

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

LA ACADEMIA ES ÓRGANO CONSULTIVO DEL GOBIERNO NACIONAL

VOLUMEN XXXII

JUNIO DE 2008

NÚMERO 123

DIRECTOR DE LA REVISTA: PEDRO PRIETO



CONTENIDO - CONTENTS

	Pág.		Pág.
Bioquímica (Biochemistry)		[Nanomaterials: Quo Vadis? A prospective agenda for the Center of Excellence in New Materials] <i>Alfonso Reyes Alvarado, Gustavo Pedraza Camargo & Pedro Prieto</i>	213
Minireview and hypothesis: homology modelling of <i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera: Noctuidae) Aminopeptidase N receptor [Minirevisión e hipótesis: modelamiento por homología del receptor Aminopeptidasa N de <i>Spodoptera litura</i> (Lepidoptera: Noctuidae)] <i>Silvio Alejandro López Pazos & Jairo Alonso Cerón Salamanca</i>	139	Matemáticas (Mathematics)	
Botánica (Botany)		Métricas planas y el teorema de uniformización en toros mínimos de la esfera 3 dimensional [Plane metrics and the uniformization theorem on minimal tori in the three dimensional sphere] <i>Oscar Montaña, Oscar Perdomo & Nazly Salas</i>	235
Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora [Characterization of the causal agent of anthracnose in tamarillo, apple and blackberry] <i>Alegría Saldarriaga-Cardona, Jairo Castaño-Zapata & Rafael Arango-Isaza</i>	145	Inverse finite-type relations between sequences of polynomials [Relaciones inversas de tipo finito entre sucesiones de polinomios] <i>Francisco Marcellán & Ridha Sfaxi</i>	245
Ciencias de la Tierra (Earth Sciences)		Zoología (Zoology)	
Modelamiento geofísico de un área de la zona de Cerritos, Municipio de Pereira (Risaralda) [Geophysical modelling of an area of Cerritos, Pereira country] <i>Lina María Serna, Luis Montes & Carlos Vargas</i>	157	Evaluación del estado de poblaciones de bagre rayado <i>Pseudoplatystoma magdaleniatum</i> en la cuenca media del río Magdalena durante la temporada de subienda del 2004 [Population status of "bagre rayado" <i>Pseudoplatystoma magdaleniatum</i> on the middle Magdalena river basin during the 2004 migration period] <i>Mariangeles Arce H.</i>	257
Ecología (Ecology)		Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces [Neuroendocrinology and immunology in response to stress in fish] <i>Lilían M. Barandica C. & Luis Tort B.</i>	267
Evaluación de la calidad del agua de las microcuencas La Laucha, La Lejía y La Rastrojera utilizando los macroinvertebrados como bioindicadores, Municipio de Durania, Departamento Norte de Santander, Colombia [Water quality assessment of the basins La Laucha, La Lejía and La Rastrojera using aquatic macroinvertebrates as bioindicators, Municipio de Durania, Departamento de Norte de Santander, Colombia] <i>Jairo Contreras, Gabriel Roldán, Alexandra Arango & Luisa Fernanda Álvarez</i>	171	Geographic distribution of <i>Limnophys sulcatus</i> , <i>Rhinella castaneotica</i> and <i>Scinax cruentomus</i> (Amphibia: Anura) for Colombia [Distribución geográfica de <i>Limnophys sulcatus</i> , <i>Rhinella castaneotica</i> y <i>Scinax cruentomus</i> (Anfibia: Anura) para Colombia] <i>Cesar Malambo L. & Mario A. Madrid-Ordóñez</i>	285
Relaciones demanda-oferta de agua y el índice de escasez de agua como herramientas de evaluación del recurso hídrico colombiano. [Water demand-water availability relationship and water scarcity index as tools for water resources assessment in Colombia] <i>Efraín Antonio Domínguez Calle, Hebert Gonzalo Rivera, Raquel Vanegas Sarmiento & Pedro Moreno</i>	195	Vida Académica (Academic Life)	291
Física (Physics)		Constitución de la Academia (Members of the Academy)	305
Nanomateriales: ¿Quo Vadis? Una agenda prospectiva para el Centro de Excelencia de Nuevos Materiales -CENM-		Publicaciones de la Academia (Publications of the Academy)	307

MINIREVIEW AND HYPOTHESIS: HOMOLOGY MODELLING OF *SPODOPTERA LITURA* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AMINOPEPTIDASE N RECEPTOR

By

Silvio Alejandro López Pazos¹ & Jairo Alonso Cerón Salamanca^{1*}

Resumen

López Pazos, S. A. & J. A. Cerón Salamanca: Minireview and hypothesis: homology modelling of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) aminopeptidase N receptor. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 139-144, 2008. ISSN 0370-3908.

La aminopeptidasa N (APN) es un receptor para las proteínas Cry1 de *Bacillus thuringiensis*. Una APN de 108-kDa ha sido caracterizada in *Spodoptera litura*, aquí se determinó su estructura tridimensional; esta tiene 4 dominios estructurales. El dominio I es la región que reconoce a las toxinas Cry1, un loop de esta sección puede ser muy importante en este papel. Probablemente, el dominio II tiene funciones en la interacción proteínas Cry1-APN. El dominio III tiene una topología de sándwich y el dominio IV es una superhélice. La APN tiene estructuras conservadas, con ligeras mutaciones como resultado a la coevolución con las proteínas Cry.

Palabras clave: aminopeptidasa N, *Bacillus thuringiensis*, Modelo 3D, *Spodoptera litura*.

Abreviaturas: APN, aminopeptidasa N; *Bt*, *Bacillus thuringiensis*, 3D, tridimensional

Abstract

Pest insect aminopeptidase N (APN) is a receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry1 proteins. A 108-kDa APN has been characterised in *Spodoptera litura*, here their APN three-dimensional structure was determined; it has 4 structural domains. Domain I is the region that recognizes Cry1 toxins, a loop of this section might be very important in this role. Probably, domain II has functions in Cry1 protein-APN interaction. Domain III has a sandwich topology and domain IV is a superhelix. The APN have conserved structures, with slightly mutations just like result of coevolution with Cry proteins.

Key words: aminopeptidase N, *Bacillus thuringiensis*, 3D model, *Spodoptera litura*.

Abbreviations: APN, aminopeptidase N; *Bt*, *Bacillus thuringiensis*, 3D, three-dimensional

¹ Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14-490, Santafé de Bogotá D.C., Colombia. Fax: 571-3165412.

* Correo electrónico: jacerons@unal.edu.co

Introduction

Aminopeptidase N (APN) is found as a soluble cytoplasmic enzyme and a membrane-bound ectoenzyme; the ectoenzyme form is attached to epithelial cells of intestinal brush borders and respiratory tracts. In intestinal epithelial cells, APN is important for the final hydrolysis step of ingested proteins (Luo *et al.*, 1999). The different APN isoforms in an insect have differential specificities to the N-terminal residues of the protein substrates; their differential expression may play an important role in adaptation of an insect to various dietary proteins from different host-plants (Wang *et al.*, 2005).

APN isoforms, together with the cadherin-like protein and membrane bound alkaline phosphatase of the midgut, are known to serve as receptors for insecticidal *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) endotoxins (Wang *et al.*, 2005). APN is an *N*-acetyl-D-galactosamine (GalNAc)-bearing glycoprotein that is linked to the cell membrane by a glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor, with a molecular weight of 120-kDa approximately (Chen *et al.*, 2005). More than 60 different APNs from different Lepidoptera have been sequenced and registered in databases showing the high diversity in isoforms; APNs have a similarity level ranging from 26% to 65% (Herrero *et al.*, 2005, Nakanishi *et al.*, 1999).

The lepidopteran moth *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) is a polyphagous pest affecting various economically important crops. The insect is susceptible to *Bt* Cry1C toxin. A 2,856-bp gene, encoding a 108-kDa APN, has been isolated from *S. litura* and expressed in Sf21 insect cells. The recombinant APN is glycosylated, is attached to the membrane by a GPI anchor, retains aminopeptidase activity and interacted with the Cry1 toxin (Agrawal *et al.*, 2002).

Comparative or homology modelling can provide a useful three-dimensional (3D) model for a protein based on its aligning to one or more proteins of known structure. The prediction process consists of fold assignment, target-template alignment, model-building and evaluation of models. The number of protein sequences that can be modelled accurately is increasing steadily because of the growth in the number and variety of experimentally determined structures and because of improvements in the modelling software (Marti-Renom, 2003). Homology modelling is the most reliable method to predict the 3D structure of a protein with accuracy comparable with a low-resolution, experimentally determined structure. Even models with errors can be useful because some aspects of function can be predicted from coarse structural features

(Marti-Renom, 2003). In this work we show a 3D model of the *S. litura* APN, determined by comparative modelling.

Materials and methods

The *S. litura* APN sequence was obtained from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) protein database (<http://www.ncbi.nih.gov>, accession number: AAK69605). The experimental structures used for construction of the model were tricorn interacting factor F3 of *Thermoplasma acidophilum* (PDB: 1z1w) and leukotrien A4 hydrolase D375n mutant of human (PDB: 1gw6). Functional domains were identified from the NCBI conserved domain database (CDD) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blastz/query.fcgi?db=cdd>). The structural alignments was generated using DeepView-Swiss-PdbViewer software (Guex y Peitsch, 1997) (<http://www.expasy.org/spdbv/>) and submitted to SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/cgi-bin/sm-submit-request.cgi>); a preliminary model for *S. litura* APN was retrieved. The energy minimisation was realized using GROMOS 96 (Gunsteren *et al.*, 1996) (<http://iqc.ethz.ch/gromos>) and the manual correction with the help of the COLORADO3D server (Sasin y Bujnicki, 2004) (<http://asia.genesilico.pl/colorado3d>) until an acceptable model was obtained. The model was validated with WHATIF (Vriend, 1990) (<http://swift.cmbi.ru.nl/whatif/>).

Results

Based on structural alignment a theoretical model for *S. litura* APN was obtained, and corresponds to residues 58-871 of the primary structure, omitting the N-terminal cleavable signal peptide (residues 1-20) and the C-terminal GPI modification site (residues 930-952) (Agrawal *et al.*, 2002). Analysis of the primary sequence indicated the presence of the peptidase M1 (residues 46-445) and peptidase N (residues 177-854) functional domains. The APN showed the presence of the HEXXH zinc-binding motif (residues 355-359) characteristic of the zinc peptidases; the third zinc-binding ligand is also conserved in the sequence motif NEXFA (residues 377-381); the amino acid sequence shared the GAMEN motif (residues 319-323) which characterizes them as gluzincin aminopeptidases and involved in their aminopeptidase activity (Herrero *et al.*, 2005; Kyrieleis *et al.*, 2005). Regions of amino acid sequences of the 11 APN from several insects were compared with the *Bombix mori* APN Cry1Aa toxin-binding region. These 64 residues are believed to be important for Cry1 toxin binding; the region includes highly conserved and variable structures. Cry1 toxins is thought to bind to highly conserved structure of APN or APN family protein

that consists of these conserved amino acid residues; every insect species is believed to produce several APNs containing of these conserved structures (Nakanishi *et al.*, 1999). The CryI protein-binding region is composed of residues Leu129 to Pro193 in *S. litura* APN.

The molecule is composed of four domains, which together form a hook like-structure (Figure 1). The overall dimensions of the model are 91 Å x 55 Å x 65 Å. The left sector is formed by the N-terminal domain I (residues Asn58-Ile266) and the domain II (residue Ser267-Gly506); the right section is built by the domain III (the smallest) (residues Asn507-Leu581) and the C-terminal domain IV (residues Ser582-Ala871). The zinc binding motif, the third zinc-binding ligand and GAMEN motif are part of the domain II. N-glycosylation sites are in the domain I (Asn104-Asn106), domain II (residues Asn377-Ser379), domain III (Asn574-Thr576) and domain IV (Asn782-Ser784). The four Cys residues, which are highly conserved among APN molecules of higher eukaryotes, are located in the domain IV (residues 728, 735, 763 and 799) (Agrawal *et al.*, 2002). CryI toxin-binding region is localized in the domain I (Figure 2).

Domain I consists of three β -sheets and a short α -helix. The first β -sheet contains five mixed β -strands conformation: S1 (Leu59-Thr70), S2 (Ile78-Met89), S3 (Asn109-Gln111) and S4 (Thr143-Asn153) strands are in antiparallel form, and the S7 strand (Ile201-Ile203) runs parallel to S1. The second β -sheet is composed of S5 (Arg161-Tyr163)

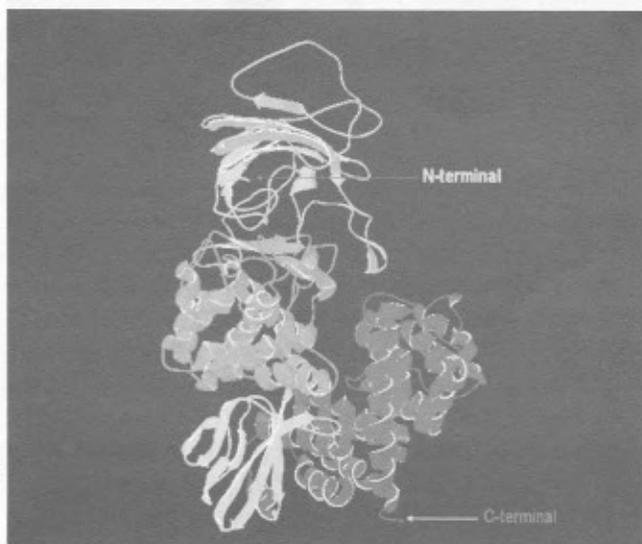


Figure 1. *S. litura* APN 3D structure. The N-terminal and C-terminal extremes are indicated with arrows. Domain I is in orange, domain II in green, domain III in yellow and domain IV in red.

and S6 (Glu167-Thr169) antiparallel strands. The last β -sheet of the domain I is built by S8 (Glu222-Arg229) and S9 (Thr231-Ile237) antiparallel strands. Domain I contains an H1 α -helix (Phe187-Cys189) located between strands S6 and S7. The interaction site of *Bt* CryI protein with the APN began at the loop that join the strands S3 and S4, continue in strand S4 and the loop joining it to S5, followed by the strand S6, finalizing with the loop binding it to the H1 helix and then continuing until reaching the Pro193 residue. This domain forms a large, saddle-like structure based on strands S1, S2, S3, S4 and S7, and is solvent-exposed (Figure 2).

Domain II is the catalytic region for this class of proteins. It presents a thermolysin-like disposition and consists of two β -sheets and ten α -helices. The first β -sheet has two β -strands: S10 (Ser267-Ala271) and S11 (Asn308-Ile311), these are parallel. The following β -sheet is antiparallel and formed by β -strands S12 (Ala320-Glu322) and S13 (Tyr329-Glu331). The α -helices from this domain begin with H2 (Ala276-Tyr277) and H3 (Gln288-His298) that are between S10 and S11 of the secondary structure. Also, this domain is composed of the H4 (Val344-Trp361), H5

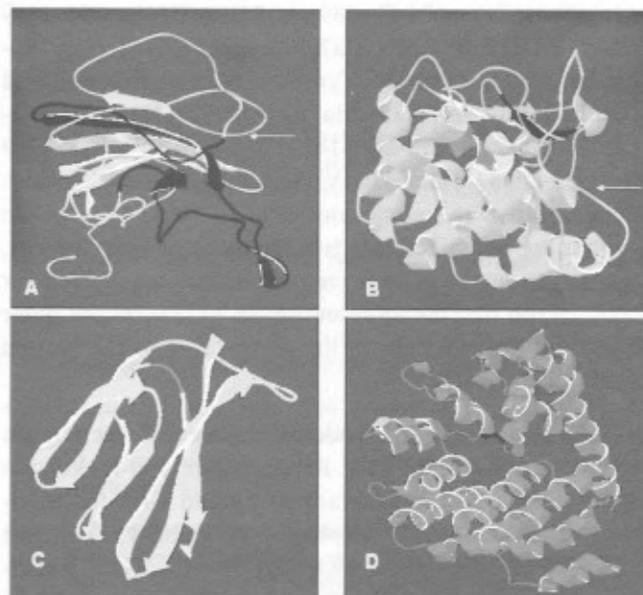


Figure 2. Structural domains of *S. litura* APN and their functional characteristics. A. Domain I, in blue CryI toxins binding site, the arrow indicates (in green) the N-glycosylation site. B. The zinc-binding motif (HEXXH) in domain II is shown in red, the third zinc-binding ligand (NEXFA) in yellow and the GAMEN motif in blue; the arrow shows the large loop (orange) covering the front of the active site. C. Blue represents residues in the N-glycosylation site of domain III. D. Two superhelix modules can be observed in the C-terminal domain, blue represents the N-glycosylation site and green indicates conserved Cys residues.

(Trp375-Ala392), H6 (Leu398-Asp414), H7 (Ile433-Gln435), H8 (Thr439-Phe455), H9 (Arg459-Asp471), H10 (Pro479-Lys488) and H11 (His494-Ile503) helices. The conserved zinc-binding motif (HEXXH) is part of helix H4; the third zinc-binding ligand (NEXFA) is located in helix H5, and the GAMEN motif contains the β -strand S12. Helices H3 to H11 are interlocked in two planes forming a compact, densely packed α -helical structure. A large loop (Ala415-Thr432) connects the helices H6 and H7; this loop is highly flexible and covers the front of the active site (Figure 2).

Domain III is formed of seven β -strands: S14 (Asn507-Asn515), S15 (Gly517-Asn526), S16 (Arg538-Glu544), S17 (Thr547-Pro553), S18 (Thr557-His561), S19 (Ser566-Lys568) and S20 (Thr576-Leu580). They are organized in a β -sandwich. This domain forms the base of the hook-like APN structure (Figure 2).

The C-terminal domain (IV) is an α -helical domain formed by 19 α -helices that are organized into a superhelix. The helices are: H12 (Ser582-Val589), H13 (Ser596-Ser612), H14 (Ser617-Arg628), H15 (Asn633-Thr647), H16 (Phe655-Ala668), H17 (Trp674-Phe689), H18 (Leu693-Asn702), H19 (Ser713-Ile723), H20 (Ala727-Cys735), H21 (Leu740-Lys747), H22 (Leu757-Tyr762), H23 (Leu766), H24 (Leu777-Asn782), H25 (Ala787-Ala798), H26 (Asp802-Leu806), H27 (Ser813-Met814), H28 (Lys818-Phe828), H29 (Leu832-Glu837) and H30 (Val842-Val867). This domain is divided into two helical modules. In both modules the helices are organized into two layers of parallel helices, four helices in the outer layer and four helices in the inner layer of the first module, and seven helices in the outer layer and three helices in the inner layer of the second module (Figure 2).

The superimposed backbone traces of the tricorner interacting factor F3 of *T. acidophilum* and leukotrien A4 hydrolase D375n mutant of human with the theoretical model of APN displayed 0.57 and 1.70 Å root mean square deviation (RMSD) for C α . The Ramachandran plot indicated that most (98%) of residues have ϕ and ψ angles in the core and allowed regions (Figure 3). Most bond angles, bond lengths and torsion angles were in the range of values expected for a naturally folded protein. The structure is more closely related to tricorner interacting factor F3 of *T. acidophilum* (Kyrieleis *et al.*, 2005). The theoretical model of *S. litura* APN model obtained here has been deposited in the Model Protein Database (<http://www.caspar.it/PMDB/>) (ID: PM0074654).

Discussion

The evidence supplied by experiments such as expression of an APN in *Drosophila* made larvae sensitive to Cry1Ac toxin, and the silencing of midgut APN of *S. litura* determined by interference RNA technology (resulted in reduced sensitivity to the Cry1C toxin) suggested that APN plays an important role in Cry toxin susceptibility (Atsumi *et al.*, 2005). It has been proposed that the receptor binding sites on Cry1 proteins must have two basic characteristics: a highly conserved structure, because the Cry1 proteins have similar primary sequences and 3D structures and can recognise similar APNs found in the midguts of several lepidopteran insects, and a nonconserved structure, because the Cry1 toxins also exhibit highly specific insecticidal activity and can distinguish host species in the lepidopteran range (Atsumi *et al.*, 2005).

The 3D model proposed here will probably be conserved amongst APNs from different types of Lepidoptera on which *Bt* has activity, especially the Cry1 protein binding region, bearing in mind that phylogenetically distant Cry toxin domains II and III (implicated in receptor recognition) have conserved residues (Shinkawa *et al.*, 1999).

It was proposed that this Cry1-APN interaction have two steps: carbohydrate recognition and irreversible protein-protein interaction (Chen *et al.*, 2005; Jenkins *et al.*, 2000). Sixty-four residues form the Cry1-binding epitope of *S. litura* APN, located in domain I. The epitope is formed by various β -strands and an α -helix, as well as the large loops providing the flexibility for binding to Cry1 protein; also, characteristics such as the position in the molecule (in the most distal part of the membrane anchor segment), the orientation towards the solvent and the location in the bottom of the saddle-like structure (conformed by N-terminal domain β -sheets) have supplied their activity and providing stability necessary to the binding. This region has a dimension of 62 Å x 32 Å x 21 Å, implying a considerable surface, probably it allow their interaction with the toxin. A N-glycosylation site (residue ASN103) was found close to this area, possibly allowing initial interaction and then an irreversible binding on the APN recognition site, maybe this might involve initial recognition between the binding pocket in domain III of Cry1 protein and GalNAc on APN (Atsumi *et al.*, 2005; Jenkins *et al.*, 1999), and subsequently the irreversible union of both molecules by means of hydrophobic and electrostatic interactions and probably salt bridges. Most residues in this region are charged, possibly being important in recognition of the toxin (Figure 4). The

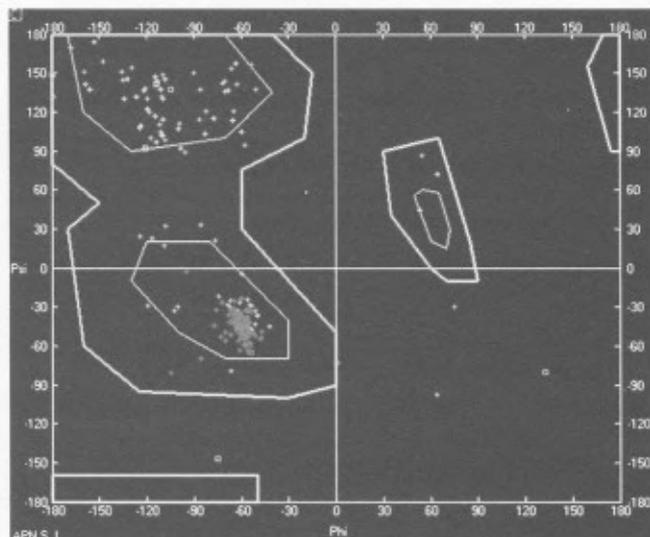


Figure 3. *S. litura* APN Ramachandran plot. Most residues were found in the allowed regions. Yellow residues correspond to β -sheets and red residues to α -helices. The squares/boxes indicate the glycine residues which might be located in non-allowed regions.

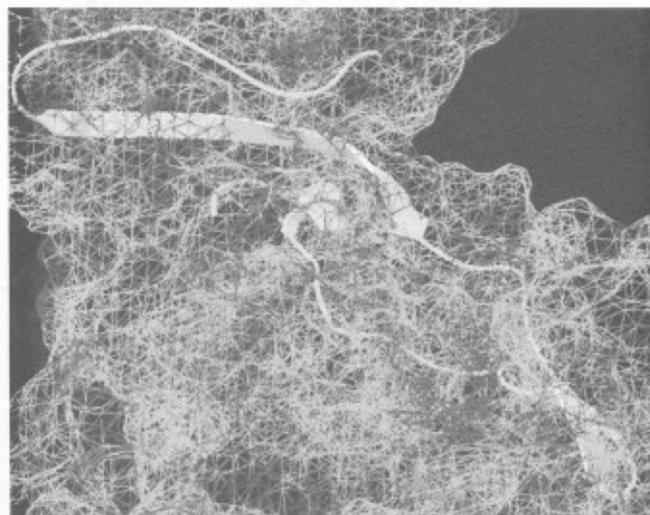


Figure 4. The surface electrostatic potential of the domain I of APN binding site of *Bt* toxins. Yellow indicates the CryI binding site, the net represents the electrostatic potential (red: negative, blue: positive).

presence of two binding sites has been suggested in *Manduca sexta* APN, meaning that it is possible that the catalytic domain plays an important role in receptor-toxin interaction (Masson *et al.*, 2002). The role of domain II in binding to different substrates has been demonstrated in several zinc-metallopeptidases, including APN from

mammals (specifically due to the presence of arginin residues in the active site) (Cristofolletti y Terra, 2000).

It is probable that the structure of different APNs keep a conserved conformation; however, the recognition site of *Bt* toxin could be a region susceptible to change. This might be a result of the insect and microorganism coevolution. The conserved CryI toxin-binding structure of insect APNs has changed slightly, divergent *Bt* Cry toxins might be the result of adaptation to these slight changes in the insect receptor. APNs have conserved structures such as signal peptides, zinc-binding motifs, catalytic domains, N-glycosylation sites and conserved residues. CryI proteins can easily develop toxic activity in a broad spectrum of pest insects by recognizing the conserved structures (Herrero *et al.*, 2005, Nakanishi *et al.*, 1999; Agrawal *et al.*, 2002; Kyrieleis *et al.*, 2005). Maybe, this phenomenon might be profitable for produce novelty Cry proteins with a greater activity, or new specificities, for this reason APN must be structurally characterised in different pest insects, and the interactions with Cry toxins must be analysed; the results will be valuable for directed mutagenesis or domain exchange experiments in *Bt* toxins.

References

- Agrawal N., Malhotra P., and Bhatnagar R.K. 2002. Interaction of gene-cloned and insect cell-expressed aminopeptidase N of *Spodoptera litura* with insecticidal crystal CryI protein C. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 4583-4592.
- Atsumi S., Mizuno E., Hara H., Nakanishi K., Kitami M., Miura N., Tabunoki H., Watanabe A., Sato R. 2005. Location of the *Bombyx mori* aminopeptidase N type I binding site on *Bacillus thuringiensis* CryIAa toxin. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 3966-3977.
- Cristofolletti P.T., Terra W.R. 2000. The role of amino acid residues in the active site of a midgut microvillar aminopeptidase from the beetle *Tenebrio molitor*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1479: 185-195.
- Chen J., Brown M.R., Hua G., Adang M.J. 2005. Comparison of the localization of *Bacillus thuringiensis* CryIA δ -endotoxins and their binding proteins in larval midgut of tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Cell and Tissue Research*. 321: 123-129.
- Guex, N. and Peitsch, M. C. 1997. Swiss-model and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modelling. *Electrophoresis*. 18: 2714-2723.
- Gunsteren W.F. van, et al. 1996. In *Biomolecular simulation: the GROMOS96 manual and user guide*. Vdf Hochschulverlag ETHZ.
- Herrero S., Gechev T., Bakker P.L., Moar W.J. de Maagd R.A. 2005. *Bacillus thuringiensis* CryIc-resistant *Spodoptera exigua* lacks expression of one of four aminopeptidase N genes. *BMC Genomics*. 6: 96.

- Jenkins J.L., Lee M. K., Sangadala S., Adang M.J., Dean D.H.** 1999. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin to *Manduca sexta* aminopeptidase-N receptor is not directly related to toxicity. *FEBS Letters*. 462: 373-376.
- Jenkins J. L., Lee M. K., Valaitis A. P., Curtiss A., Dean D. H.** 2000. Bivalent Sequential binding Model of a *Bacillus thuringiensis* Toxin to Gypsy Moth Aminopeptidase N Receptor. *The Journal of Biological Chemistry*. 275: 14423-14431.
- Kyrieleis O.J.P., Goettig P., Kiefersauer R., Huber R. Brandstetter H.** 2005. Crystal structures of the tricorn interacting factor F3 from *Thermoplasma acidophilum*, a zinc aminopeptidase in three different conformations. *Journal of Molecular Biology*. 349: 787-800.
- Luo K., McLachlin J.R., Brown M.R., Adang M.J.** 1999. Expression of a glycosylphosphatidylinositol-linked *Manduca sexta* aminopeptidase N in insect cells. *Protein Expression and Purification*. 17: 113-122.
- Marti-Renom M. A.** 2003. Protein structure modelling for structural genomics. *Business briefing. Future Drug Discovery*, 59-63.
- Masson L., Mazza A., Sangadala S., Adang M.J., Brousseau R.** 2002. Polydispersity of *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins in solution and its effect on receptor binding kinetics. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1594: 266-275.
- Nakanishi, K., Yaoi K., Shimada N., Kadotani T., Sato T.** 1999. *Bacillus thuringiensis* insecticidal Cry1Aa toxin binds to a highly conserved region of aminopeptidase N in the host insect leading to its evolutionary success. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1432: 57-63.
- Sasin J. M., Bujnicki J. M.** 2004. COLORADO3D, a web server for the visual analysis of protein structures, *Nucleic Acids Research*. 32 (Web Server issue): W586-W589.
- Shinkawa A., Yaoi K., Kadotani T., Imamura M., Koizumi N., Iwahana H., Sato R.** 1999. Binding of phylogenetically distant *Bacillus thuringiensis* Cry toxins to a *Bombyx mori* aminopeptidase N suggests importance of Cry toxin's conserved structure in receptor binding. *Current Microbiology*. 39: 14-20.
- Vriend G.** 1990. WHAT IF: a molecular modeling and drug design program. *Journal of Molecular Graphics*. 8: 52-56.
- Wang P., Zhang X., Zhang J.** 2005. Molecular characterization of four midgut aminopeptidase N isozymes from the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 35: 611-620.

