015

Aceptado: 23 de agosto de 2016

sobre el recurso hídrico ya registra altos requerimientos para mantener la población y la infraestructura (**Etter y Van Wyngaarden, 2000; Etter y Villa, 2000; Domínguez, et al., 2008**)

Ante esta situación y como apoyo a la gestión del recurso hídrico, la modelación integrada del ciclo hidrológico se convierte en una herramienta necesaria para evaluar y predecir las consecuencias de las transformaciones del paisaje sobre los elementos del ciclo hidrológico (**Burbano-Girón, Domínguez y Etter, 2009**). Las soluciones para el manejo del recurso hídrico hoy en día, dependen de la calidad de la información con que se toman las decisiones, derivada generalmente de datos y esfuerzos de modelamiento (**Martin, LeBoeuf, Dobbins, Daniel y Abkowitz, 2005**).

El modelamiento integrado del ciclo hidrológico tiene como unidad fundamental de estudio la cuenca, no obstante, los enfoques a este nivel se centran comúnmente en la simulación del proceso natural del flujo de agua que, aunque en algunas ocasiones puede modelarse junto a otros procesos como el transporte de sedimentos, químicos, nutrientes y organismos microbianos (**Singh y Frevert, 2006a**), deja de lado otros componentes del ciclo hidrológico. En la actualidad, existen muchos modelos matemáticos para el modelamiento hidrológico de cuencas con mayor o menor complejidad, dependiendo de las características del ciclo hidrológico que tienen cuenta; en este sentido son muy diversos y varían significativamente en términos de información y requerimientos computacionales (**Singh, 1995; Singh y Frevert, 2002a; Singh y Frevert, 2002b**).

La aplicación de modelos matemáticos a procesos hidrológicos se construye generalmente sobre enfoques deterministas, los cuales usan sistemas de ecuaciones diferenciales para representar las leyes físicas que describen el movimiento del agua; sin embargo, éstos también pueden ser obtenidos mediante la experiencia, o la estadística (**Viessman y Lewis, 1996**). De éstos pueden evidenciarse dos grandes deficiencias: la primera, la necesidad de un alto volumen de información requerida para un modelamiento integrado en cualquier cuenca en razón al número de variables, parámetros requeridos en el modelo y tamaño de la cuenca (escala), y la segunda, la baja disponibilidad de dicha información en países como Colombia en los que la dificultad de instrumentación y medición en la mayoría de cuencas es constante (**Burbano-Girón, et al., 2009**).

Otra aproximación al modelamiento hidrológico, son los modelos estocásticos. Éstos usan menor información en comparación a los deterministas, involucrando comúnmente componentes del ciclo hidrológico como: precipitación, evaporación y escorrentía, además de variables abióticas como la pendiente, y de parámetros físicos inherentes al sistema que describen características del proceso, obteniendo en todos los casos muy buenos ajustes en las probabilidades de escorrentía generadas para los sistemas estudiados (**Frolov, Vyrychalkina y Solomonova, 2003; Frolov, 2006; Dolgonosov y Korchagin, 2007; Konovalov, 2007; Karasev, 2008**).

Sin embargo, y pese a la diversidad de modelos encontrados, en el país actualmente no existe información completa que permita aplicar con rigurosidad ninguno de ellos. Algunos esfuerzos se han hecho en la aplicación de modelos determinísticos con grandes dificultades en la consecución y aplicación de la información (**Burbano-Girón, et al., 2009**), mientras en el caso estocástico la aplicación se ha llevado a cabo en cuencas donde por casos especiales la instrumentación lo ha permitido (**Domínguez, 2004; Domínguez y Ivanona, 2005; Domínguez y Ramírez, 2010**).

Ante las dificultades de información existentes, han surgido distintos enfoques para suplir los vacíos de información en la modelación hidrológica. Entre éstos, se destaca la construcción de modelos menos complejos basados en relaciones estadísticas, tales como los análisis de regresión múltiple, análisis factoriales de tipo componentes o coordenadas principales, o aproximaciones bayesianas (**Lørup, Refsgaard y Mazvimavi 1998; Yang et al. 2007**). La principal ventaja de éstos es que permiten integrar parámetros y variables para modelos tanto deterministas como estocásticos, reduciendo así los problemas de falta de información.

En función de esto, y tomando en cuenta que la oferta hídrica superficial constituye una noción probabilística e hidrológica (**Domínguez, et al., 2008**), en este trabajo se plantea entender la modelación integrada como aquella que puede considerar en forma concurrente las relaciones entre los elementos del balance hídrico, y los factores morfométricos y biofísicos de las cuencas, permitiendo construir indicadores de presión sobre el recurso hídrico, los cuales, en la mayoría de los casos, expresan en forma probabilista los elementos relacionados a la oferta hídrica.

En esta medida es clave resaltar que este trabajo apunta a presentar lineamientos iniciales para consolidar estrategias de modelamiento integrado adecuadas para las diferentes escalas de gestión del recurso hídrico, en especial para aquellas orientadas a la formulación de indicadores de presión sobre el recurso y para la evaluación de alteraciones del régimen hidrológico (**Domínguez, et al., 2008**).

Atendiendo a esta propuesta, se promueve la modelación estocástica del ciclo hidrológico como una herramienta adecuada para el fin propuesto. Como un primer adelanto, este trabajo analiza las relaciones estadísticas posibles entre los parámetros morfométricos y biofísicos de las cuencas y las características probabilísticas de la oferta hídrica superficial en Colombia hidrológico (**Domínguez, et al., 2008**).

Este estudio recopila información morfométrica y biofísica necesaria para la caracterización de 421 cuencas de Colombia (Figura 1), asociadas a las 421 estaciones involucradas en el Estudio Nacional del Agua 2008 (**Domínguez, et al., 2008**), con el fin de analizar las relaciones estadísticas entre los parámetros morfométricos y biofísicos de las cuencas y las características probabilísticas de la oferta hídrica superficial en Colombia.

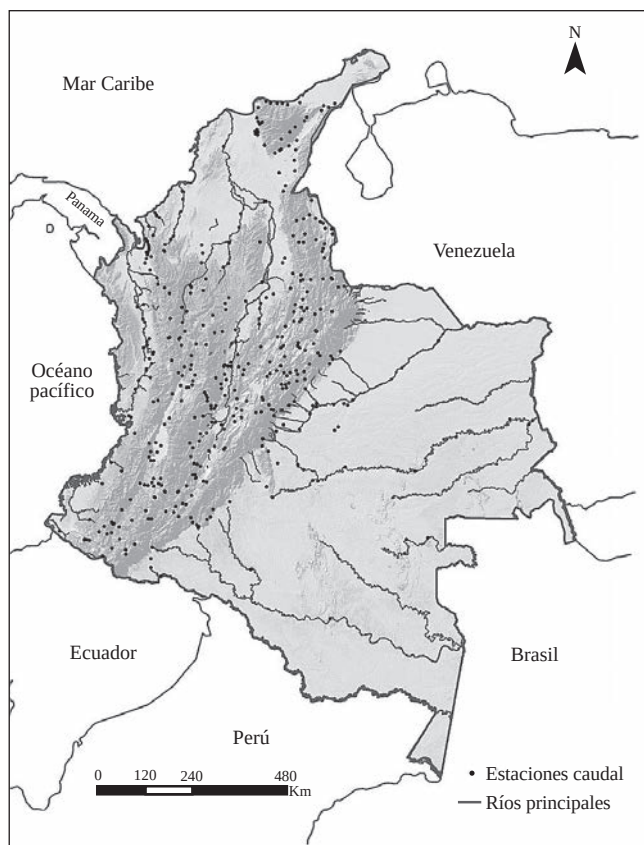


Figura 1. Área de estudio y estaciones hidrológicas usadas.

Materiales y Métodos

Área de Estudio

El área de estudio corresponde a las cuencas generadas para 421 estaciones de mediciones de caudal, involucradas en el Estudio Nacional del Agua (Colombia) (Domínguez, *et al.*, 2008; IDEAM, 2008; Domínguez, Moreno y Ivanona, 2010) (Figura 1).

Colombia abarca aproximadamente 1142 000 km² de territorio continental distribuidos entre los 0 y 5800 msnm, con precipitaciones que aproximadamente varían entre 250 y 11300 mm promedio anual, y temperaturas medias promedio anuales entre 0 y 30°C aproximadamente (IGAC, 2002). Climáticamente Colombia es muy compleja esencialmente por su ubicación geográfica y topografía. Para la mayoría de regiones del país se pueden distinguir dos periodos secos con predominancia de altas temperaturas y dos periodos húmedos con abundante pluviosidad, los cuales son constantemente influenciados por los efectos de El Niño y La Niña, y muy probablemente en la actualidad el cambio climático (Mesa, Poveda y Carvajal, 1997).

Esta variabilidad en las condiciones climáticas y biofísicas del país, se refleja en la diversidad hidrológica y morfométrica de sus cuencas. En esta medida, las áreas aferentes asociadas a las estaciones del estudio nacional del agua muestran una amplia diversidad en términos de

tamaño, altura, pendiente, y valores de caudal y escorrentía, lo que abastece el soporte hidrométrico de cada uno de las variables de este estudio.

Delimitación de Cuencas

El proceso de delimitación de cuencas consistió en 4 etapas: a) La elección del Modelo de Elevación Digital (DEM por sus siglas en inglés) a usar. b) La reubicación de las estaciones, ya que no coincidían con los ríos generados por ninguno de los DEMs usados. c) La delimitación de las cuencas. d) Y la nueva reubicación de los puntos de las estaciones hasta encontrar un error relativo inferior al 15% en el área de la cuenca reportada por el Catálogo de la Red Hidrometeorológica y Ambiental Nacional de Estaciones del IDEAM.

a) Elección del Modelo de Elevación Digital

Paso previo a la delimitación de todas las cuencas se hicieron delimitaciones para distintas cuencas seleccionadas al azar probando 3 DEMs diferentes: SRTM 90m, SRTM 90m corregido (Jarvis *et al.*, 2004) y Aster-GDEM (METI/ERSDAC, USGS/EROS 2009) 90m (Originalmente de 30m remuestreado a 90m). En esta exploración se determinó que los mejores ajustes entre la red hídrica cartográfica y la red hídrica generada por el DEM, así como del área para la cuenca reportada por el IDEAM, fueron los obtenidos por el DEM SRTM 90m, seguidos por el Aster-GDEM, por lo que se decidió trabajar con el primero. Sin embargo, se usó el segundo en la delimitación de algunas cuencas en las que el DEM SRTM 90m no tenía cobertura, debido a que estaba delimitado exclusivamente al área colombiana.

b) Reubicación de Estaciones

Las estaciones tuvieron que desplazarse de su ubicación inicial suministrada por las coordenadas del Catálogo de la Red Hidrometeorológica y Ambiental Nacional de Estaciones del IDEAM, con el fin de ajustarse a la red hídrica generada por el DEM a usarse (Figura 2).

c) Delimitación de Cuencas

La delimitación de cuencas se realizó utilizando HEC-GeoHMS 4.2 (USACE-HEC 2009) como extensión para ArcGIS 9.3 (ESRI 2008), con base a 2 Modelos de Elevación Digital: SRTM 90m y Aster-GDEM 90m (Originalmente de 30m remuestreado a 90m). El 98% de las cuencas (413 de 421) se delimitaron usando el producto SRTM, mientras en el 2% restante se decidió usar el producto Aster-GDEM con base a la disponibilidad de información fuera del territorio colombiano, con el fin de que la cuenca tuviera un límite de acuerdo a su morfometría real, ya que el producto SRTM estaba delimitado exclusivamente al área del país.

d) Nueva Reubicación de Estaciones

Se repitieron los pasos b) y c) hasta encontrar un error relativo inferior al 15% en el área de la cuenca reportada por el Catálogo de la Red Hidrometeorológica y Ambiental Nacional de Estaciones del IDEAM.

Definición del Modelo

Se eligió un modelo estadístico de Análisis de Componentes Principales (ACP) para integrar la información de las distintas variables de tipo morfométrico y biofísico. El ACP

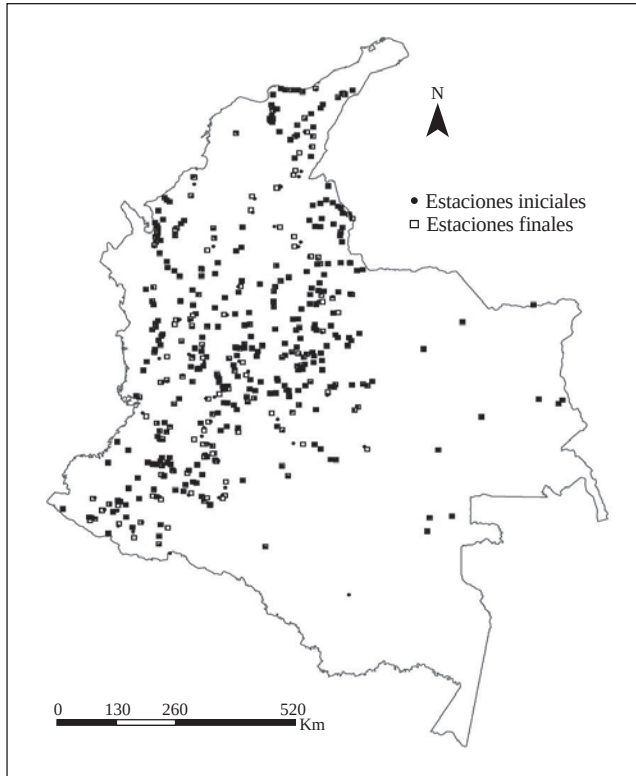


Figura 2. Movimiento de Estaciones en el Área de Estudio

como técnica de síntesis de información reduce la dimensión, es decir, el número de variables, por lo que, ante una gran cantidad de variables, el objetivo será resumirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible. Adicionalmente mediante esta técnica se logran ver las relaciones que se establecen entre las variables, siendo muy útil si se pretende explicar relaciones de causalidad e interdependencia entre las mismas (Peña, 2002).

Morfometría de las Cuencas

Cada río y su cuenca pueden ser caracterizados con indicadores cuantitativos de sus características morfométricas, para este trabajo se usaron 21 índices morfométricos de acuerdo a la propuesta de Samokhin y Saloviov (1980). Todas éstas fueron calculadas mediante operaciones de análisis espacial usando ArcGIS 9.3 (ESRI, 2008), y programación en lenguaje R (R Development Core Team, 2011) y Python (Python Software Foundation, 2008). A continuación, se detallan las 17 métricas morfométricas calculadas.

La (1) longitud del cauce principal L_t , es la distancia del recorrido que hace el cauce principal desde su nacimiento hasta su desembocadura medida en kilómetros. Usualmente L_t presenta un grado de sinuosidad, el cual se representa a través del (2) coeficiente de sinuosidad K_s que constituye la relación entre la distancia total configurada por el recorrido de la corriente L_t , sobre la (3) distancia lineal L_l desde el nacimiento hasta la desembocadura: $K_s = L_t/L_l$.

El (4) área aferente A de la cuenca, es el territorio sobre el que yace el cauce principal y del cual recolecta sus aguas, y se mide en kilómetros cuadrados. La (5) densidad de la red hidrográfica D expresa la longitud de red correspondiente a un área unitaria en kilómetros cuadrados. Se define como: $D = \sum_{i=1}^n L_{t_i} / A$, donde: n es el número de corrientes visibles en la cartografía disponible. Con base en este parámetro se puede definir una aproximación de la (6) longitud media de las laderas en la cuenca. $L_{lad} = 1/2D$

El (7) ancho medio de la cuenca B , se determina como el cociente entre el área de la cuenca y la longitud lineal de la corriente principal: $B = A / L_t$. La (8) elongación de la cuenca o coeficiente de forma σ se calcula como el cociente entre la longitud lineal de la corriente principal L_l y el ancho medio de la cuenca B : $\sigma = L_t / B$. El (9) coeficiente de compacidad k_c es la relación entre la longitud del perímetro de la cuenca p_{cuenca} y el perímetro de un círculo con área equivalente a la de la cuenca: $k_c = \sigma = 0.28 \text{ cuenca} (p_{cuenca} / B\sqrt{A})$.

La (10) altura media del cauce principal H_{cauce} , se calcula como la altura promedio de cada tramo del cauce principal. La (11) pendiente media del cauce principal I_{cauce} es el promedio de los cocientes entre los incrementos de alturas y los incrementos de longitud de la corriente para un tramo determinado. La (12) Altura media de la cuenca H_{cuenca} y la (13) pendiente media de la cuenca I_{cuenca} corresponden a al promedio de las alturas y las pendientes dentro del área aferente de la cuenca A .

La (14) profundidad de disección de la cuenca H_{dis} , representa la diferencia entre la altura media de la cuenca H_{cuenca} y la altura media del perfil longitudinal del río principal H_{cauce} : $H_{dis} = H_{cuenca} - H_{cauce}$. El (15) nivel de disección del relieve N_{dis} resulta del doble producto de la densidad hidrográfica por la profundidad de disección: $N_{dis} = 2DH_{dis}$.

El (16) número de orden de la cuenca N se determina con base en el número de orden máximo obtenido para el cauce principal de la red hídrica de la cuenca. El orden de los ríos se calcula con base en el método propuesto por Strahler en 1952, donde los ríos en su nacimiento tienen valor de orden 1 y estos aumentan de orden solo cuando 2 o más ríos de un mismo orden se cruzan. Por lo tanto, la intersección de un río de primer orden y un río de segundo orden mantendrá el río de segundo orden, mientras si se unen 2 o más ríos de segundo orden el río resultante será de tercer orden. El (17) radio o coeficiente de Bifurcación Rb es el cociente entre el número de cauces N de orden i y el número de cauces N de orden inmediatamente superior $i + 1$: $Rb_{i, i+1} = N_i / N_{i+1}$.

Variables Biofísicas

Se incluyeron variables biofísicas con las que se pudiera inferir directrices en términos de conservación del recurso hídrico. Todas las variables usadas (Tabla 1) son producto de análisis espaciales en ArcGIS 9.3 (ESRI, 2008) con variables espacializadas para Colombia tomadas del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC).

Variables Hidrológicas

Se calcularon las siguientes variables hidrológicas relacionadas a la oferta hídrica: caudal medio anual (QmedA) y diario (QmedD), el coeficiente de variación anual (CvA) y diario (CvD), el coeficiente de asimetría anual (CsA) y diario (CsD), la probabilidad de excedencia del 97.5% para el caudal medio anual (Qa97.5), y mínimo diario (Qm97.5), y la escorrentía media anual (Ea97.5) y mínima diaria (Em97.5) (Domínguez, *et al.* 2009), el caudal modal anual (QmdA) y el

caudal modal diario de estiaje (QmdED), la escorrentía anual media (Emed) y modal (Emd), el coeficiente de regulación (Kr) que representa la relación del área contenida entre el hidrograma de diarios y su línea de valor medio, y el número de rezagos hasta que se hace no significativa la correlación en los valores de caudal diario (M).

Resultados

Delimitación de Cuencas

En la Figura 3 se muestran las cuencas generadas y sus respectivos ríos principales para las 421 estaciones involucradas en el Estudio Nacional del Agua (Colombia) (IDEAM, 2008). Para el 97% (407 de 421) de las cuencas se encontró reporte del valor de su área en el Catálogo de la Red Hidrometeorológica y Ambiental Nacional de Estaciones del IDEAM, por lo que se pudo evaluar el ajuste de las cuencas delimitadas con base al error relativo obtenido (Figura 4). En general se encontraron muy buenos ajustes. El 64% (260 de 407) de las cuencas tuvo un error relativo absoluto inferior al 6%, el 81% (330 de 407) inferior al 10%, y el 91% inferior al 15%. El 9% restantes (4 de 407) no pudieron ser ajustadas a un error menor al 15%.

Tabla 1. Variables biofísicas calculadas.

Variable	Descripción
Proporción de Cobertura Boscosa en la Cuenca	Proporción entre el área de cobertura boscosa (Mapa de Ecosistemas de Colombia) en la cuenca y su área total.
Proporción de Espejos de Agua en la Cuenca	Proporción entre el área de cuerpos de agua, ciénagas y represas en la cuenca y su área total.
Proporción de Centros Poblados en la Cuenca	Proporción entre el área de cobertura de centros poblados en la cuenca y su área total en la cuenca y su área total.

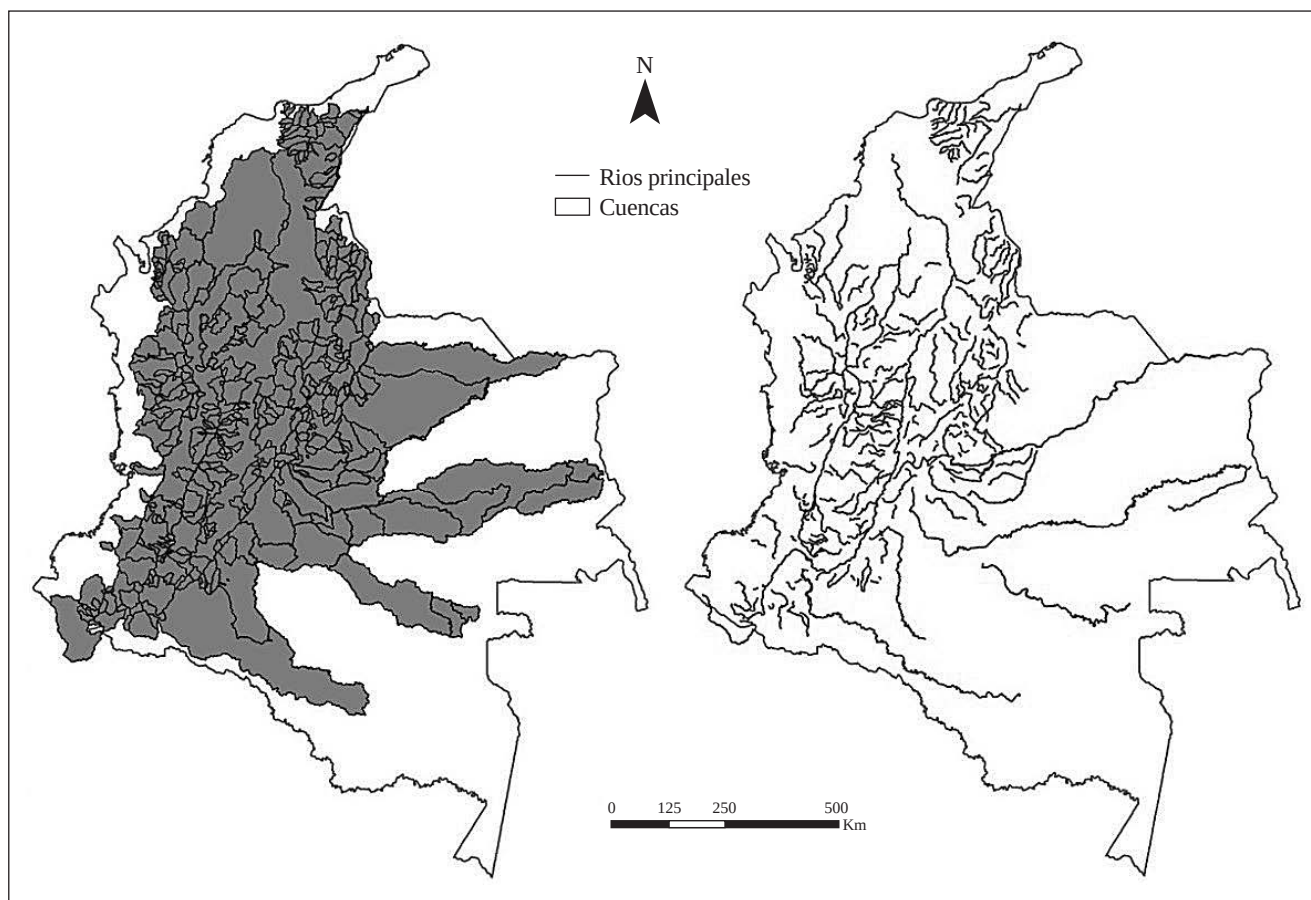


Figura 3. Cuencas y Cauces Principales generados para las 421 estaciones de estudio. Los cauces principales aparentan estar incompletos porque son los correspondientes al área aferente de la cuenca, la cual no necesariamente se cierra en la desembocadura de los ríos, sino donde se encuentra la estación correspondiente.

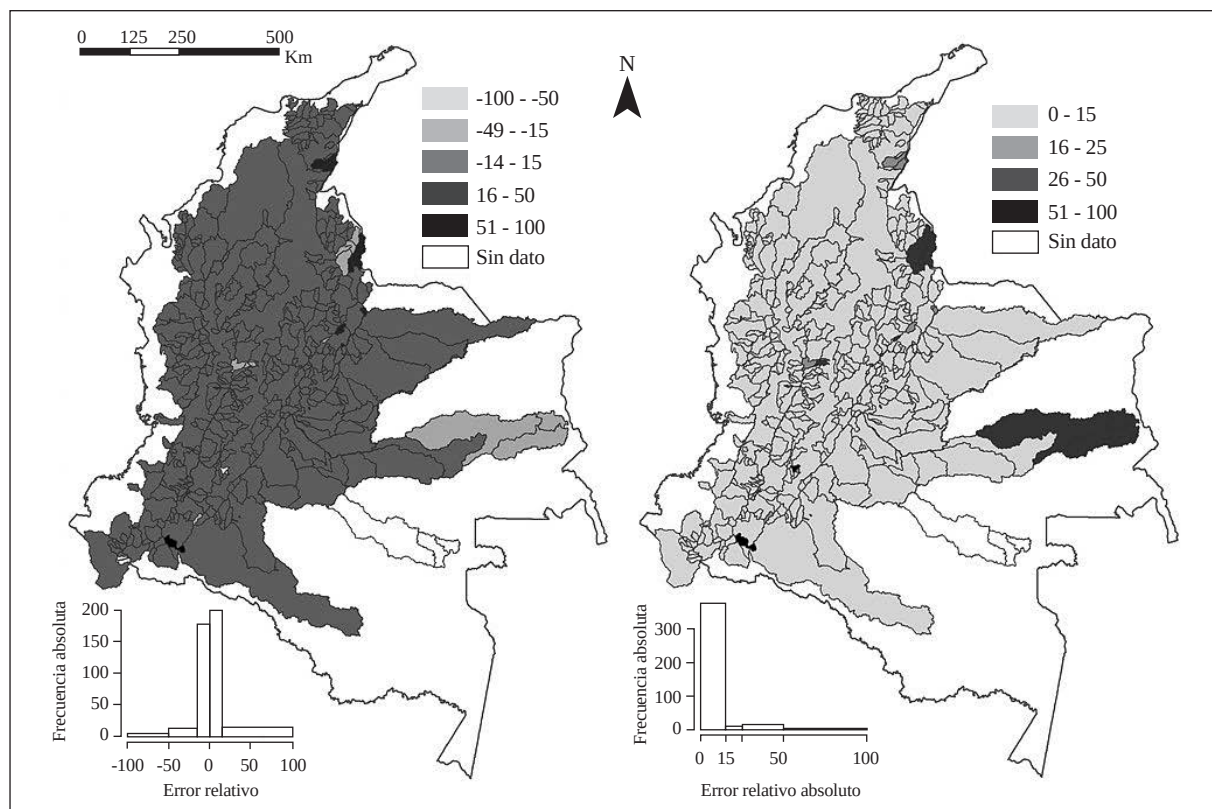


Figura 4. Error relativo (izquierda) y error relativo absoluto (derecha) en porcentaje para el ajuste del área en cada cuenca.

Variables Morfométricas y Biofísicas

En la Figura 5 se muestra la morfometría para la mayoría (solo las visibles) de las 421 cuencas. Es evidenciable que existen parámetros muy similares en su patrón espacial, por ejemplo: la densidad de la red hídrica, el coeficiente de forma y la longitud media de las laderas, el ancho de la cuenca y el coeficiente de compacidad, y la profundidad de disección y el nivel de disección. Por el contrario, las variables biofísicas muestran comportamientos diferentes entre ellas y en relación a los parámetros morfométricos. Lo anterior indica que existe una relación directa entre muchos aspectos de la morfometría, pero a su vez éstas son inversas con las variables biofísicas.

Modelo Estadístico

Se encontraron relaciones muy fuertes, confirmando lo encontrado en la descripción de las variables morfométricas y biofísicas (Tabla 1S, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/291/1666>). Por ejemplo, se encuentran muy relacionados la densidad de la red hídrica, el coeficiente de forma y la longitud media de las laderas, el ancho de la cuenca y el coeficiente de compacidad, la longitud del cauce, el área y el perímetro, la profundidad de disección y el nivel de disección, y los distintos valores de caudal entre ellos y con el área de la cuenca, mientras las variables biofísicas no muestran una relación clara.

En la Tabla 2 se muestran la desviación estándar de cada componente (valores propios) y su varianza explicada encontrada en el ACP. De ésta se puede inferir que el porcentaje de varianza explicado óptimo donde los valores propios para cada componente son mayor a 1 (Peña, 2002), se encuentran hasta el componente 10, explicando aproximadamente el 83% de la varianza en las relaciones presentadas para los valores de caudal y las variables morfométricas y biofísicas.

En la Figura 6 se muestran las relaciones presentadas en cada uno de los 10 componentes tomando como base en el eje X el Componente 1. Es recurrente la cercana correlación entre las variables relacionadas con el caudal, el área de la cuenca y longitud del río, siendo también muy cercanos a éstas el orden del río, los coeficientes de sinuosidad y compacidad, y el ancho medio de la cuenca.

El componente uno separa grupos de parámetros relacionados a la magnitud de la oferta en años de humedad media y baja (Qa97.5, Qm97.5, QmdA, QmdED, Emin97.5, Ea97.5), y su variabilidad (CvA, CvD, CsA, CsD). Con la magnitud de la oferta se asocian el ancho medio de la cuenca (B), el Número de Horton, el radio de autocorrelación diaria (M), El Área, la sinuosidad del cauce principal, la profundidad de disección de la cuenca (Hdis), la longitud del cauce principal (lt) y la proporción de bosque (Bos). Mientras que con la variabilidad se asocian características de la rugosidad del relieve como las pendientes y las alturas medias del cauce principal y la cuenca (lCue, lcau, Hcue, Hcau).