Recibido: 13 de febrero de 2007

Aceptado para su publicación: 9 de junio de 2008

CARACTERIZACIÓN DEL AGENTE CAUSANTE DE LA ANTRACNOSIS EN TOMATE DE ÁRBOL, MANZANO Y MORA

Por

Alegría Saldarriaga-Cardona¹, Jairo Castaño-Zapata², Rafael Arango-Isaza³

Resumen

Saldarriaga-Cardona, A., J. Castaño Zapata, R. Arango Isaza: Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 145-156, 2008. ISSN 0370-3908.

La Antracnosis es una enfermedad que en Colombia causa pérdidas superiores al 50% en tomate de árbol, manzano y mora. Se ha reportado al hongo *Colletotrichum gloeosporioides* como el agente causal de la enfermedad; su manejo se basa fundamentalmente en la aplicación de fungicidas, con resultados poco satisfactorios, lo que motivó la realización de estudios de la verdadera etiología de la enfermedad. La caracterización morfológica del hongo se complementó mediante pruebas moleculares usando oligonucleótidos específicos, dando como resultado que *C. acutatum* es el agente causal de la enfermedad, permitiendo además diferenciar a *C. gloeosporioides* de *C. acutatum*.

Palabras clave: antracnosis, caracterización, *Colletotrichum*, tomate de árbol, manzano, mora.

Abstract

In Colombia the anthracnose is a disease that causes losses higher than 50% in tamarillo, apple and blackberry cultivars. *Colletotrichum gloeosporioides* has been reported as the causal agent of the disease. The management of this has been based on the application of fungicides without satisfactory results, which motivated research on the true etiology of the disease. Molecular studies demonstrated that, *C. acutatum* is the causal agent of the anthracnose, furthermore allowing to differentiate *C. gloeosporioides* from *C. acutatum*.

Key words: anthracnose, characterization, *Colletotrichum*, tamarillo, apple, blackberry.

¹ CORPOICA, C.I La Selva, Rionegro.

² Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales.

³ Corporación para Investigaciones Biológicas –CIB, Medellín y Universidad Nacional de Colombia

Introducción

En Colombia los cultivos de tomate de árbol [*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.], mora (*Rubus glaucus* Benth.) y manzano (*Malus domestica* Borkh.), son severamente afectados por la Antracnosis ocasionada por el hongo *Colletotrichum* spp., y se reporta tradicionalmente a *Colletotrichum gloeosporioides* como causante de la enfermedad. Dicha enfermedad afecta tanto en precosecha como en postcosecha, y puede llegar a ocasionar pérdidas superiores al 50% en estos cultivos (Osorio, 2003; Ávila et al., 2003; Botero et al., 2003; Botero, 2001; Corpoica, 1999; Salazar, Castaño-Zapata y Castaño, 1997).

La demanda de alternativas para el manejo de la enfermedad ha creado la necesidad de realizar estudios básicos orientados hacia el diagnóstico y caracterización de las especies. La identificación correcta de un organismo permite conocer los patrones de comportamiento de la especie o del grupo taxonómico, facilita el acceso a la información científica y técnica generada, que se pueda aplicar en el desarrollo de alternativas tecnológicas para la estructuración de planes de manejo de la enfermedad. Además, el conocimiento de la especie del hongo que predomina en una plantación es importante, teniendo en cuenta que las especies de *Colletotrichum* pueden diferir en la sensibilidad a los fungicidas (Schilder, 2003; Corpoica, 1998).

La diferenciación y el diagnóstico de las especies de *Colletotrichum* se ha basado en caracteres morfológicos, principalmente tamaño y forma de las conidias, presencia de setas, esclerocios, forma del apresorio, color y aspecto de la colonia, y otras características como tasa de crecimiento, sensibilidad a benomil, temperatura óptima de crecimiento, existencia del teleomorfo y especificidad de hospedantes (Martínez-Culebras et al., 2000; Freeman, Katan y Shabi, 1998; Adaskaveg y Hartin, 1997; Bailey y Jeger, 1992); sin embargo, estas características no han sido satisfactorias para la diferenciación de las especies del hongo, debido a factores como la plasticidad e inestabilidad de los rasgos morfológicos, la existencia de formas intermedias en la morfología, la superposición fenotípica, los efectos ambientales sobre los rasgos morfológicos, además de la falta de unificación y estandarización de los protocolos y condiciones de trabajo entre los investigadores, lo cual ha conducido a que un aislamiento del hongo pueda ser identificado como una u otra especie dependiendo de los criterios individuales del investigador (Freeman, Katan y Shabi, 1998).

Teniendo en cuenta que los métodos tradicionales han sido poco satisfactorios para la diferenciación entre especies y subespecies de *Colletotrichum*, las técnicas

moleculares se están utilizando para este propósito; es así como actualmente se ha determinado la secuencia de nucleótidos de la región ITS1 de varias especies de *Colletotrichum* para construir cebadores específicos, que utilizados con el cebador de secuencia conservada ITS4 amplifican por PCR determinados segmentos de ADN, y permiten diferenciar especies del complejo *Colletotrichum* (Freeman, Katan y Shabi, 1998; Adaskaveg y Hartin, 1997; Brown, Sreenivasaprasad y Timmer, 1996).

Estudios realizados por Adaskaveg y Hartin (1997) para la diferenciación de especies de *Colletotrichum* en frutales (almendro, fresa, durazno, manzana, cítricos y papaya) procedentes de diferentes zonas, permitieron la síntesis de cebadores específicos para *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. fragariae* que han sido útiles para el diagnóstico y detección de las especies del hongo.

El presente trabajo se realizó con el propósito de determinar el hongo causante de la Antracnosis que afecta los cultivos de tomate de árbol, mora y manzano en los departamentos de Antioquia y Caldas utilizando caracteres morfológicos y análisis moleculares.

Materiales y métodos

La investigación se inició con el muestreo en las zonas productoras de tomate de árbol, mora y manzana en los departamentos de Antioquia y Caldas ubicadas a alturas comprendidas entre 2.000 y 2.550 m.s.n.m. En los cultivos de tomate de árbol y manzano las muestras provenían de frutos con síntomas de Antracnosis; los frutos de tomate de árbol tenían diferentes estados de desarrollo, y los de manzana se encontraban en estado de maduración. De mora se tomaron muestras de tallos con síntomas de Antracnosis.

En Antioquia, se realizaron los muestreos de tomate de árbol en los municipios de Entreríos (veredas Pio XII, Cuatroesquinas y Tesorero), Santa Rosa de Osos (veredas Teresitas, Malambo, Orobajo, La Muñoz y Balcones) y Rionegro (vereda Llanogrande). En el cultivo de la mora se tomaron las muestras en Guarne (veredas Hojas Anchas, Santa Clara y La Clarita), Rionegro (vereda Playa Rica) y Medellín (vereda El Llano del corregimiento de Santa Elena).

En Caldas, se muestrearon los cultivos de tomate de árbol en los municipios de Manizales (vereda Maltería) y Villamaría (hacienda-Cuba). Las muestras de manzana se tomaron en Villamaría (veredas Valles y La Florida) y Manizales (localidades de Chulca y Paraíso). También se colectaron muestras de esta fruta en el municipio de Riosucio (vereda El Oro).

Elaboración del cepario: codificación, aislamiento y conservación de las cepas de *Colletotrichum*

Las muestras codificadas se procesaron individualmente mediante un lavado con agua corriente, luego se sumergieron durante 2 min. en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5%; seguidamente se enjuagaron tres veces consecutivas con agua destilada estéril; en la cámara de flujo laminar se tomaron del borde de la lesión porciones de 2 mm² de tejido vegetal. Estas porciones se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo PDA-acidificado (PDA, 39 g L⁻¹ de agua), ajustando el pH a 5.6 con ácido láctico al 0.2%. En cada caja de Petri se sembraron distribuidas en forma equidistante 5 porciones del tejido, sellando los bordes de la caja con Vinilpel (P.V.C Plásticos vinílicos de Colombia Ltda.). Las cajas se rotularon y se colocaron a incubar en condiciones asépticas a 17°C ambiente del laboratorio. Cada 24 h se verificó el crecimiento y pureza del hongo. Transcurridos 5 a 8 días de incubación cuando se obtuvieron las cepas puras, se tomó de cada una de ellas porciones de 3x3 mm y se resembraron en tubos de ensayo de 25 mL de capacidad, con medio de cultivo agar Sabouraud (medio de cultivo a base de peptona 30 g, agar 18 g y agua destilada 1000 mL; ajustando el pH a 5.5 con ácido láctico al 0.2%) (Saldarriaga, 2006; Herrera, 1985). Una vez que las cepas colonizaron la superficie del medio se les adicionó aceite mineral estéril cubriéndolas completamente, luego se conservaron en nevera a 5°C.

Obtención de cultivos monospóricos, pruebas de patogenicidad y caracterización morfológica de los aislamientos

Cultivos monospóricos: A partir del cepario conservado se procedió a realizar resiembras en cajas de Petri con agar Sabouraud, cuando en estas se observó la esporulación del hongo se tomó parte de la masa de conidias y se llevó a un vial con 2 mL de agua destilada estéril, se agitó manualmente la suspensión y se vació en cajas de Petri de 9 cm de diámetro servidas cada una con 10 mL de agar-agua al 15/1000 (agar producto comercial de la Oxoid), se retiró el exceso de agua de la caja de Petri y se colocó a incubar en posición invertida a temperatura ambiente del laboratorio (20°C) por 24 h, al cabo de las cuales se realizaron observaciones al microscopio para detectar la germinación de las conidias y proceder a seleccionar y tomar una conidia que se transfirió a una nueva caja de Petri con PDA-acidificado, la cual se selló y colocó a incubar en condiciones de laboratorio. Este procedimiento se realizó a cada una de las cepas conservadas para la obtención de los cultivos monospóricos, los cuales también fueron conservados en tubos de ensayo de 25 mL en las condiciones ya descritas (Saldarriaga, 2006; Botero, 2001).

Pruebas de patogenicidad: Cada uno de los aislamientos de *Colletotrichum* spp. fue sometido a una prueba de patogenicidad en su respectivo hospedante. La prueba en tomate de árbol se hizo sobre frutos pintones previamente lavados con agua corriente y desinfectados por inmersión en hipoclorito de sodio al 2% durante 1 min, e inmediatamente enjuagados con agua destilada estéril y colocados en cámaras húmedas consistentes en cajas de plástico transparente de 25 x 17 x 12 cm equipadas con la respectiva tapa y una rejilla plástica sobre la cual se depositaron 10 frutos/caja, durante 7 días, al cabo de los cuales se revisaron para descartar infecciones de campo; verificado lo anterior, se realizaron las inoculaciones con el hongo usando las metodologías de Saldarriaga (2006), Botero (2001) y Corpoica (1999). Igual procedimiento se llevó a cabo en frutos maduros de manzana. Las pruebas de patogenicidad en mora se realizaron en los tallos de las ramas principales de plantas de 5.5 meses de edad cultivadas en condiciones de invernadero siguiendo la metodología descrita por Saldarriaga (2006). Las variables registradas fueron: número de aislamientos patogénicos, periodo de incubación del hongo (tiempo transcurrido para la manifestación de síntomas de Antracnosis), periodo de latencia (aparición de masas conidiales), tamaño de lesiones y estado de los frutos al cabo de 22 días de la inoculación.

Se utilizó un diseño completamente al azar con 41 tratamientos y 10 repeticiones. El análisis de varianza y la prueba de Duncan al 5% se realizaron para la variable diámetro de lesiones en los frutos de tomate de árbol y manzana. En las plantas de mora sólo se observó la presencia o no de los síntomas de la enfermedad en los tallos.

Caracterización morfológica de los aislamientos: De los cultivos monospóricos conservados, se seleccionaron y reactivaron los aislamientos que resultaron patogénicos al hospedante del cual se aislaron, como también un aislamiento no patogénico al mismo hospedante; a estos se les realizó la caracterización y el diagnóstico molecular. Cada aislamiento reactivado se repicó en 10 cajas de Petri de 9 cm de diámetro con PDA-acidificado. Para la resiembra se tomó, con un sacabocados, de la parte media de la cepa del hongo reactivado un disco de 0.5 cm de diámetro que se depositó en el centro de cada caja de Petri. Las cajas resembradas se sellaron con Vinilpel y se colocaron en condiciones asépticas a temperatura del laboratorio. Los tratamientos se revisaron diariamente para registrar: coloración de las cepas, tipo, aspecto y crecimiento del micelio. A cada aislamiento se le determinó el tamaño de las conidias comparando su dimensión con la escala de un ocular micrométrico previamente calibrado; se midió el largo y ancho de 100 conidias por tratamiento. También se realizó

un microcultivo por aislamiento para observar de manera inalterada al microscopio las características morfológicas de las estructuras del hongo. Se empleó un diseño completamente al azar, donde la unidad experimental estuvo conformada por una caja de Petri con 10 repeticiones, registrándose el crecimiento micelial en cada uno de los tratamientos. Para las anteriores variables se realizó el análisis de varianza y las pruebas de Duncan y Tukey a nivel del 5% (Saldarriaga, 2006).

Realización de los diagnósticos moleculares mediante PCR y uso de cebadores específicos

Crecimiento del hongo: Las cepas utilizadas para la caracterización morfológica se cultivaron en PDA-acidificado y sin arrastrar medio de cultivo, se transfirieron a un erlenmeyer de 250 mL con 40 mL de medio líquido Sabouraud, al cual se le adicionó 100 mg del antibiótico Enrofloxacin. Diariamente se observó para verificar crecimiento y pureza, descartando los aislamientos que no estuvieran completamente puros (Dyer y Kurt, 2000). Transcurridos 11-15 días a temperatura ambiente (26°C) en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) se procedió a coleccionar el hongo mediante la eliminación del medio líquido, y el enjuague del hongo con agua destilada estéril, seguido de un secado a temperatura ambiente en condiciones asépticas para ser almacenado en un refrigerador Harris® Asheville, N.C., U.S.A. a -70°C.

Extracción del ADN y cuantificación: La extracción del ADN se realizó siguiendo el método de Reader y Broda (1985), con modificaciones realizadas en el laboratorio de Biotecnología Vegetal UNALMED-CIB, descritas por Saldarriaga (2006).

La cuantificación del ADN se llevó a cabo mediante espectrofotometría en un equipo Perkin Elmer, lambda UV/VIS spectrometer. Para la cuantificación se prepararon diluciones 2:1000 en buffer TE a partir de las muestras de ADN conservadas a 4°C. Como blanco se usó buffer TE. Realizada la cuantificación se prepararon diluciones a 100 ng/ L, del ADN de cada uno de los aislamientos.

PCR diagnóstica: Para el diagnóstico de las especies de *Colletotrichum* se usaron los siguientes oligonucleótidos; CgInt: 5'GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG3' para la especie *Colletotrichum gloeosporioides*, y para la especie *Colletotrichum acutatum* CaInt-2: 5' GGC GCC GGCCCCGTCACGGGGG3'; cada uno estos oligonucleótidos se usó con el oligonucleótido inespecífico ITS-4: 5'TCC TCCGCTTATTGATATGC3' (Adaskaveg y Hartin, 1997). Las reacciones se hicieron de la siguiente manera: 2.5 L; de

buffer de PCR (Invitrogen) 10X (50 mM KCl y 10 mM Tris-HCl, pH 8.5); 1.5 L de MgCl₂ (50 mM); 0.5 L (10 mM) de los nucleótidos, dATP, dCTP, dGTP y dTTP (promega); 0.7 L (25 picomolar) de cada uno de los oligonucleótidos CgInt ó Caint y ITS4; 1 L (100 ng) de ADN; 0.125 L (2.0 unidades) de taq polimerasa (promega), todo llevado a un volumen final de 25 L (el volumen se completo con agua desionizada estéril). Se utilizó un control negativo para PCR consistente en la mezcla de los reactivos, pero sin adicionarles el ADN. También se usaron los respectivos controles positivos para *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (Perkin Elmer 9600), con una temperatura inicial de 94°C por 1 min., seguido de 34 ciclos así: 94°C por 1 min.; 59°C por 2 min. y 72°C por 2 min., seguidos por un ciclo de extensión final de 5 min. a 72°C para *C. gloeosporioides*. Para *C. acutatum* las condiciones fueron: una temperatura inicial de 94°C por 1 min., seguido de 34 ciclos así: 94°C por 1 min.; 61°C por 2 min. y 72°C por 2 min., seguidos por un ciclo de extensión final de 5 min. a 72°C.

La electroforesis se realizó a 70 V durante 1 h y 30 min. en gel de agarosa al 0.8% con bromuro de Etidio (10 mg/mL). Los productos de las reacciones se visualizaron y fotografiaron bajo luz ultravioleta.

Resultados y discusión

Elaboración del cepario: codificación, aislamiento y conservación de las cepas de *Colletotrichum*

Se conformó un cepario de 52 aislamientos de *Colletotrichum*, de los cuales, 25 provenían de frutos de tomate de árbol, 11 de frutos de manzana, 14 de tallos de mora y dos (2) cepas controles positivos para *C. gloeosporioides*.

Todas las cepas el hongo crecieron bien en el medio de cultivo PDA-acidificado, en donde el hongo cubrió entre el 80 y 100% de la superficie del medio de cultivo al cabo de 8 días bajo condiciones del laboratorio. También se observó buen crecimiento en el medio de conservación Sabouraud en tubos de ensayo, donde las cepas cubrieron completamente la superficie del medio al cabo de 4 a 6 días.

Obtención de cultivos monospóricos, pruebas de patogenicidad y caracterización morfológica de los aislamientos

Obtención de cultivos monospóricos: A partir del cepario conformado y conservado durante 3 meses se reactivaron mediante resiembras en el medio Sabouraud un total de 41 aislamientos; se presentaron 9 casos en los

que el hongo no creció, y 7 casos en los que el hongo creció asociado a una bacteria, del género *Pseudomonas*. Estudios llevados a cabo por **Botero** (2001) y **Parbery y Blakeman** (1978), registran la existencia de cepas de *Pseudomonas* asociadas a *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. musae* y *C. dematium* los cuales poseen sustancias quelantes que pueden estimular la germinación y formación de apresorios del hongo favoreciendo los procesos de infección. De todas las cepas reactivadas se obtuvieron los cultivos monospóricos que se conservaron y emplearon en las pruebas de patogenicidad y en los estudios de caracterización y diagnóstico molecular.

Pruebas de patogenicidad: Se realizaron aplicando los postulados de Koch a los 41 aislamientos, de los cuales 20 provenían de tomate de árbol, 7 de manzana y 14 de mora. Un total de 28 aislamientos presentaron capacidad de inducir síntomas de la enfermedad en su respectivo hospedante, de estos 18 correspondieron a tomate de árbol, 6 a manzana y 4 a mora.

En los frutos de tomate de árbol, el periodo de incubación del hongo se manifestó después de 7 a 10 días de la inoculación (promedio 8.5 días). Los primeros síntomas consistieron en pequeñas manchas de aproximadamente 1.5mm de diámetro, redondeadas de color castaño oscuro, levemente deprimidas. El periodo de latencia se observó después de 4 a 6 días de detectados los primeros síntomas, es decir, entre 11 y 16 días (promedio 13.5 días); resultados que concuerdan con los estudios de patogenicidad del agente causante de la Antracnosis del tomate de árbol llevados a cabo por **Aranzazu y Rondón** (1999) y **Navarro y Puerta** (1978).

En los frutos de manzana el periodo de incubación del hongo osciló entre 6 y 8 días (promedio 7 días); los síntomas se manifestaron mediante lesiones de color castaño oscuro a negras, redondeadas, inicialmente sin depresión. El periodo de latencia se observó transcurridos 2 a 3 días de detectados los primeros síntomas, es decir entre 8 y 11 días (promedio 9.5 días) después de la inoculación. La esporulación se observó en acérvulos, con abundantes masas de conidias distribuidas en la lesión. A medida que las lesiones aumentaban de tamaño el centro de estas se fue colapsando, tornándose deprimidas en algunos aislamientos, síntomas que concuerdan con los descritos por **Salazar, Castaño-Zapata y Castaño** (1997) y **Latham y William** (1983). Los frutos empleados como controles permanecieron sanos.

En tomate de árbol, los diámetros de las lesiones fluctuaron entre 3.93 cm y 11.76 cm, lo cual muestra un amplio rango de variación. Al realizar la prueba de Duncan al 5%

se conformaron 13 grupos; siete de los cuales estaban compuestos por un solo aislamiento, y seis por más de uno, con escaso traslape (Tabla 1), con variación altamente significativa. Estas diferencias no se pueden atribuir separadamente al patógeno o al hospedante, pero si a una interacción entre ambos. Teniendo en cuenta que los frutos inoculados no provenían de una población uniforme genéticamente, los hospedantes pueden responder de manera diferente a la presencia del hongo; lo cual concuerda con los trabajos desarrollados por **Romero** (1999).

En la Tabla 1, se observa que los aislamientos ARLLT-1, AEPT-3, ARLLT-3, CMTUT-1 y AETT-1, que presentaron los mayores tamaños de lesiones, estaban estrechamente asociados a la bacteria del género *Pseudomonas*, que posiblemente sea un factor de patogenicidad adicional al del hongo.

En manzana también se presentó una variación altamente significativa en los tamaños de las lesiones en los frutos, pero hubo un mayor traslape entre los tratamientos (Tabla 2). Los tamaños de las lesiones fluctuaron entre 3.25 cm y 5.17 cm.

En mora, los aislamientos que produjeron los síntomas de la enfermedad se relacionan en la Tabla 3.

El periodo de incubación osciló entre 13 a 20 días (promedio 16.5 días); los síntomas se manifestaron mediante una lesión de color azul-violeta intenso, con bordes definidos que progresaron hasta rodear y cubrir el tallo. El periodo de latencia se observó entre 17 y 28 días (promedio 22.5 días). Entre 50 y 75 días de la inoculación se empezó a manifestar clorosis, y a los 80 a 90 días las ramas murieron. Estos síntomas concuerdan con los descritos por **Forero de La-Rotta, Ávila y González** (2002) y **Tamayo** (2001), para el patógeno causante de la Antracnosis de la mora de Castilla.

En esta investigación las plantas de mora inoculadas estuvieron sometidas a un ambiente en invernadero con temperaturas entre 12 y 28°C, y una humedad relativa alrededor del 78%; estas condiciones no corresponden estrictamente con las mencionadas por **Forero de La-Rotta, Ávila y González** (2002), como óptimas para el desarrollo de la enfermedad en mora. **González et al.** (2003), encontraron un mayor avance y severidad de la enfermedad en los tejidos más suculentos. **Bailey y Jeger** (1992), mencionan que la variabilidad en el periodo de latencia del hongo representa una adaptación importante a las condiciones de la fisiología del tejido del hospedante y a las condiciones climatológicas durante el ciclo del cultivo. **Botero** (2001), referencia que las diferencias en la patogenicidad

Tabla 1. Diámetro (cm.) de las lesiones de Antracnosis en frutos de tomate de árbol a los 22 días de la inoculación.

Código del aislamiento	Departamento	Municipio	Localidad	a.s.n.m	Diámetro promedio de las lesiones (cm)
CMTT-1	Caldas	Manizales	Tesorito	2350	11.76 a
ARLLT-1**	Antioquia	Rionegro	Llanogrande	2120	9.41 b
AEPT-3**	Antioquia	Entrerriós	Pío XII	2435	6.84 c
ARLLT-3**	Antioquia	Rionegro	Llanogrande	2120	6.54 d
CMTUT-1**	Caldas	Manizales	Tesorito-Univ	2300	5.90 e
AETT-1**	Antioquia	Entrerriós	Tesorero	2365	5.76 f
AETT-2	Antioquia	Entrerriós	Tesorero	2370	5.75 f
AEPT-1	Antioquia	Entrerriós	Pío XII	2460	5.57 g
AEPT-2**	Antioquia	Entrerriós	Pío XII	2435	5.51 gh
ASRLmT-2	Antioquia	Santa Rosa	La Muñoz	2420	5.41 h
ASRTT-1	Antioquia	Santa Rosa	Teresitas	2510	5.26 i
ASRBT-2	Antioquia	Santa Rosa	Balcones	2550	5.23 i
ASROT-2	Antioquia	Santa Rosa	Orobajo	2440	4.83 j
AECET-1	Antioquia	Entrerriós	Cuatroesquinas	2400	4.73 j
ASRBT-1	Antioquia	Santa Rosa	Balcones	2550	4.59 k
ASRLmT-1**	Antioquia	Santa Rosa	La Muñoz	2420	4.15 l
ASROT-1	Antioquia	Santa Rosa	Orobajo	2440	4.06 l
ASRMT-1	Antioquia	Santa Rosa	Malambo	2420	3.93 i

* Tratamientos con la misma letra no presentan diferencia significativa al nivel del 5%.

** Aislamientos fuertemente asociados a la bacteria.

Tabla 2. Diámetro (cm.) de las lesiones de Antracnosis en frutos de manzana a los 22 días de la inoculación.

Código del aislamiento	Departamento	Municipio	Localidad	a.s.n.m	Diámetro promedio de las lesiones (cm)
CRSEoMa-2	Caldas	Río Sucio	El Oro	2.150	5.17a
CVMLfMa-4	Caldas	Villa María	La Florida	2.100	4.91 ab
CMChMa-1	Caldas	Manizales	Chulca	2.400	4.77 ab
CVMLfMa-3	Caldas	Villa María	La Florida	2.100	4.50 bc
CVMVMa-1	Caldas	Villa María	Valles	2.100	4.15 c
CRSEoMa-1	Caldas	Río Sucio	El Oro	2.150	3.25 d

de una cepa puede ser consecuencia de las interacciones del medio ambiente, la secreción de enzimas del hongo y el genotipo del hospedante.

Caracterización morfológica de los aislamientos:

Siguiendo la metodología planteada se registraron las siguientes características a un total de 33 aislamientos:

Coloración de las cepas: A los 10 días de la siembra en PDA-acidificado las cepas del hongo a temperatura ambiente (17°C) en el laboratorio, exhibieron coloraciones variables entre y dentro de los tratamientos (Figura 1A). Un 36% de los aislamientos presentaron coloración gris-naranja, un 24% amarillo-naranja, un 12% naranja-blanco, un 9% naranja, un 9% blanco, y un 9% otras coloraciones;

Tabla 3. Aislamientos con capacidad de inducir síntomas de la enfermedad en mora.

Código del aislamiento	Departamento	Municipio	Vereda o localidad	a.s.n.m.
AGScM-1	Antioquia	Guarne	Santa Clara	2310
AMSEM-1	Antioquia	Medellín	Santa Elena	2520
AMSEM-2	Antioquia	Medellín	Santa Elena	2520
AMSEM-6	Antioquia	Medellín	Santa Elena	2520

todas las coloraciones mostraron cambios con el transcurso del tiempo. La variabilidad en la coloración de los aislamientos del hongo es considerada normal y ha sido registrada por **Vinnere (2004)**, **Wharton y Diéguez (2004)** y **Freeman, Katan y Shabi (1998)**, quienes sugieren tener precaución cuando se usa esta característica para separar especies.

Tipo y aspecto del micelio: Cerca del 70% de las cepas presentaron un crecimiento ralo-superficial del micelio; otras cepas presentaron crecimiento ralo-superficial con agregados miceliales de aspecto grumoso o agregados de micelio denso de aspecto algodonoso, distribuidos irregularmente por toda la cepa o en ocasiones formando anillos. Al microscopio se observó un micelio hialino, septado, con inclusiones citoplasmáticas y variaciones a medida que la cepa envejecía. Entre los 5-7 días de establecidos los microcultivos, los extremos de las hifas se tornaron de aspecto granuloso e iniciaron la formación de espirales que luego se ensancharon y aplanaron para originar los apresorios al cabo de 48 a 72 h. Los apresorios recién formados se observaron hialinos y después de 24 a 72 h se tornaron de color castaño a castaño oscuro (Figura 1B). En los microcultivos crecieron dos grupos de hifas; las primeras observaciones corresponden a hifas largas (Figura 1C), que colonizaban el medio de cultivo extendiéndose en él para formar conidióforos simples y apresorios; las siguientes observaciones conformadas por hifas más cortas (Figura 1D) especializadas en producir masivamente conidias, este grupo de hifas predominaba en los aislamientos con mayor aptitud para la esporulación. Entre los 4 y 7 días se observó la formación de estructuras redondeadas similares a vesículas en posición intercalar o en los extremos de las hifas de algunos aislamientos; estas estructuras conservaron su forma durante 24 a 36 h, y luego empezaron a perderla (Figura 1E, F).

Tasa de crecimiento: La más alta tasa de crecimiento se presentó en el aislamiento AEPT-3, con 0.318 cm./día y la menor tasa en el aislamiento AMSEM-2, con 0.114 cm./día. El análisis de varianza registró una diferencia altamente significativa entre los diferentes aislamientos (Tabla 4).

Estas tasas de crecimiento se obtuvieron a 17°C, y no concuerdan con las reportadas por **Adaskaveg y Hartin (1997)**, para aislamientos de *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* mantenidos a 25 y 30°C, respectivamente. En este estudio las tasas de crecimiento fueron inferiores a las obtenidas por los mencionados investigadores. Sin embargo, **Freeman, Katan y Shabi (1998)**, encontraron tasas de crecimiento de *C. gloeosporioides* con crecimiento tan lento que no difirió de las tasas de crecimiento de *C. acutatum*.