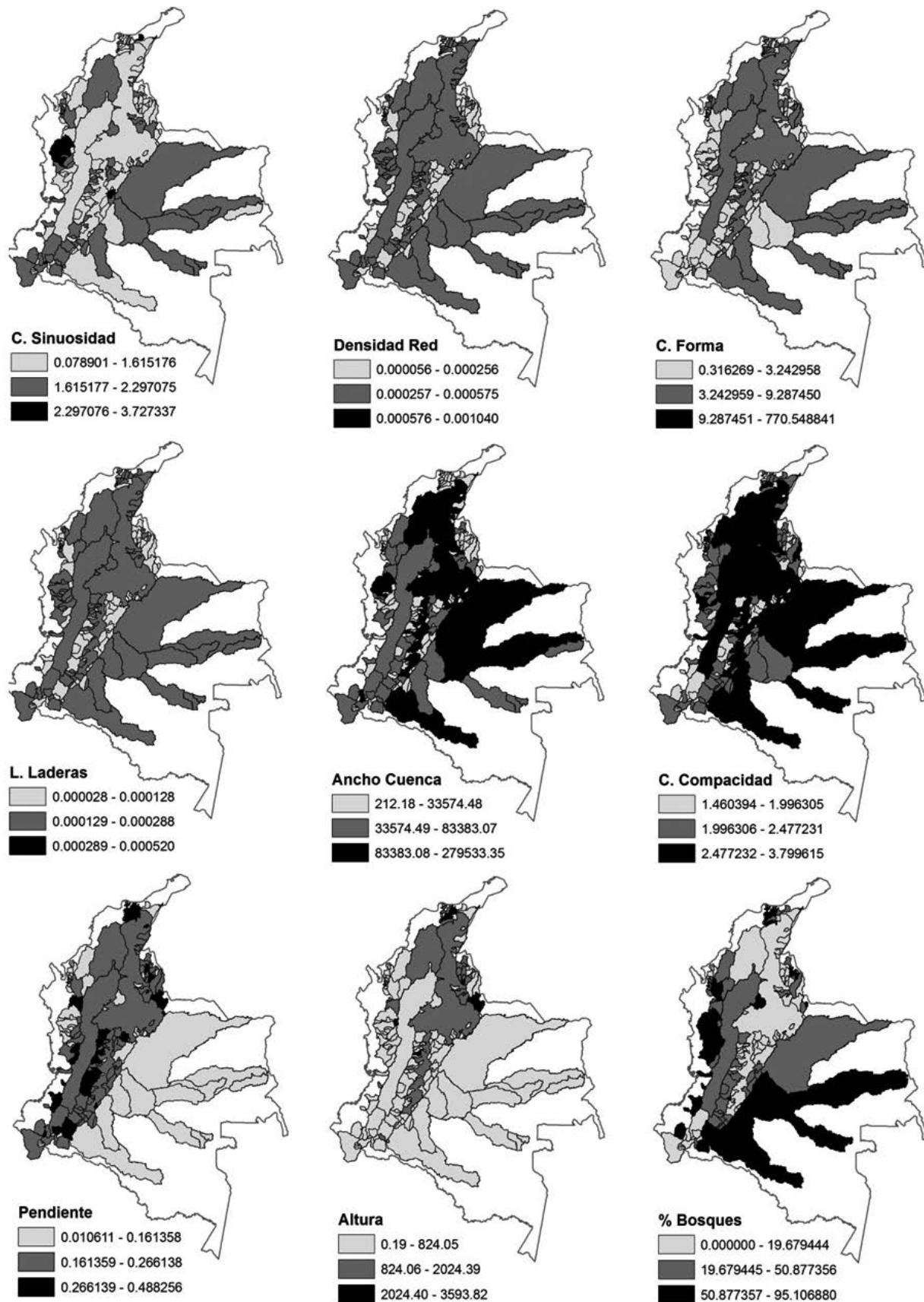


Figura 5. Valores de las variables morfométricas y biofísicas calculadas para las 421 cuencas.

El componente dos, en lo relacionado a la oferta hídrica superficial, separa las características de magnitud (Volumen y caudal) de las de rendimiento (Escorrentía superficial). A la magnitud de la oferta se le asocian las características morfométricas relacionadas a geometría y tamaño, mientras que a las de rendimiento sólo se le asocia la proporción de Bosque. A su vez, los componentes dos y tres disocian los parámetros que influyen sobre la variabilidad de la oferta, ente ellos la pendiente media de la cuenca y el cauce principal (ICue, ICau) y las alturas medias de la cuenca y el cauce principal (HCue, HCau). Estos componentes expresan el nivel de rugosidad de la topografía.

El componente 4 expresa la relación inversamente proporcional entre características de rugosidad del relieve (ICue, Icau, Hcue, Hcau) y las características geométricas de los cauces principales (N, Kc y Ks). El componente 5 refleja la relación entre profundidad de disección y Altura media de la cuenca. Los componentes restantes reflejan características particulares de las variables a las que se asocia un poder de explicación específico menor al 5%.

Tabla 2. Valores propios y su varianza explicada obtenidos en el ACP.

Componente	Desv.St	% de Varianza Explicada	% de Varianza Explicada Acumulada
1	3.22	32.47	32.47
2	1.99	12.35	44.82
3	1.57	7.67	52.49
4	1.47	6.79	59.28
5	1.30	5.25	64.53
6	1.20	4.48	69.01
7	1.16	4.18	73.18
8	1.06	3.49	76.67
9	1.04	3.40	80.07
10	1.01	3.21	83.28
11	0.89	2.50	85.79
12	0.85	2.25	88.03
13	0.82	2.08	90.12
14	0.71	1.57	91.69
15	0.67	1.39	93.08
16	0.66	1.37	94.45
17	0.59	1.10	95.55
18	0.58	1.03	96.58
19	0.54	0.91	97.49
20	0.44	0.61	98.10
21	0.41	0.54	98.64
22	0.36	0.40	99.04
23	0.33	0.34	99.38
24	0.29	0.27	99.65
25	0.24	0.19	99.84
26	0.15	0.07	99.91
27	0.12	0.05	99.96
28	0.10	0.03	99.99
29	0.05	0.01	100.00
30	0.02	0.00	100.00
31	0.01	0.00	100.00
32	0.00	0.00	100.00

En general, se puede inferir una asociación fuerte entre la altura y pendiente del cauce y la cuenca, la cual es inversa a los valores de caudal y área, es decir, a mayores valores de área y caudal deben esperarse valores bajos en la pendiente y altura media, tanto para el cauce como la cuenca.

Parece existir una aparente relación inversa entre los coeficientes de variación y asimetría (que a su vez están muy asociados) con las variables relacionadas al caudal, con lo que aparentemente se podría pensar en que cuencas de mayor tamaño donde los valores de caudal son mayores, tienden a ser más estables, lo cual es clave a la hora de evaluar pronósticos.

Las variables biofísicas: proporción de cuerpos de agua y centros poblados, no parecen tener una relación clara con ninguna variable hidrológica o morfométrica, mientras la proporción de bosque muestra una relación de tipo directo con la escorrentía lo que vislumbra implicaciones en términos de conservación del recurso hídrico, puesto que a mayores valores de escorrentía encontrados se pueden ver mayores proporciones de bosque en las cuencas.

Las relaciones más fuertes dadas por el ACP se presentan en relación al valor del caudal y el tamaño de la cuenca. Como era de esperarse cuencas de mayor tamaño acumulan más agua debido a que acumulan más ríos de orden superior y por ende de mayor longitud. Así mismo las cuencas presentarán mayor sinuosidad debido a que contienen relieves más disectados por las variaciones desde las zonas altas a las a bajas.

La separación que muestra el ACP entre características más ligadas a la hidrología de la cuenca como el área, el orden del río, los coeficientes de sinuosidad y compacidad, y el ancho medio de la cuenca, respecto de las que son más ligadas a los parámetros del relieve como la altura y la pendiente, deja ver en algunos casos una relación muy lógica donde aparentemente las zonas en donde el caudal es mayor son aquellas donde las pendientes y alturas son menores, característica propia de las cuencas bajas donde ocurren las desembocaduras a los ríos de orden mayor y donde por su puesto se acumula igualmente un caudal mayor.

Adicionalmente éstas últimas características relacionadas al paisaje son muy asociadas entre sí, indicando que cualquiera de éstas, pendiente o altura, del cauce o de la cuenca, pueden ser buenos descriptores de su relieve. Las variables de profundidad de disección de la cuenca y cuerpos de agua también se encuentran muy relacionadas, junto con la densidad de la red hidrográfica y el ancho de la cuenca indicando una forma característica de la cuenca.

Discusión

Los resultados obtenidos señalan que los modelos estadísticos contruidos permiten estimar la oferta hídrica en lugares sin registro hidrológico a través de los parámetros morfométricos y biofísicos de las cuencas sin instrumentación hidrológica. Éstos son respaldados en primera medida por los buenos ajustes obtenidos en la delimitación de las cuencas, lo que permite pensar que las características

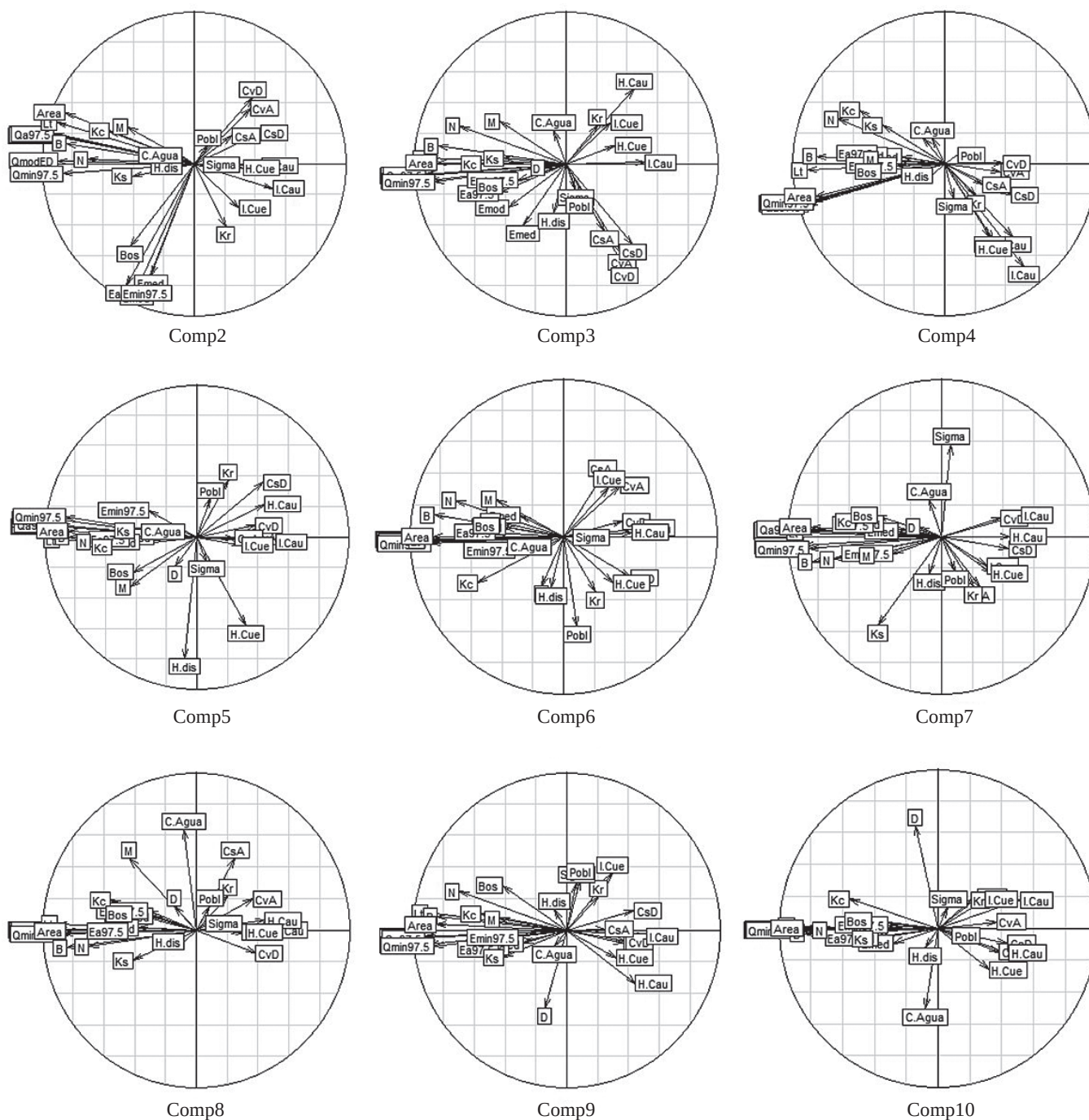


Figura 6. Biplot de las variables en cada Componente para las variables hidrológicas, morfométricas y biofísicas.

hidrológicas, morfométricas y biofísicas descritas para cada una realmente corresponden a una proporción muy cercana de la realidad.

Si bien los puntos de cierre de cada cuenca fueron sujetos a una modificación respecto a la ubicación original de las estaciones dada por las coordenadas encontradas en el Catálogo de la Red Hidrometeorológica y Ambiental Nacional de Estaciones del IDEAM, se obtuvieron muy bajos errores respecto al error en el área de la cuenca

(Figura 7), y la distancia de movimiento de las estaciones hidrológicas. El 41% (175 de 421) tuvo una distancia inferior de movimiento a 100m, el 58% (244 de 421) inferior a 500m, el 72% (305 de 421) inferior a 1km, y el 91% (382 de 421) inferior a 5km (Figura 7).

Lo anterior permite pensar que gracias a los buenos ajustes de la red hídrica generada y al buen proceso de depuración en la ubicación del punto de cierre para cada cuenca, son en conjunto un indicador de que las

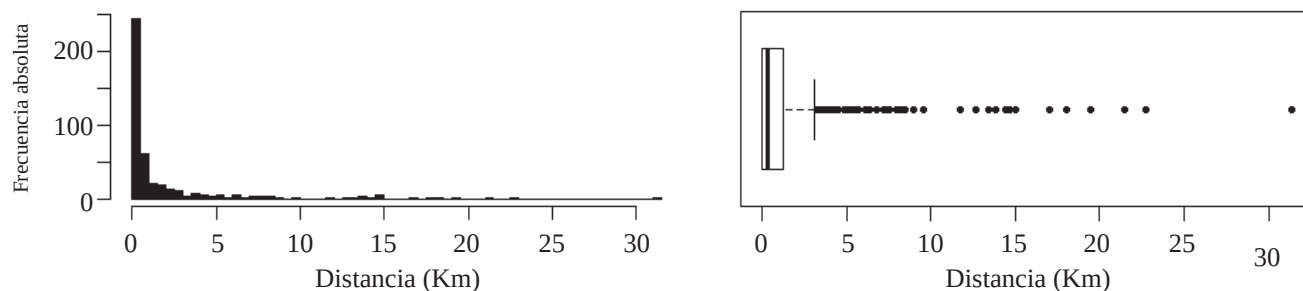


Figura 7. Histograma y Box-Plot para las distancias de movimiento de las estaciones de estudio.

características morfométricas generadas representan con claridad características intrínsecas de cada cuenca (**Patton, 1988**). Sumado a esto, la significancia encontrada entre las relaciones hidrológicas, morfométricas y biofísicas para la mayoría de las variables, reiteran que el modelo estadístico construido puede contribuir a la estimación de la oferta hídrica en Colombia ante la ausencia y disponibilidad de información.

Analizando las características morfométricas derivadas para cada cuenca se encuentra que en términos generales las cuencas de las regiones de tierras bajas (Amazonia, Orinoquia, Caribe y Pacífico) contrastan respecto a las ubicadas en los Andes. Características como el coeficiente de sinuosidad, el porcentaje de bosques, la pendiente, el ancho de la cuenca, el coeficiente de compacidad, la profundidad y el nivel de disección, son muestra de esto. En estos casos el relieve dominante define la mayoría del comportamiento de estas características (**Patton 1988**).

Las demás variables morfométricas permanecen poco variantes en el espacio, en principio debido a que las grandes cuencas, que en su mayoría tienen mayores proporciones de área en sus partes bajas contrarrestan los valores superiores que pueden encontrarse en las partes altas. Cabe resaltar características como la profundidad de disección, la cual es bastante mayor en tierras bajas, indica ríos aparentemente superficiales en las zonas altas.