Tamaño de las conidias: El largo de las conidias fluctuó entre 8.73 y 15.17 μm. Se registraron diferencias altamente significativas para esta variable (Tabla 5). Con la aplicación de la prueba de Duncan al 5% se conformaron 18 grupos para esta variable, el mayor de ellos conformado por 15 aislamientos y el menor con un solo aislamiento. Entre los valores de largo de conidias comprendidos entre 10.6 y 11.93 μm, se concentra un traslape de casi todos los aislamientos, lo cual dificulta la separación o diferenciación de estos mediante la utilización de esta variable en este rango.

El ancho de las conidias fluctuó entre 3.52 y 5.09 μm, con diferencias altamente significativas (Tabla 6). Con la prueba de Duncan a nivel del 5%, se conformaron 16 grupos ampliamente traslapados, dificultándose aún más la diferenciación de los aislamientos utilizando esta variable.

Forma de las conidias: Se presentaron diversas formas de conidias tanto entre las diferentes cepas como dentro de una misma cepa. Las principales formas encontradas, considerando las definiciones de **Ulloa y Hanlin (2001)**, para los tipos de conidias fueron: elipsoides, ligeramente fusiformes, ovoides, oblongas y elipsoides ligeramente constrictas. Según **Freeman, Katan y Shabi (1998)** y **Bailey y Jeger (1992)**, la morfología de las conidias así como el tamaño de las mismas no son elementos satisfactorios para distinguir las especies de *Colletotrichum*, debido a que la estabilidad de los rasgos morfológicos es afectada por factores ambientales, además de la existencia de formas intermedias en la morfología conidial y en el tamaño, lo cual conlleva a que la cepa pueda ser identificada como una u

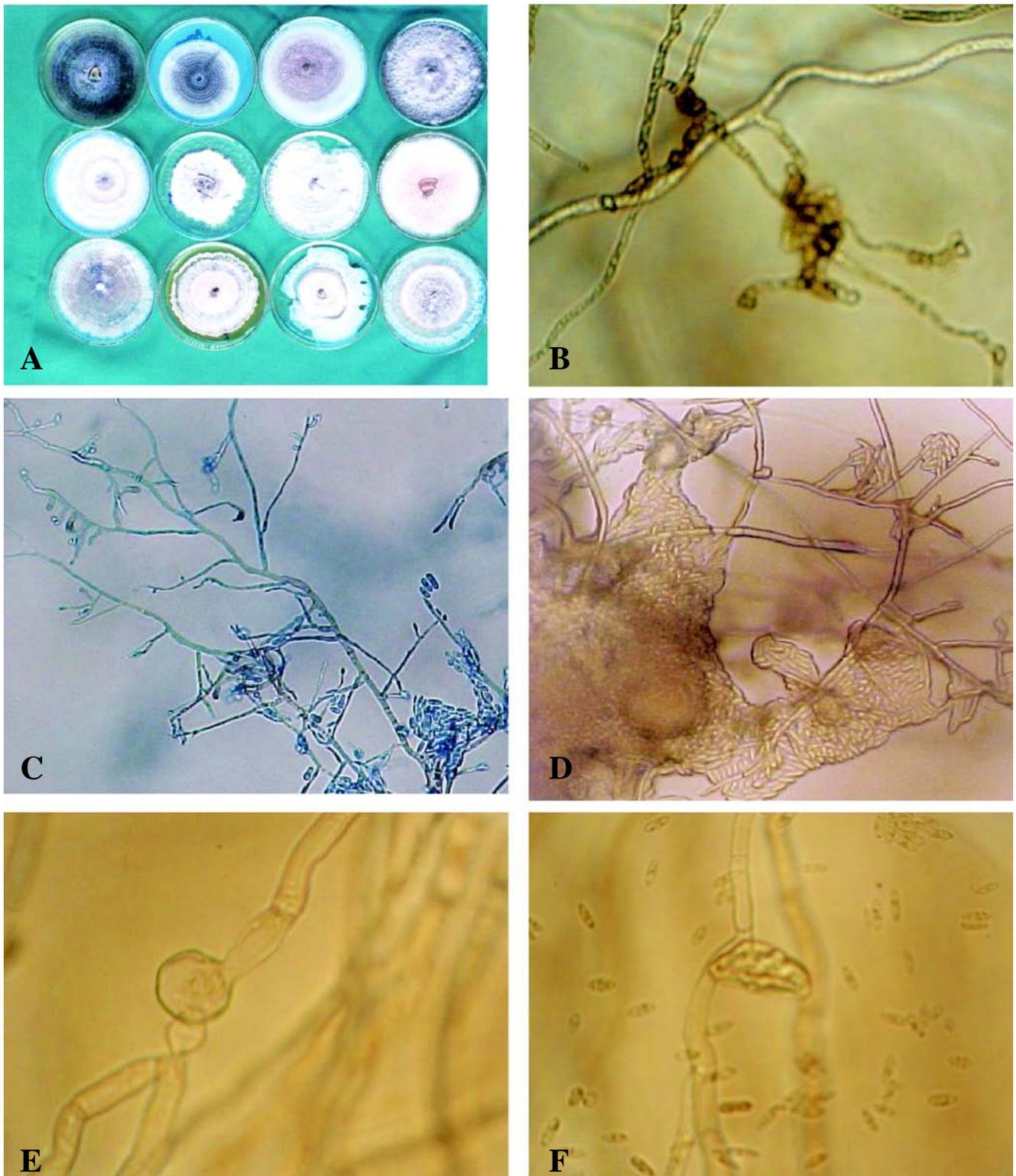


Figura 1. A. Morfología y coloración de las cepas de hongos a los 10 días de sembradas en PDA-acidificado. B. Apresorios en proceso de melanización en microcultivo (40x). C. Hifas largas (40x). D. Hifas cortas (40x). E. Estructura similar a una vesícula a las 126h en microcultivo. F. Estructura similar a una vesícula a las 150h en microcultivo.

Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA) para la variable tasa de crecimiento.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Tratamientos	32	1.22270700	0.03820959	2.29	0.0002
Error	297	4.95265604	0.01667561		
Total	329	6.17536304			

R-Cuadrado = 0.197998 CV = 53.90517 R. MSE = 0.12913408 Promedio = 0.23955788

Tabla 5. Análisis de varianza (ANOVA) para la variable largo de conidias.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Tratamientos	32	8156.40827273	254.88775852	91.85	0.0001
Error	3267	9066.05180000	2.77503881		
Total	3299	17222.46007273			

R- cuadrado = 0.473591 C.V. = 14.66037 R MSE = 1.66584477 Promedio = 11.36290909

Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) para la variable ancho de conidias.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Tratamientos	32	480.07469697	15.00233428	49.79	0.0001
Error	3267	984.33020000	0.30129483		
Total	3299	1464.40489697			

R-cuadrado = 0.327829 C.V. = 11.711111 R. MSE = 0.54890329 Promedio = 4.68703030

otra especie, dependiendo de los criterios individuales del identificador. También la falta de estandarización de los protocolos y condiciones de trabajo entre los diferentes investigadores, así como la inexistencia de convenciones internacionalmente aceptadas, crean controversias y confusiones que dificultan y producen incertidumbre en las identificaciones de los aislamientos (Bailey y Jeger, 1992).

Realización de los diagnósticos moleculares mediante PCR y uso de cebadores específicos

Crecimiento del hongo: considerando los aspectos planteados en la metodología se seleccionaron y cultivaron 27 aislamientos del hongo, los cuales presentaron buen crecimiento y pureza en el medio líquido.

Extracción y cuantificación del ADN: Con este método se obtuvieron rendimientos entre 300 y 17.750 ng/ μ L de ADN, concentraciones que variaron según el aislamiento del hongo. A partir de estas concentraciones se realizaron

las diluciones a 100 ng/mL en cada una de las muestras de ADN de los aislamientos.

PCR diagnóstica: Mediante la aplicación del protocolo descrito en la metodología y empleando los oligonucleóticos CgInt-ITS4, específicos para *C. gloeosporioides*, solo se logró la amplificación de las cepas controles para esta especie del hongo (Figura 2), lo cual sugiere que los aislamientos del hongo provenientes de los cultivos de tomate de árbol, mora y manzano no corresponden a esta especie, dado que se comprobó que los ADN del cepario sometido a la prueba no habían sufrido degradación y amplificaron perfectamente con los oligonucleótidos universales ITS1-ITS4.

Considerando el resultado y con la revisión de literatura sobre los caracteres morfológicos de las especies de *Colletotrichum*, así como los reportes de estas en manzana, tomate de árbol y mora, además de los registros sobre el uso de oligonucleótidos en la diferenciación de especies de *Colletotrichum* frutales, se solicitó sintetizar el oligonucleótido CaInt-2 referenciado en los trabajos de

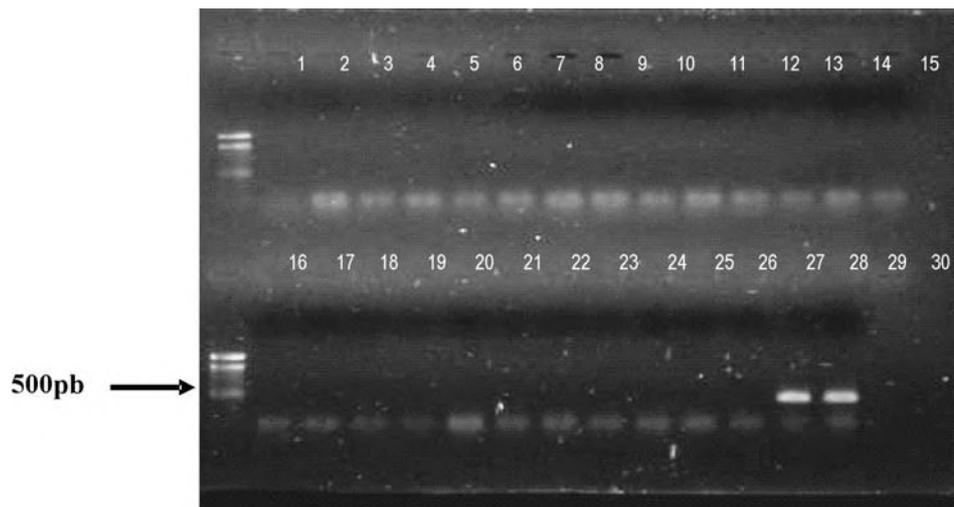


Figura 2. PCR diagnóstica para *C. gloeosporioides*. Productos amplificados con los oligonucleótidos CgInt-ITS4. Carriles 1 y 16, marcadores de peso molecular 100pb ladder-CIB. Carriles 2-27, ADN de los aislamientos de *Colletotrichum*. Carriles 28 y 29, controles positivos para *C. gloeosporioides*. Carril 30, control negativo para la PCR.

Adaskaveg y Hartin (1997), como específico y útil para el diagnóstico de *Colletotrichum acutatum*; con este oligonucleótido y aplicando el protocolo descrito en la metodología se logró la amplificación de todos los ADN de los aislamientos, incluyendo el ADN de un aislamiento control positivo de *C. acutatum* (CA-2 cepa 1384 del C.I. Tibaitatá, CORPOICA) proveniente de cáliz persistente de naranja Valencia (Figura 3).

C. acutatum se reporta como patógeno causante de Antracnosis en tomate de árbol y en manzana; pero en mora no se encuentran registros de esta especie causando enfermedad en dicho cultivo.

Tradicionalmente *C. acutatum* era diferenciado de *C. gloeosporioides* principalmente por la forma de las conidias, el color de las cepas, ocurrencia del teleomorfo y

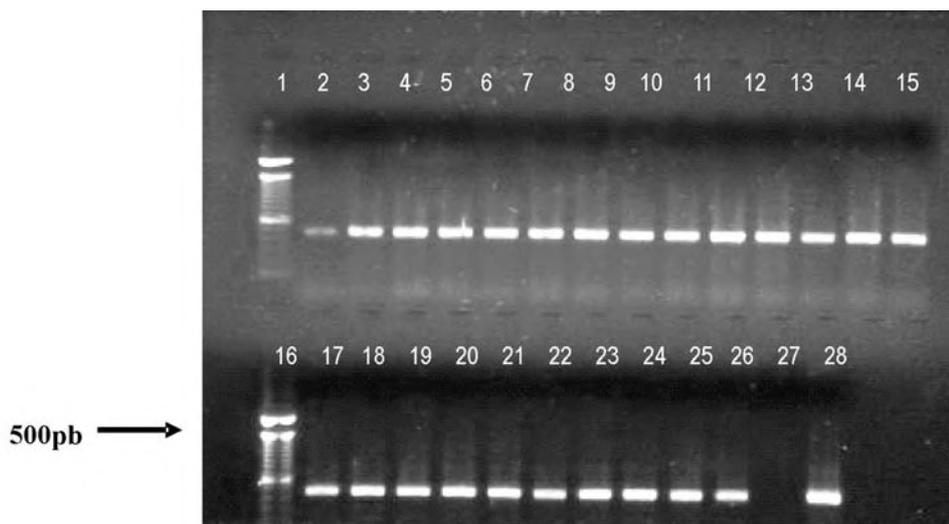


Figura 3. Productos amplificados con los oligonucleótidos CaInt-ITS4. Carriles 1 y 16, marcadores de peso molecular 100pb ladder-CIB. Carriles 2-15 y 17-26, ADN de los aislamientos de *Colletotrichum*. Carril 27, control negativo para la PCR. Carril 28, control positivo para *C. acutatum*.

sensibilidad diferencial a benomil; sin embargo, después del año 2004, con los trabajos realizados por **Vinnere** (2004), **Wharton y Diéguez** (2004) y **OEPP/EPO** (2004), estos aspectos son reevaluados. Los mencionados trabajos referencian que *C. acutatum* es una especie poseedora de una amplia diversidad genética y una gran variabilidad en sus caracteres morfológicos y fisiológicos.

La presencia de *C. acutatum* en estos frutales crea la necesidad de adelantar estudios para conocer el comportamiento del patógeno y su contribución a las pérdidas registradas por la Antracnosis causada por *C. gloeosporioides*, e igualmente hace necesario investigar sobre la composición poblacional de *Colletotrichum*, patogenicidad y prevalencia de las especies, fuentes de inóculo y ciclos de la enfermedad bajo condiciones del trópico, entre otros aspectos.

Conclusiones

En este trabajo se comprobó la gran variabilidad existente dentro y entre los tratamientos en las características morfológicas de las cepas, especialmente el color, el aspecto y tipo de micelio, lo cual hace que estos caracteres no sean confiables para la diferenciación de las especies *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*.

La morfología conidial (tamaño y forma), también presentó amplia variación entre y dentro de los aislamientos, dificultando su diferenciación, además de la inestabilidad de los rasgos fenotípicos de las conidias durante el transcurso del tiempo.

Mediante la aplicación de PCR en el diagnóstico de patógenos vegetales se pudo detectar la presencia de *C. acutatum* como agente causante de Antracnosis en frutos de tomate de árbol y manzana, y produciendo lesiones y muerte en ramas de mora.

Los protocolos de diagnóstico molecular desarrollados y empleados durante la ejecución de este trabajo permitieron diferenciar las especies de *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* aisladas de frutos de tomate de árbol, manzana y tallos de mora, y se pueden considerar un aporte valioso para continuar los estudios sobre el complejo *Colletotrichum* en los frutales de clima frío moderado.

Bibliografía

Adaskaveg, J. E. and Hartin, R.J. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing Anthracnose of almond and peach in California. En: *Phytopathology*. 87: 979-987.

Aranzazu, F. y Rondón, G. 1999. Manejo productivo del cultivo del tomate de árbol y de la Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), Penz. & Sacc.). Santafé de Bogotá: Boletín Divulgativo CORPOICA-PRONATTA. p. 9-18.

Ávila, W.; González, R.; F. De La Rotta, M.C. y Vargas, A. 2003. Penetración, infección y sitios de ataque del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* en plantas de mora de Castilla. p. 4. En: XXIV Congreso Nacional de Fitopatología (2003: Armenia, Colombia). Memorias. Armenia: Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines.

Bailey, J. A. and Jeger, M. J. 1992. *Colletotrichum*: Biology, pathology and control. Wallingford UK : CAB International. 387p.

Botero, M.J.; Franco, G.; Castaño-Zapata, J. y Ramírez, M.C. 2003. Enfermedades de poscosecha en lulo (*Solanum quitoense*), mora (*Rubus glaucus*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*). p. 59. En: XXIV Congreso Nacional de Fitopatología (2003: Armenia, Colombia). Memorias. Armenia: Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines.

Botero, M. J. 2001. Interacción biológica de microorganismos relacionados con *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc., agente causal de la Antracnosis en tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendt.). Manizales. 184p. Tesis de Magister en Fitopatología. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Brown, A.E.; Sreenivasaprasad, S. and Timmer, L. 1996. Molecular characterization of slow-growing orange and Key lime Anthracnose strains of *Colletotrichum* from citrus as *C. acutatum*. En: *Phytopathology*. 86: 523-527.

CORPOICA. 1998. Programa nacional de manejo integrado de plagas-MIP. Documento de trabajo. Bogotá: Centro de Investigación Tibaitatá. 6p.

CORPOICA. 1999. Estudios biológicos y epidemiológicos de la Antracnosis del tomate de árbol y generación de alternativas para su manejo integrado en Colombia : Informe Técnico Final. PRONATTA-CORPOICA. Santafé de Bogotá, D.C. 147p.

Dyer, T. and Kurt, L. 2000. Contamination, error, and non-specific molecular tools. En: *Phytopathology*. 90(6): 565-567.

Forero De La Rotta, M.C.; Ávila, W. y González, R. 2002. Estudio sobre "Antracnosis" en mora de Castilla. p. 220-228. En: IV Seminario Frutales de Clima Frío Moderado (2002: Medellín, Colombia). Memorias. Medellín: CORPOICA, CDTF, UPB.

Freeman, S.; Katan, T. and Shabi, E. 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for Anthracnose diseases of various fruits. En: *Plant Disease*. 82(6): 596-604.

González, R.; Ávila, W.; F De La Rotta, M.C. y Vargas, A. 2003. Estudios sobre la severidad y avance del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* agente causante de la Antracnosis en mora de Castilla. p. 5. En: XXIV Congreso Nacional de Fitopatología (2003: Armenia, Colombia). Memorias. Armenia: Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines.

Herrera, A. 1985. Manual de medios de cultivo. La Habana: Editorial Científico-técnica. p. 155-156.

- Latham, A.J. and William, J.C.** 1983. Cultural characteristics and pathogenicity of *Glomerella cingulata* isolates from apples in Alabama. En: Plant Disease 67: 1065-1068.
- Martínez-Culebras, P.; Barrio, E.; García, M.D. and Querol, A.** 2000. Identification of *Colletotrichum* species responsible for Anthracnose of strawberry based on the internal transcribed spacers of the ribosomal region. En: FEMS Microbiology Letters 189: 97-101.
- Navarro, R. A. y Puerta, O. D.** 1978. Proceso de infección por *Gloeosporium* sp. en frutos de tomate de árbol, *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. En: Ascolfi Informa. 4(3): 6-7.
- Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes / European and Mediterranean Plant Protection Organization OEPP/EPPO.** 2004. Protocolos de diagnostic pour les organismes réglementés. *Glomerella acutata*. Bulletin 34: 193-199.
- Osorio, J. A.** 2003. Cómo pensar y desarrollar la investigación agrícola en la Corpoica del futuro: Horizonte 2003-2007. Documento Corpoica, C.I. Tibaitatá. Mosquera, Cundinamarca. p. 6.
- Parbery, D.G. y Blakeman, J. P.** 1978. Effect of chemical substances associated with the surfaces of plant leaves on appressorium formation by *Colletotrichum acutatum*. En: Transactions of the British Mycological Society. p. 153-159.
- Reader, U. and Broda, P.** 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. En: Letters in Applied Microbiology. 1: 17-20.
- Romero, S. E.** 1999. Caracterización morfológica, molecular y variabilidad patogénica del agente causal de la Antracnosis *Colletotrichum gloeosporioides* en tomate de árbol en Colombia. Santafé de Bogotá. 107p. Tesis Magíster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Área de fitopatología.
- Salazar, H.; Castaño-Zapata, J. y Castaño, O.** 1997. Principales enfermedades y plagas asociadas a cultivos de manzano y durazno en Caldas. Manizales: Artes Gráficas Tizan Ltda. p. 12-13.
- Saldarriaga, A.** 2006. Caracterización del agente causante de la Antracnosis en tomate de árbol, manzana y mora. Manizales. 191p. Tesis de Magíster en Fitopatología. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Schilder, A.** 2003. Optimum timing and use of strobilurin fungicides for disease control in strawberries. Department of Plant Pathology. 164 Plant Biology Building, Michigan State University. Disponible en Internet: www.schilder@msu.edu.
- Tamayo, P.** 2001. Principales enfermedades del tomate de árbol, la mora y el lulo en Colombia. Boletín Técnico 12. Rionegro (Antioquia): Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). p. 21-23.
- Ulloa, M. and Hanlin, T.** 2001. Illustrated dictionary of mycology. St. Paul, Minnesota: APS Press. p. 87, 108, 130, 164, 266.
- Vinnere, O.** 2004. Approaches to species delineation in anamorphic (mitosporic) fungi: a study on two extreme cases. Uppsala-Sweden. 42h. Thesis Doctor of Philosophy. Uppsala University.
- Wharton, P. S. and Diéguez-Uribeondo, J.** 2004. The biology of *Colletotrichum acutatum*. En: Anales del Jardín Botánico de Madrid. 61(1): 3-22.

Recibido: 20 de marzo de 2007

Aceptado para su publicación: 7 de julio de 2008

MODELAMIENTO GEOFÍSICO DE UN ÁREA DE LA ZONA DE CERRITOS, MUNICIPIO DE PEREIRA (RISARALDA)

Por

Lina María Serna, Luis Montes & Carlos Vargas¹

Resumen

Serna, L.M., L. Montes & C. Vargas: Modelamiento geofísico de un área de la zona de Cerritos, municipio de Pereira (Risaralda). Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 157-169, 2008. ISSN 0370-3908.

Mediante el convenio CARDER – Universidad Nacional, se realizó una campaña geofísica en el área de Cerritos, zona rural de la ciudad de Pereira. Esta campaña consistió de la adquisición, procesamiento, modelamiento e interpretación de datos gravimétricos, magnéticos, geoelectrónicos, y sísmicos en un área de 210.75 km². A partir de la implementación de las diferentes medidas geofísicas y estudios anteriores, se definió que la zona de estudio contiene un acuífero de tipo libre a semiconfinado definido por la Formación Pereira (Tqp) de edad Plio-Pleistoceno, la cual se caracteriza por presentar capas con heterogeneidad lateral, y se integra de dos secuencias principales, la superior de cenizas volcánicas, y la inferior de flujos volcanoclásticos, cuyo espesor alcanza los 750m, está siendo controlado por las Formaciones Cartago y Barroso, que a su vez están siendo afectadas por la actividad tectónica de la zona, donde las fallas inversas ayudan a producir levantamientos del basamento y cambios de espesor de la Formación Pereira, lo cual puede afectar el sistema de circulación de las aguas subterráneas, manifestados por los cambios de resistividad eléctrica en el subsuelo.

Palabras clave: acuífero, prospección geofísica, gravimetría, magnetometría, sísmica, tomografías eléctricas, Formación Pereira, inversión, propiedades geofísicas.

Abstract

A geophysical project was developed in Cerritos area, near Pereira city, where gravity, magnetic, electrical and seismic data were acquired over a 210.75 km² area. The data were processed and interpreted according the geological information acquired and also available; as result a free to confined aquifer was defined in the Plio-Pleistocene Pereira formation (Tqp), that is characterized

¹ Universidad Nacional de Colombia, Maestría en Ciencias - Geofísica, Departamento de Geociencias.

by non-homogeneous lateral layers and constituted by a superior sequence of volcanic ashes and an inferior of volcano-clastic flows which reaches 750 m thick. The Pereira fm is controlled by the tectonic controlled Cartago and Barroso formations, with inverse faults that indicate uplift of the basement and variations of the Pereira formation thick, affecting the underwater circulation system and expressed by variations in the electric resistivity of the subsoil.

Key words: acuífer, geophysical prospecting, gravimetry, magnetometry, seismic, electrical tomography, Pereira formation, investment, geophysical properties.

Introducción

La Corporación Autónoma Regional de Risaralda, CARDER, desde el año 2001 ha venido desarrollando el proyecto para la formulación del “Plan de Manejo Integral de las Aguas Subterráneas en Pereira, PPMIASP”, el cual propone adquirir las herramientas técnicas, sociales y administrativas que permiten gestionar el uso racional y sostenible de las aguas subterráneas, propendiendo por garantizar a generaciones actuales y futuras su conservación en términos de calidad y cantidad (CARDER, 2007). Con base en esta formulación se creó el convenio administrativo entre la Corporación Autónoma Regional de Risaralda – CARDER, y la Universidad Nacional de Colombia, con el fin de conocer y modelar las propiedades geofísicas del subsuelo para ser dirigido hacia un modelo geológico-geofísico que permitiera refinar el modelo hidrogeológico conceptual del Acuífero de Pereira. Mediante este convenio se realizó una campaña de prospección geofísica en la zona de Cerritos, sector occidental de la ciudad de Pereira.

Los métodos geofísicos (tomografías eléctricas, gravimetría, magnetometría, sísmica) aplicables a estudios hidrogeológicos destacan la estimación de la estructura del subsuelo y profundidad de formaciones impermeables, la continuidad lateral de las unidades, espesores de estratos, detección de zonas de fracturamiento o de fallas, y conformación de un basamento. Características que ayudan a estructurar y planificar la riqueza hídrica del área, a partir de la implementación de un arreglo instrumental de medidas geofísicas, sobre un área aproximada de 210.75 km².

Informes de otros trabajos realizados en la zona estimaban la profundidad del basamento localmente con un espesor no mayor a la profundidad alcanzada por los sondeos eléctricos verticales y en otros no se identificaba el basamento. Este estudio suministra información cuantitativa más confiable sobre un territorio más extenso, permitiendo así determinar los distintos espesores que conforman las unidades geológicas, la profundidad de las capas impermeables y el espesor del estrato saturado. Por tal razón, se considera que la integración de métodos

geofísicos contribuye de una manera significativa en la definición del modelo del subsuelo para un amplio sector de Cerritos, siendo además una excelente herramienta para mejorar el entendimiento sobre los acuíferos de esta zona, la cual permite evaluar y planificar la riqueza hídrica del área y estimar el potencial de los recursos hídricos subterráneos, considerados la más importante fuente de abastecimiento de agua potable para la población.

Descripción del área de estudio

El estudio se desarrolla en la región de Cerritos, área rural de la ciudad de Pereira, localizada al oeste de esta ciudad, perteneciente al departamento de Risaralda (Figura 1). A su vez, este departamento está situado en el centro occidente de Colombia en la denominada región cafetera. Comprende un área aproximada de 210.75 km², y está entre las latitudes: 4°41'18.66"N - 4°52'7.73"N, y longitudes: 75°54'33.57"W - 75°38'19.08"W.

La zona de estudio es controlada estructuralmente por fallas con orientación general N-S y NNE-SSW de actividad reciente, y se conforma principalmente por unidades cretácicas y terciarias: como la Formación Barroso (Kvb), la cual está compuesta por diabasas, basaltos y en menor proporción espilitas; Cartago (Toc) compuesta por una secuencia de limolitas azul-grisáceas levemente carbonosas, intercaladas con areniscas de grano medio de color café verdoso, arcósicas y algunos niveles tobáceos (Cardona y Ortiz, 1993). Esta unidad conforma el Sinclinal de Miravalles, y está expuesta hacia el sur-occidente de la ciudad de Pereira; y la Formación Pereira (Tqp), la cual es la unidad de mayor interés hidrogeológico, por poseer las características más favorables para el transporte y acumulación de aguas subterráneas, además de su gran extensión, y potente espesor. Se caracteriza por su falta de secuencialidad y carácter heterogéneo, donde su origen se atribuye a erupciones generadas en la cima de la Cordillera Central. Esta unidad de edad Plioceno –Pleistoceno, se divide en dos miembros, el miembro inferior, conformado en un alto porcentaje por depósitos de flujos de escombros, intercalados por depósitos de corrientes trenzadas,

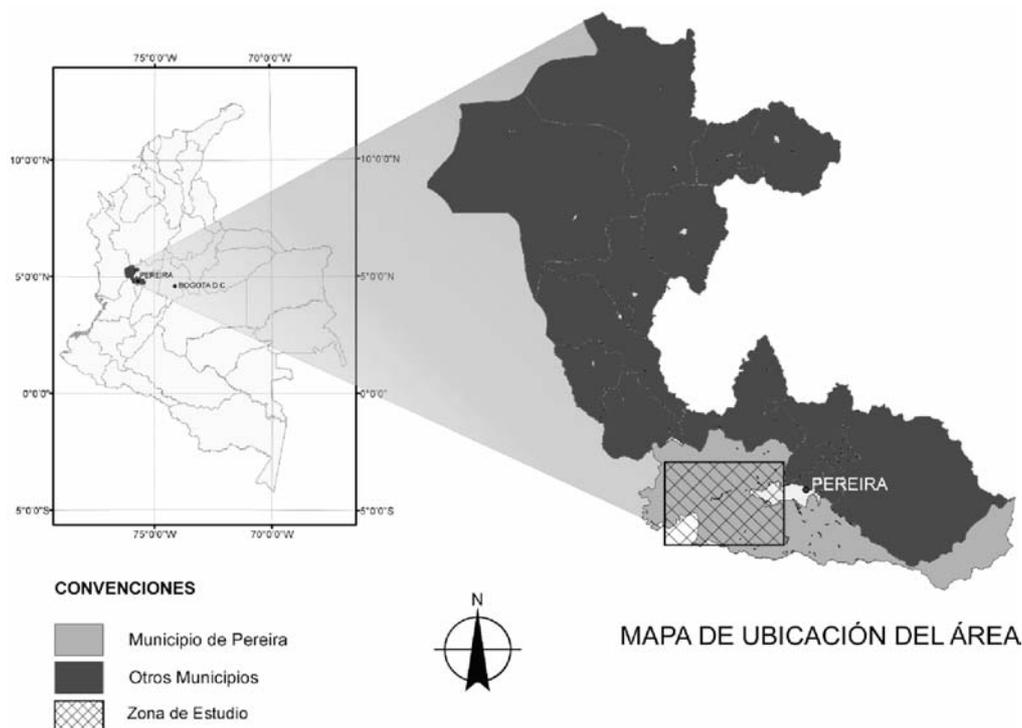


Figura 1. Localización del área de estudio.

corrientes de baja sinuosidad y en menor proporción con depósitos de llanuras de inundación o lagunares; también se presentan tobas de caída y flujos piroclásticos; y un miembro superior conformado por tobas de caída y localmente arcillas tobáceas de ambiente lagunar (Cardona y Ortiz, 1993) (Figura 2).