La variable porcentaje de centros poblados la cual se esperaba brindase algunas directrices en términos de conservación del recurso hídrico aparece constante. Se esperaba encontrar cuencas en las que el tamaño de la población inferido a través de la cobertura en centros poblados permitiera definir zonas claves para el estudio de la oferta hídrica en Colombia (**Domínguez y Ivanova, 2005; Domínguez, et al., 2008; Domínguez, et al., 2010**). En este sentido, si bien la presión del recurso hídrico está definida por la cantidad de personas que acceden a él, no se tienen en cuenta los usos del suelo, ni la proporción de uso de agua de cada uno de éstos en cada cuenca, los cuales pueden ser un factor de mayor asociación con las características hidrológicas, morfométricas y biofísicas de cada cuenca.

Igualmente, la proporción de bosques, aunque es significativamente mayor en las cuencas del Amazonas, Orinoquia, Pacífico y Sierra Nevada de Santa Marta, mientras disminuye

en el Centro del País, no presenta una relación clara con los valores de caudal reportados, sí lo hace con los de escorrentía, lo que podría indicar una aparente relación entre la existencia de bosque y la oferta hídrica. No obstante, es conocido que la relación entre la cantidad de agua que escurre por una cuenca está mediada en gran proporción por la precipitación, además de otros factores. Esta relación se comprobó mediante un análisis de regresión lineal usando los residuales de un modelo lineal regresivo escorrentía vs precipitación (tomando el valor promedio de precipitación anual en el área aferente para cada una de las 421 cuencas) y la proporción de bosque. Se encontró que tan solo el 5% ($R^2 = 0.05$, $p < 0.01$) de las diferencias en los valores de escorrentía entre las cuencas son explicados por las diferencias en su proporción de bosque, mientras la precipitación explica el 75%, $R^2 = 0.75$ $p < 0.01$ (Figura 8). Adicionalmente, otros

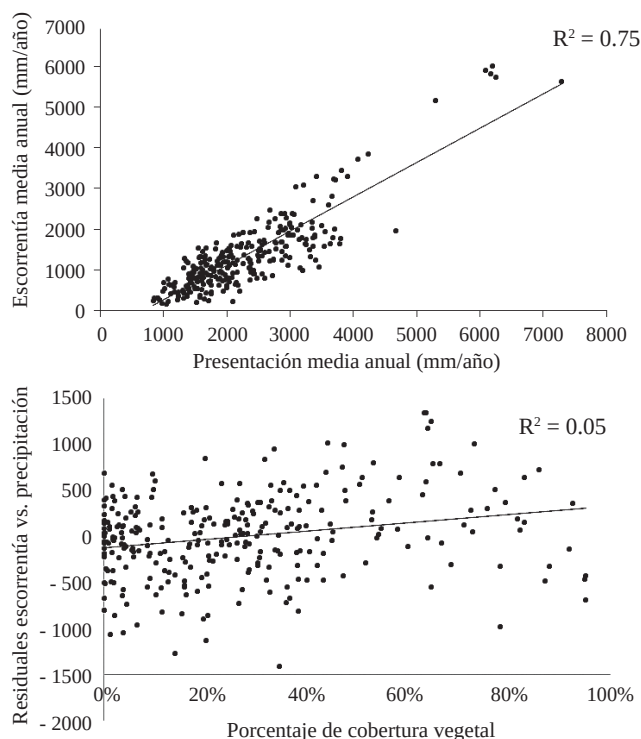


Figura 8. Resultados de la regresión por pasos para determinación de la posible influencia vegetación-escorrentía.

estudios aplicando modelos determinísticos sugieren que la relación entre la proporción de bosques y el flujo del agua no son perceptibles fácilmente. Distintos reportes usando modelos determinísticos estiman que se necesita al menos una diferencia del 20% en bosques entre una cuenca y otra para encontrar una relación entre éstos y los flujos simulados (Brunjinzeel, 1990; Johnson, 1998; Wilk, Andersson, Plermkamon, 2001; Burbano-Girón, *et al.*, 2009).

De lo anterior es posible verificar con próximos estudios si existe una relación entre la fragmentación y la oferta hídrica, ya que aparentemente en cuencas donde hay una mayor proporción de bosque hay mayor oferta hídrica, no obstante esta se encuentra en lugares donde la proporción de la demanda por el agua es la menor. En esta medida cabría investigar con herramientas de modelamiento no determinísticas, ya que se ha visto que estas no son sensibles ante cambios en la cobertura (Johnson, 1998; Burbano-Girón, *et al.*, 2009), si ante posibles eventos de reforestación de los Andes donde se sabe la presión por el uso de recursos boscosos e hídricos es mayor (Etter y Van Wyngaarden, 2000; Etter y Villa, 2000; Etter, *et al.*, 2006; Domínguez, *et al.*, 2008; Etter y McAlpine, 2008; Domínguez, *et al.*, 2010), se podría favorecer la oferta hídrica gracias a procesos de conectividad hidrológica (Freeman, Pringle y Jackson, 2007).

Por otra parte cabe resaltar la relación inversa que existe entre los valores de caudal y sus respectivos coeficientes de variación y asimetría, lo que implica aparentemente una relación también inversa con la escorrentía y la proporción boscosa, indicando que es posible que con predominancia de bosque se presente una mayor regularidad en la oferta hídrica, siendo en estos casos claves procesos de reforestación que permitirían en caso de fluctuación en la disponibilidad del recurso hídrico bajo eventos de cambio climático (Domínguez, *et al.*, 2010), una zona de amortiguación para la oferta de agua en Colombia, especialmente en la región de los Andes.

Conclusiones

En Colombia la aplicación de un modelo integrado del ciclo hidrológico de cualquier tipo presenta dificultades en términos de adquisición de información y delimitación de la escala de trabajo para la inmensa mayoría de cuencas. En esta medida la generación de información relacionable a la hidrológica del país es clave, por lo que este trabajo en su primera fase inicia la construcción de una base de datos de parámetros morfométricos y biofísicos para ser utilizada en la determinación del impacto del uso del paisaje, sobre los parámetros de modelos estocásticos que describan la evolución de características probabilísticas de los elementos del ciclo hidrológico.

La generación de cuencas en base a DEMs brinda un buen ajuste con relación a las generadas con base a cartografía, aunque el ajuste de posición que normalmente debe hacerse de las estaciones hidrológicas puede generar distorsión en los resultados encontrados. Para este estudio el 91% de las

cuencas generadas tuvo un error relativo inferior al 15% en el área, con respecto a la reportada por el Catálogo de la Red Hidrometeorológica y Ambiental Nacional de Estaciones del IDEAM, lo que permite pensar que las características hidrológicas, morfométricas y biofísicas descritas para cada una realmente describen la cuenca.

Con el modelo estadístico de ACP aplicado pueden evidenciarse relaciones muy cercanas entre el tamaño de la cuenca, el orden del río y las variables de caudal anual y diario. A pesar de que la escorrentía y la proporción de bosque se agrupan, es claro que esta relación está mediada por la precipitación y tan sólo el 5% de la escorrentía por la presencia de bosques. Las variables referentes al relieve muestran una cercanía muy grande, la pendiente y altura media de la cuenca y el cauce están muy asociadas, por lo que cualquiera de estas puede ser usada como indicador de la topografía de la cuenca.

La aparente relación inversa existente entre los coeficientes de variación y asimetría y la escorrentía y la proporción boscosa, indican que es posible que la predominancia de bosque favorezca una mayor regularidad en la oferta hídrica, siendo en estos casos claves procesos de reforestación que permitirían en caso de fluctuación en la disponibilidad del recurso hídrico bajo eventos de cambio climático, una zona de amortiguación para la oferta de agua en Colombia, especialmente en la región de los Andes.

Información suplementaria

Tabla 1S. Matriz de Correlación entre las variables a incluir en el modelo estadístico. Debajo de la diagonal los valores para la correlación de Pearson y arriba de la diagonal sus respectivos valores de significancia. Para la parte superior se muestran en negrilla todas las correlaciones significativas al 5%, y en la parte inferior las correlaciones mayores o iguales a 0.6. Vea la tabla 1S en: <http://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SupFile/291/1666>

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Beasley, D. B., Knisel, W. G., Rice, A. P. (Eds.). 1991. Proceedings of the Creams/Gleams Symposium: September 27-29, 1989 Athens, Georgia. UGA-CPES-Agricultural Engineering Department, University of Georgia, Tifton, Georgia, USA.
- Brujinzeel, L. A. 1990. Hydrology of moist tropical forests and effects of conversion: a state of knowledge review. Faculty of Earth Sciences. Free University, Amsterdam, The Netherlands.
- Burbano-Girón, J., Domínguez, E., Etter, A. 2009. Modelación del efecto de escenarios de cobertura sobre la migración de nutrientes (N, P₂O₅) en la cuenca alta del río Magdalena (Huila, Colombia). Ingeniería y universidad **13**: 7.

- Chow, V. T., Maidment, D. R., Mays, L. W.** 1994. Hidrología aplicada. McGraw-Hill, Bogotá, Colombia.
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística - DANE.** 2008. Censo General 2005 Nivel Nacional. Departamento Administrativo Nacional de Estadística, Bogotá, Colombia.
- Dolgonosov, B. M., Korchagin, K. A.** 2007. A nonlinear stochastic model describing the formation of daily and mean monthly water flow in river basins. *Water Resources* **34**: 624-634.
- Domínguez, E.** 2004. Aplicación de la ecuación de Fokker-Planck-Kolmogorov para el pronóstico de afluencias a embalses hidroeléctricos (caso práctico de la represa de Betania). *Meteorología Colombiana* **8**: 17-26.
- Domínguez, E., Hassidoff, A., León, J., Ivanova, Y., Rivera, H.** 2009. Maximal, Minimal and Mean Surface Runoff in Colombia: How is it Distributed? *Journal of Environmental Hydrology* **17**.
- Domínguez, E., Ivanova, Y.** 2005. Un modelo estocástico para la evaluación hidrológica en alta montaña, bajo condiciones de cambio climático (caso de estudio – páramo de Las Hermosas). Pages 17-30. Bogota.
- Domínguez, E., Moreno, J., Ivanova, Y.** 2010. Water scarcity in a tropical country?-revisiting the Colombian water resources. *International Association of Hydrological Sciences* **340**: 335-342.
- Domínguez, E., Rivera, H. G.** 2010. A Fokker-Planck--Kolmogorov equation approach for the monthly affluence forecast of Betania hydropower reservoir. *Journal of hydroinformatics* **12**: 486-501.
- Domínguez, E., Rivera, H. G., Sarmiento, R. V., Moreno, P.** 2008. Relaciones Demanda-Oferta de Agua y el Índice de Escasez de Agua como Herramientas de Evaluación del Recurso Hídrico Colombiano. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. XXXII*.
- Downer, C. W., Ogden, F. L.** 2004. GSSHA: Model To Simulate Diverse Stream Flow Producing Processes. *Journal of Hydrologic Engineering* **9**: 161-174.
- Environmental Systems Resource Institute - ESRI.** 2008. ArcGIS. ESRI, Redlands, California, USA. Retrieved from <http://www.esri.com/>.
- Etter, A., Van Wyngaarden, W.** 2000. Patterns of landscape transformation in Colombia, with emphasis in the Andean region. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* **29**: 432-439.
- Etter, A., Villa, L. A.** 2000. Andean forests and farming systems in part of the Eastern Cordillera (Colombia). *Mountain Research and Development* **20**: 236-245.
- Etter, A., McAlpine, C.** 2008. Chapter 5. Modeling Unplanned Land Cover Change across Scales. Modeling Unplanned Land Cover Change across Scales. Pages 81-98 in M. J. Hill and R. J. Aspinall, editors. *Land Use Change. Science, Policy and Management*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1201/9781420042979.ch5>.
- Etter, A., McAlpine, C., Wilson, K., Phinn, S. and Possingham, H.** 2006. Regional patterns of agricultural land use and deforestation in Colombia. *Agriculture, Ecosystems y Environment* **114**: 369-386. doi: 10.1016/j.agee.2005.11.013.
- Freeman, M. C., Pringle, C. M., Jackson, C. R.** 2007. Hydrologic connectivity and the contribution of stream headwaters to ecological integrity at regional scales. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* **43**: 5-14.
- Frolov, A. V.** 2006. Dynamic-stochastic modeling of long-term variations in river runoff. *Water resources* **33**: 483-493.
- Frolov, A. V., Vyruchalkina, T. Y., Solomonova, I. V.** 2003. Dynamic-Stochastic Modeling of Rivers Rising from Lakes. *Water Resources* **30**: 627-631.
- Goodrich, D. C., Unkrich, C. L., Smith, R. E., Woolhiser, D. A.** 2006. KINEROS2-new features and capabilities. Page Proceedings of the Joint Federal Interagency Conference.
- Habets, F., Noilhan, J., Golaz, C., Goutorbe, J. P., Lacarrère, P., Leblois, E., Ledoux, E., Martin, E., Ottlé, C., Vidal-Madjar, D.** 1999a. The ISBA surface scheme in a macro-scale hydrological model applied to the Hapex-Mobilhy area: Part I: Model and database. *Journal of Hydrology* **217**: 75-96. doi: DOI: 10.1016/S0022-1694(99)00019-0.
- Habets, F., Noilhan, J., Golaz, C., Goutorbe, J. P., Lacarrère, P., Leblois, E., Ledoux, E., Martin, E., Ottlé, C., Vidal-Madjar, D.** 1999b. The ISBA surface scheme in a macroscale hydrological model applied to the Hapex-Mobilhy area: Part II: Simulation of streamflows and annual water budget. *Journal of Hydrology* **217**: 97-118. doi: 10.1016/S0022-1694(99)00020-7.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios ambientales - IDEAM.** 2008. Estudio Nacional del Agua. IDEAM.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi - IGAC.** 2002. Atlas de Colombia. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá.
- Jarvis, A., Rubiano, J., Nelson, A., Farrow, A., Mulligan, M.** 2004. Practical use of SRTM data in the tropics: comparisons with digital elevation models generated from cartographic data. *Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT*. 32.
- Johnson, R.** 1998. The forest cycle and low river flows: a review of UK and international studies. *Forest Ecology and Management* **109**: 1-7.
- Karasev, I. F.** 2008. The ecological regime based nomenclature of water discharges in river systems. *Russian Meteorology and Hydrology* **33**: 670-675.
- Knisel, W. G.** 1980. CREAMS: A field-scale model for non-point source pollution evaluation. Pages 11-13 Proc. Non-point Pollution Control Tools and Techniques for the Future Symposium. Gettysburg, PA. June.
- Konovalov, V. G.** 2007. Long-term changes of water balance components in the basins of rivers fed by snow and ice. *Russian Meteorology and Hydrology* **32**: 529-537.
- Leonard, R. A., Knisel, W. G., Still, D. A.** 1987. GLEAMS: Groundwater loading effects of agricultural management systems. *Trans. ASAE* **30**: 1403-1428.
- Lindström, G.** 1997. A simple automatic calibration routine for the HBV model. *Nordic hydrology* **28**: 153-168.
- Lørup, J.K., Refsgaard, J.C. y Mazvimavi, D.** (1998) Assessing the effect of land use change on catchment runoff by combined use of statistical tests and hydrological modelling: Case studies from Zimbabwe. *Journal of Hydrology*, **205**: 147-163.
- Martin, P. H., LeBoeuf, E. J., Dobbins, J. P., Daniel, E. B., Abkowitz, M. D.** 2005. Interfacing GIS with Water Resource Models: A State-Of-The-Art Review. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*. **41**: 1471-1487.
- Mesa, O., Poveda, G., Carvajal, L. F.** 1997. Introducción al Clima de Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

- Noilhan, J., and J.-F. Mahfouf.** 1996. The ISBA land surface parameterisation scheme. *Global and Planetary Change*. **13**: 145-159. Doi: doi: DOI: 10.1016/0921-8181(95)00043-7.
- Patton, P. C.** 1988. Drainage Basin Morphometry and Floods. Pages 51-64 in V. R. Baker, R. C. Kochel, and P. C. Patton, editors. *Flood Geomorphology*. Wiley-Interscience.
- Peña, D.** 2002. Análisis de datos multivariantes. McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid, España.
- Python Software Foundation.** 2008. Python 2.6. Python Software Foundation.
- R Development Core Team.** 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from <http://www.R-project.org/>.
- Samokhin, A., y Saloviov, N.** (1980). *Hydrology Handbook* (First Edition.). Leningrad: Guidrometeoizdat, 296 p.
- Singh, V. P., and D. K. Frevert (Eds.).** 2002a. Mathematical models of large watershed hydrology. Water Resources Publications, Highlands Ranch, Colorado, USA.
- Singh, V. P., and D. K. Frevert (Eds.).** 2002b. Mathematical models of small watershed hydrology and applications. Water Resources Publications, Highlands Ranch, Colorado, USA.
- Singh, V. P. (Ed.).** 1995. Computer models of watershed hydrology. Water Resources Publications, Highlands Ranch, Colorado, USA.
- Singh, V. P., y D. K. Frevert.** 2006. Chapter 1. Introduction. Páginas 2-19 en V. P. Singh y D. K. Frevert, editores. *Watershed Models*. CRC Press.
- Singh, V. P., y D. K. Frevert (Eds.).** 2006. *Watershed Models*. CRC Press.
- USACE - US Army Corps of Engineers, HEC - Hydrologic Engineering Centre.** 2009. Geospatial hydrologic modeling extension HEC-GeoHMS. Davis, California, USA.
- Validation Team: METI/ERSDAC, NASA/LPDAAC, USGS/EROS.** 2009. ASTER Global DEM Validation, Summary Report. Retrieved from http://www.ersdac.or.jp/GDEM/E/image/ASTERGDEM_ValidationSummaryReport_Ver1.pdf, last access April 2010.
- Viessman, W., and G. L. Lewis.** 1996. *Introduction to hydrology*. HarperCollins College Publishers, New York, USA.
- Viney, N., and M. Sivapalan.** 2000. LASCAM: The large scale catchment model, User Manual, version 2. Centre for Water Research, University of Western Australia.
- Wilk, J., L. Andersson, and V. Plermkamon.** 2001. Hydrological impacts of forest conversion to agriculture in a large river basin in northeast Thailand. *Hydrological Processes*. **15**: 2729-2748.
- Yang, J., Reichert, P., Abbaspour, K.C. & Yang, H.** (2007) Hydrological modelling of the Chaohe Basin in China: Statistical model formulation and Bayesian inference. *Journal of Hydrology*. **340**: 167-182.
- Zammit, C., M. Sivapalan, N. Viney, and M. Bari.** 2003. Improvement of physical basis of conceptual model, LASCAM, with explicit inclusion of within catchment heterogeneity of landscape attributes. Pages 921-926.

A winsorized adaptive rank test for location when sampling from asymmetric distributions

Jimmy Antonio Corzo^{1,*}, Myrian Elena Vergara²

¹Department of Statistics, Universidad Nacional de Colombia, Bogota, Colombia

²Department of Basic Sciences, Universidad de La Salle, Bogota, Colombia

Abstract

We propose a winsorized adaptive rank test for the location alternative for samples from asymmetric distributions coming from the Generalized Lambda Family. We give a method to calculate the exact conditional distribution, analytic expressions for the asymptotic distribution and for the first two moments of the test statistic. By means of a Monte Carlo study, we show that for various selections of the winsorization parameter, our test is more powerful than the sign test, and than the original test for appropriate choices of the winsorization parameter, from which the proposed test is adapted. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Location Tests; Winsorized Rank Tests; Power of Rank Tests.

Una prueba de rangos adaptativa winsorizada para localización en muestras de distribuciones asimétricas

Resumen

Se propone una prueba de rangos adaptativa winsorizada para la alternativa de localización en distribuciones asimétricas que provienen de la Familia Lambda Generalizada. Se da un método para calcular la distribución exacta y expresiones analíticas para la distribución asintótica, y los dos primeros momentos de la estadística de prueba. Por medio de un estudio de Monte Carlo, se muestran que para varias selecciones de parámetros de winsorización la prueba propuesta es más potente que la prueba del signo y que la prueba original para selecciones apropiadas del parámetro de winsorización, de la cual la prueba propuesta fue adaptada. © 2016. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Pruebas de Localización; Pruebas de Rangos Winsorizadas; Potencia de Pruebas de Rangos.

Introduction

Let $X_1, \dots, X_N$ be a random sample from a continuous distribution $F(x - \theta)$ such that $F(0) = 1/2$ uniquely. Without loss of generality, consider the test problem:

$$H_0: \theta = 0 \text{ vs. } H_1: \theta > 0, \quad (1.1)$$

or versus the alternatives $\theta < 0$ or $\theta \neq 0$. Under such general conditions on, the sign test is a locally most powerful test for H_0 against H_1 when the sample distribution is double exponential (Hettmansperger 1984, page 9-12). When the symmetry of F around zero is justifiable, the Wilcoxon signed rank test is preferred, especially when the sampled distribution is logistic (Hajek 1999, page 119). Moreover, more efficient tests can be obtained by including information about the tail weight of the sampled distribution. This class of tests is called winsorized signed rank tests, and they are preferred instead of the Wilcoxon test, choosing a small winsorization parameter when the sampled distribution is close to the normal distribution, and a larger winsorization parameter when it is closer to the double exponential (Hettmansperger 1984, page 92-93). Baklizi 2005, proposed the use of the Wilcoxon scores modified by an exponent which depends on the asymmetry level of

the sampled distribution to build a test for location under asymmetry, and showed by means of a simulation study that his test was more powerful than the sign test, than the Wilcoxon test, than the Lemmer 1987 and Lemmer 1993 tests, and than a bootstrap procedure test for samples coming from eight cases of the lognormal distribution.

We mix Baklizi's modification of the Wilcoxon scores with Tukey's winsorization technique to produce a new winsorized adaptive rank test, which becomes more powerful than the Baklizi test for samples coming from distributions with moderate levels of asymmetry obtained from the Generalized Lambda Distribution (GLD) (See appendix, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/333/1647>).

The Proposed Test Statistic and some Properties.

Let $|X|_{(1)} \leq \dots \leq |X|_{(N)}$ be the sequence of ordered absolute values of the sample; define R_i , the rank of $|X_i| = |X|_{(R_i)}$. Let $s(X_i)$ be the indicator variables:

*Corresponding autor:

Jimmy Antonio Corzo, jacorzos@unal.edu.co

Received: 05 de febrero de 2016

Accepted: 05 de agosto de 2016

$$s(X_i) = \begin{cases} 1 & \text{if } X_i > 0 \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases} \quad (2.1)$$

A general scores statistic is defined by (**Hettmansperger** 1984):

$$\bar{V} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \phi\left(\frac{R_i}{N+1}\right) s(X_i),$$

where $\phi(u)$, $0 < u < 1$, is a nonnegative and nondecreasing function such that $0 < \int_0^1 \phi^2(u) du < \infty$.

Some known special cases of $\bar{V}$ are: the sign test ($\bar{S}$ -test) statistic with $\phi(u) = 1$, the Winsorized Wilcoxon signed rank test ($\bar{W}$ -test) statistic with $\phi(u) = u$, the winsorized signed rank test ($\bar{W}\bar{W}$ -test) statistic with $\phi(u) = \min\{u, 1 - \gamma\}$, $0 < \gamma < 1$, where γ is the proportion of winsorized observations.

A fourth special case of $\bar{V}$ is the Baklizi test ($\bar{B}$ -test) statistic which uses the following conditional (on p) score function, $\phi(u) = u^p$, where p is the p -value of a test for the hypothesis of symmetry on F , $F(x) = 1 - F(-x)$, for all x against asymmetric alternatives, proposed in **Randles, Fligner, Policello and Wolfe** 1980, and is an indicator of the asymmetry of F . Note that when p approaches zero, F shows evidence of asymmetry. Explicitly, the Baklizi test statistic can be written as follows:

$$\bar{B} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left(\frac{R_i}{N+1}\right)^p s(X_i) = \frac{1}{N(N+1)^p} \sum_{i=1}^N R_i^p s(X_i).$$

The fifth special case of $\bar{V}$ is the proposed test ($\bar{B}\bar{W}$ -test) statistic, which uses the conditional (on p) score function:

$$\phi(u) = \min\{u^{g(p)}, 1 - \gamma\} \quad (2.2)$$

where $0 < \gamma < 1$ corresponds to the proportion of winsorized observations and $g(p)$ plays a similar role as p in the Baklizi test statistic, that is to decrease the contribution to the statistic of large ranks (corresponding to large observations in the tail of asymmetric distributions).

The proposed winsorized test statistics are:

$$\bar{B}\bar{W}_t = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \min\left\{\left(\frac{R_i}{N+1}\right)^{g(p)}, 1 - \gamma\right\} s(X_i), \quad t = 1, 2, \quad (2.3)$$

where $\bar{B}\bar{W}_1$ will be used for $g(p) = p$ and $\bar{B}\bar{W}_2$ for $g(p) = \sqrt{p}$. When a property is common for the two statistics we will write $\bar{B}\bar{W}$ without subscript.

Using Baklizi 2005 notation, let P be the random variable denoting the p -value of the Randles test for symmetry with probability density function $f(p)$. The proposed $\bar{B}\bar{W}$ -test rejects H_0 in favor of H_1 when $\bar{B}\bar{W} \geq k$ where k is determined such that $P(\bar{B}\bar{W} \geq k | p) = \alpha$. The overall size of the test is α because for a fixed γ (**Baklizi**, 2005):

$$P(\bar{B}\bar{W} \geq k) = \int_0^1 P(\bar{B}\bar{W} \geq k | p) f(p) dp = \alpha.$$

The exact conditional distribution of $\bar{B}\bar{W}$ under H_0 can be obtained by enumeration as follows: Let Z be a $2^N \times N$ matrix containing all possible configurations of ones and zeros assignable to the sample values according to (2.1), obtained by the Cartesian product $\{0,1\}^N$ such that each row corresponds to a different configuration.

The distribution of the vector $(S(X_1), \dots, S(X_N))$ is uniform on Z under H_0 , because $X_1, \dots, X_N$ are independent random

variables from a continuous distribution with median zero. For $\phi\left(\frac{R_i}{N+1}\right)$ as in (2.2), let

$$R' = \left(\phi\left(\frac{1}{N+1}\right), \dots, \phi\left(\frac{N}{N+1}\right)\right),$$

be a vector of scores, and denote by $z = (z_1, \dots, z_N)$ a row vector representing a row of Z . The values of $\bar{B}\bar{W}$ can be obtained as function of z by $\bar{B}\bar{W}(z) = zR$ and so the distribution of $\bar{B}\bar{W}$ can be calculated as:

$$P(\bar{B}\bar{W}(z) \leq m | p) = \frac{\#(z \in Z: \bar{B}\bar{W}(z) \leq m)}{2^N}.$$

The proposed test statistic has the following properties:

a) $\phi(u) = \min\{u^{g(p)}, 1 - \gamma\} \leq 1 - \gamma$; therefore, $\int_0^1 \phi(u) du < 1 - \gamma$ and $0 < \int_0^1 \phi^2(u) du < 1$.

b) From the theory for linear rank statistics the conditional mean and variance, exact and asymptotic, of $\bar{B}\bar{W}$ for a given p under H_0 are (all results in b) and c) are direct application of Theorem 2.8.1 from **Hettmansperger** 1984, page 88 for $\phi(u)$ as defined in a):

$$E[\bar{B}\bar{W} | p] = \frac{1}{2N} \sum_{i=1}^N \min\left\{\left(\frac{R_i}{N+1}\right)^{g(p)}, 1 - \gamma\right\} \text{Exact expectation} \quad (2.4)$$

$$\xrightarrow{N \rightarrow \infty} \frac{(1 - \gamma)}{2} \left[1 - \left(\frac{g(p)}{g(p) + 1} (1 - \gamma)^{\frac{1}{g(p)}}\right)\right], \quad (2.5)$$

$$N \text{Var}[\bar{B}\bar{W} | p] = \frac{1}{4N} \sum_{i=1}^N \min^2\left\{\left(\frac{R_i}{N+1}\right)^{g(p)}, 1 - \gamma\right\} \text{Exact variance} \quad (2.6)$$

$$\xrightarrow{N \rightarrow \infty} \frac{(1 - \gamma)^2}{4} \left[1 - \left(\frac{2g(p)}{2g(p) + 1} (1 - \gamma)^{\frac{1}{g(p)}}\right)\right], \quad (2.7)$$

(Details in Appendix A.1, <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/333/1647>.)

c) It also holds that

$$\frac{\sqrt{N} \left(\bar{B}\bar{W} - \frac{(1 - \gamma)}{2} \left[1 - \left(\frac{g(p)}{g(p) + 1} (1 - \gamma)^{\frac{1}{g(p)}}\right)\right] \right)}{\sqrt{\frac{(1 - \gamma)^2}{4} \left[1 - \left(\frac{2g(p)}{2g(p) + 1} (1 - \gamma)^{\frac{1}{g(p)}}\right)\right]}} \quad (2.8)$$

converges to a standard normal distribution.

Monte Carlo Study

To study the empirical power of the proposed test, we selected five cases of the GLD with a moderate level of asymmetry, and to calibrate the size of the compared tests we selected the normal distribution approximated by the GLD. In Table 1 are shown the parameters of these distributions

Table 1. Cases of the GLD

	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	α_3	α_4
Case 1	0	0.197454	0.134915	0.134915	0	3
Case 2	-0.116734	-0.351663	-0.13	-0.16	0.8	11.4
Case 3	0	-1	-0.1	-0.18	2.0	21.2
Case 4	3.586508	0.04306	0.025213	0.094029	0.9	4.2
Case 5	0	-1	-0.0075	-0.03	1.5	7.5
Case 6	0	1	0.00007	0.1	1.5	5.8

and the parameters of skewness α_3 and kurtosis α_4 , which show that the sampled distributions are right skewed and have greater kurtosis than the normal distribution. The corresponding densities are in Figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6.

We have compared the $\bar{S}$ -test, the $\bar{B}$ -test, the $\bar{B}\bar{W}_1$ -test and $\bar{B}\bar{W}_2$ -test, and we have included the $\bar{W}$ -test to calibrate the compared tests under the assumption of symmetry of the sampled distribution (case 1). In all cases, we used 0.05 as the significance level. The critical values for all compared tests were obtained from the normal distribution. For the

simulation study, we adapted an algorithm to R code from **Corzo and Babativa 2013**, described as follows: generate a uniform random number u and calculate

$$x_i^* = \lambda_1 + \frac{u_i^{\lambda_3} - (1 - u_i)^{\lambda_4}}{\lambda_2}, \quad i = 1, \dots, N.$$

To center the simulated observations calculate the median of the GLD as

$$\theta = \lambda_1 + \frac{0.5^{\lambda_3} - 0.5^{\lambda_4}}{\lambda_2},$$

and then center the data by $x_i = x_i^* - \theta$ so that $x_1, \dots, x_N$ has zero median.