Metodología

A partir de la compilación y análisis de información geológica y geofísica, se obtuvo un marco de referencia acerca del comportamiento de las unidades litológicas de la zona y el control estructural de las mismas, con el fin de diseñar estratégicamente la ubicación de las estaciones. A partir de este procedimiento se realizaron cinco perfiles magnéticos y gravimétricos de dirección preferencial Este-Oeste, diez tomografías eléctricas distribuidas ampliamente en la zona de estudio, y una línea sísmica de orientación Este-Oeste ubicada sobre el área de La Carmelita (Figura 3). De forma alterna se recolectaron muestras de roca de las Formaciones Barroso y Pereira, y se tomaron registros visuales de otras unidades aflorantes en la zona. En total se adquirieron 200 puntos de gravimetría y magnetometría, diez secciones tomográficas con extensiones que alcanzan los 150 metros, y dos kilómetros de línea sísmica

correspondientes a 93 fuentes por cada 25 metros de desplazamiento, tomando como base cartográfica los mapas 1:25000 y 1:5000 de la zona, elaborados por Ingeominas y CARDER.

Este trabajo de campo comprende diferentes actividades dependiendo del método geofísico a emplear, como se describe en la tabla 1.

La reducción de los datos gravimétricos fue referida al NP44 de la línea TW2, de la Red Gravimétrica de Tercer Orden, ubicado en el Puente Mosquera de Pereira, con un valor de gravedad observada de 977732.73 mGal. A partir de los datos de gravedad observada se hacen las reducciones de los datos gravimétricos con el fin de obtener la anomalía total de Bouguer, usando como referencia para el cálculo de la gravedad teórica, la ecuación internacional de WGS 1984. La corrección topográfica fue calculada a partir de modelos digitales de terreno generados por las cartografías 1:5000 y 1:25000 de la zona de estudio. En el cálculo de la corrección de Bouguer, se usó una densidad de 2.758 g/cm³, estimada a partir de pruebas de laboratorio, obteniendo las anomalías de aire libre y total de Bouguer.

En la reducción de datos magnetométricos se eliminan las variaciones del campo magnético debidas a causas no

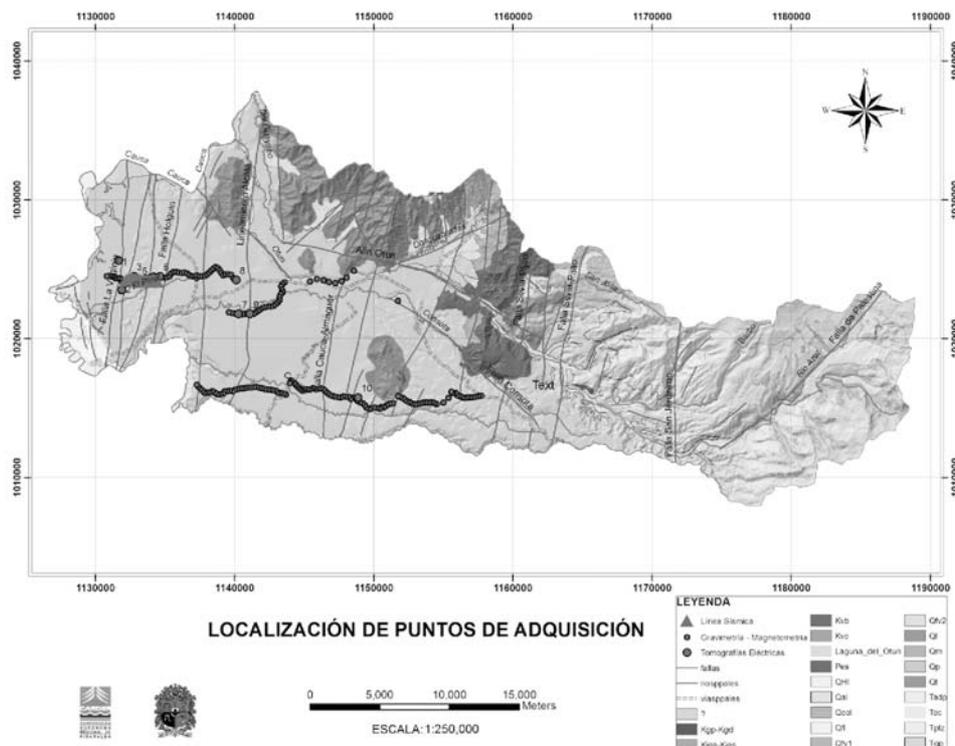


Figura 2. Geología de la ciudad de Pereira (Modificado de CARDER, 2004). La zona de estudio se encuentra influenciada por las Formaciones Pereira (Tqp), Cartago (Toc), y Barroso (Kvb).

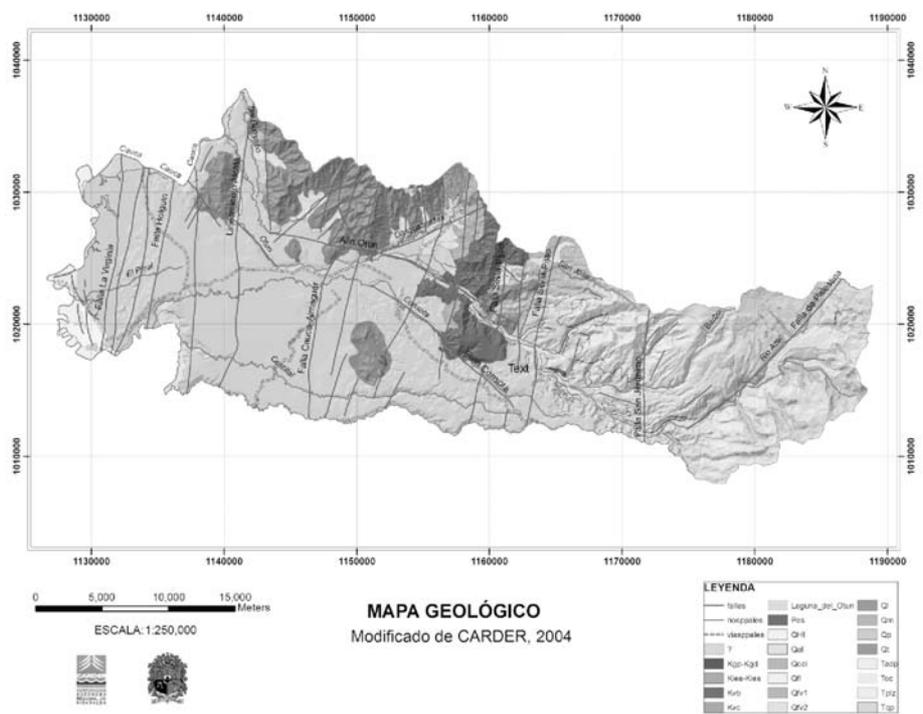


Figura 3. Mapa geológico de la zona de estudio y localización de los puntos de adquisición. Magneto-gravimetría (puntos púrpura), línea sísmica (triángulos azules), tomografías eléctricas (puntos rojos).

Tabla 1. Métodos geofísicos usados en hidrogeología.

Métodos	Principios	Parámetros obtenidos
Geoeléctrico	Conductividad o resistividad eléctrica	Geometría del acuífero (profundidad de formaciones impermeables y estructura del subsuelo), extensión lateral, propiedades de las formaciones (arena-arcilla), salinidad del agua, plumas de contaminación.
Sísmica de Refracción	Velocidad de propagación de un esfuerzo mecánico	Depósitos secos-saturados, espesores de diferentes estratos y detección de zonas de fracturamiento.
Sísmica de Reflexión	Velocidad de propagación de un esfuerzo mecánico	Zonas de fallas, cartografías de estructuras de recubrimiento.
Gravimetría	Densidad	Relleno-basamento.
Magnetometría	Susceptibilidad Magnética	Geometría del acuífero (profundidad de formaciones impermeables y estructura del subsuelo), extensión lateral.

geológicas como la variación diurna, y la presencia de ruidos culturales al ajustar los datos de campo con el comportamiento general del campo magnético de la estación base, para hacer la corrección del IGRF (International Geophysical Reference Field), y obtener el valor de anomalía de campo total. Estas anomalías pueden ser reducidas a “anomalías en el polo magnético” si la dirección del campo magnético de la tierra y la dirección de magnetización del objeto se conoce, donde los valores promedio de declinación e inclinación magnética para esta zona son de -4.4204 grados, y 30.754 grados, respectivamente.

Para tener una estimación real de la magnetización de las rocas en el área de estudio se realizaron mediciones de susceptibilidad magnética de varias muestras de la Formación Barroso, compuesta principalmente por diabasas, basaltos, y en menor proporción espilitas. El valor de susceptibilidad magnética obtenido se comparó con otros valores medidos sobre la misma Formación en un estudio magnetométrico realizado entre los límites de los departamentos de Caldas y Antioquia, por la unión temporal Dunia-ATG, 2005. Se calculó un promedio para los basaltos de la Formación Barroso de 0.000435 cgs, con el fin de realizar los modelos geológicos a partir de los datos magnéticos observados.

Los datos generados a partir de las tomografías eléctricas son datos de resistividad aparente a partir de un arreglo tipo Wenner, donde se aplicó un proceso de inversión por mínimos cuadrados realizando una grilla a partir de diferencias finitas con el fin de establecer modelos en dos dimensiones de resistividad verdadera del subsuelo.

En el método de sísmica de reflexión se obtienen sismogramas a partir de la campaña de adquisición, los cuales son procesados hasta una migración en tiempo. Este procesamiento consiste básicamente en asignar una geo-

metría, realizar una deconvolución, en la cual se da un mejoramiento en la resolución de los datos. Posterior a éste, se hace la corrección en tiempo o corrección Normal Moveout con ayuda de una función de velocidad para alinear cada traza a la forma de la estructura, y por último se hace la migración de los datos la cual busca colapsar las difracciones presentes que actúan como fuentes secundarias y mueve los eventos buzantes a su posición original. Al obtener la sección sísmica, se realiza la interpretación de ésta, la cual busca caracterizar geológicamente los horizontes reflejados.

Resultados

De los cinco perfiles magneto-gravimétricos modelados mediante la aproximación por láminas del método de Talwani (Talwani *et al.*, 1959, y Talwani and Heirtzler, 1964), los perfiles 1 (San Felipe), y 2 (Jordán) son presentados aquí, por estar ubicados en los extremos occidental y oriental del área, respectivamente. El perfil de San Felipe tiene una longitud de 10928.7 metros, con una dirección preferencial W-E. Se ubica sobre la Formación Pereira, y está cortando fallas de dirección N-S y NNE-SSW, como la Falla La Virginia, y la Falla Holguín.

En la Figura 4, correspondiente al perfil de San Felipe, se identifica en el primer recuadro la curva de datos observados (puntos) de anomalía de campo total reducida al polo, contra la curva de anomalía magnética teórica (línea continua). El siguiente recuadro muestra la curva de gravedad observada (puntos), contra la gravedad teórica (línea), y el recuadro inferior corresponde al modelo geológico que mejor se ajustó a los datos. Este modelo es interpretado en un programa de dibujo para detallar el movimiento de las fallas, donde se aprecia que la Formación Cartago se encuentra infrayaciendo los depósitos fluviales y glaciovolcánicos

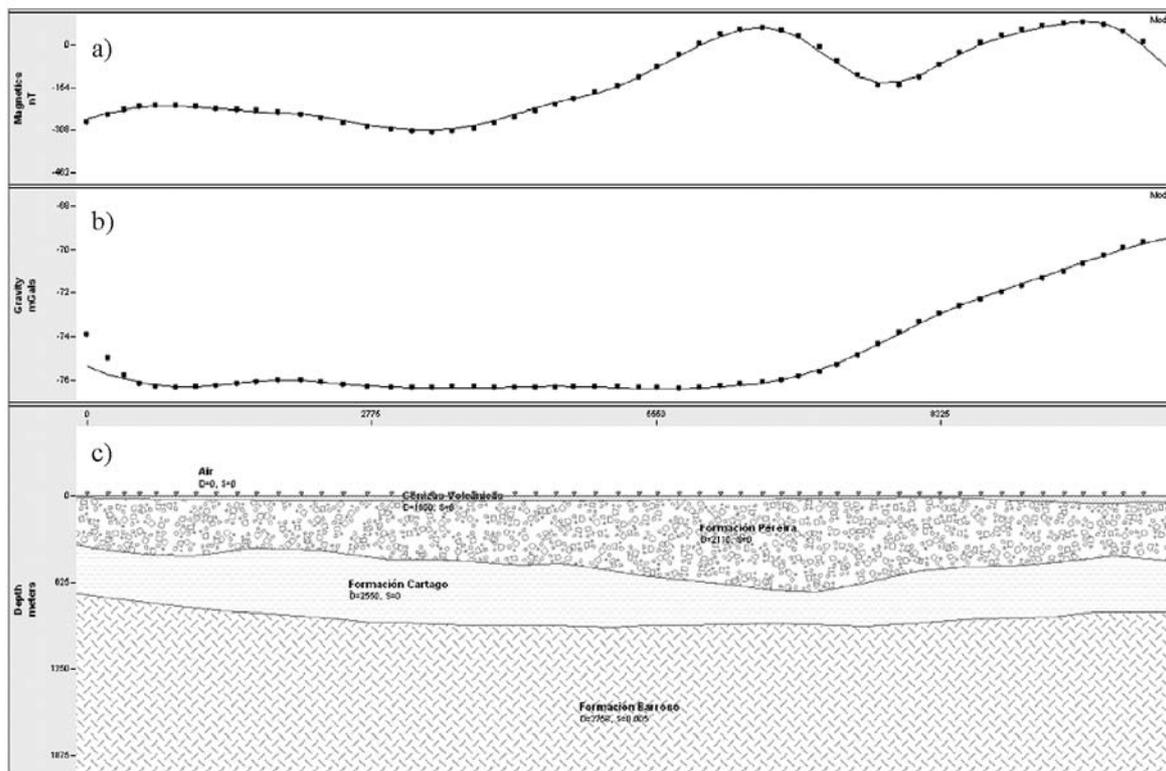


Figura 4. Sección del perfil 1 (San Felipe), computado por el modelamiento 2D de datos gravimétricos y magnéticos. (a) Datos observados (puntos) y datos teóricos (línea continua) de la anomalía de intensidad magnética total reducida al polo, en nanoTeslas. (b) Anomalía observada (puntos) y teórica (línea continua) total de Bouguer, en miliGales. (c) Sección geológica con propiedades geofísicas de cada bloque, D = densidad (kg/m^3), S = susceptibilidad magnética (SI).

de la Formación Pereira a partir de 350m (Figura 5). La Formación Barroso presenta profundidades entre 740 y 950m, disminuyendo constantemente hacia el oriente. De otra forma, se identifica la influencia de las fallas inversas de ángulo bajo, las cuales ayudan a controlar el ascenso del basamento hacia la parte más oriental.

Para el perfil El Jordán (Figura 6), la Formación Pereira incrementa su espesor hacia el oriente a medida que se aleja del basamento aflorante, alcanzando espesores de 595m. La Formación Barroso está en contacto probablemente fallado en el sector más oriental con el Stock Gabrónico de Pereira, el cual refleja altos valores de anomalía magnética, alrededor de 100 nanoTeslas (Figura 7). Estos altos valores magnéticos para esta unidad cretácica pueden indicar una zona económicamente prospectiva por concentración de minerales ferromagnesianos.

De forma general, el basamento cretácico es mucho más profundo en la parte más occidental de la zona, alcanzando profundidades máximas de 991m. A medida que se avanza hacia el oriente de la zona se produce un adelgazamiento

de los sedimentos, y una mayor influencia de las fallas que ayudan a levantar el basamento. Los tres perfiles ubicados al sur de la zona de estudio (perfiles La Palmerita, El Agrado, y El Jordán), muestran un alto de basamento cretácico asociado al cuerpo que aflora en este sector, básicamente en el perfil El Agrado (Figura 8). La tabla 2 muestra la variación de profundidad de la Formación Cartago y de la Formación Barroso para cada modelo obtenido.

Tabla 2. Estimación de la profundidad de los tope de los basamentos Terciario y Cretácico, a partir de los modelos geológicos obtenidos a partir de la inversión magneto-gravimétrica.

Perfil	Tope Basamento Terciario (m)	Tope Basamento Cretácico (m)
1 San Felipe	376-689	739-949
2 El Tigre		559-825
3 Palmerita	105-537	562-991
4 El Agrado		122-629
5 El Jordán		178-345

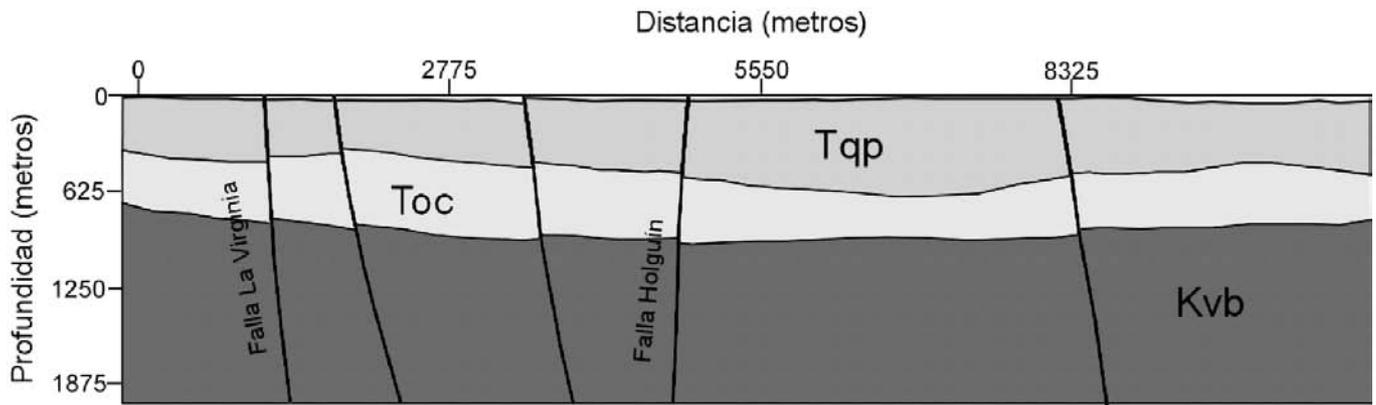


Figura 5. Sección geológica interpretada del perfil 1 (San Felipe). En general, muestra la dirección y actividad de las fallas (líneas rojas), que producen leves desplazamientos de las unidades geológicas (Tqp = Formación Pereira, Toc = Formación Cartago, y Kvb = Formación Barroso).

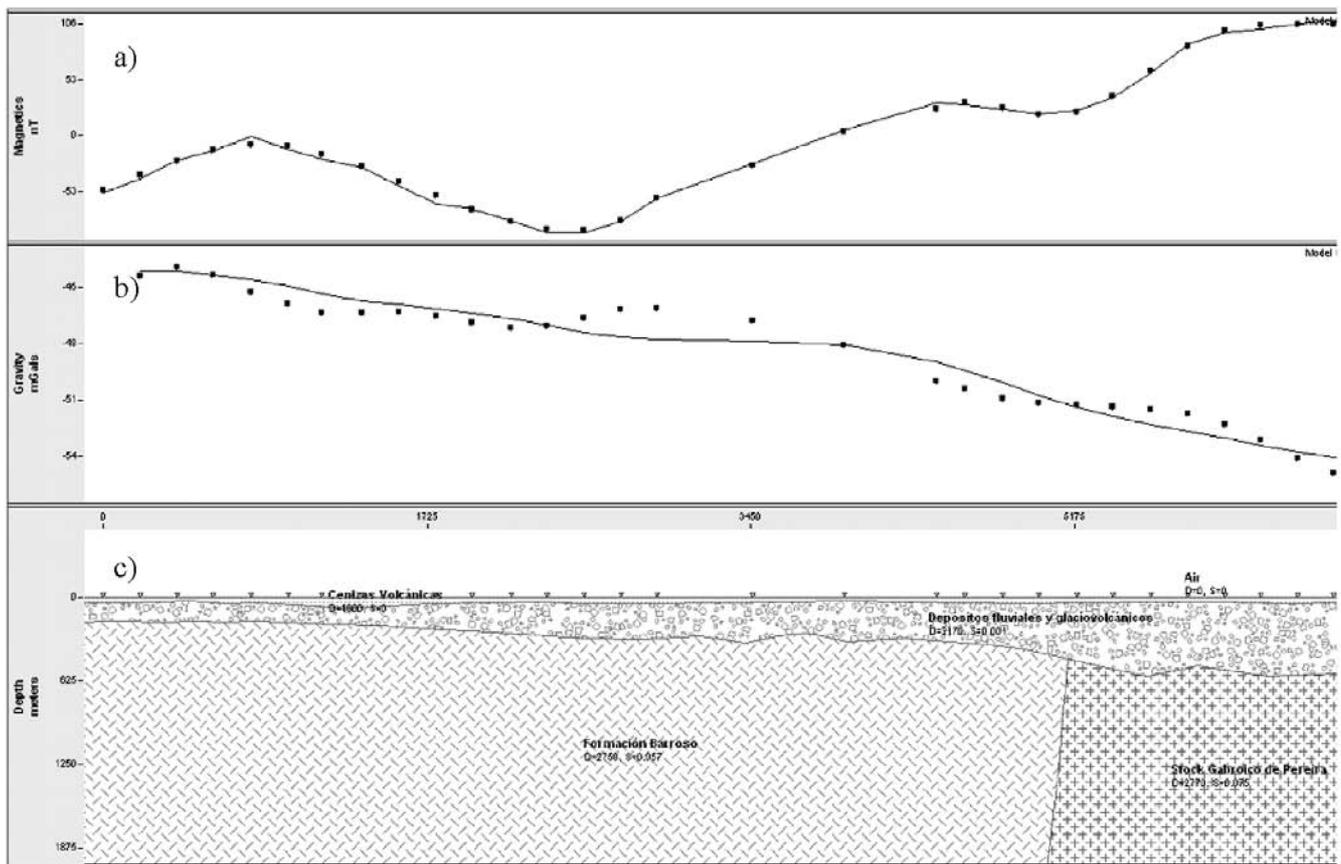


Figura 6. Sección del perfil 5 (El Jordán), computado por el modelamiento 2D de datos gravimétricos y magnéticos. (a) Datos observados (puntos) y datos teóricos (línea continua) de la anomalía de intensidad magnética total reducida al polo, en nanoTeslas. (b) Anomalía observada (puntos) y teórica (línea continua) total de Bouguer, en miliGales. (c) Sección geológica con propiedades geofísicas de cada bloque, D = densidad (kg/m^3), S = susceptibilidad magnética (SI).

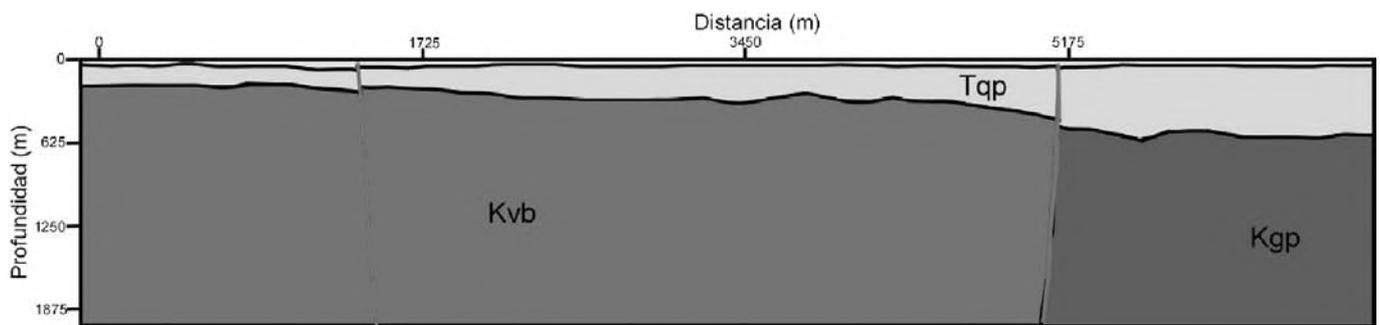


Figura 7. Sección geológica interpretada del perfil 5 (El Jordán). La Formación Pereira incrementa su espesor hacia el oriente a medida que se aleja del basamento aflorante, alcanzando espesores de 595m. La Formación Barroso está en contacto fallado en el sector más oriental con el Stock Gabrónico de Pereira, el cual refleja altos valores de anomalía magnética, alrededor de 100 nanoTeslas, según la figura 6.

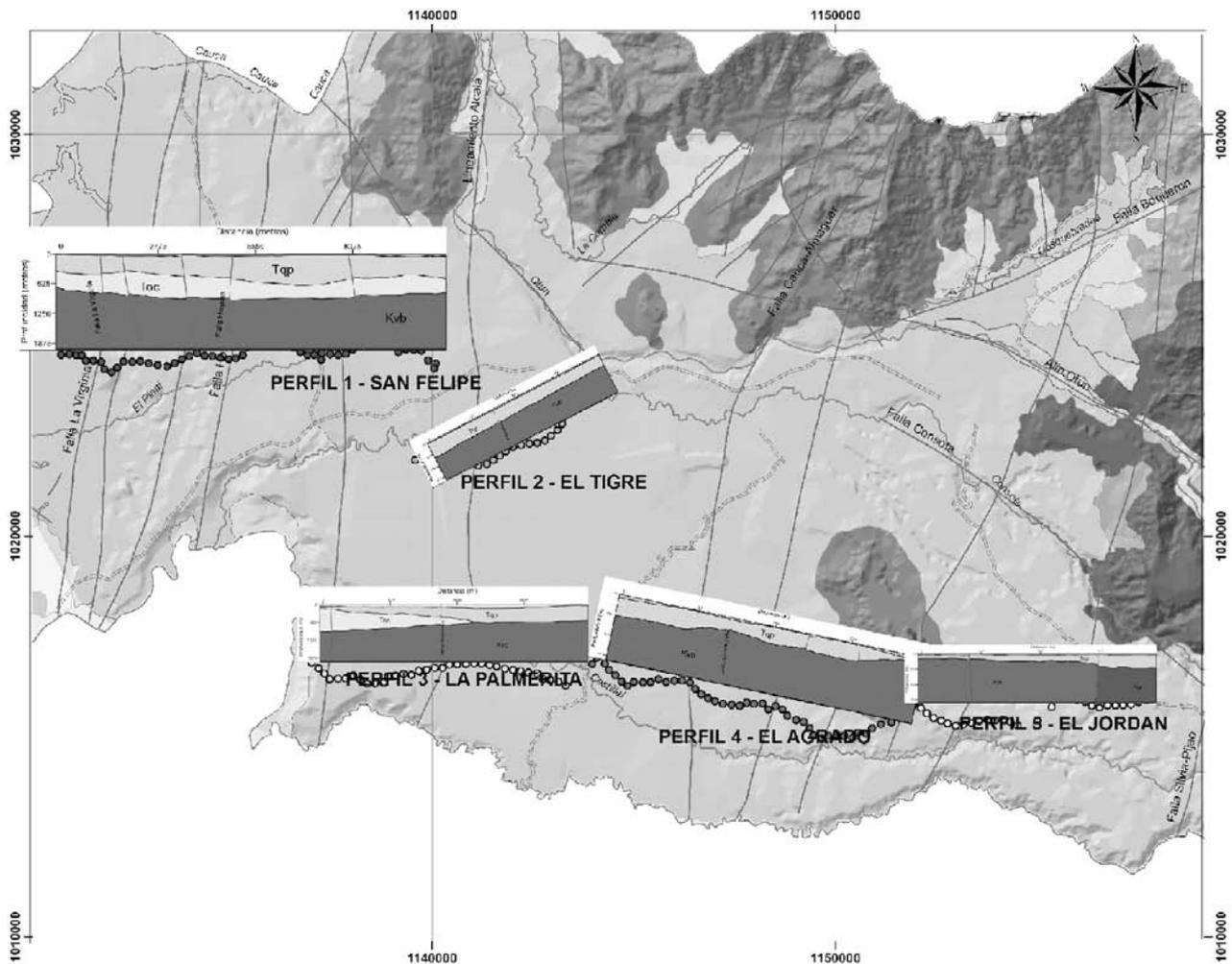


Figura 8. Distribución espacial de los modelos geológicos obtenidos a partir de la inversión magneto-gravimétrica. En los perfiles más occidentales (San Felipe, El Tigre, y La Palmerita), se aprecia la alta influencia de las fallas que ayudan a levantar el basamento cretácico. Por otra parte, los modelos restantes (El Agrado y El Jordán) muestran el adelgazamiento de la Formación Pereira a medida que se acerca al cuerpo aflorante de la Formación Barroso.