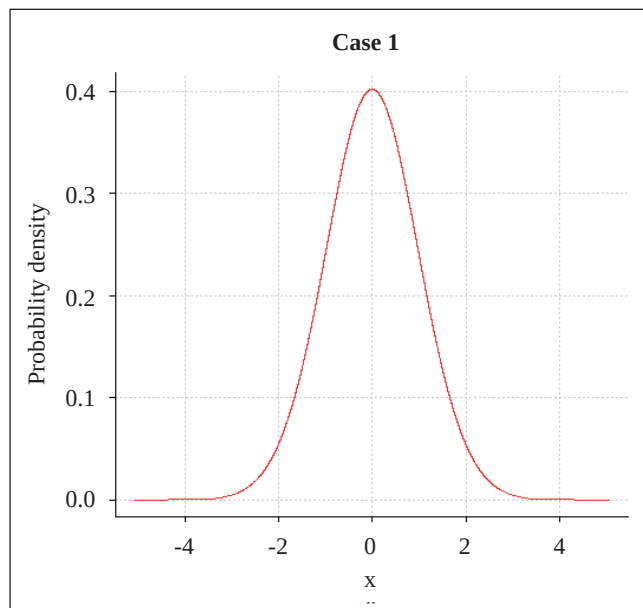


Figure 1. Density function for case 1 of the GLD

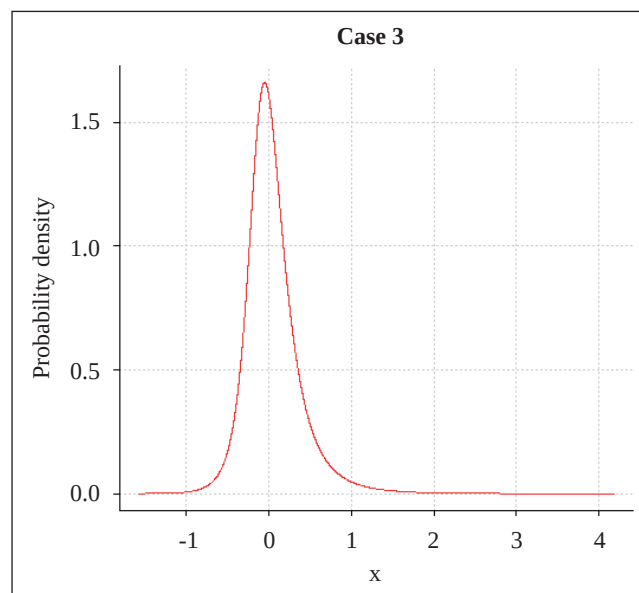


Figure 3. Density function for case 3 of the GLD

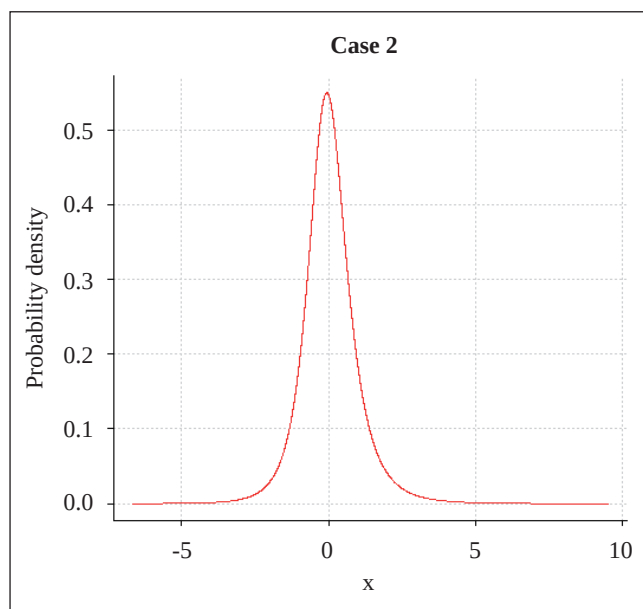


Figure 2. Density function for case 2 of the GLD

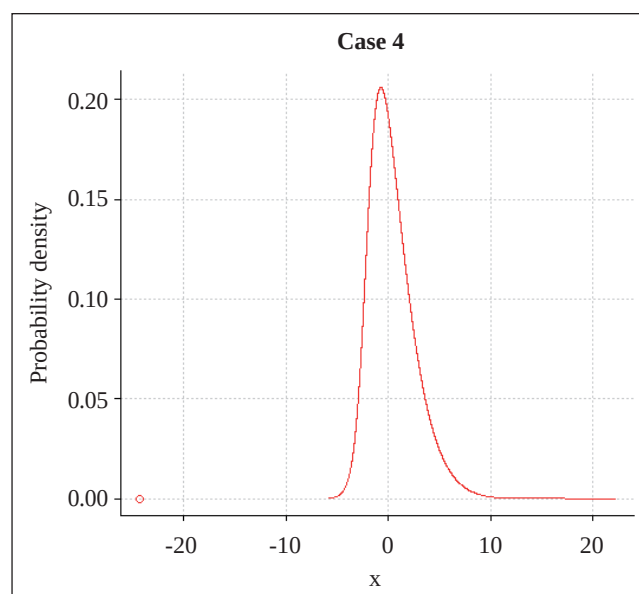


Figure 4. Density function for case 4 of the GLD

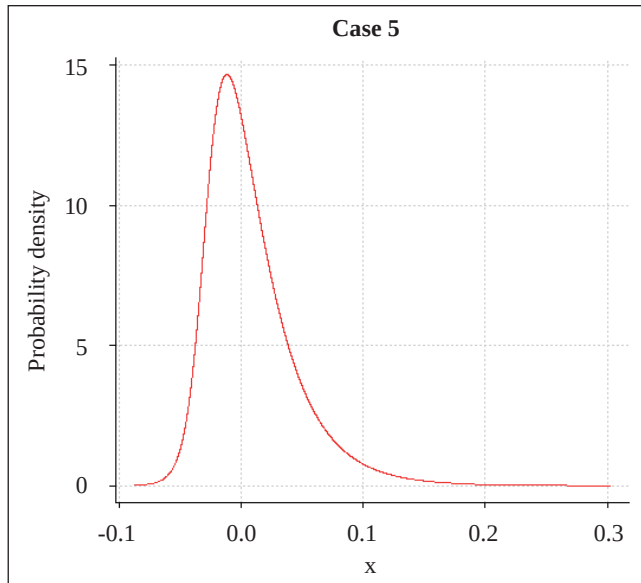


Figure 5. Density function for case 5 of the GLD

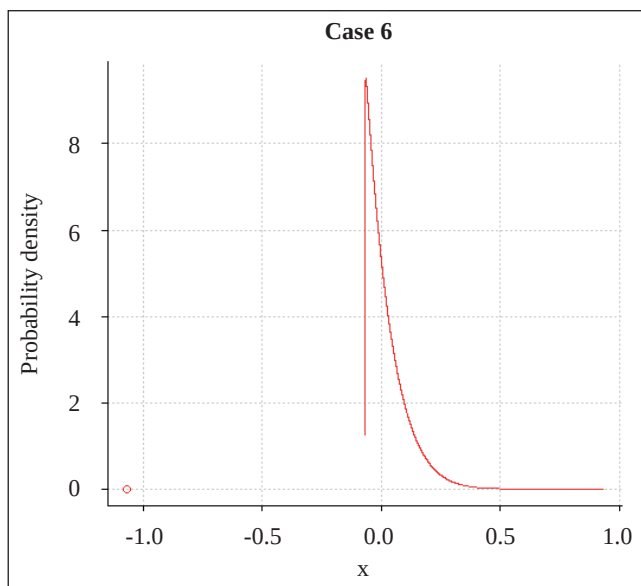


Figure 6. Density function for case 6 of the GLD

To calculate the empirical power of the compared tests, 1000 samples of size 30 were selected from each of the GLD cases, and we used the following values of the winsorization parameter: $\gamma = 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8$. The alternative hypothesis was simulated for values from $\theta = 0$ up to $\theta = 1$ for the cases two to five, and up to $\theta = 1.2$ for the calibration case one, with steps of size 0.2. The values of p were calculated as in **Baklizi 2005**, from the modified test of **Corzo and Babativa 2013**.

Table 2 contains the empirical powers of the thirteen compared tests. In the calibration case 1, it can be noted that none of the tests reaches the significance level, excluding

$\overline{BW}_2(0.8)$, and they reach the maximum power for $\theta = 1$ or 1.2. Furthermore all $\overline{BW}$ -test show greater empirical powers than the $\overline{S}$ -test. Moreover, the $\overline{BW}_2(0.1)$, and $\overline{BW}_2(0.2)$, show empirical powers greater than those of the $\overline{B}$ -test. In cases 2 to 6, the twelve compared tests tend to show an empirical size slightly greater than the nominal size 0.05. However, the empirical sizes of $\overline{BW}_1(0.4)$, in case 2, $\overline{BW}_1(0.8)$, in case 3, $\overline{BW}_1(0.6)$, in cases 4 and 5 are nearer to the nominal size 0.05 than the empirical size of the $\overline{B}$ -test. Furthermore, for case 6, the empirical size of the $\overline{BW}_1$ -test, for any of the five values of γ , are lower or equal to the empirical size of the $\overline{B}$ -test.

Moreover, the empirical sizes of the tests $\overline{BW}_2(0.1)$ and $\overline{BW}_2(0.2)$ in case 2, are slightly lower than that of the $\overline{B}$ -test, but the empirical power of the $\overline{BW}_2$ -test is greater than the empirical power of the $\overline{B}$ -test, in both cases. In case 3, the $\overline{BW}_1(0.8)$, shows an empirical size nearer to the nominal size than the $\overline{B}$ -test, and its empirical power is very near to that of the $\overline{B}$ -test. In case 4, the $\overline{BW}_2(0.8)$ and $\overline{BW}_1(0.6)$ tests have considerably lower empirical size than the $\overline{B}$ -test. In case 5, the empirical size of the $\overline{BW}_2$ -test are lower than the empirical size of the $\overline{B}$ -test; furthermore, the empirical size of the $\overline{BW}_1(0.6)$ tests is nearer to the nominal size than that of the $\overline{B}$, although his empirical power is slightly lower than that of the $\overline{B}$. Finally in case 6, the tests $\overline{BW}_1(0.4)$, $\overline{BW}_1(0.6)$, $\overline{BW}_2(0.6)$, and $\overline{BW}_2(0.8)$, reach the exact nominal size, and their powers are almost equal to the empirical powers of the $\overline{B}$ -test.

It can be noted also that the power decreases with increasing of the winsorization parameter. This is due to the fact that the more observations are trimmed, the fewer information about the parameter of interest there is in the test statistic. That means, the object of the winsorization is exaggerated at the point that the relevant information about the value of theta is lost.

To implement the test in applications we suggest the following steps:

- Test the symmetry of the data with the runs test by **Corzo and Babativa 2013** or some other convenient test for symmetry to obtain the value of p for the test statistic in (2.3).
- Calculate the test statistic for the data.
- Perform the test of H_0 in (1.1).

Conclusions and Discussion

In all studied cases there is at least one $\overline{BW}$ -test with empirical size nearer the nominal size, with greater empirical power than the $\overline{S}$ test and almost as powerful as the $\overline{B}$ -test.

In the calibration case, all proposed tests are well behaved in terms of their empirical powers and sizes, to the point that their empirical powers are greater that of the $\overline{S}$ -test and are very near to the empirical powers of the $\overline{W}$ -test. Additionally, the $\overline{BW}_2(0.1)$, and $\overline{BW}_2(0.2)$ -tests reach better empirical powers than the $\overline{B}$ -test.

In cases 2 and 3 the empirical power of the test $\overline{BW}_2(0.2)$, overtakes that of the other tests, in cases 4, 5 and 6

Table 2. Empirical Powers and Sizes of the Compared Tests

$\alpha = 0.05$		$\overline{BW}_1(\gamma)$								$\overline{BW}_2(\gamma)$				
Sampled distribution	Θ	$\overline{W}$	$\overline{S}$	$\overline{B}$	$\overline{BW}_1(0.1)$	$\overline{BW}_1(0.2)$	$\overline{BW}_1(0.4)$	$\overline{BW}_1(0.6)$	$\overline{BW}_1(0.8)$	$\overline{BW}_2(0.1)$	$\overline{BW}_2(0.2)$	$\overline{BW}_2(0.4)$	$\overline{BW}_2(0.6)$	$\overline{BW}_2(0.8)$
Case 1	0	0.031	0.044	0.031	0.034	0.034	0.041	0.047	0.046	0.034	0.037	0.041	0.043	0.051
	0.2	0.269	0.217	0.251	0.247	0.250	0.249	0.246	0.237	0.257	0.253	0.261	0.259	0.247
	0.4	0.667	0.540	0.624	0.623	0.621	0.599	0.576	0.547	0.644	0.637	0.627	0.613	0.570
	0.6	0.927	0.833	0.890	0.886	0.884	0.870	0.857	0.843	0.911	0.903	0.884	0.874	0.854
	0.8	0.991	0.960	0.980	0.980	0.980	0.974	0.971	0.964	0.990	0.986	0.980	0.977	0.967
	1	1	0.997	1	1	1	0.999	0.999	0.997	1	1	1	1	0.997
	1.2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Case 2	0		0.061	0.060	0.061	0.060	0.056	0.059	0.061	0.059	0.059	0.063	0.061	0.061
	0.2		0.324	0.361	0.364	0.370	0.367	0.350	0.339	0.381	0.386	0.394	0.374	0.343
	0.4		0.756	0.816	0.807	0.800	0.783	0.773	0.763	0.840	0.841	0.829	0.804	0.773
	0.6		0.974	0.983	0.983	0.981	0.984	0.983	0.977	0.991	0.993	0.990	0.984	0.980
	0.8		0.994	0.999	0.999	0.997	0.994	0.994	0.994	0.999	0.999	0.999	0.997	0.994
	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Case 3	0		0.050	0.054	0.056	0.054	0.054	0.054	0.051	0.060	0.057	0.059	0.057	0.054
	0.2		0.373	0.414	0.411	0.406	0.400	0.383	0.376	0.439	0.429	0.424	0.406	0.379
	0.4		0.834	0.857	0.854	0.850	0.846	0.844	0.840	0.877	0.881	0.863	0.847	0.843
	0.6		0.993	0.996	0.996	0.996	0.996	0.994	0.993	0.996	0.996	0.996	0.996	0.993
	0.8		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Case 4	0		0.059	0.069	0.067	0.067	0.064	0.059	0.060	0.079	0.077	0.071	0.063	0.060
	0.2		0.250	0.280	0.273	0.267	0.259	0.256	0.253	0.324	0.304	0.281	0.261	0.256
	0.4		0.657	0.709	0.700	0.686	0.671	0.661	0.659	0.746	0.727	0.699	0.680	0.663
	0.6		0.943	0.957	0.954	0.951	0.946	0.943	0.943	0.963	0.961	0.954	0.949	0.943
	0.8		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Case 5	0		0.051	0.057	0.056	0.054	0.053	0.051	0.053	0.056	0.056	0.054	0.053	0.053
	0.2		0.294	0.323	0.313	0.310	0.303	0.300	0.294	0.346	0.337	0.319	0.309	0.299
	0.4		0.756	0.777	0.773	0.764	0.761	0.756	0.756	0.801	0.790	0.776	0.764	0.756
	0.6		0.977	0.980	0.979	0.979	0.977	0.977	0.977	0.983	0.981	0.981	0.977	.977
	0.8		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Case 6	0		0.049	0.051	0.051	0.051	0.050	0.050	0.049	0.061	0.056	0.051	0.050	0.050
	0.2		0.279	0.284	0.280	0.280	0.280	0.279	0.279	0.311	0.300	0.280	0.280	0.279
	0.4		0.760	0.763	0.761	0.760	0.760	0.760	0.760	0.771	0.766	0.763	0.760	0.760
	0.6		0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
	0.8		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

the empirical power of the test $\overline{BW}_2(0.1)$, overtakes that of the other tests. We recommend the use of the $\overline{BW}_1(0.4)$ and $\overline{BW}_1(0.8)$, in cases 2 and 3 respectively. For cases 4, 5 and 6, the suggested tests are the $\overline{BW}_2(0.6)$.

To discussion, note that, with exception of the $\overline{S}$ -test in cases 2 and 4 all other compared tests show tendency to be

biased, but this tendency is lower for the $\overline{BW}_1$ -test. This can be due to the functional form of $g(p)$, to the used test to select the value of p or to possible dependence between γ and p .

A second topic to discuss is for the applications due that when we apply the procedure explained in the last comment of the Monte Carlo study, we are not able to know if the

sampled distribution is one of the five cases of the GLD analyzed, and that means that we do not know the empirical power of the location test. To know this is necessary to carry out a similar study as the here done.

Supplemental materials

Appendix. A. The Generalized Lambda Distribution (GLD).
B. Proofs. Conditional Mean and Variance of the Proposed Test Statistic under H_0 . See appendix in: <http://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SupFile/333/1647>

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Baklizi, A.** 2005. A Continuously Adaptive Rank Test for Shift in Location, *Australian & New Zealand Journal of Statistics* 47 (2): 203-209.
- Corzo, J. and Babativa, G.** 2013. A Modified Runs Test for Symmetry, *Journal of the Statistical Computation and Simulation* 83 (5): 984-991.
- Hajek, J.** 1999. *Theory of Rank Test*, 2nd edition, Academic Press, New York.
- Hettmansperger, T.** 1984. *Statistical Inference Based on Ranks*, John Wiley & Sons, New York.
- Karian, Z. A. and Dudewicz, E. J.** 2000. *Fitting Statistical Distributions: The Generalized Lambda Distribution and Generalized Bootstrap Methods*, CRC Press, Boca Ratón FL.
- Lemmer, H.** 1987. A Test for the Median, Combining the Sign and the Signed Rank Tests, *Comm. Statist. Simulation Comput* 16 (4): 621-627.
- Lemmer, H.** 1993. Adaptive Tests for the Median, *IEEE Trans. Reliability* 42 (4): 442-448.
- Randles, R., Fligner, M., Policello, G. and Wolfe, D.** 1980. An Asymptotically Distribution-Free Test for Symmetry versus Asymmetry, *Journal of the American Statistics Association* 75 (369): 168-172.

Correlación difusiva de la corriente de espín y electrones itinerantes en sistemas magnéticos confinados

Diffusive correlation for spin current and itinerant electrons in confined magnetic systems

Hernán Vivas Calderón

Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, A.A. 127, Col.

Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 40(154):34-42, enero-marzo de 2016

doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.296>

CORRIGENDUM

La ecuación (10) y el apéndice II deben leerse respectivamente como:

$$G^{3D\pm}(\mathbf{r}, \mathbf{r}'; t) = |\mathbf{r} - \mathbf{r}'|^2 + 2b_{\pm}(z - z')t + b_{\pm}^2 t^2 - 4a_{\pm}^2 t^2 \bar{\omega}_H^{\pm}.$$

Apéndice II

En notación simplificada, la solución a la ecuación homogénea $\hat{L}^{\pm} m^{\pm} = 0$ [Cfr. Ec. (8)] toma la forma: $m^{\pm}(q, t) \sim \exp[-M_q t]$, con $M_q = a_{\pm}^2 q^2 - ib_{\pm} q_Z - \bar{\omega}_H^{\pm}$. Integrando en el dominio del momentum, se obtiene el resultado (9), con $\mathbf{R} = \mathbf{r} - \mathbf{r}'$:

$$\int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \exp[-M_q t + i\mathbf{q} \cdot \mathbf{R}] dq_X dq_Y dq_Z \sim K_{\infty}^{3D\pm}(\mathbf{r}, \mathbf{r}'; t).$$

Enfoque y alcance

La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN) es una publicación periódica trimestral, multidisciplinaria, que tiene como objetivo dar a conocer artículos inéditos de investigación de alta calidad.

La Revista publica artículos científicos en las áreas de ciencias físicas (física, físico-química, materiales y matemáticas); ciencias naturales (biología, botánica, zoología, ecología, bioquímica, química); ciencias de la tierra (geología, medio ambiente); ciencias humanas (filosofía, sicología, antropología, sociología); ciencias biomédicas y ciencias químicas, está reseñada en varios índices nacionales e internacionales tales como Actualidad Iberoamericana, Agris, CIRS (International Center for Scientific Research), Current Mathematical Publications, EBSCO, Dialnet, Historia Mathematica, Index Kewensis, Latindex, Mathematical Reviews, MathSciNet (on line data base), PERIODICA, SciELO, Online Computer Library Center – OCLC, Zentralblatt für Mathematik, Zoological Record, RLG. Nacionalmente se encuentra reseñada en la base de datos Publindex de Colciencias.

La página web de la Revista (www.raccefyn.co) permite el acceso libre y abierto a los artículos con el fin de contribuir a la visibilidad, al acceso y a la difusión de la producción científica.

El primer número se publicó en diciembre de 1936, año de creación oficial de la Academia, bajo la dirección del doctor Jorge Álvarez Lleras y hasta el momento se han editado 37 volúmenes.

Criterios para publicar

Indicaciones a los autores

Los autores deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Los trabajos presentados deberán ser originales en inglés o español y de alto nivel sobre aspectos relacionadas con las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Todos los trabajos aceptados quedan como propiedad permanente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de manera que la misma podrá publicarlos en formato físico y electrónico, incluyendo internet (Ver transferencia de derechos de autor).
2. El autor de la correspondencia debe aceptar mediante comunicación escrita firmada que el manuscrito es un trabajo original y no ha sido publicado por ningún medio, ni está siendo evaluado por otra publicación impresa o electrónica y que ha sido aceptado por todos los autores para su publicación en la Revista y que los derechos de

autor no han sido cedidos a nadie con anterioridad (Ver formato declaración originalidad, conflicto de intereses y sesión de derechos de autor en la página web de la Revista: <http://www.raccefyn.co>).

3. La participación de los autores en el trabajo debe ser suficiente como para aceptar públicamente la responsabilidad de los aportes de cada uno. El orden de los autores en la publicación deberá ser una decisión compartida de los coautores, que deben ser capaces de explicar el orden en el que aparecen sus nombres.
4. De acuerdo con el ICMJE, todos los colaboradores que no cumplen los criterios de autoría o hayan realizado contribuciones menores deben aparecer en la sección de agradecimientos, pero no ser citados como autores. Las ayudas económicas y materiales deben aparecer en los agradecimientos.
5. La terminología física, química y bioquímica, debe seguir las normas del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (IUPAC). Deben usarse las abreviaturas internacionales convencionales y las unidades del Sistema Internacional (SI). Los nombres científicos se deben escribir con la forma recomendada por “Internacional Code of Botanical Nomenclature”

Envío y presentación del manuscrito

Los artículos deben enviarse a través de <http://www.raccefyn.co>

El manuscrito, incluyendo además de la página del título, el resumen, las referencias, las tablas y sus títulos, las leyendas de figuras, deben estar escritos en procesador de palabras Word a doble espacio, usando la fuente Arial de tamaño 12, sin justificar el texto. No olvide usar la numeración en todo el manuscrito.

Los manuscritos deben incluir la siguiente información:

1. Una página en Word con los nombres y apellidos (nombre completo y apellido, si desea poner el segundo apellido, debe ir separado por un guion) de todos los autores (sin cargos, ni grado académico), filiaciones y correos electrónicos.
2. Título completo del manuscrito en español e inglés.
3. Título corto
4. Resumen en español y en inglés que no supere 250 palabras.
5. Palabras clave en español y en inglés que no superen en número a seis.

6. Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico y dirección electrónica.
7. Direcciones electrónicas de todos los coautores.
8. Texto, referencias y tablas en un mismo archivo junto con las leyendas de las figuras.
9. Figuras en formato jpg o tiff.

Estructura del manuscrito

Introducción: se debe mostrar el marco teórico en el cual se inscribe el tema de la investigación, propósito del artículo y justificación del estudio, indicando además la delimitación de la pregunta problema.

Materiales y métodos: se describirán los sujetos de observación o experimentación, aparatos o dispositivos y la metodología empleada en el estudio.

Análisis estadístico: señalar los métodos estadísticos utilizados y cómo se han analizado los datos.

Resultados: deben presentarse en secuencia lógica, con las tablas y figuras acompañadas de una explicación y análisis de las mismas.

Discusión: debe hacerse énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio, contrastando los resultados con la información pertinente disponible en la literatura actualizada y relacionar las conclusiones con los objetivos propuestos. Se deben incluir las implicaciones y limitaciones de los hallazgos y comparar las observaciones relevantes con las de otros estudios.

Los resultados y la discusión pueden presentarse también en forma combinada. En cuyo caso la sección se denominará Resultados y Discusión.

Conclusiones: Resumen de la investigación y su estado actual. Aquí se pueden plantear objetivos futuros a seguir en la línea de investigación.

Citación: todas las referencias bibliográficas se insertarán en el texto y deberán llevar siempre el apellido del autor o autores y el año de publicación entre paréntesis. Si el apellido del autor o autores forma parte de la estructura formal de la frase, sólo se pondrá entre paréntesis la fecha; por ejemplo: Pérez y Ribas (1996). Si son tres, cuatro o cinco autores se pondrán los apellidos de todos los autores la primera vez que se referencian en el texto, y después sólo se pondrá el apellido del primer autor seguido de *et al.* Si son seis o más autores sólo se pondrá el apellido del primero añadiendo "*et al.*", desde la primera vez que se referencian. Si existieran varias referencias de un autor en un mismo año se consignarán con las letras a, b, c, etc., después del año.

Cita directa o textual

Si la cita textual tiene menos de 40 palabras se presenta entre comillas dentro del texto y al final se incluye entre paréntesis el apellido, año de publicación y la página de donde se extrajo.

Ejemplo:

El objetivo de los estudios explicativos es "responder a las causas de los eventos físicos o sociales" (Hernández, Fernández y Baptista, 1991, p.66).

Si la cita comprende más de 40 palabras se ubica en un bloque independiente del texto, sin comillas y dejando una sangría al lado izquierdo.

Ejemplo:

Las revistas científicas son sistemas contextuales de comunicación, de difusión académico investigativa y fortalecimiento de competencias científicas (escritura, investigación, evaluación, edición), en los cuales la comunidad académica comparte creencias, orientaciones y el compromiso de contribuir, utilizar y hacer avanzar el conocimiento de forma colaborativa y cooperativa. (Mesa & Sánchez, 2010, p.4).

Parafraseo o resumen

Se debe mencionar al autor y la fecha.

Ejemplo:

Según Sánchez (1991), el cemento es uno de los materiales más populares e indispensables en la construcción actual.

Existen dos tipos de aprendizaje: la recepción pasiva de conocimientos y el redescubrimiento de la realidad (Piaget, 1980).

Si se cita un documento escrito entre tres y cinco autores, deben escribirse los apellidos de todos la primera vez que se citen y después incluir el apellido del primer autor seguido de "*et al.*" (sin cursiva y con punto después del "*al.*").

Si se cita un documento escrito por seis o más autores, se presenta la primera cita con el apellido del primer autor seguido de "*et al.*". En la lista de referencias escriba las iniciales y apellidos de los primeros seis autores y para los restantes utilice "*et al.*"

Lista de referencia

Es el listado alfabético (según el primer apellido de los autores citados en negrilla) de las fuentes consultadas y citadas durante la redacción de un trabajo. La lista de referencias es obligatoria. Se deben citar de la siguiente manera:

Libros

Autor. Año. Título completo. Edición. Editorial, lugar de publicación, página

Ejemplo:

Ramírez J. E., S.J. 1975. Historia de los terremotos en Colombia. Segunda edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, 250 pp.

Revista seriada

Autor, A.A., B.B. Año. Título del artículo. Título de la revista publicación seriada, volumen (número entre paréntesis), páginas del artículo.

Ejemplo:

Ríos, L., Riva, F., Canaquire, L. 2008. Reporte situacional del tráfico ilegal de fauna silvestre en la Rev. Acad. Colomb. Cienc. 38(147):218-22.

Artículo de revista electrónica

Ejemplo:

Sarabia A., Cifuentes H., Dimate M. 2006. Estudio macrosísmico del sismo ocurrido el 12 de julio de 1785. Ingeominas. Bogotá. Fecha de consulta. Disponible en: <http://aplicaciones1.ingeominas.gov.co/sicat/html/Metadato.aspx?CID=239714>

Artículo de periódico impreso:

Ejemplo:

Duque, J. G. 7 de junio de 2012. Antioquia reasume competencia para decidir futuro del túnel. El Colombiano, pp. 10.

Tesis

Ejemplo:

Gómez Capera A.A. 1998. *Atenuación de la intensidad sísmica para el territorio colombiano*. Tesis de grado en Física, Facultad de Ciencias, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Congresos y simposios

Ejemplo:

Sánchez Upegui, A. A. Octubre 2010. *Aplicación de la lingüística textual en los criterios de evaluación de artículos académicos e investigativos*. En Simposio Nacional de Pedagogía y Currículo. Red Colombiana de Pedagogía, Medellín

Trabajos inéditos o publicaciones informales

Si el trabajo está disponible en un sitio web institucional o personal agregue el nombre de la institución y URL.

Ejemplo:

Jaramillo, G. 2012. El patrimonio arquitectónico. Manuscrito inédito. Departamento de Artes, Universidad Latinoamericana. Disponible en: <http://..>

Materiales legales

En cuanto a las citas en el texto se proporcionan los mismos datos de cualquier referencia, autor, año y en lo posible

número de página, si no hay un autor identificado, se anotan las primeras palabras del título y la fecha.

Ejemplo:

Colombia. Ministerio de Educación Nacional. Ley 23 de 1982 sobre derechos de autor.

Tablas y figuras

Las tablas y cuadros se denominan tablas y llevan numeración arábiga de acuerdo con el orden de aparición. El título correspondiente se coloca en la parte superior de la tabla y las notas en la inferior. Los símbolos para unidades deben aparecer en el encabezamiento de las columnas. Si es necesario exponer alguna información, utilice las letras minúsculas del alfabeto según orden de aparición en la respectiva tabla: a, b, c, d, e, etc.

Las fotografías, gráficos, dibujos y esquemas se denominan figuras, se enumeran según el orden de aparición y sus leyendas se escriben en hoja separada. Si se trata de micro fotografías debe indicarse el aumento utilizado. Las personas, o sus nombres, no deben ser identificables en las fotografías de lo contrario se requiere permiso escrito para su publicación.

Cuando las tablas y figuras hayan sido tomadas de revistas o libros, sean impresos o electrónicos, se debe especificar la fuente y adjuntar autorización de la respectiva publicación para su reproducción.

Agradecimientos

Podrán ser expresados a personas o entidades que hayan ayudado a la realización del trabajo. Se mencionarán las personas y el tipo de ayuda aportada, así como las entidades, instituciones o fundaciones que hayan financiado o suministrado materiales. En caso de proyectos de investigación financiados será suficiente con mencionar el código de registro y la entidad, institución o fundación que lo apoya económicamente.

Proceso de revisión por pares

Se recibirán solo los artículos que cumplan con todos los requisitos que se mencionan en las indicaciones a los autores. Los artículos serán evaluados en primera instancia por el Editor y el Comité Editorial de la Revista.

Cada manuscrito será enviado a dos especialistas en el tema, que evaluarán y enviarán sus recomendaciones. Este proceso de revisión tendrá una duración de 20 días.

El editor informará a cada uno de los autores el avance de su trabajo en el proceso de evaluación.

Los pares académicos adoptan tres opciones: a) aceptación sin modificaciones; b) aceptación con correcciones; c) no aceptación. En caso de desacuerdo de los pares, el original será enviado a una tercera evaluación.