La Figura 8 indica la posición de los modelos magneto-gravimétricos sobre el mapa geológico de la zona, mostrando en general un aumento de espesor de la Formación Pereira hacia el sector occidental, a medida que se aleja de los cuerpos cretácicos. También es notable la influencia de las fallas, principalmente sobre los perfiles San Felipe, El Tigre, y La Palmerita, las cuales ayudan a producir un relativo levantamiento del basamento cretácico.

De acuerdo a los resultados de inversión de las 10 tomografías eléctricas, se escogieron las tomografías 4 y 6, ya que definen muy bien el número de capas del subsuelo.

Según el modelo de inversión para la tomografía 4 (Figura 9), con una profundidad alcanzada de 19.2m, se aprecia la capa 1 (C1) a partir de 3m hasta 6m de profundidad, con resistividades entre 60 y 120ohm-m. En la parte somera se observa bajos valores de resistividad entre 18 y 31ohm-m, probablemente debido a filtraciones de agua lluvia.

En el modelo obtenido para la tomografía 6 (Figura 10), se aprecian fuertes variaciones de resistividad, caracterizando dos capas diferentes, en la parte somera una capa de altas resistividades (90 – 150 ohm-m), y a partir de 7m de profundidad una capa de bajas resistividades entre 35 y 67 ohm-m.

En general, se identifica en las diez tomografías dos capas, donde la primera capa se asocia a una zona de altas resistividades que oscilan entre 60 y 300 ohm-m con una

profundidad promedio de 10m, y la segunda capa a una zona de bajas resistividades entre 3 y 60 ohm-m, alcanzando una profundidad máxima de 20 metros. Teniendo en cuenta el rango de resistividades antes mencionado, la estratigrafía de la zona de estudio, y los registros de pozos cercanos a las tomografías, se establece que tanto la Capa 1 como la Capa 2 se asocian al miembro superior de la Formación Pereira, constituida principalmente por cenizas volcánicas. Sin embargo, los resultados de las tomografías dividen esta capa en una capa con alta resistividad, posiblemente debido a saturación de agua, y una capa con resistividad baja subyacente a la anterior. Para el caso de las tomografías 7, 8, y 9, la capa 1 presenta resistividades mucho mayores que oscilan entre 100 y 300 ohm-m, y para la capa 2 las resistividades bajas se encuentran en un rango de 20 a 90 ohm-m.

En la Tabla 3 se presentan las características más importantes interpretadas para cada tomografía eléctrica.

A partir de las correlaciones realizadas entre cada una de las tomografías, e información de pozos, se puede decir que la capa más somera definida por la capa 1, consiste de una capa de altas resistividades (60-300 ohm-m), la cual alcanza una profundidad de 17m, compuesta principalmente por arcillas y limos en ocasiones con presencia de arenas. La segunda capa está asociada a rocas más gruesas, principalmente arenas gruesas, brecha, grava y guijarros en matriz arcillosa. Esta capa presenta un rango de resistividades bajas, entre 3 y 90 ohm-m.

Tabla 3. Principales características obtenidas a partir de las tomografías eléctricas.

Tomografía	Capa	Profundidad (m)	Mínima resistividad observada	Máxima resistividad observada
1	1	2-13	80	300
	2	10-	3	27
2	1	5-17	60	160
	2	17-	7	20
3	1	2-13	60	190
	2	13-	4	23
4	1	3-15	60	120
	2	15-	4	15
5	1	3-19	60	100
6	1	1-7	90	150
	2	7-16	35	67
7	1	1-13	100	230
	2	13-	50	90
8	1	1-10	75	250
	2	10-	34	70
9	1	1-17	100	330
	2	10-	19	40
10	1	0.5-7	300	600
	2	7-	25	70

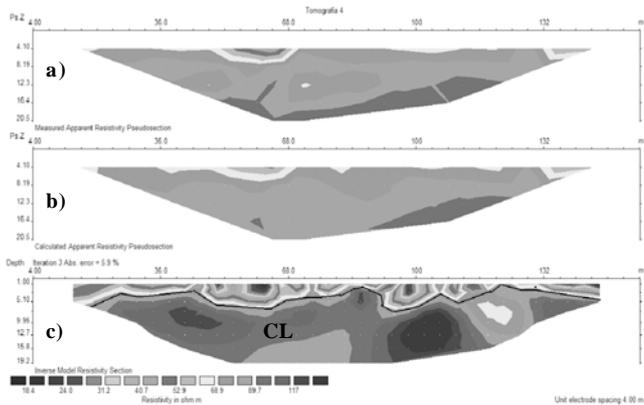


Figura 9. Modelo de inversión para la tomografía 4. (a) resistividad aparente medida, (b) modelo de resistividad aparente calculado y (c) modelo de inversión. La línea negra representa la separación entre zonas de resistividad. La zona de altas resistividades corresponde a la capa geoelectrica 1 (C1).

La Figura 11 ilustra los modelos de resistividad obtenidos por la inversión de las tomografías eléctricas ubicados en el mapa geológico de la zona de estudio, donde se aprecia la relativa continuidad de una capa de altas resistividades a profundidades muy someras.

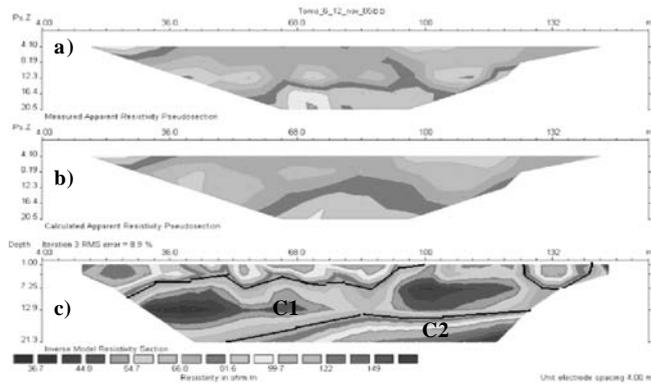


Figura 10. Modelo de inversión para la tomografía 6. (a) resistividad aparente medida, (b) modelo de resistividad aparente calculado y (c) modelo de inversión. La línea negra representa la separación entre zonas de resistividad. C1 corresponde a la capa 1 de bajas resistividades y, C2 a la capa de altas resistividades.

A partir de la línea sísmica procesada se realizó la interpretación en tiempo, la cual permitió constatar el régimen compresivo de la zona y una actividad tectónica moderada, donde el movimiento entre bloques es bajo. Las fallas inversas que buzan hacia el oeste

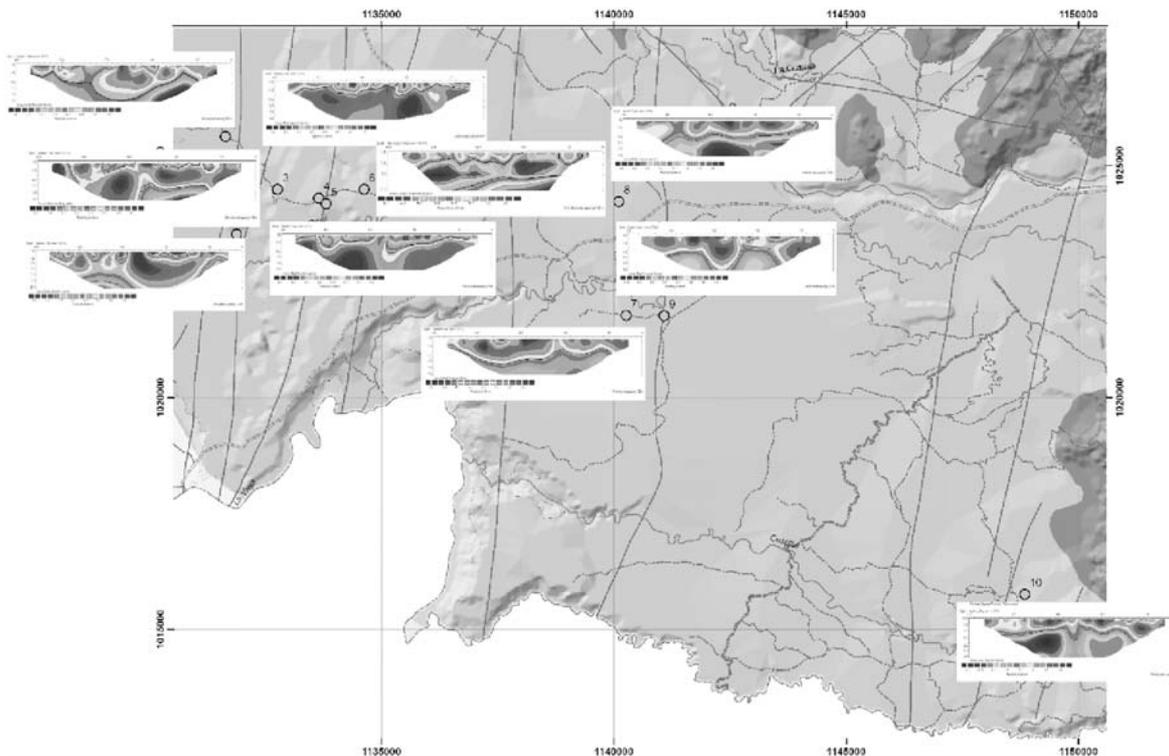


Figura 11. Localización de los modelos de resistividad eléctrica obtenidos a partir del proceso de inversión. En general, se aprecia la continuidad lateral de una capa superficial de altas resistividades que contrasta fuertemente con una capa de bajas resistividades

visualmente afectan hasta 1 segundo las diferentes unidades (figura 12).

Desde el punto de vista estratigráfico se interpretaron cuatro secuencias, donde el horizonte más inferior corresponde a la discordancia al tope del basamento, que por sus características de continuidad y alta amplitud se puede asociar a basaltos estratificados, asociados a los basaltos de la Formación Barroso, seguido está una unidad de bajas amplitudes y reflectores discontinuos considerada una zona muda, asociada a las arcillas de la Formación Cartago. Sobre esta secuencia yace discordantemente una secuencia más espesa y variable en composición, ya que hay alternancia en las amplitudes de los reflectores, donde las más altas se asocian a los estratos de arenas y conglomerados del nivel inferior de la Formación Pereira, y las más bajas a las intercalaciones con arcillas. Sobre esta unidad yace discordantemente una unidad menos potente en espesor, de bajas amplitudes y de edad reciente, que generan estructuras de downlap, chocando sobre el nivel inferior de la Formación Pereira.

A partir de los modelamientos realizados con cada método geofísico, y teniendo en cuenta la geología de la zona de estudio se definieron los parámetros geofísicos para cada unidad geológica (Tabla 4).

Discusión y conclusiones

A partir de la integración de los métodos geofísicos, registros de pozos, información de aljibes, y estudios anteriores, se pueden definir tres niveles de la Formación Pereira, correspondientes de techo a base, a un suelo arcilloso y limoso, con espesores hasta 17m y resistividades altas, una segunda capa compuesta principalmente por ceniza volcánica con espesores promedio de 30 metros, que pueden alcanzar valores de 120m según los modelos magneto-gravimétricos, y una tercera capa compuesta por flujos de escombros, flujos piroclásticos, conglomerados, y arena en matriz arcillo-arenosa, con profundidades variables, de acuerdo a la geología subyacente. En general, los estudios hechos en el área evidencian una gran poten-

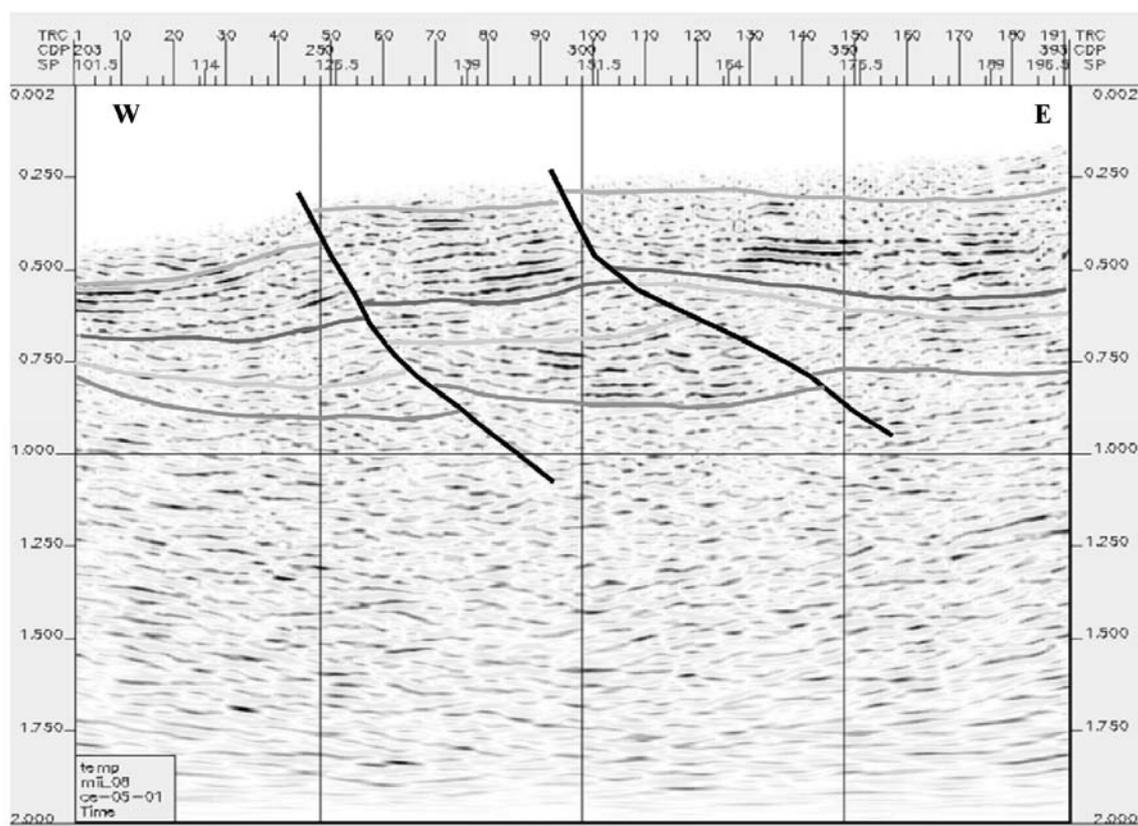


Figura 12. Interpretación geológica de la sección sísmica procesada. Los cuatro horizontes están siendo levemente desplazados por fallas inversas, afectando los espesores de cada unidad interpretada. Cada horizonte representa una unidad o evento geológico diferente, representando disconformidades entre sí.

Tabla 4. Características geofísicas de las unidades geológicas de la zona de estudio.

Unidad geológica	Edad	Tipo de roca	Densidad (gr/cm ³)	Susceptibilidad magnética SI	Velocidad onda P (m/s)	Resistividad eléctrica (ohm-m)
Formación Barroso	Mesozoico	Diabasas, basaltos.	2.76	0.005466 - 0.0056549	5000-5600	>400
Stock Gabríco de Pereira	Mesozoico	Gabro.	2.77-2.8	0.005466 - 0.0075398		
Formación Cartago	Cenozoico	Limolitas intercaladas con arenitas.	2.4 - 2.5	0.000176 - 0.000226	2600	
Formación Pereira (Nivel Inferior)	Cenozoico Plioceno-Pleistoceno	Depósitos de Flujos de escombros, corrientes trezadas, llanuras de inundación.	2-2.2	0.000163 - 0.000226	1000	11.5 - 694
Formación Pereira (Nivel Superior)	Cenozoico Pleistoceno-Holoceno	Tobas de caída, localmente arcillas tobáceas.	1.8	0.000163 - 0.000226	1000	3 - 300

cia de la Formación Pereira, cuyo espesor está siendo controlado por el afloramiento de la Formación Cartago, y la Formación Barroso. A su vez, la unidad de interés está cubierta por un depósito de cenizas con un espesor promedio de 30m, la cual en sus primeros 10m se encuentra saturada de agua. Esta cobertera de cenizas presenta resistividades entre 60 y 300 ohm-m, lo cual demuestra la variación de la conductividad cerca de la superficie por el contenido de humedad en el subsuelo.

Desde el punto de vista tectónico, la zona de estudio está dominada por un régimen compresivo, con alguna componente en rumbo, la cual ayuda a producir un leve levantamiento de un basamento y un cambio progresivo en el espesor de la Formación Pereira, lo cual puede afectar el sistema de circulación de las aguas subterráneas. Efecto explicado por los significativos cambios entre bajas y altas resistividades entre los sectores occidental y oriental de la zona, validados por la geoeléctrica, las variaciones de las anomalías magnéticas que justifican la dirección general de las fallas, y los registros de pozos.

Cada una de las herramientas geofísicas utilizadas en el área de estudio permitió aclarar desde el punto de vista geológico y tectónico la conformación del acuífero, donde la unidad de interés hidrogeológico presenta un espesor variable, alcanzando los 750 metros. Esta variación está siendo controlada por una cinemática regional asociada a movimientos inversos con alguna componente en rumbo.

A partir de las inversiones realizadas para cada una de las tomografías adquiridas, se apreció claramente dos capas asociadas al miembro superior de la Formación Pereira,

determinadas por un fuerte contraste vertical de resistividades bajas y altas. La capa superior que cuenta con un rango de altas resistividades, y una capa inferior con un intervalo de resistividades bajas.

En el sector de La Camelia donde se realizó la línea sísmica, se estimó la profundidad promedio del basamento terciario en 750m, y se consideró que corresponde a una unidad sedimentaria por tener velocidad promedio de 2600m/s, y bajas amplitudes asociadas a paquetes de arcillas, equivalente a la Formación Cartago (Toc), la cual yace discordantemente sobre los basaltos de la Formación Barroso. Los cuatro horizontes interpretados están siendo desplazados por dos fallas inversas con buzamiento hacia el este, que ayudan a modificar la continuidad lateral del horizonte de interés.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos al personal técnico de la CARDER, especialmente a Liliana Otálvaro, Gabriel Arias, y Olimpo García; por el suministro de información. Al Grupo de Geofísica de la Universidad Nacional, por su colaboración en la adquisición geofísica y el procesamiento de las tomografías eléctricas, especialmente al profesor Luis Ochoa, y al estudiante Juan Guillermo Restrepo. Y a Luis Vásquez de Ingeominas, por compartir su conocimiento en campos potenciales.

Bibliografía

- Barrero, D.** 1979. Geology of the Central Western Cordillera, West of Buga and Roldadillo, Colombia. Publ. Geol. Esp., Ingeominas, 4, 75 p.

- BID, Banco Interamericano de Desarrollo. 1997. Estudio Hidrogeológico de la Cuenca Alta del Río Otún.
- Burger, R.** 1992. *Exploration Geophysics of the shallow subsurface*. Prentice Hall.
- Cardona, F. y Ortiz, M.** 1993. Aspectos estratigráficos de las unidades del Plioceno-Holoceno entre Pereira y Cartago. Propuesta para la definición de la Formación Pereira. Tesis de Grado. Universidad de Caldas – CARDER.
- CCEDI ambientales, 1996. Estudio geológico con énfasis en hidrogeología para el aprovechamiento de aguas subterráneas en los corregimientos de Tribunas y La Bella, Municipio de Pereira: CARDER.
- Corporación Autónoma Regional de Risaralda y Canadá. 1994. Inventario de pozos y aljibes dentro de la cuenca baja del río Risaralda. Memoria técnica interna No 216-30. Bogotá: CARDER.
- Corporación Autónoma Regional de Risaralda y AGC. 1995. Prospección geofísica en los corregimientos de Tribunas, La Bella y Altagracia, Municipio de Pereira. Bogotá: CARDER.
- Corporación Autónoma Regional de Risaralda, Prospección geofísica para el agua subterránea al suroeste del municipio de Pereira, corregimiento de Morelia. Bogotá: CARDER, 1997.
- Corporación Autónoma Regional de Risaralda. Geología y Geomorfología. 2004. Proyecto plan de manejo integrado del agua subterránea de Pereira, Informe técnico por Arias, G. F.
- Dobrin, M., and SAVIT, C.** 1988. *Introduction to geophysical prospecting*, Fourth edition, McGraw-Hill book company.
- GEOEX Ltda. 1996. Estudio hidrogeológico con énfasis en hidrogeología para el aprovechamiento del agua subterránea en los corregimientos de Tribunas y La Bella. Pereira: CARDER.
- González, H. & Núñez, A.** 1991. Mapa Geológico Generalizado del Departamento del Quindío, escala 1:100.000, Memoria Explicativa, 42 p., INGEOMINAS, Bogotá.
- Graterol, V.** 2000. *Basic principles and applications of the gravity and magnetic exploration methods*.
- Guzmán, J., Franco, G., y Ochoa, M.** 1998. Evaluación Neotectónica. Plan de acción ambiental Pereira Centro Occidente. Proyecto para la mitigación de riesgo sísmico.
- IGAC – Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 1998. Red Gravimétrica Nacional de Colombia, Bogotá,
- INGEOMINAS. 1994. Exploración del recurso hídrico subterráneo en el municipio de La Tebaida, Departamento del Quindío. Bogotá: Ingeominas.
- Iah. Struckmeier, W. F. and Margat, J.** 1995. *Hydrogeological Maps: A Guide and a Standard Legend*. Vol 17. Verlag Heinz Heise. Hannover. 177 p.
- James, M.** 1986. Estudio sismotectónico en el área del Viejo Caldas. Ingeominas, Medellín, p. 80-90.
- Jiménez, J.D. y Olarte, J.** Caracterización hidrogeológica preliminar del Abanico Pereira-Armenia a escala 1:200.000, 2004. Trabajo de grado (Geólogo). Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de Geología.
- Lalinde C. P. y Toro, G. E.** 2003. Estudio de Neotectónica en Algunos de los Segmentos de Falla que Afectan el Abanico Pereira – Armenia, Colombia. Universidad EAFIT, Maestría en Ciencias de la Tierra.
- MAGPICK, 2004. *Magnetic map and profile processing, user guide*.
- MC Court, W. J.** 1984. *The geology of the Central Cordillera*, Departments of Valle del Cauca, Quindío and NW Tolima. Ingeominas –Misión Británica (British Geological Survey). Report 8. Cali.
- Mejía, H.** 1996. Estudio Geológico con énfasis en hidrogeología para el aprovechamiento de agua subterránea en los corregimientos de Morelia y La Palmilla. Pereira: CARDER, CEDI Ambientales.
- Mosquera, D.** 1978. Geología del Cuadrángulo K-8 (preliminar), Ingeominas, Medellín.
- Nettleton, L.L.** 1971. *Elementary gravity and magnetics for geologists and seismologists*. Number 1. Monograph series. Society of exploration geophysicists.
- Ospina, G.** 2002. Proyecto de protección integral de aguas subterráneas en Pereira. CARDER. Pereira.
- Otálvaro, D.L., Arias, G.F., Vélez M.E., García, P.** 2005. Modelo hidrogeológico conceptual preliminar acuífero de Pereira. Plan de manejo integral del agua subterránea. Subdirección de Gestión Ambiental Territorial, CARDER, Pereira, Risaralda.
- Orellana, E.** 1982. *Prospección Geoeléctrica por campos variables*. Paraninfo.
- Samper, J. M. y Zuluaga, G. L.** Estudio hidrogeológico preliminar al N-W de Pereira (Risaralda), 1996. Trabajo de grado (Geólogo). Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de Geología.
- Talwani, M., and Heirtzler, J. R.** 1964. Computation of magnetic anomalies caused by two dimensional bodies of arbitrary shape, in Parks, G. A., Ed., *Computers in the mineral industries*, Part 1: Stanford Univ. Publ., Geological Sciences, 9, 464-480.
- Talwani, M., Worzel, J. L., and Landisman, M.** 1959. Rapid gravity computations for two-dimensional bodies with application to the Mendocino submarine fracture zone: *J. Geophys. Res.*, 64, 49-59.
- Udías A. y Mezcua, J.** 1986. *Fundamentos de Geofísica*. Universidad de Alhambra. Páginas: 234, 237, 255, 298, 304, 307, 308, 310. Párrafo 1. Páginas. 298 Párrafo 2. Páginas: 298, 255, 237 Párrafo 3. Páginas. 255 Párrafo 4. Páginas. 234 Párrafo 5. Páginas. 304, 310 Párrafo 6. Páginas. 307, 308.
- Unión Temporal DUNIA-ATG. 2005. Complementación geológica, geoquímica y geofísica (magnetométrica) de las planchas 166, 167, 186, y 187.
- Valdés M, y Durán, J. P.** 2004. Reproceso de información gravimétrica en 170 puntos del estudio geofísico 'Proyecto de Mitigación del Riesgo Sísmico de Pereira'. CARDER.

Recibido: 22 de noviembre de 2007

Aceptado para su publicación: 7 de julio de 2008

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE LAS MICROCUENCAS LA LAUCHA, LA LEJÍA Y LA RASTROJERA UTILIZANDO LOS MACROINVERTEBRADOS COMO BIOINDICADORES, MUNICIPIO DE DURANIA, DEPARTAMENTO NORTE DE SANTANDER, COLOMBIA

Por

Jairo Contreras¹, Gabriel Roldán², Alexandra Arango³ & Luisa Fernanda Álvarez⁴

Resumen

Contreras J., G. Roldán, A. Arango & L.F. Álvarez: Evaluación de la calidad del agua de las microcuencas La Laucha, La Lejía y La Rastrojera, utilizando los macroinvertebrados como bioindicadores, Municipio de Durania, Departamento Norte de Santander, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 171-193, 2008. ISSN 0370-3908.

Entre junio y septiembre de 2004 se realizó un estudio limnológico en seis estaciones ubicadas en las microcuencas La Laucha (E1), La Lejía (E2, E3 y E6) y La Rastrojera (E4 y E5) del Municipio de Durania, Departamento Norte de Santander. El objetivo principal del estudio fue evaluar la calidad del agua en las microcuencas antes mencionadas utilizando macroinvertebrados como bioindicadores. Para los parámetros físicoquímicos y microbiológicos se tomó una muestra simple en cada estación. Los resultados obtenidos se correlacionaron con las variables biológicas y se puede concluir que la estación 5, la más cercana a la zona urbana de Durania, es la que presenta mayor contaminación, principalmente por materia orgánica y que las estaciones pertenecientes a las zonas de ritral son las menos contaminadas. Esto se corrobora con el análisis de similitud realizado. El resultado final de este estudio mostró que las estaciones 1, 2, 3, 4 y 6 presentan condiciones que pueden clasificarse como de aguas muy

1 Auxiliar de Investigación Laboratorio de Limnología, Trabajo de grado, Universidad Católica de Oriente, jcontreras@gmail.com

2 Director Sistema de Investigación y Desarrollo, Universidad Católica de Oriente, grolدان@uco.edu.co

3 Profesora de limnología, Universidad Católica de Oriente. aarango@uco.edu.co

4 Jefe de la Unidad de Gestión Ambiental, Universidad Católica de Oriente, lalvarez@uco.edu.co

limpias a limpias y la estación 5 como de aguas muy contaminadas.

Palabras clave: bioindicadores, macroinvertebrados, calidad del agua, microcuenca, Durania Colombia.

Abstract

From June to September 2004 a water research was carried out in six stations that are located at the following microbasins: La Laucha (S1), La Lejía (S2, S3 and S6), and La Rastrojera (S4 and S5), those microbasins are localized at the Durania municipality in Norte de Santander department. This study was carried out in order to evaluate water quality at the microbasins above mentioned using macroinvertebrates as bioindicators. For physical, chemical and microbiological parameters a sample was taken at each station. The results were correlated with biologic parameters and it may be concluded that the station 5 closer to the town of Durania is the most polluted by organic matter and that those stations that belong to the rural zone are less contaminated. The final result showed that the stations 1, 2, 3, 4 and 6 have conditions that can be classified as very clear to clear water and station 5 presents high contamination level.

Key words: bioindication, macroinvertebrates, water quality, microbasins, Durania, Colombia.

Introducción

Los organismos vivos que habitan los cuerpos de agua presentan adaptaciones a determinadas condiciones ambientales y ciertos límites de tolerancia a la contaminación. Existen varias metodologías que utilizan una amplia variedad de organismos como bioindicadores de la calidad del agua. La que más utilidad ha demostrado por la facilidad de las capturas y por reflejar posibles alteraciones en el medio, es la que incluye los macroinvertebrados acuáticos como indicadores de calidad del agua (Alba-Tercedor, 1996; Roldán, 2003). El término macroinvertebrado acuático incluye todos aquellos organismos que por su tamaño relativamente grande, son retenidos por redes de ojo de malla entre 250-300 μm . La gran mayoría de estos (alrededor del 80%), corresponden a grupos de artrópodos, y dentro de estos los insectos, son los más abundantes (Alba-Tercedor, 1996; Roldán, 1988). En la presente investigación se utilizó el método BMWP (Biological Monitoring Working Party), el cual ha sido adoptado por la Comunidad Europea para el monitoreo de sus corrientes y que ha sido adaptado para Colombia bajo el nombre de BMWP/Col por Roldán (2003).

Las metodologías de estudio y seguimiento de la calidad del agua están basadas casi exclusivamente en análisis fisicoquímicos. El gran incremento de nuevos productos contaminantes, así como el hecho de que son vertidos son generalmente puntuales en el tiempo necesita de nuevas metodologías. Las técnicas que utilizan los macroinvertebrados acuáticos como indicadores de la calidad han mostrado su total eficacia en la detección de puntos de alteración (Alba-Tercedor, 1996).

En el presente estudio se muestrearon seis estaciones ubicadas en tres microcuencas: La Laucha, La Lejía y La Rastrojera ubicadas en el municipio de Durania Departamento de Santander, Colombia, utilizando métodos de captura cuantitativos y cualitativos para los parámetros biológicos. Se midieron igualmente parámetros fisicoquímicos como: oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, temperatura, pH, nitritos, fosfatos y conductividad, entre otros; en la parte microbiológica se hizo un recuento de microorganismos mesófilos, NMP de coliformes totales y coliformes fecales. En el presente estudio se presenta un mapa de calidad del agua de los sistemas lóticos teniendo en cuenta criterios físicos, químicos y biológicos.

Área de estudio

El municipio de Durania se encuentra localizado en el centro del Departamento Norte de Santander, en la Provincia de Ricaurte; su relieve es esencialmente montañoso y está enclavado en la Cordillera Oriental. Es región de 177,40 km^2 (0,79% del total del Departamento), su cabecera municipal dista de la ciudad de Cúcuta 47 km. Está ubicado a $7^{\circ}43'$ de latitud N y a $73^{\circ}40'$ de longitud W. Su altura sobre el nivel del mar es de 950 m; tiene una precipitación promedio anual de 1.300 mm y la distribución de las lluvias es bimodal con una temperatura promedio de 24°C , lo que corresponde a una zona de vida de bosque húmedo Premontano (bh-PM) (Planeación Municipal Durania 2003-2015) (Figura 1).

Quebrada La Laucha: nace en la Vereda Buenavista y es la que surte de agua al municipio, en ésta se encuentra ubicada la

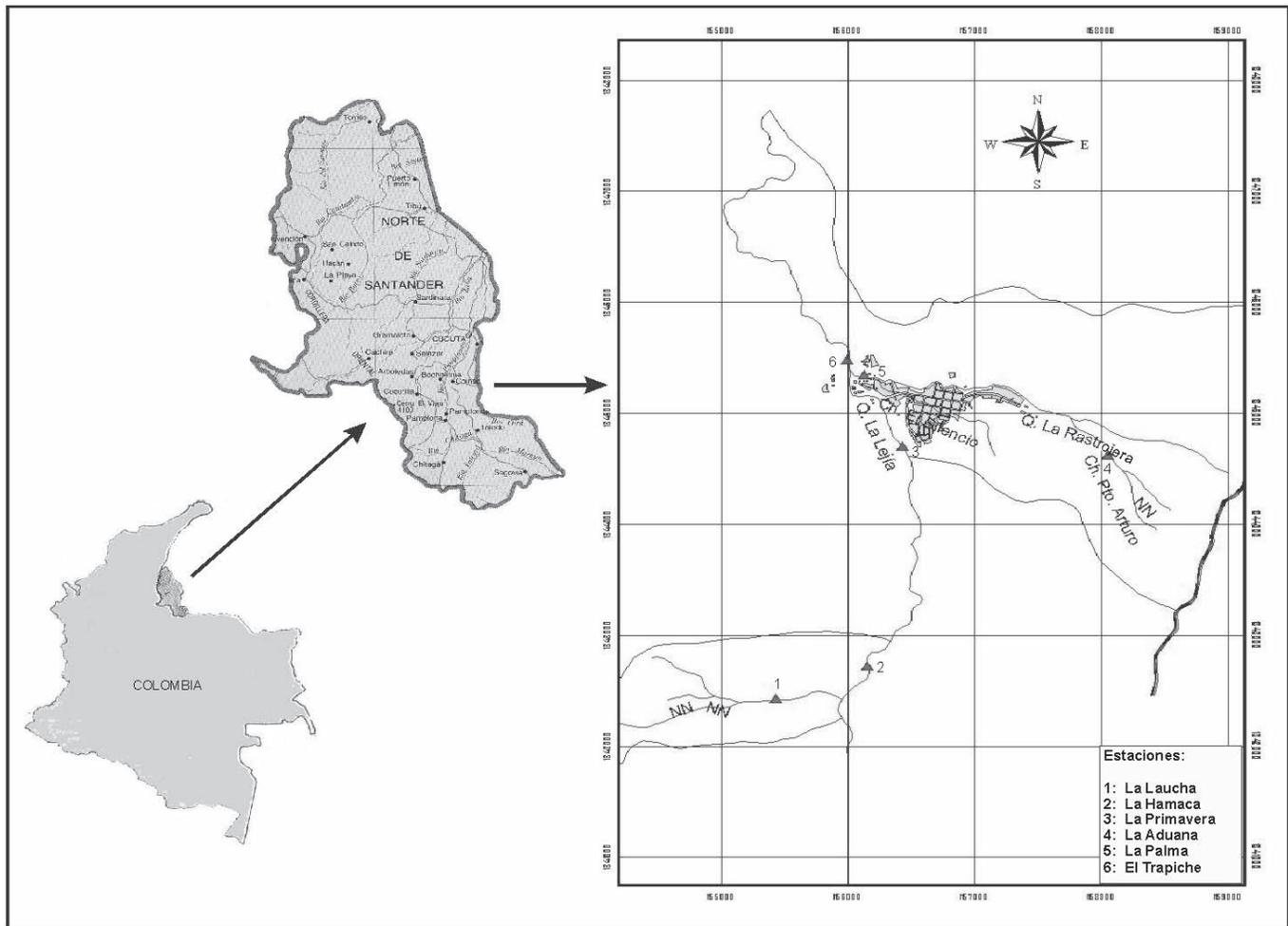


Figura 1. Localización del área de estudio. **A.** República de Colombia, Departamento Norte de Santander. **B.** Departamento Norte de Santander, Municipio de Durania. **C.** Municipio de Durania, Estaciones de muestreo: 1. La Laucha; 2. La Hamaca; 3. La Primavera; 4. La Aduana; 5. La Palma; y 6. El Trapiche.

estación 1 (La Laucha) (Figura 1), cuyas coordenadas planas son X: 1.155.424 y Y: 1.342.425. En su ribera presenta vegetación nativa; en su cauce hay formaciones de pequeñas cascadas, rápidos y remansos (con abundante material vegetal y lodo) y las orillas están cubiertas con musgos y algas; su lecho está compuesto de piedras de tamaño pequeño.

Quebrada La Lejía: nace en las veredas Santa Elena y Sepulturas, recorre la Vereda de Buenavista y el casco urbano de sur a norte. Es empleada como sitio de esparcimiento y recreación. En ésta se encuentran las estaciones 2 (La Hamaca), 3 (La Primavera) y 6 (El Trapiche). Las coordenadas de la estación 2 son X: 1.156.150 y Y: 1.342.718. Se caracteriza por presentar en su ribera vegetación nativa y buena penetración de los rayos solares; en su cauce hay formación de cascadas y rápidos; su lecho contiene pie-

dras de tamaño grande. Las coordenadas de la estación 3 son X: 1.156.423 Y: 1.344.700; se caracteriza por presentar una ribera descubierta con buena penetración de los rayos solares; en su cauce hay formación de rápidos y remansos; su lecho contiene piedras de tamaño grande; además es utilizada como fuente receptora de aguas residuales de los estanques piscícolas que allí se encuentran. Las coordenadas de la estación 6 son X: 1.155.988 Y: 1.345.480; se caracteriza por presentar una ribera cubierta con vegetación nativa; en su cauce hay formación de rápidos; su lecho contiene piedras de tamaño grande y a esta descargan las aguas residuales del municipio.

Quebrada La Rastrojera: nace en la vereda la Cuchilla, pasa por la vereda El Almendral y por el sector norte del casco urbano donde se une con la quebrada La Lejía; esta

quebrada sirve como fuente abastecedora de agua al barrio San Marino. Allí se encuentran las Estaciones 4 (La Aduana) y 5 (La Palma); la estación 4 se localiza en las coordenadas X: 1.158.050 y Y: 1.344.623; se caracteriza por presentar en su ribera vegetación nativa, en su cauce hay formación de pequeñas cascadas, rápidos y remansos y su lecho contiene piedras de tamaño grande. La estación 5 se ubica en las coordenadas X: 1.156.122 y Y: 1.345.340; presenta una ribera cubierta por heliconias y ortiga; en su cauce hay formación de pequeñas cascadas y remansos con abundante lodo. Su lecho contiene piedras de tamaño grande; es evidente la intervención antrópica por la presencia de residuos sólidos y basuras, y porque además, hay descargas de aguas residuales domésticas y de pequeñas industrias.

Materiales y métodos

Trabajo de campo y de laboratorio

Fueron realizadas cuatro jornadas de campo en seis estaciones de muestreo ubicadas en las quebradas La Laucha, La Lejía y La Rastrojera, los cuales abarcaron tres periodos hidrológicos contrastantes, las estaciones de muestreo se caracterizaron por poseer diferentes grados de contaminación. Para los análisis fisicoquímicos se recolectó en un recipiente plástico de 500 ml una muestra de agua en cada estación por cada período de muestreo. En la Tabla 1 se muestran las variables analizadas, los materiales

y métodos utilizados para la medición de las diferentes variables fisicoquímicas y microbiológicas.

Se recolectaron tres muestras de macroinvertebrados cada 10 m en ambas orillas de las quebradas durante una hora por estación y momento de muestreo, utilizando métodos propuestos por **Roldán** (1988) **Carrera y Fierro** (2001) y **Roldán** (2003). Estas muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Limnología de la Universidad Católica de Oriente; allí se separaron los individuos, los cuales fueron identificados hasta el nivel de familia, con la ayuda de un estereoscopio y claves taxonómicas como: **Johannsen** (1933); **Wiggins** (1977); **Costa et al.** (1988); **Roldán** (1988); **Machado y Rincón** (1989); **Merritt y Cummins** (1996), **Posada y Roldán** (2003); **Roldán** (2003) y **Roldán et al.** (2003). Los organismos se conservaron en alcohol al 70% los cuales fueron debidamente rotulados.

Tratamiento estadístico

Las variables fisicoquímicas se presentan en la Tabla 2 con las medidas de tendencia central; para tal efecto se obtuvo un valor medio basado en los cuatro momentos de muestreo para cada una de las estaciones. Como medidas de dispersión absoluta y relativa se usaron la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación relativa de Pearson, respectivamente. Para las variables microbiológicas se presenta un gráfico con los resultados obtenidos para cada una de las estaciones y momentos de muestreo.

Tabla 1. Material y metodología utilizada para la medición de las variables fisicoquímicas y microbiológicas estudiadas.

Variables	Unidad	Material y/o Método	Comentario
Temperatura del agua	° C	Termómetro	<i>In situ</i>
Conductividad	µmhos/cm	Conductímetro	Potenciométrico
Turbidez	NTU	Turbidímetro	Nefelométrico
Sólidos totales	mg/l	Gravimétrico	Secado en mufla a 103-105 ° C
Oxígeno disuelto	mg/l	Winkler (300 ml)	Modificación de azida
Porcentaje de saturación de Oxígeno	%		
pH	---	pH-metro	Potenciométrico
Alcalinidad total	mg CaCO ₃ /l	pH-metro	pH hasta 4.3, titulación con H ₂ SO ₄ 0.02N
Dureza	mg CaCO ₃ /l	EDTA	Titulación
Nitritos	µg/l	Espectofotométrico	Lectura a 543 nm
Nitratos	µg/l	Reducción de cadmio	Lectura a 543 nm
Ortofosfatos	µg/l	Ácido ascórbico	Lectura a 880 nm
Fósforo total	µg/l	Ácido ascórbico	Lectura a 880 nm
Sulfatos	mg/l	Turbidimétrico	(Buffer A) a 420 nm
Microorganismos mesófilicos	UFC/ml	Filtración por membrana	
NMP Coliformes Totales	Coli/100ml	Filtración por membrana	
Coliformes Fecales a	45° C/100 ml	Filtración por membrana	

Para la asociación de taxa de macroinvertebrados, se presenta el número de individuos por familia, sitio y momento de muestreo; se obtuvo igualmente la estructura primaria de la asociación de macroinvertebrados (composición y riqueza de especies Margalef (1951), distribución de abundancia de cada uno de los momentos y sitios de muestreo, diversidad **Shannon-Wiener** (1948), dominancia, equidad **Pielou** (1969). Para la estimación de la distribución espacio temporal de la asociación de taxa se aplicó el análisis de similaridad de Bray Curtis (ligamiento promedio –UPGMA–). Con el fin de definir la influencia de las variables ambientales sobre la asociación de macroinvertebrados se realizó un análisis directo (análisis de redundancia canónica –RDA–); la significancia de la interacción fue probada mediante una prueba de permutaciones (Monte Carlo con 499 permutaciones). Todos los análisis fueron realizados sobre los datos centrados ($x_i - \bar{x}$) y transformados a su raíz cuadrada ($\sqrt{vx+1}$) y con el paquete CANOCO 4.5 para Windows. Con el fin de establece la calidad del agua en cada una de las estaciones de muestreo se calculó el índice BMWP/Col según la metodología propuesta por **Roldán** (1999); **Roldán** (2001), **Roldán** (2003), **Zamora** (1999). Adicionalmente, se presenta un mapa de calidad del agua con el método del Sistema de Información Geográfica (SIG) ARC VIEW 3.1 para mantener, usar y analizar datos biológicos o atributos (número de familias y de individuos por estación), con localizaciones exactas (referencias geográficas) en la superficie terrestre de las microcuencas estudiadas.

Resultados

Variables fisicoquímicas y microbiológicas

Ninguna de las variables fisicoquímicas analizadas presentó diferencias significativas entre momentos de muestreo ($p > 0,005$), mas sí entre estaciones, por lo cual en la Tabla 2 se presentan las medidas de tendencia central para cada una de las variables en las diferentes estaciones de muestreo. Las variables microbiologicas obtenidas son mostradas en la Figura 2.

Comunidad de macroinvertebrados

La asociación de macroinvertebrados estuvo compuesta 15 órdenes, 57 familias y 59 taxa; el mayor número de taxa fue para el orden Diptera (14), seguido por Trichoptera (11) y Coleoptera (10) (Tabla 3). Dentro de los órdenes colectados se resaltaron los valores más significativos en numero de individuos: Trichoptera (18.7%), Coleoptera (16%) Hemiptera (3.5%); Diptera (49.1%); Basommatophorra (6.3%).

Teniendo en cuenta las estaciones de muestreo, el mayor número de individuos colectados se presentó en la estación 5 (9.582) representados en un poco mas del 90% por la familia Chironomidae, mientras que el menor número de individuos fue hallado en la estación 4 con 1.310 individuos (Tabla 3 y Figuras 3-8). Se observa como en las estaciones 1 y 2 la familia que predomina en número de individuos es Elmidae, seguida por Leptoceridae. En la estación 3 predominan las familias Leptoceridae y Elmidae, mientras que en

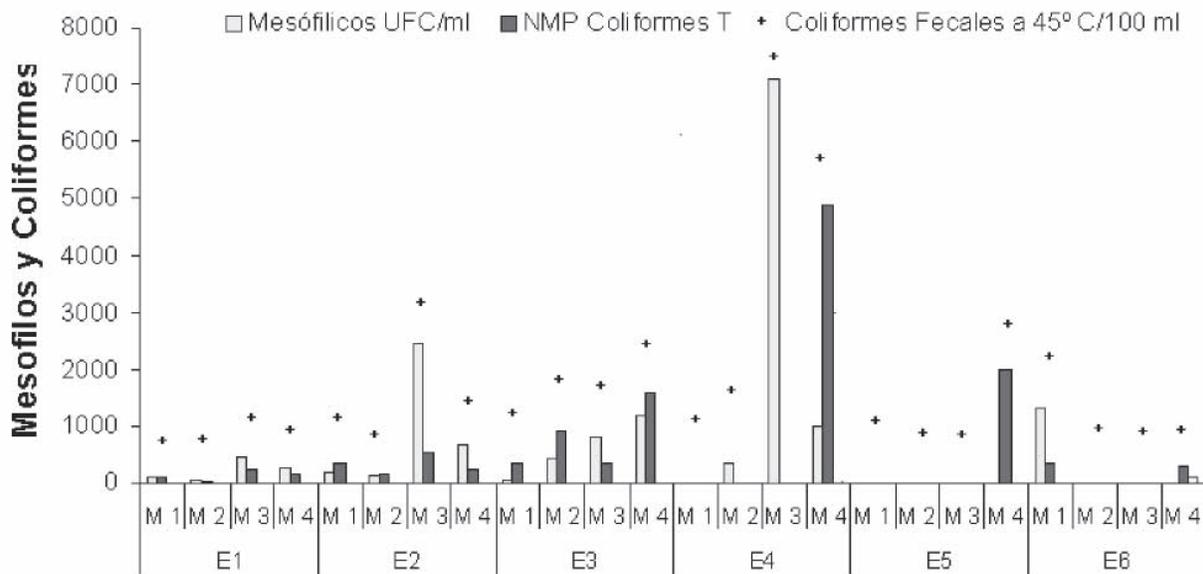


Figura 2. Parámetros microbiológicos para cada una de las estaciones y momentos de muestreo.

Tabla 2. Medias centradas de los parámetros fisicoquímicos.

Variables		Estaciones					
		E1	E2	E3	E4	E5	E6
Temperatura (° C)	Rango	14,6-15,1	15,6-16,1	16,9-17,1	16-17	32-33	19-20,5
	Media	14,9	15,9	17,0	16,6	32,4	19,6
	Desviación Estándar	0,2	0,2	0,1	0,5	0,5	0,8
	%CV	1,5	1,4	0,5	2,9	1,5	3,8
pH (unidades de pH)	Rango	7,4-7,9	7,5-7,9	7,8-7,9	7,3-8,08	7,6-8,07	7,5-7,93
	Media	7,7	7,7	7,9	7,7	7,8	7,7
	Desviación Estándar	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2
	%CV	3,1	2,2	0,7	4,1	2,6	2,3
Conductividad (µmhos/cm)	Rango	19,1-35	50-69	53,5-73	169-241	64-298	92-348
	Media	28,8	59,1	61,6	212,8	129,5	238,5
	Desviación Estándar	6,8	8,3	8,2	30,8	112,6	110,0
	%CV	23,7	14,1	13,3	14,5	86,9	46,1
Oxígeno Disuelto mg/l O ₂	Rango	8,9-9,1	8,3-8,7	8,8-9	7,4-7,6	1,7-1,9	7,8-8
	Media	9,0	8,5	8,9	7,5	1,8	7,9
	Desviación Estándar	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
	%CV	0,9	2,0	0,9	1,3	5,2	1,0
Porcentaje de Saturación de Oxígeno (%)	Rango	108-113	111-128,00	124-126	100-105,0	24,0-26,0	107,0-111,0
	Media	110,3	117,5	125,0	101,8	24,8	109,3
	Desviación Estándar	2,2	7,6	0,8	2,2	1,0	1,7
	%CV	2,0	6,5	0,7	2,2	3,9	1,6
Alcalinidad (mg/l CaCO ₃)	Rango	8-16,8	23,5-38	26-43,4	117,22-121,10	34,27-34,27	48,7-142
	Media	13,3	30,8	33,6	118,9	63,3	114,4
	Desviación Estándar	4,1	6,3	7,3	1,6	42,6	44,0
	%CV	31,2	20,6	21,8	1,4	67,3	38,5
Dureza mg/l (CaCO ₃)	Rango	13,2-38	21,6-32,0	25-35	100-129,2	29,2-128,40	60,4-114,4
	Media	22,4	28,4	30,8	108,7	57,4	96,2
	Desviación Estándar	10,8	4,6	4,4	13,7	47,4	24,6
	%CV	48,2	16,3	14,2	12,6	82,7	25,6
Turbidez (UTN)	Rango	0-2,0	0-2,0	0,11-3,4	0-2,09	1,65-4,30	0-40,07
	Media	0,5	0,9	1,5	0,6	2,8	26,9
	Desviación Estándar	1,0	0,9	1,7	1,0	1,2	18,2
	%CV	187,5	95,6	108,7	168,2	44,5	67,7
Nitritos (mg/l NO ₂)	Rango	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,01	0,0-0,30
	Media	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	Desviación Estándar	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
	%CV					90,1	152,2
Sulfatos (mg/l So ₄ ⁻²)	Rango	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-32,0
	Media	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	22,8
	Desviación Estándar	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,3
	%CV						67,1
Cloro (mg/l Cl)	Rango	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0	0,0-0,0
	Media	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Desviación Estándar	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	%CV						
Cloruros (mg/l)	Rango	0,0-0,0	0,0-1,22	0,0-1,3	3,2-4,12	1,36-13,60	1,7-18
	Media	0,0	0,6	0,3	3,5	4,7	12,4
	Desviación Estándar	0,0	0,7	0,7	0,4	5,9	7,3
	%CV		115,5	200,0	12,9	126,8	59,1
Fosfatos (mg/l Po ₄ ⁻²)	Rango	0,0-0,14	0,0-0,06	0,00-0,03	0,18-0,26	0,11-2,40	0,25-2,70
	Media	0,0	0,0	0,0	0,2	0,7	1,9
	Desviación Estándar	0,1	0,0	0,0	0,0	1,1	1,1
	%CV	200,0	200,0	200,0	17,4	149,1	59,0
Hierro (mg/l Fe)	Rango	0,0-0,16	0,0-0,7	0,00-0,34	0,00-0,15	0,11-0,36	0,3-0,91
	Media	0,1	0,2	0,2	0,0	0,2	0,6
	Desviación Estándar	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,3
	%CV	132,0	156,5	80,1	183,7	45,7	55,1

E1 La Laucha; E2 La Hamaca; E3 La Primavera; E4 La Aduana; E5 La Palma; y E6 El Trapiche.

Tabla 3. Taxa hallados en cada una de las estaciones de muestreo

ORDEN	FAMILIA	Estación 1				Estación 2				Estación 3				Estación 4				Estación 5				Estación 6			
		M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
Ephemeroptera	Leptophlebiidae	1	1	3	60		7	2	18				29	4	4		43					2	1		
	Oligoneuriidae					3	6	2	4				12	2	3	4	2					41	2	16	3
	Leptohyphidae				10	2		6	3				1	7								39	25	1	
	Baetidae			8		2	3	1					3									34	8		
Trichoptera	Leptoceridae	211	201	98	62	283	228	51	156	449	289	62	80	50	53	72	29					43	2		
	Helicopsychidae	10	6	17	5	3	7	4	17	23	141	41	35	37	12	67	9					7	2	2	26
	Glossosomatidae	5			2	1	1		1	6	2		8									8	5		4
	Calamoceratidae	22	22	15	6	9	36	1	7	27	32	6	12	53	29	61	15					2			
	Hydropsychidae	26	5	52	3	4	32	18	2	3	5	4	1	18	13	21	3			6		68	25	76	11
	Odontoceridae	28	5	14	25	2			1					2	6	14	15					1	1		
	Hydrobiosidae	1				1																			
	Philopotamidae				1									2											
	Polycentropodidae							1	4					1	2	5	3								
	Odontoceridae									7	9	1	1												
	Hydroptilidae												2												
Plecoptera	Perlidae	15	1	10	12	11	43	65	21	10	8	24	14	2	1		1					4	2		2
Coleoptera	Psephenidae	4	1	1	12	10	2	68	39	7	12	54	61										2	1	
	Elmidae	65	30	84	14	332	292	334	94	363	212	137	68	96	19	98	9					236	13	62	9
	Ptilodactylidae	26	5	6	3	1		2	2				1	1			1						1		
	Lutrochidae		1		1				1																
	Dryopidae					1																			
	Lampyridae													1		1									
	Hydroptilidae														1										
	Gyrinidae													1											
	Scarabidae																	1							
	Chrysomelidae																						1		
Megaloptera	Corvidae	3		5	1	13	8	40	11	9	2	1	2	6		2						3	2	3	
Odonata	Calopterygidae	3	8	30			5			1	6	1	3	8	9	1	3					3	1	6	4
	Libellulidae	2	2	3		1	1	10	2	3	1	1	4	3	2	4						7	4	7	3
	Gomphidae	41	2	11	3			2	1				10	3	3	7	3					3	5	1	
	Coenagrionidae	2			4			1					7	12	9	2	2					1	1	2	1
Arachnoidea	S.I.	1	1		1	12	10	15	12	3	5	1	17	3	1						1		3		
Lepidoptera	Pyralidae	4		3		1	10	2				3		4	1	1					1		3		
Hemiptera	Veliidae			32	1	1							12	8			1					14	1	4	1
	Gerridae			4									1	28	11	8	15					1	11	3	2
	Naucoridae			14	1	54	10	10	49	159	100	51	41	31	10	7	11					25	7	1	13
	Belostomatidae														2										
Diptera	Chironomidae	28	32	36	5	5	4	16	6	3	12	46	29	22	11	5	8	2930	5012	562	481	198	7	234	1
	Tipulidae	5	2	1	6	4	1	3	4	3			3	2	3		1						1		
	Tabanidae	2				1	1																		
	Ceratopogonidae	1	3	1								6	1									2	1	1	
	Simuliidae	1	8	2		21			1		9	18	3		9							136			
	Ephydriidae		1									1	2		5										
	Culicidae					1																			
	Stratiomyidae								3					2	4	5	3	1	13	63	7		2		
	Syrphidae						3												3	3					
	Empididae					1	1																		
	Ephydriidae														2	2	2	1				2			
	Muscidae																				1				
	Psychodidae																					27	3	22	7
	Sciomyzidae																								1
Veneroidea	Sphaeriidae	9	1	7	9			2	11	11	8	20	84	10	110	3	84	110			6		2		
Crustacea	Pseudohelpeusidae		1								1			1		4	2								
	Hyalellidae													1	13	1									
Basommatophora	Physidae		3	1											1			286	96	28	6	198	335	219	94
	Planorbidae																1								1
Anelida	Glossiphoniidae			1													2	8	15	3	6	9	27	2	
Haplotaxida	Tubificidae			7		1	2					18	1			1					3		5		
	si																	4			22				

E1 La Laucha; E2 La Hamaca; E3 La Primavera; E4 La Aduana; E5 La Palma; y E6 El Trapiche).

la estación 4 la mayor abundancia es para Elmidae, Spheridae, Leptocerridae y Calamoceratidae. En la estación 5 se observa una drástica reducción en el número de familias, predominando en un 90% la familia Chironomidae, al igual que para la estación 5 en la estación 6 predominan las familias

Physidae y Chironomidae. A pesar de que el número de individuos colectados fue mayor durante los dos meses más secos (junio y julio) en relación con agosto y septiembre, el número de individuos por momento de muestreo no presentaron diferencias significativas ($f=0,88$; $p=0,448$), mientras que