En cualquiera de las opciones, el autor será informado y deberá realizar las modificaciones correspondientes en el manuscrito y enviarlo en las cuatro semanas siguientes. Además deberá enviar un documento en el que responda a todas las observaciones hechas por los evaluadores.

Cuando el autor demore más de 30 días en responder a las sugerencias de los evaluadores, el artículo no será considerado para publicación en el siguiente número de la revista. En caso de sobrepasar dicho plazo, se entenderá que los autores retiran el trabajo en su forma actual y, si se remite de nuevo, el Comité Editorial de la Revista podrá considerar que se trata de un nuevo trabajo.

Los trabajos aceptados son propiedad de la Revista ACCEFYN y podrán ser reproducidos total o parcialmente por la Revista.

La Revista no se hace responsable de los contenidos científicos ni de las implicaciones legales de los artículos publicados.

Corrección de estilo y publicación del manuscrito

Aceptados los artículos estos se enviarán a corrección ortotipográfica. Se usará la herramienta de control de cambios de Word, en la cual quedará registro de cada una de las sugerencias realizadas y los comentarios o dudas para que el autor o autores aprueben y contesten.

La versión corregida deberá ser enviada nuevamente para su aprobación definitiva en un plazo mínimo de 48 horas. El manuscrito deberá ir con una carta al editor, informando cuales correcciones fueron procesadas. El editor le informará al autor la fecha y el número del volumen en que será publicado.

Rectificaciones y correcciones de errores

Las rectificaciones sobre la información suministrada por parte de los autores, se harán en el número inmediatamente posterior al anuncio de las mismas y serán responsabilidad de los mismos autores. La Revista se encargará de publicar una nota aclaratoria a manera de erratas. En el caso que sean necesarias mejoras y corrección de errores ortotipográficos, de manejo visual de la información o imprecisiones involuntarias, el (los) autor(es) podrán comunicarse al correo de la Revista para que puedan realizarse en las versiones electrónicas de la Revista.

Falsificaciones de artículos

Si en el proceso editorial se encuentra falsificación, omisión de datos, duplicidad del artículo o plagio, se devolverá el original al autor con la debida notificación a su institución patrocinadora, centro de investigación o universidad.

Conflicto de intereses

Si los autores o coautores, editores o revisores (evaluadores) tienen algún conflicto de interés que pueda de alguna manera

influir en la transparencia u objetividad en el proceso de revisión por pares y publicación, éste debe ser declarado.

Los conflictos de interés más evidentes son los llamados conflictos financieros, resultado de relaciones entre empleador-empleado, financiaciones y patentes, así como también honorarios, consultorías, investigación pagada por compañías que dependen de los resultados investigativos, etc.

También existen los conflictos personales resultado de amistades o animadversiones, competencias académicas y pasiones en el campo intelectual o moral (por ej. parientes en una compañía que se beneficiaría de los resultados que se van a publicar, el uso de los resultados publicados para promoción inmediata basada en el artículo publicado, creencias religiosas que estén en conflicto directo con la investigación que se va a publicar, etc.

Transferencia de derechos de autor

En caso de que el artículo enviado sea aprobado para publicación, el autor principal en nombre propio y en el de los coautores o el autor principal y los coautores deben ceder los derechos de autor del artículo mencionado a la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), excepto en los siguientes casos:

a) Los autores y coautores retienen el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, presentaciones orales y distribuir a algunos colegas impresos de su propio trabajo publicado, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente a la revista de ACCEFYN. También pueden publicarse el título del trabajo, resumen, tablas y figuras del trabajo en los correspondientes sitios web de autores o de sus empleadores, también dando el crédito a la revista de ACCEFYN.

b) Si el trabajo ha sido realizado por contrato, el empleador del autor tiene el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, reproducir o distribuir en formato impreso el trabajo publicado, de una manera segura y para el uso exclusivo de sus empleados.

c) Si a la revista de ACCEFYN se le solicitara permiso individual por terceras personas para usar, imprimir o publicar específicamente artículos ya publicados, deberá obtenerse el permiso expreso del autor y coautores del trabajo y/o del empleador con excepción del uso en salones de clase, bibliotecas o reimpresos en un trabajo colectivo.

d) La revista ACCEFYN se reserva el posible uso en la portada de la revista, de figuras sometidas a revisión junto con los manuscritos.

e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN).

Criteria for publication

Information for Authors

The authors must adhere to the following requirements:

1. The works submitted must be original, in English or Spanish, and of high quality in an area related to the Exact, Physical or Natural Sciences. All works accepted will remain permanent property of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences so that such work can be published in hard copy or in electronic format, including web posting. (See transference of authors' rights).
2. The author submitting the work must confirm via written and signed communication that the manuscript represents original work and that it has not been published in any form, and that it is not under review by any other publisher for publication in hard copy or in electronic format and that publication in the Revista has been agreed by all authors, and the authors' rights have not been previously granted to a third party. (See form for declaration of originality, conflicts of interest, and authors' rights).
3. The participation of the authors in the submitted work must be materially sufficient so as to share in the public responsibility of its contents. The order of appearance of the each of the authors of the publication must reflect a decision shared by all the co-authors, each of whom must be prepared to justify the order in which his name appears.
4. In accordance with the ICMJE (www.raccefyn.co), all collaborators who do not comply with the criteria for authorship, or who have realized minor contributions must be included in the Acknowledgement Section, and must not be cited as authors. The Acknowledgement Section must also include reference to any financial and economic assistance.
5. The terminology must adhere to the International Code for Botanical Nomenclature. The physical, chemical or biochemical terminology norms of the Nomenclature Committee of International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC). The abbreviations must follow the international conventions as well as the units must conform to the International System (SI). The scientific names must be written in the format recommended by the "International Code of Botanical Nomenclature".

Submission and Presentation of manuscript

The manuscripts should be submitted using the website of the Academy: <http://www.accefyn.co>

The manuscript, including the title page, the abstract, tables with titles, graphics with descriptive legends, must be prepared in Microsoft WORD processor in double space. Use Areal font size 12 without justification. Do not forget to number the entire manuscript.

The manuscripts must contain the following information:

1. A page in Microsoft Word with the names and surnames (complete name , first and second family name separated by a hyphen) of all the authors (without positions, and without academic degrees), academic affiliations and email addresses.
2. Complete manuscript title in Spanish and English.
3. Short Title
4. Abstract in Spanish and English using 250 or less words
5. Key words in Spanish and English not containing more than 6 words.
6. Name of the author responsible for all correspondence, including his complete address, telephone number and email address.
7. Electronic addresses of all the co-authors.
8. Text, bibliographical references and tables in the same file together with the legends for all the figures.
9. Figures must be in jpg or tiff format.

Manuscript Structure

Introduction: there must be a clear description of the theoretical framework of the theme of the investigation, purpose of the article and justification of the study, indicating the limitation of the problem question.

Materials and methods: a description of the object of observation or experimentation, instruments or devices and the methodology employed in the study.

Statistical analysis: indicate the statistical methods used and the data analysis employed.

Results: these must be presented in a logical sequence, with the accompanying tables and figures with their respective explanations and analysis.

Discussion: emphasis must be given to those aspects of the study which are new and important, contrasting the results with the relevant information available in the recent literature and relate the conclusions with the proposed objectives. Mention must be made of the implications and limitations of the results found and a comparison of the relevant observations with that of other studies.

The results and the discussion may also be presented in a combined form.

Conclusion: an up to date survey of the investigation. Mention can be made here of future objectives of the same line of investigation.

Bibliography: these citations must be verifiable, enumerated and referred to in the body of the article enclosing each number with square brackets. When a citation is made, indicate in the text the author, the year and page in the following way:

Direct or textual quotation

If the textual citation has under 40 words it should be given in between quotation marks within the text and at the end it should include in parenthesis the surname, the year of publication and the page from which it was extracted.

Example:

The objective of the explicative studies is “to respond to the causes of the physical or social events” (Hernández, Fernández and Baptista, 1991, p.66)

If the citation goes over 40 or more words it must be placed in a separate block independent of the text, without quotation marks allowing for bleeding on the left margin.

Example:

The scientific journals are contextual system of communication, of academic or investigative diffusion and strengthening of scientific competence (writing, investigation, evaluation, editing), in which the academic community shares beliefs, orientation and the commitment to contribute, use and advance the formal knowledge of collaboration and cooperation. (Mesa & Sánchez, 2010, p.4)

Paraphrase or summary

Mention must be made of the author and the date.

Example:

According to Sánchez (1991), cement is one of the most popular and indispensable materials in today's construction.

There exist two types of learning: the passive reception of knowledge and the rediscovery of reality (Piaget, 1980)

If a cited document has between three or five authors, the surnames of all the authors must be given the first time they are cited and afterwards include the surname of the first author followed by “et al.” (not in italics and with a period after the “al.”).

If a cited document has six or more authors, place the first citation with the surname of the first author followed by “et al.” In the bibliographical list write the initials and surnames of the first six authors and for the rest use “et al.”

Bibliographical list

It is the list, in alphabetical order (according to the first surname of the cited authors, which should be in bold) of the sources consulted and cited in the text of the article. It is mandatory to include the bibliographical list. It should be cited in the following way:

Books

Author. Year of publication. Title of the book. Edition. Publisher, place of publication, page(s).

Example:

Ramírez J. E., S.J. 1975. Historia de los terremotos en Colombia. Segunda edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá, 250 pp.

Article from periodical journal

Author, A.A., Author, B.B. Year. Title of the article. Title of the journal, volume (number in parenthesis), pages.

Example:

Ríos, L., Riva, F., Canaquire, L. 2008. Reporte situacional del tráfico ilegal de fauna silvestre en la en la región nororiental del Perú. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 38(147):218-22.

On line periodical article

Example:

Sarabia A., Cifuentes H., Dimate M. 2006. Estudio macrosísmico del sismo ocurrido el 12 de julio de 1785. Ingeominas. Bogotá. Date of query: (day, month, year). Available at: <http://aplicaciones1.ingeominas.gov.co/sicat/html/Metadato.aspx?CID=239714>

Newspaper article

Example:

Duque, J. G. 7 de junio de 2012. Antioquia reasume competencia para decidir futuro del túnel. El Colombiano, pp. 10.

Thesis

Example:

Gómez Capera A.A. 1998. *Atenuación de la intensidad sísmica para el territorio colombiano*. Tesis de grado en Física, Facultad de Ciencias, Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Congresses and symposia

Example:

Sánchez Upegui, A. A. Octubre 2010. *Aplicación de la lingüística textual en los criterios de evaluación de artículos académicos e investigativos*. In: Simposio Nacional de Pedagogía y Currículo. Red Colombiana de Pedagogía, Medellín

Unpublished manuscript or informal publications

If the work is available at an institutional or personal web site, please add the name and URL of the institution.

Example:

Jaramillo, G. 2012. El patrimonio arquitectónico. Manuscrito inédito. Departamento de Artes, Universidad Latinoamericana. Recuperado de <http://...>

Legal documents

Regarding the citations in the text, the same data included in all other references should be provided (author, year, and if available, the same page number). If there is no identifiable author, the first words of the title should be noted, as well as the date.

Example:

Colombia. Ministerio de Educación Nacional. Ley 23 de 1982 sobre derechos de autor.

Tables and graphics

The tables and frames are called tables and carry an arabic numeration in accordance with the order in which they appear. The corresponding title is placed on the upper part of the table and notes are placed in the lower part. Symbols for unit measures must appear in the column headings.

If it is necessary to display some information, use lower case letters from the alphabet according to the appearance of the table: a, b, c, d, e, etc.

Photographs, graphics, pictures or sketches are named figures, are enumerated in order of appearance, and their legends must be written in a separate page. With respect to microfiches, indicate the size of the augmentation used. People or their names should not be identifiable in photographs, unless written permission for their publication has been obtained.

When tables and figures have been taken from magazines or books, published in hard copy or electronically, specify the source and include the authorization for its reproduction from the respective publication.

Acknowledgments

These can be expressed to persons or entities who have aided in the realization of the work. Mention is made of persons and their type of aid provided, as well as to entities or institutions which have provided financial and material assistance. In case of investigative projects with financial support it suffices to mention the registry code and the entity, institution or foundation which provided the economic support.

The peer-review process

Only articles which comply with the requirements mentioned in the information for authors will be accepted. The articles

will be given their first evaluation by the Editor and the Editorial Committee of the Revista.

Each manuscript will be sent to two experts on the topic who will provide recommendations after review and evaluation. This process of revision will have a duration of 30 days.

The editor will inform each of the authors of the status of the process of evaluation of their work.

The academic peers will adopt one of three options: a) acceptance without modifications; b) acceptance with corrections; c) Deny acceptance. In case of disagreement among the peers, the original manuscript will be sent out for a third evaluation.

Under any of the three options, the author will be informed and must follow the corresponding modifications of the manuscript and return it within the following four weeks. In addition, the author(s) must provide a written document with answers to all the peers observations.

If the author takes more than 30 days to respond to the suggestions from the reviewers, the article will not be considered for publication in the next issue of the Revista. In case the response from the author takes longer than the allocated time, it is understood that the authors will retrieve the work in its present form and, if a new submission is made, the Editorial Committee of the Revista may treat it as a new work.

The works accepted for publication become property of the Revista ACCEFYN and may be reproduced in their entirety or partially by the Revista.

The Revista does not assume responsibility for the scientific content, nor for the legal implications of any of the published articles.

Publication of the manuscript

Once the article has been accepted, it will undergo a style and format revision which will bring it to its definitive version. The authors will receive the galley proofs in PDF format for the correction of errors before its printing. The corrected version must be returned for final approval within a period of 48 hours. The manuscript must be accompanied with a letter to the editor informing him of the corrections that were carried out. The editor will inform the author of the date and volume number in which the publication will appear.

Conflicts of interest

If the authors or co-authors, the editors or reviewers (evaluators) have some conflict of interest which may in any way influence the transparency and objectivity of the peer review process and publication, it must be so declared.

The most obvious conflicts of interest are those referred to as financial conflicts, which result between, employer-employee, investments and patents, as well as honoraria, consulting, paid investigation by companies which depend on the investigative results, etc.

There also exist personal conflicts arising from friendships, animosity, academic competencies and passions in the moral or intellectual field (for example relatives in a company which will benefit from the results to be published, the use of the results for immediate promotion based on the published article, religious beliefs which are in direct conflict with the investigation that will be published, etc).

Transfer of author rights

In case the article is approved for publication, the main author in representation of himself and his co-authors or the main author and his co-authors must cede the author rights of the corresponding article to the Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), except in the following cases:

a) The authors and co-authors will retain the right to revise, adapt, prepare derived works, oral presentations and distribution to some colleagues of reprints of their

own published work, as long as the corresponding credit is given to the Revista of ACCEFYN. It is also permissible to publish the title of the work, summary, tables and figures of the work in the corresponding web sites of the authors or their employers, also giving credit to the Revista of ACCEFYN.

b) If the work has been realized under contract, the author's employer has the right to revise, adapt, prepare derivative works, reproduce or distribute in hard copy the published work, in a secure manner and for the exclusive use of his employees.

c) If the Revista of ACCEFYN were approached for permission by a third party for using, printing or publishing specifically articles already published, the Revista of ACCEFYN must obtain the express permission of the author and co-authors of the work and/or of the employer with the exception of use in classrooms, libraries, or reprinted in a collective work.

d) The Revista of ACCEFYN reserves the possible use in its front cover of figures submitted with the manuscripts.

e) No other right, other than the author's right, can be claimed by the Revista of ACCEFYN.



MINEDUCACIÓN



**TODOS POR UN
NUEVO PAÍS**

PAZ EQUIDAD EDUCACIÓN