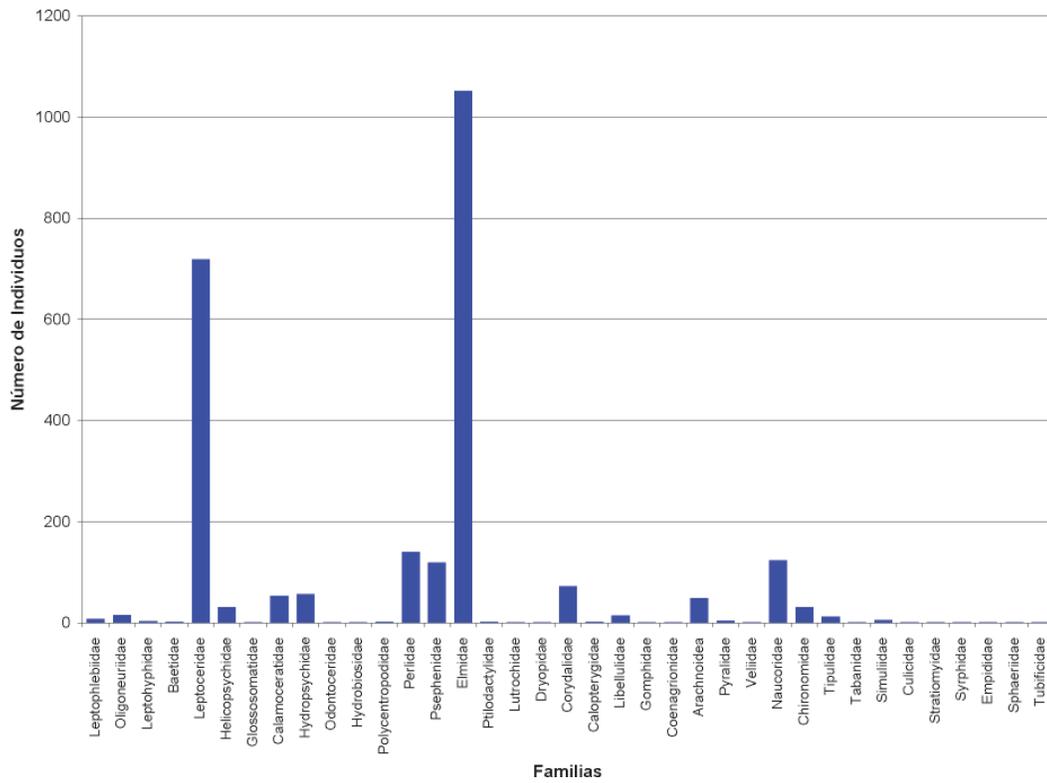


Figura 3. Macroinvertebrados acuáticos de la Estación 1: La Laucha

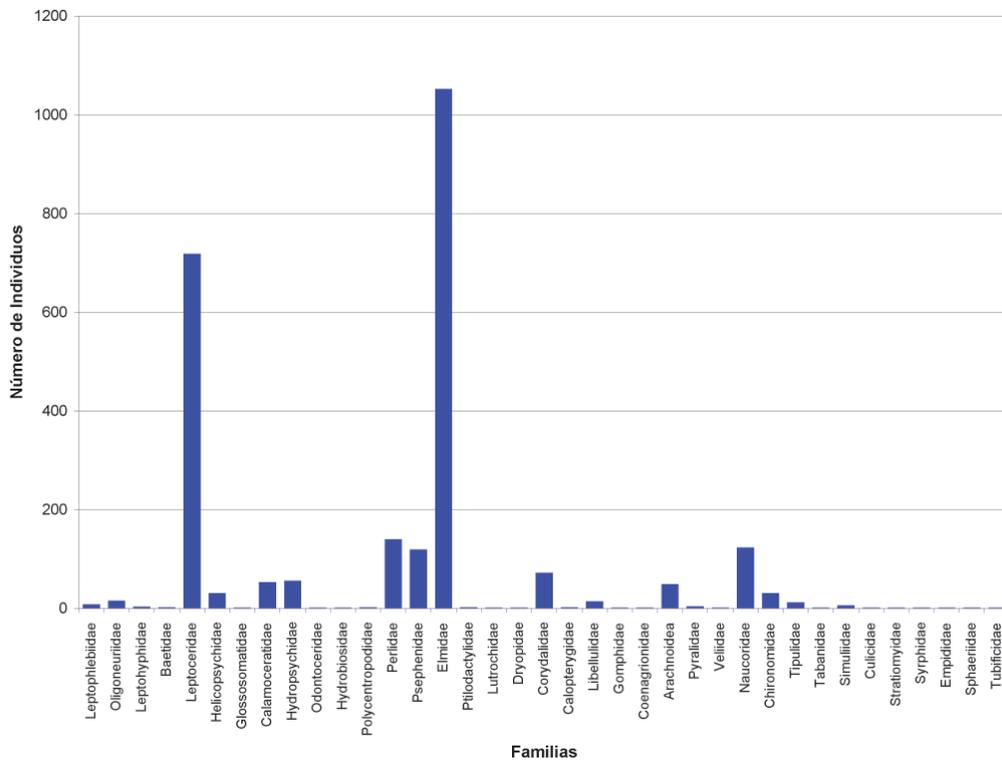


Figura 4. Macroinvertebrados acuáticos de la Estación 2: La Hamaca

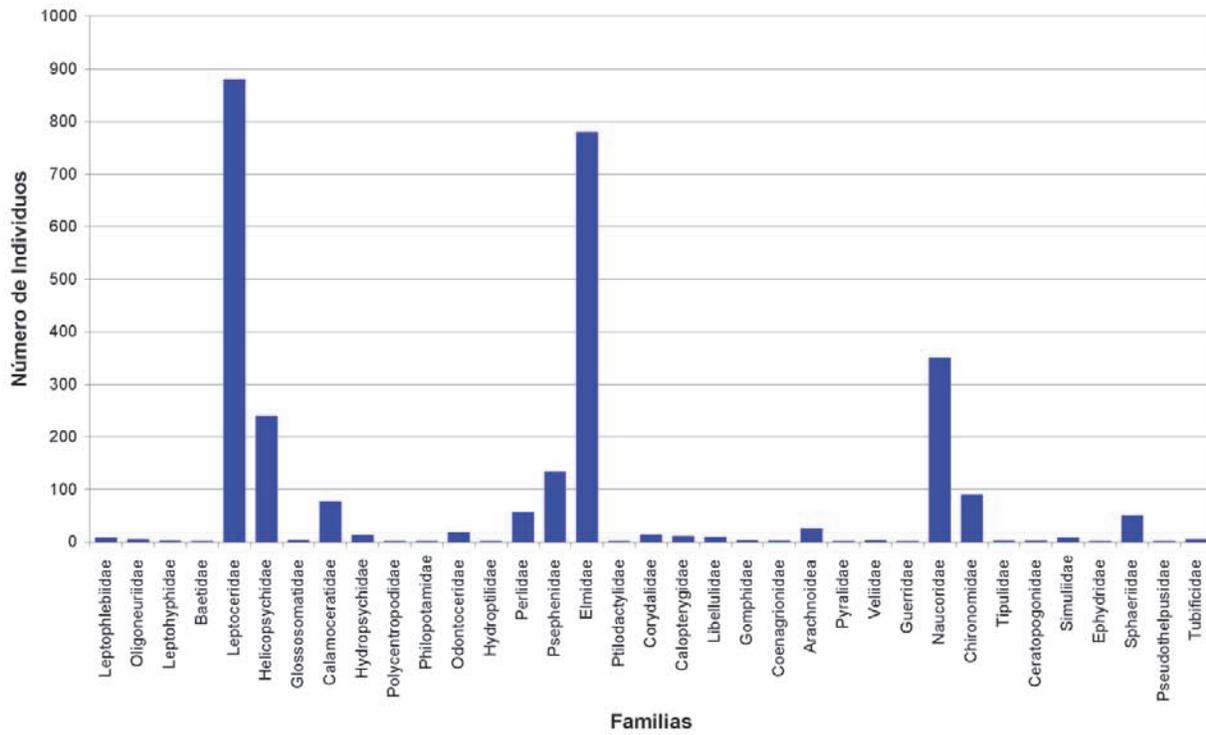


Figura 5. Macroinvertebrados acuáticos de la Estación 3: La Primavera

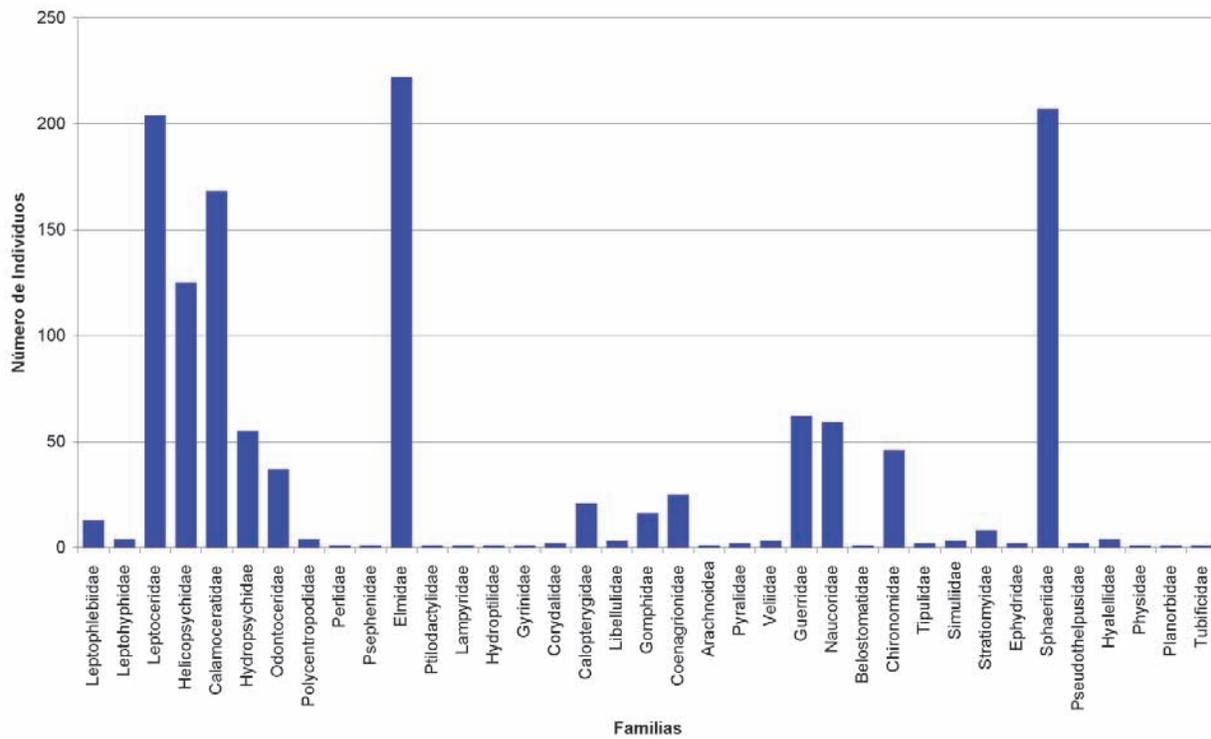


Figura 6. Macroinvertebrados acuáticos de la Estación 4: La Aduana

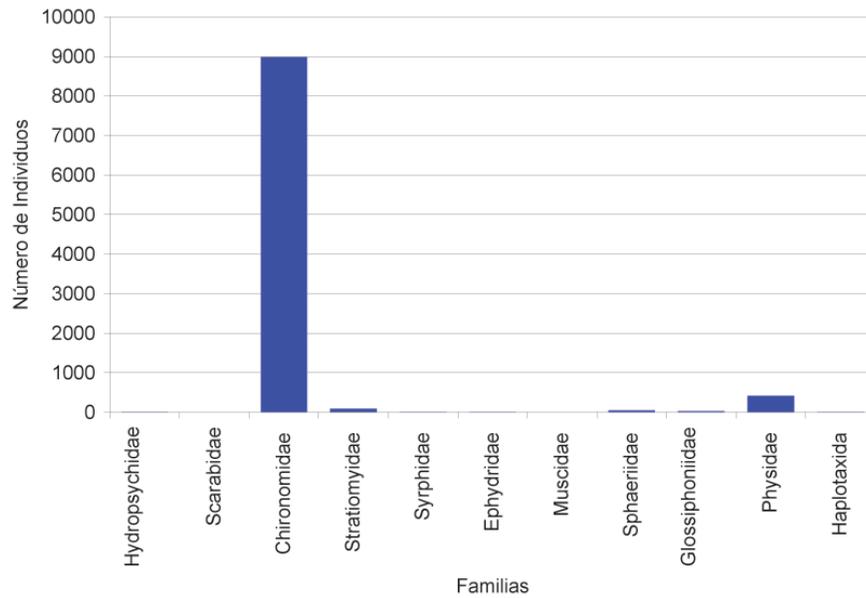


Figura 7. Macroinvertebrados acuáticos de la Estación 5: La Palma

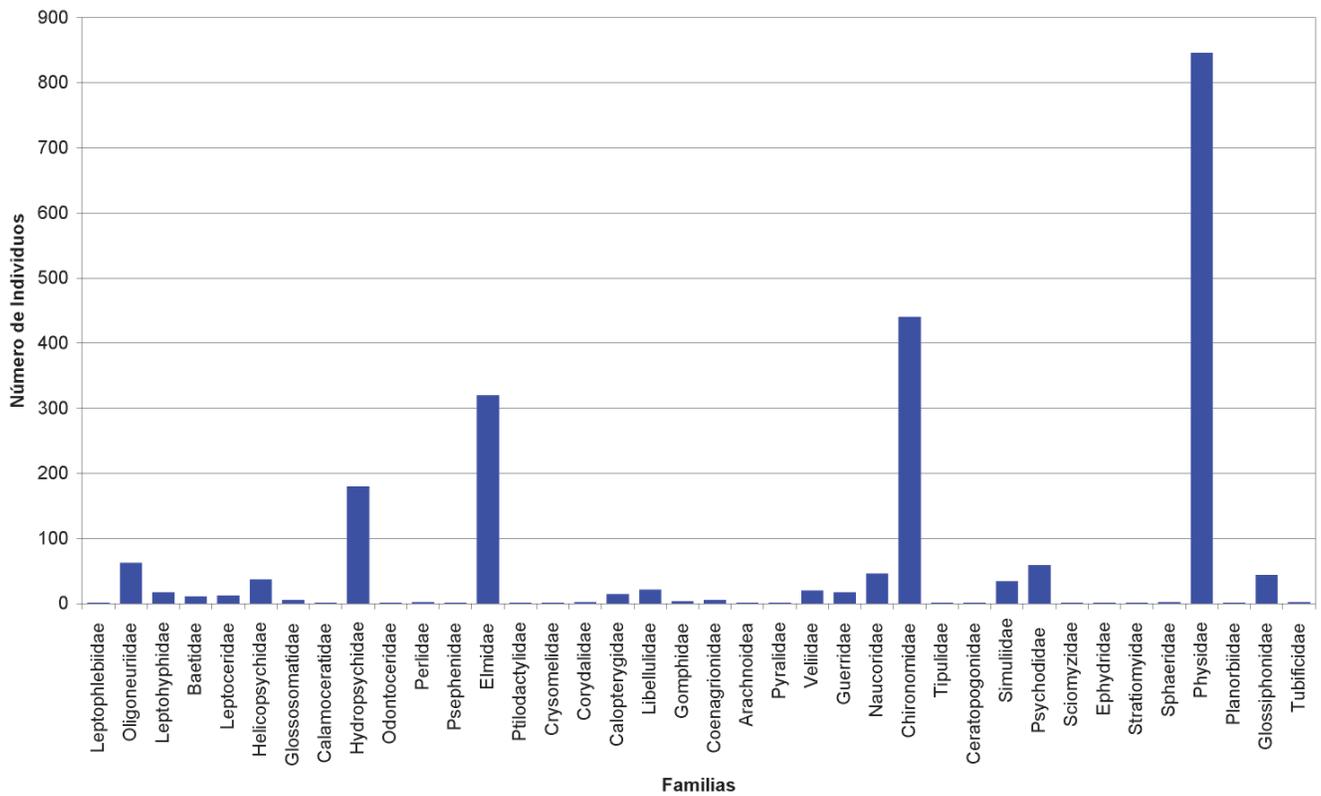


Figura 8. Macroinvertebrados acuáticos de la Estación 6: El Trapiche

entre las estaciones de muestreo sí se presentaron diferencias significativas ($f=8,60$; $p=0,000$), lo cual posiblemente puede obedecer a las características ambientales para cada una de las estaciones de muestreo.

El número de taxa por estación de muestreo varió entre 11 y 38 de los cuales el mayor fue hallado en las estaciones 1 y 6 (38), seguidas por las estaciones 2 y 4 con 37, mientras que el menor fue hallado en la estación 5 con 11 taxa. La mayor diversidad se presentó en la estación 4 (2,35), y en las estaciones 3 y 1 con 2,29 y 2,26 respectivamente, mientras que la estación 5 presentó la menor diversidad (0,3), en la cual al igualmente se presentó la mayor dominancia (0,94) debido a la alta abundancia de la familia Chironomidae (Tabla 4).

Teniendo en cuenta el número de individuos y sitio de muestreo, a través del análisis de similaridad de Bray Curtis se evidencia la conformación de un grupo conformado por las estaciones E1, E2, E3 y E4 dentro del cual hay una alta similaridad entre E2 y E3 (76,12%), mientras que se observa la separación de las estaciones E6 y E5 del grupo anterior hallando que E5 presenta muy bajas similaridades con las demás estaciones de muestreo (6,8-13,3%) (Figura 9).

En el análisis de redundancia (RDA) los tres primeros componentes extraídos explican el 99,9% de la variación encontrada, la familia Ephydridae y Chironomidae son las que más aportan al primer componente; mientras que Leptohyphidae y Physidae lo hace para el segundo. Dentro de las variables fisicoquímicas las que más aportan al análisis son para el primer componente la saturación de oxígeno y la temperatura mientras que el segundo eje está determinado principalmente por la turbidez y los sulfatos. La estructura de la asociación de taxa no permite un agrupamiento definido para el momento de muestreo, pero sí por estación (Figura 10) encontrando que las estaciones que presentan una agrupación definida son E5, E6 y E4. Existe una relación significativa entre el oxígeno disuelto y la diversidad ($r=0,9442$ $p=0,000$), La temperatura y el número de individuos ($r=0,9654$ $p=0,000$) (Tabla 5).

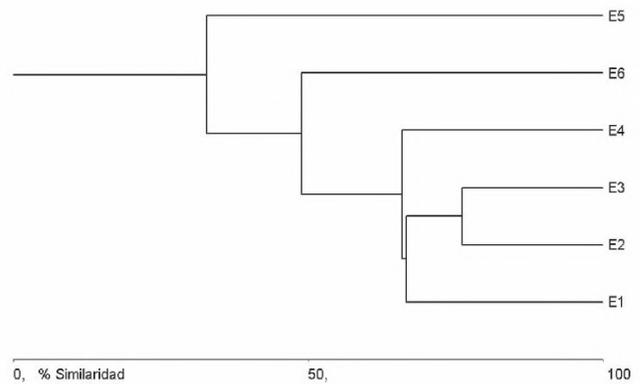


Figura 9. Análisis de similaridad de Bray Curtis para las estaciones de muestreo (E1 La Laucha; E2 La Hamaca; E3 La Primavera; E4 La Aduana; E5 La Palma; y E6 El Trapiche).

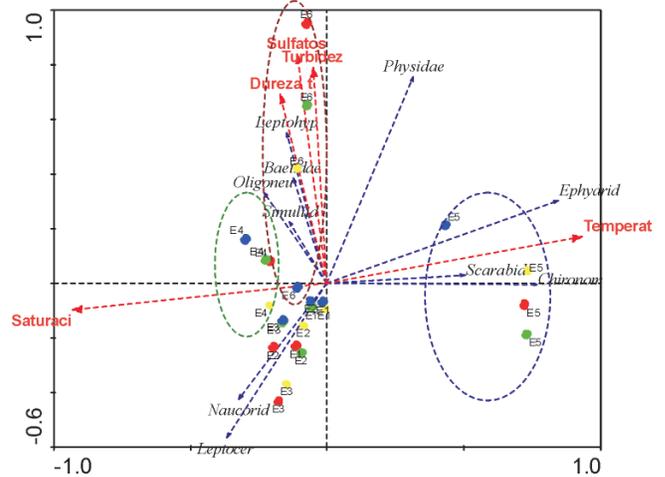


Figura 10. Representación gráfica del Análisis de Redundancia basado en la interacción de las variables fisicoquímicas, los taxa y las estaciones de muestreo Factores de análisis: meses en colores (Junio: amarillo; Julio: rojo; agosto: verde; septiembre: azul) (E1 La Laucha; E2 La Hamaca; E3 La Primavera; E4 La Aduana; E5 La Palma; y E6 El Trapiche).

Tabla 4. Resultados de los índices de diversidad, riqueza, dominancia y equidad para cada una de las estaciones de muestreo.

Índices	Estaciones					
	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Diversidad	2.26	1.83	2.29	2.35	0.3	2.02
Riqueza	38	37	35	37	11	38
Dominancia	0.4	0.42	0.31	0.17	0.94	0.38
Equidad	0.62	0.51	0.64	0.65	0.125	0.55

E1 La Laucha; E2 La Hamaca; E3 La Primavera; E4 La Aduana; E5 La Palma; y E6 El Trapiche).

Tabla 5. Análisis de Regresión Múltiple entre las variables fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas (Valor superior: R y valor inferior: P)

	O ₂	Temp	d	H'	Fe	Cond	Sulf	N° ind	Fosf	Alc.T	Clor	Mesó	NMP	Riq
O ₂	1	-.9720 .0000	-.8703 .0000	.9442 .0000	-.628 .7705	-.2006 .3474	.0919 .6693	-.9433 .0000	-.2075 .3307	-.1934 .3652	-.2003 .3480	-.4727 .0197	-.4553 .0254	.9648 .0000
Temp	-.9720 .0000	1	.9027 .0000	-.9491 .0000	.1824 .3935	.1890 .3765	.0272 .8995	.9654 .0000	.2935 .1640	.1663 .4372	.2715 .1995	.4564 .0250	.4329 .0346	-.9618 .0000
d	-.8703 .0000	.9027 .0000	1	-.9692 .0000	.1326 .5369	-.1058 .6228	-.0891 .6788	.9488 .0000	.1559 .4669	-.1727 .4196	.0873 .6849	.2104 .3236	.4235 .0392	-.9219 .0000
H'	.9442 .0000	-.9491 .0000	-.9692 .0000	1	-.1307 .5426	-.0238 .9120	.0945 .6606	-.9741 .0000	-.1737 .4170	.0178 .9343	-.1341 .5322	-.3329 .1119	-.4391 .0318	.9558 .0000
Fe	-.628 .7705	.1824 .3935	.1326 .5369	-.1307 .5426	1	.3303 .1149	.6462 .006	.1001 .6415	.5969 .0021	.3537 .0900	.5684 .0038	.2798 .1854	.0514 .8116	-.0220 .9186
Cond	-.2006 .3474	.1890 .3765	-.1058 .6228	-.0238 .9120	.3303 .1149	1	.6484 .0006	-.0051 .9813	.8006 .0000	.9626 .0000	.8727 .0000	.4033 .0507	.3715 .0739	-.0102 .9623
Sulf	.0919 .6693	.0272 .8995	-.0891 .6788	.0945 .6606	.6462 .006	.6484 .0006	1	-.1453 .4983	.8453 .0000	.5994 .0020	.8564 .0000	.1668 .4361	-.0915 .6707	.2066 .3329
N° ind	-.9433 .0000	-.9433 .0000	.9488 .0000	-.9741 .0000	.1001 .6415	-.0051 .9813	-.1453 .4983	1	.1292 .5474	-.0420 .8457	.0879 .6828	.3121 .1376	.4417 .0307	-.9886 .0000
Fosf	-.2075 .3307	.2935 .1640	.1559 .4669	-.1737 .4170	.5969 .0021	.8006 .0000	.8453 .0000	.1292 .5474	1	.7356 .0000	.9841 .0000	.3179 .1301	.4315 .0353	-.0851 .6925
Alc.t	-.1934 .3652	.1663 .4372	-.1727 .4196	.0178 .9343	.3537 .0900	.9626 .0000	.5994 .0020	-.0420 .8457	.7356 .0000	1	.8176 .0000	.5286 .0079	.2811 .1833	.0135 .9502
Clor	-.2003 .3480	.2715 .1995	.0873 .6849	-.1341 .5322	.5684 .0038	.8727 .0000	.8564 .0000	.0879 .6828	.9841 .0000	.8176 .0000	1	.3779 .1301	.3714 .0740	-.0539 .8024
Meso	-.4727 .0197	.4564 .0250	.2104 .3236	-.3329 .1119	.2798 .1854	.4033 .0507	.1668 .4361	.3121 .1376	.3179 .1301	.5286 .0079	.3779 .1301	1	.1876 .3799	-.3363 .1081
NMP	-.4553 .0254	.4329 .0346	.4235 .0392	-.4391 .0318	.0514 .8116	.3715 .0739	-.0915 .6707	.4417 .0307	.4315 .0353	.2811 .1833	.3714 .0740	.1876 .3799	1	-.4439 .0298
Riq	.9648 .0000	-.9618 .0000	-.9219 .0000	.9558 .0000	-.0220 .9186	-.0102 .9623	.2066 .3329	-.9886 .0000	-.0851 .6925	.0135 .9502	-.0539 .8024	-.3363 .1081	-.4439 .0298	1
J'	.9396 .0000	-.9464 .0000	-.9704 .0000	.9993 .0000	-.1471 .4928	-.0338 .8753	.0709 .7419	-.9669 .0000	-.1933 .3655	.0099 .9634	-.1528 .4759	-.3361 .1083	-.4379 .0323	.9462 .0000

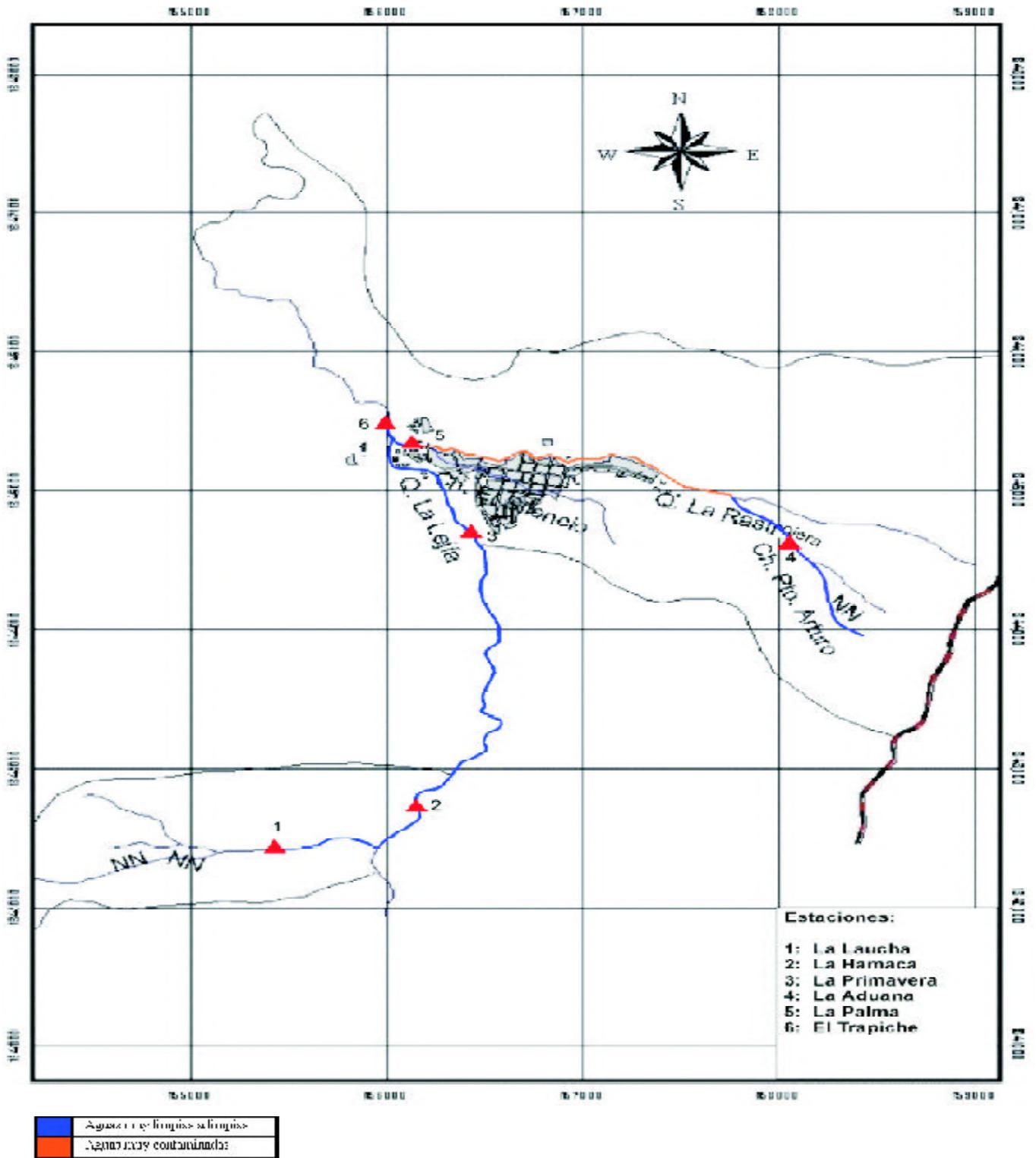
Índice BMWP/Col

Las familias colectadas en cada una de las estaciones de muestreo definieron la calidad del agua para la zona de estudio; la Tabla 6 muestra los valores obtenidos del índice BMWP/Col para cada una de las estaciones de muestreo. Todas las estaciones según los valores del índice BMWP/Col corresponden a aguas muy limpias a limpias excepto para la estación 5 en la cual el valor del índice (33) corresponde a aguas muy contaminadas (Tabla 6). La Figura 11 muestra el mapa de calidad del agua para las diferentes estaciones de muestreo analizadas.

Tabla 6. Clases de calidad de agua, puntaje BMWP/Col, significado y colores para el mapa de calidad de agua

Estación	Clase	Calidad	BMWP/Col	Significado	Color
E1	I	Buena	260	Aguas muy limpias a limpias	
E2	I	Buena	252	Aguas muy limpias a limpias	
E3	I	Buena	250	Aguas muy limpias a limpias	
E4	I	Buena	257	Aguas muy limpias a limpias	
E5	IV	Crítica	33	Aguas muy contaminadas	
E6	I	Buena	243	Aguas muy limpias a limpias	

E1 La Laucha; E2 La Hamaca; E3 La Primavera; E4 La Aduana; E5 La Palma; y E6 El Trapiche).



Fuente: E.O.T

Figura 11. Mapa de calidad de agua sobre las estaciones de muestreo.

Discusión y análisis

Parámetros físico-químicos

El oxígeno disuelto se encuentra dentro de los valores normales para éste parámetro (7.0 y 8.0 mg/l), excepto para la estación 5 con valores promedio de 1.8 mg/l, lo que confirma el impacto por la contaminación producida por la población de Durania. La temperatura, con un valor medio de 19.4°C característico en esta zona; las diferencias entre estaciones pueden obedecer a diferencias en los pisos altitudinales. En la estación 6 ubicada en la parte media de la microcuenca La Lejía, la temperatura disminuye debido a que allí, aguas arriba la quebrada La Rastrojera es afluente de la misma, por lo que al integrar sus aguas, se genera una disminución de la temperatura del caudal remanente.

El pH mantuvo los valores normales propios de aguas de montaña tropicales; algunas variaciones en el rango básico en la estación 5 son puntuales y se deben a la contaminación orgánica ya mencionada. La conductividad está dentro de los rangos normales (20 a 50 $\mu\text{S/cm}$) excepto en las estaciones 4 y 6 donde los valores superan los 200 $\mu\text{S/cm}$, el cual es un valor alto si se considera que para las aguas superficiales tropicales de montaña, donde los valores son por lo regular son bajos (entre 10 y 50 $\mu\text{S/cm}$) **Roldán** (2003). Esto puede explicarse debido a las diferencias geomorfológicas entre los cauces, ya que la naturaleza del sustrato determina en gran medida los valores de conductividad eléctrica y este puede oscilar incluso para un mismo sistema acuático. De otra parte, **Montoya & Ramírez** (2004) encontraron que la mineralización de la materia orgánica trae como consecuencia un incremento sustancial en la conductividad eléctrica, el cual se acentúa con el aumento en la temperatura del agua.

La dureza, los sulfatos y los cloruros presentan valores normales para estas variables (**Roldán**, 1992). Las pequeñas diferencias encontradas se deben principalmente a que en la zona se emplean detergentes que afectan la dureza del agua y la concentración de sulfatos. En contraste, la concentración de cloruros, cambió poco entre quebradas ya que esta depende principalmente de los aportes del cauce, los cuales son más o menos constantes para cada una de los sistemas tratados y para las zonas tropicales es común encontrar valores de cloruros menores a 5 mg/l. El hierro presentó valores normales excepto de nuevo en la estación 5. **Roldán** (1992) reporta que las concentraciones de este mineral son bajas para los ecosistemas neotropicales las cuales oscilan entre 0.1 y 0.6 mg/l.

La alcalinidad presenta valores normales considerándose como bajo < 100 mg/l de CaCO_3 . Se presentan algunas dife-

rencias entre sitios y estaciones, debido a la naturaleza del terreno y a la contaminación por materia orgánica. Los fosfatos presentan valores normales para tipos de aguas oligotróficas, excepto para la estación 5 donde son superados debido a la aplicación de agroquímicos en las prácticas agrícolas y vertimiento de aguas residuales. A diferencia de las estaciones ubicadas en las zonas de ritral en donde las concentraciones de fosfatos son bajas, debido a la disminución de las actividades antrópicas y a la pobreza mineral de los suelos de estas zonas.

Los nitritos presentaron valores muy bajos a veces no detectables, propio de aguas oligotróficas de montañas tropicales; de nuevo sólo la estación 5 presentó valores por encima de los normales lo cual es índice de contaminación orgánica reciente. La turbiedad fue baja excepto en la estación 6, lo que se puede considerar como indicativo de presencia de materia orgánica (**Sawyer & McCarty**, 1967), esto se debe a la entrada de diferentes compuestos de origen alóctono o autóctono, son más frecuentes a medida que se avanza en el cauce.

Los mesófilos presentaron un promedio de 1.689 UFC/100 ml. El número más probable de coliformes totales (NMP) presentó un valor medio de 98.383 UFC/100 ml. Esto es debido a la influencia de los vertimientos de aguas residuales sin ningún tratamiento a las fuentes hídricas y los residuos sólidos arrojados a las mismas, aumentando así el crecimiento de microorganismos bacterianos influyentes en la calidad del agua.

Se puede concluir que la estación 5, la más cercana a la zona urbana de Durania, es la que presenta mayor contaminación principalmente por materia orgánica; y que las estaciones ubicadas en la parte alta (1-3) son las menos contaminadas. Esto se correlaciona bien entre los parámetros físicoquímicos estudiados y las poblaciones de macroinvertebrados asociados.

Macroinvertebrados acuáticos

En todas las estaciones de muestreo, excepto E5, se presentó un alto número de familias con una buena representación en número de individuos por taxa, lo cual está relacionado con el tipo de sustrato, conformado en la mayoría de las estaciones por rocas de tamaño medio y grande lo cual favorece la presencia de taxas adaptados a un tipo de hábitat en particular. Según Hynes (1974, **Richards et al.** (1993), **Arocena et al.** (2000) y Rincón (2002) las características del lecho de una corriente es un factor determinante sobre la composición de los macroinvertebrados acuáticos, adicionalmente a que las fluctuaciones del caudal determinan la permanencia o no de las especies en un sitio determinado (**Prat et al.** 1995).

En general se observó que la mayor abundancia de individuos se presentó durante los periodos más secos (junio y julio); este hecho puede deberse a las condiciones hidrológicas e hidráulicas de las corrientes las cuales determinan la composición y estructura de los macroinvertebrados acuáticos. Según **Riaño et al.** (1993), cuando disminuyen los caudales aumenta la densidad de individuos, dada la exposición de un mayor número de sustratos y por ende el aumento en el área disponible para colonización. Por otro lado, en los periodos de aguas altas o medias, el arrastre de los sustratos determina la presencia de arena, fango y piedras mas finas no aptas para la presencia de macroinvertebrados que no presenten algún tipo de adaptación a dichas condiciones.

Cabe destacar la presencia de individuos de la familia Perlidae en todas las estaciones de muestreo excepto para la estación 5. Dicho comportamiento puede estar relacionado con la ausencia de factores de contaminación severos en dichas estaciones, lo cual permite que la presencia de individuos pertenecientes a familias que determinan una buena calidad del agua; caso contrario a lo que se presenta en la estación 5, en la cual la mayor abundancia se debe a la presencia de la familia Chironomidae la cual es indicadora de ambientes medianos a altamente contaminados.

La estación 5 presentó la menor equidad y diversidad y por ende, la mayor dominancia, esto se debe a la presión ejercida por la población de Durania; este municipio no cuenta con sistemas de tratamiento de aguas residuales ni con colectores de éstas. La comunidad biológica encontrada en esta estación fue la que presentó el menor número de familias y la mayor densidad de individuos lo cual es común en zonas con efectos de contaminación orgánica (**Estéves**, 1998) Resultados similares han reportados en estudios realizados por **Matthias & Moreno** (1983), **De Pauw & Hawkes** (1993), **Jacobsen** (1998),); **Posada et al.** (2000), **Roldán** (1999, 2003), **Reinoso** (1998), **Zamora** (1999), **Zúñiga de Cardozo** (1985), **Zúñiga et al.** (1997).

Los mayores valores fueron alcanzados por las estaciones 4 y 1, Según **Margalef** (1951) & **Perkins** (1983) las altas diversidades en ambientes naturales se asocian con ambientes oligosaprobios, lo cual se cumple para este estudio teniendo en cuenta que la mayoría de las estaciones de muestreo, según el índice BMWP/Col presentaron una muy buena calidad del agua.

La alta similaridad entre las estaciones E1, E2 y E3 se debe la presencia y abundancia de individuos de la familia Leptohephyphidae, Baetidae y Glossosomatidae. Mientras que la separación de la estación 5 del resto del grupo está relacionada con el bajo número de taxa y la baja abundancia

de individuos por taxa e incluso la presencia de un individuo de la familia Escarabeidae el cual se encontró ausente en las demás estaciones de muestreo. Igualmente cabe destacar la alta abundancia de la familia Chironomidae en relación con el número de individuos reportados para las demás estaciones de muestreo.

El análisis de redundancia sugiere que las características del hábitat y las características fisicoquímicas, relacionadas principalmente con la entrada de vertimientos propios del municipio de Durania definen la presencia de algunas familias más que el momento pluviométrico dada la ausencia de una asociación en el momento hidrológico.

En el Anexo adjunto se muestran las fotos de los macroinvertebrados acuáticos más representativos encontrados y su respectivo valor BMWP/Col.

Agradecimientos

Esta investigación se llevó a cabo gracias al apoyo económico del Sistema de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Oriente y a la Coordinación del Área Ambiental del Laboratorio Departamental de Salud Pública, Norte de Santander. Los autores expresan un agradecimiento muy especial a Mary Contreras, Israel y Pedro Parada, Eduardo Contreras, Adriana Castellanos, Carlos Parada, Mario Sandoval, Yimmy Montoya, Claudia Parada, Pablo Cáceres, Adriana Acosta y a los hermanos Parada Bastos - Compuser.

Referencias bibliográficas

- Alba-Tercedor, J.** 1996. Macroinvertebrados acuáticos y la calidad de las aguas de los ríos. IV Simposio del agua en Andalucía (SIAGA). Almería. Vol. II: 203-213.
- Arocena, R, F, D. & Clemente, J.** 2000. "La causas naturales versus a contaminación orgánica como factores estructurados del zoobantons en tres afluyente de una laguna costera" *Limnética*. 18: 99-113.
- Carrera, C. & Fierro, K.** 2001. Manual de monitoreo: Los macroinvertebrados acuáticos como indicadores de la calidad del agua. Ecociencia, Ecuador.
- Costa, C.; S. A. Vanin & S.A. Casari- Shen.** 1988. Larvas de Coleoptera do Brasil. Museo de Zoología. Universidad de Sao Paulo.
- De Pauw, N & H.A. Hawkes,** 1993. Biological monitoring of water quality. En: River quality monitoring and control. W.J. Walley y S. Judo, eds. Reino Unido, Aston University, 240 p.
- Esteves, F.A.** 1998. Fundamentos de Limnología. Interciencia. San Carlos, Río de Janeiro. 601p.
- Hynes, H.B.N.** 1974. The biology of polluted waters. University of Toronto Press. Pirnted in Greal Britain at the University Printing House, Cambridge. 110 p.

- Jacobsen, D.** 1998. The effect of organic pollution on the macroinvertebrate fauna of ecuatorial highland streams. *Arch. Hydrobiol.*, 143(2): 179-195.
- Johannsen, O. A.** 1933. *Aquatic Diptera*. Ithaca, New York, Publisher by the University.
- Machado, T. A & Rincón J.** 1989. Distribución ecológica e identificación de los coleópteros acuáticos en diferentes pisos altitudinales del departamento de Antioquia. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Medellín – Colombia. pp 69-213.
- Margalef, R.** 1951. Diversidad de especies en las comunidades naturales. *P. Instituto de Biología Aplicada*, 9: 15-27.
- Matthias, W & H. Moreno,** 1983. Estudio de algunos parámetros fisicoquímicos y biológicos del río Medellín y sus principales afluentes. *Actual. Biol.*, 12(46): 106-117.
- Merritt, R. W. & Cummins, K. W.** 1996. *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*, 3.^a ed., Dubuque, Iowa, Kendall/Hunt Publishing Company, 862 p.
- Montoya, M, Y. & Ramírez, J.** 2004. Tasas de mineralización y sedimentación en el embalse de Río Grande II, Don Matías, Antioquia-Colombia. Tesis de Maestría. Universidad de Antioquia, Medellín, 130 p.
- Perkins, J.L.** 1983. "Biossay evolution of diversity and community comparison indexes". *J. Wat Poll Control Fed* 55(5): 522-530.
- Pielou, 1969.** Pielou E.C. 1969. *An introduction to mathematical ecology*. Wiley. New York.
- Planeación Municipal. Esquema de Ordenamiento Territorial 2003-2015, Municipio de Durania, Departamento Norte de Santander.
- Posada, J.; Roldán, G. & Ramírez, J.** 2000. Caracterización fisicoquímica y biológica de la calidad de aguas de la cuenca de la quebrada Piedras Blancas, Antioquia, Colombia. En: *Revista Biología Tropical*. 48 (1): 59-70.
- Prat, N., Munné, A., Solá, C., Rieradevall, M., Bonada, N Y Chacon, G.** 1995. La qualitat ecológica del Llobregat, et Besos i el Foie. En: Gil MJ, Palau A y Fernández Ch. "Calidad biológica de las aguas del río Cinca (Huelva)" *Limnética* 20(1): 107-113. 2001.
- Roldán, G.** 1999. Los macroinvertebrados y su valor como indicadores de la calidad del agua. *Rev. Acad.Col. Cien Exact. Fís. Nat. XXIII* (88): 375-387.
- Posada, J. & Roldán, G.** 2003. Clave ilustrada y diversidad de larvas de Trichoptera en el Noroccidente de Colombia. En: *Revista Caldasia*. 25 (1): 169-192.
- Reinoso, G,** 1998. Estudio de la fauna benticadel río Combeima, Ibagué, Colombia. En: *Memorias XXXIII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas-ACCB*. Ibagué, Universidad del Tolima.
- Riaño, P., Basaguren, A. & Pozo, J.** 1993. Variaciones espaciales en las comunidades de macroinvertebrados de río Aguera (Pais Vasco-Cantabria) en dos épocas con diferentes condiciones de regimen hidrológico. *Limnética* 9: 19-28.
- Richards, C., Host, G.E. & Arthur, J.B.** 1993. Identification of predominant environmental factors structuring, stream macroinvertebrate communities within a large agricultural catchment. *Freshw. Biol.* 29:285-294.
- Rincón, M.E.** 2002. Comunidad de insectos acuáticos de la quebrada Mamarramos (Boyacá, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*. 28(1): 101-108.
- Roldán, G.** 1988. Guía para el estudio de los Macroinvertebrados acuáticos del departamento de Antioquia. Fondo FEN-Colombia. Conciencias – Universidad de Antioquia. Ed. Presencia Ltda., Santafé de Bogotá. 217 pp.
- Roldán, G.** 1992. *Fundamentos de Limnología Neotropical*. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín. 529 pp.
- Roldán, G.** 1999. Los Macroinvertebrados y su valor como indicadores de la calidad del agua. *Rev. Acad .Col .Cien.Exa. Fís. Nat. XXIII* (88): 376-387.
- Roldán, G.** 2001. La Bioindicación y la calidad del agua. *Revista Universidad Católica de Oriente*. 13(14): 38-50.
- Roldán, G.** 2003. Bioindicación de la calidad de agua en Colombia: Uso del método BMWP/Col. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín. 170 p.
- Roldán, G.; Alvarez, L. F.; Gómez, M. I.; Velásquez, D. P. & Peláez, E.** 2003. Determinación de los valores de Bioindicación de los Moluscos de agua dulce y Taxonomía de la Familia Hydrobiidae (Gastropoda: Rissoidea) en Colombia. *Universidad Católica de Oriente. Rionegro, Antioquia*. pp 13-63.
- Sawyer C. & P. McCarty.** 1967. *Chemistry for Sanitary Engineers*. Second edition. McGraw.Hill Book Company. 517 p.
- Shannon, C. E. & W. Weaver.** 1949. *The mathematical theory of communication*. The University of Illinois. Urbana, IL. 125 p.
- Wiggins, G. B.** 1977. *Larvae of the North American Caddisfly Genera (Trichoptera)*. University of Toronto Press. 401 p.
- Zamora, G.H.** 1999. Adaptación del índice BMWP para la evaluación biológica de la calidad de las aguas epicontinentales en Colombia. *Rev. Unicauca. Ciencia*. 4: 47-60.
- Zúñiga de Cardozo, M.C.** 1985. Estudio de la ecología del río Cali con énfasis en su fauna béntónica como indicador biológico de calidad. *Rev. AINSA*, 8: 63-85.
- Zúñiga de Cardozo, M.C, M. Rojas & G. Caicedo.** 1997. Indicadores ambientales de calidad del agua en la cuenca del río Cauca. En: *Bioindicadores ambientales de la calidad del agua*, Universidad del Valle, Cali.

Recibido: 2 de mayo de 2007

Aceptado para su publicación: 7 de julio de 2008

ANEXO: REGISTRO FOTOGRÁFICO DE MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 10



Gomphidae



Perlidae



Arachnoidea



Odontoceridae



Psephenidae



Lampyridae



Ptilodactylidae



Calamoceratidae



Oligoneuriidae

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 9



Polycentropodidae



Hydrobiosidae



Gyrinidae



Leptophlebiidae

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 8



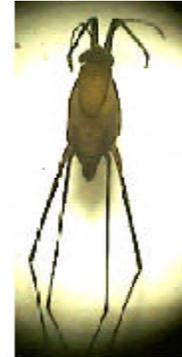
Leptoceridae



Hydrobiidae



Pseudothelpusidae



Gerridae



Veliidae



Larva



Pupa



Vista dorsal



Vista ventral

Helicopsychidae

Simuliidae

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 7



Leptohiphidae



Baetidae



Glossosomatidae



Naucoridae



Coenagrionidae



Hyalellidae



Calopterygidae

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 6



Libellulidae



Corydalidae

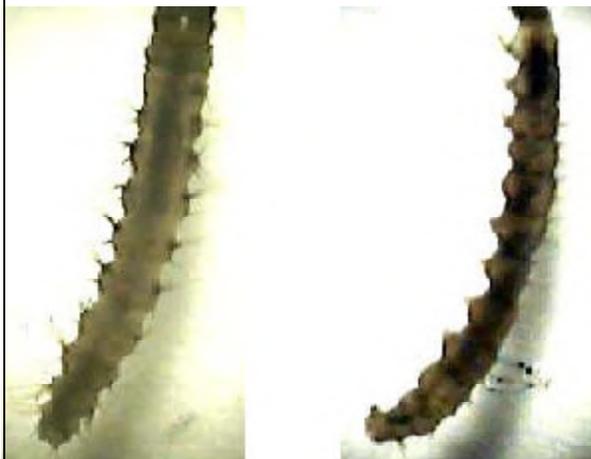


Elmidae - adulto



Elmidae - larvas

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 5



Pyralidae



Belostomatidae



Planorbidae

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 4



Sphaeriidae



Scarabidae



Chrysomelidae



Stratiomyidae

Macroinvertebrados con puntaje BMWP/Col: 3



Tipulidae



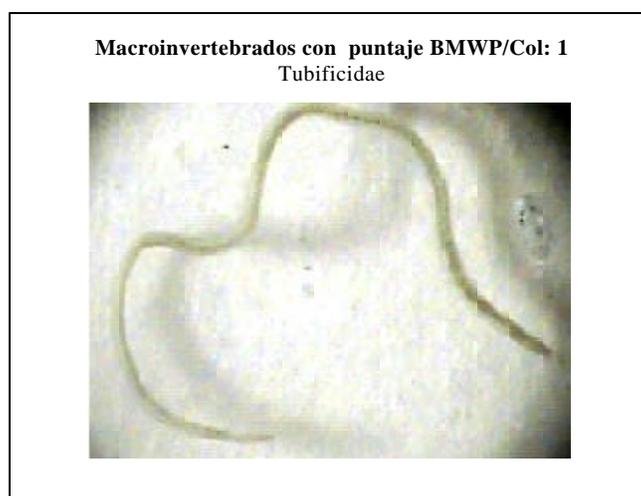
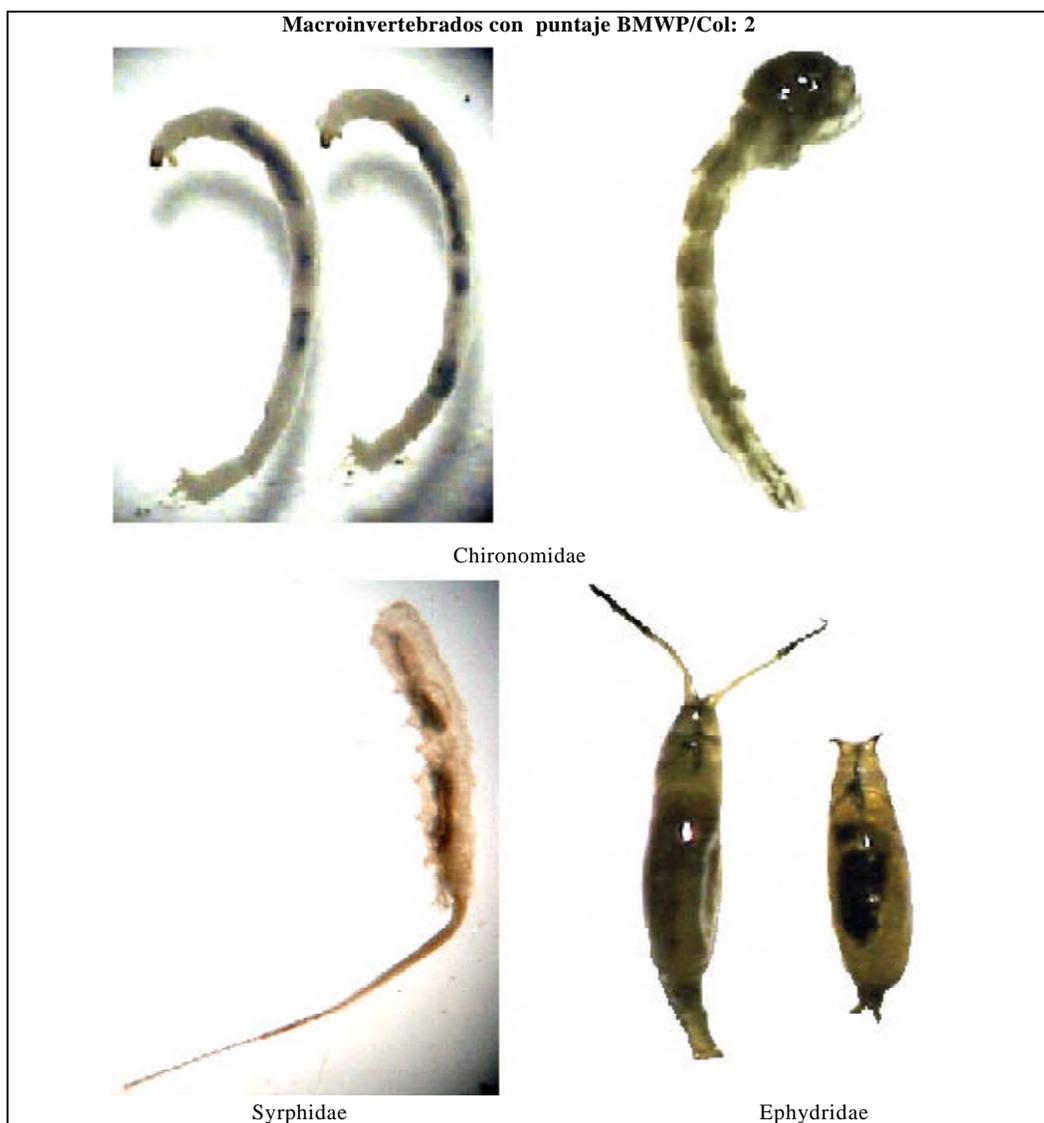
Ceratopogonidae



Glossiphoniidae



Physidae



RELACIONES DEMANDA-OFFERTA DE AGUA Y EL ÍNDICE DE ESCASEZ DE AGUA COMO HERRAMIENTAS DE EVALUACIÓN DEL RECURSO HÍDRICO COLOMBIANO

Por

Efraín Antonio Domínguez Calle^{1,2*}, Hebert Gonzalo Rivera³,
Raquel Vanegas Sarmiento³, Pedro Moreno³

Resumen

Domínguez Calle, E.A., H.G. Rivera, R. Vanegas Sarmiento, P. Moreno: Relaciones demanda-oferta de agua y el índice de escasez de agua como herramientas de evaluación del recurso hídrico colombiano. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 195-212, 2008. ISSN 0370-3908.

En este trabajo se presentan datos actualizados sobre la oferta hídrica Colombiana y la demanda potencial de agua por parte de los distintos sectores productivos. La relación demanda/oferta de agua es utilizada como indicador del nivel de presión sobre los recursos hídricos y es expresada, en forma porcentual, a través del Índice de Escasez de Agua Superficial. Este índice aplica reducciones sobre la oferta hídrica disponible para expresar los efectos restrictivos de la variabilidad temporal y de la severidad del periodo de estiaje en las corrientes superficiales de las distintas regiones naturales. Para caracterizar los años de humedad normal y baja se construyeron escenarios de oferta hídrica modal y de probabilidad de excedencia del 95%. También se proyectaron los niveles de demanda y oferta superficial de agua al año 2025. Los resultados obtenidos reorientan la atención sobre la problemática del recurso hídrico colombiano hacia los conflictos por uso del territorio ocasionados por la concentración poblacional y de los sectores productivos en sectores de baja oferta de agua. A la luz de este enfoque, los problemas de infraestructura para la gestión de un recurso escaso, altamente presionado y de fuerte variabilidad temporal, emergen como un factor clave para evitar una crisis latente en la gestión de los recursos hídricos.

Palabras clave: Estudio Nacional del Agua, índice de escasez, recursos hídricos, relaciones demanda-oferta de agua.

¹ Departamento de Ecología y Territorio, Facultad de Estudios Ambientales y Rurales, Pontificia Universidad Javeriana, Transversal 4 No. 42-00 Piso 8 Bogotá D.C., Colombia. Correo electrónico: e.dominguez@javeriana.edu.co

² Ceiba-Complejidad.

³ Subdirección de Hidrología, Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales – IDEAM, Carrera 10 No. 20-30 Bogotá D.C., Colombia. Correos Electrónicos: agua@ideam.gov.co; raquelv@ideam.gov.co; pmoreno@ideam.gov.co.

* Autor corresponsal.

Abstract

This paper shows updated results about Colombian water resources and their requirements by the economic sectors. Water demand/water availability relationship is used as a pressure index on water resources; this relationship is expressed through the water scarcity index, which applies constraints over water availability, due to the runoff temporal variability and to the low levels of water during the dry season, each year, and for each geographic region. To characterize average and low runoff years, different water availability scenarios were build: one for modal runoff values, and another for 95-percent exceedance probability flows. An outlook of water availability and water requirements for 2025 also was prepared. The results call our attention to problems caused by the concentration of high density settlements and the presence of economics sectors in regions with low water availability. The infrastructure lag for management of a scarce, highly variable and over pressured resource, emerges as a key factor to avoid a looming crisis in the process of water management.

Key words: Colombian Nationwide water resources assessment, water scarcity index, water demand-water availability relationship.

Introducción

Colombia, un país de precipitaciones generosas, en otrora calificado como el cuarto país del mundo por su disponibilidad hídrica, está enfrentando un conflicto por el uso del espacio para su desarrollo socio-económico y para protección de la oferta hídrica natural. El crecimiento actual de la nación ha congregado la demanda hídrica sobre regiones donde su oferta es escasa y en las cuales los procesos de crecimiento poblacional amplifican la presión sobre un recurso que ya registra altos requerimientos para mantener la estructura socio-económica instalada. Por estas razones, desde 1998, el IDEAM, con el fin de mantener un seguimiento de esta problemática realiza y actualiza el Estudio Nacional del Agua (ENA), una síntesis de los recursos hídricos de Colombia a la luz de la relaciones demanda-oferta de agua (IDEAM, 1998).

Durante muchos años el estado del recurso hídrico de los países del mundo ha sido evaluado tomando en cuenta la cantidad de agua que escurre por los territorios de las distintas naciones. Estimaciones de esta clase fueron realizadas en la década de los años 70 (Lvovitch, 1970; Korzun *et al.*, 1978; UNESCO, 1979) y es a partir de ellas que surge la idea de una “Colombia-potencia hídrica”, la cual compartía los primeros renglones en la clasificación mundial de recursos hídricos con países como Brasil, La Federación Rusa y Canadá. Este imaginario marcó como abundante e inagotable el recurso hídrico de Colombia y produjo una gran despreocupación por el mismo en los colombianos. Esta huella ha dejado de ser indeleble y en las últimas décadas ha comenzado a borrarse gracias al surgimiento de conflictos hídricos evidentes a escala local y regional, los cuales han puesto en crisis los mecanismos de asigna-

ción del agua. Este contexto no es un privilegio de los colombianos y se replica en muchos países, para contrarrestarlo se han producido muchas iniciativas globales para el fortalecimiento institucional de los países en la evaluación de sus recursos hídricos. Entre estas iniciativas se destacan la organización de redes mundiales y los esfuerzos por realizar evaluaciones globales que permitan comparar el estado de los recursos hídricos de distintos países con base en metodologías estandarizadas. Son destacables los recursos ofrecidos por la UNESCO para tal fin, entre ellos: el Programa para la Evaluación Mundial de los Recursos Hídricos (Lvovitch, 1986) y el Programa Hidrológico Internacional (UNESCO, 2005). En el marco de estos proyectos la aplicación de indicadores ha surgido como una herramienta para cambiar el *status quo* de las evaluaciones sobre la disponibilidad de agua en el mundo haciendo que todos puedan ser comparables. Entre estos indicadores sobresale el índice de disponibilidad *per cápita* propuesto por Malin Falkenmark (Gardner-Outlaw & Engelman, 1997), quien introdujo también sus valores críticos. Este índice es un indicador sencillo que detecta los países con crisis agudas del agua, sólo toma en cuenta la población como factor de presión y por ello no cuenta con la resolución necesaria para divisar la problemática del agua en aquellos países con abundancia aparente del líquido pero con alta concentración de la demanda de agua en polos de desarrollo locales.

De acuerdo con los valores críticos establecidos por Falkenmark (1999), en los países en los que la disponibilidad de agua *per cápita* por año sólo alcanza a los 1000 m³ se tiene una situación de escasez de agua. En Colombia, de acuerdo con las evaluaciones realizadas por el IDEAM, la disponibilidad de agua en 1985 alcanzaba una cifra aproxi-

mada de 60.000 m³ por habitante al año. Esta cifra ha evolucionado, principalmente debido al crecimiento poblacional del país, y en el año 2000 se redujo hasta el valor de 40.000 m³ por habitante al año. Aunque esta última cifra es mucho mayor que los valores críticos planteados por Falkenmark, es preocupante la tendencia de reducción registrada (véase figura 1). En el caso hipotético de que se mantuviese el crecimiento poblacional y sectorial actual y de mantener los hábitos de uso y consumo actuales, en el término de 40 años el país tendría una disponibilidad hídrica anual per capita igual 1000 m³, alcanzando así los valores críticos señalados por Falkenmark para una crisis de facto del agua.

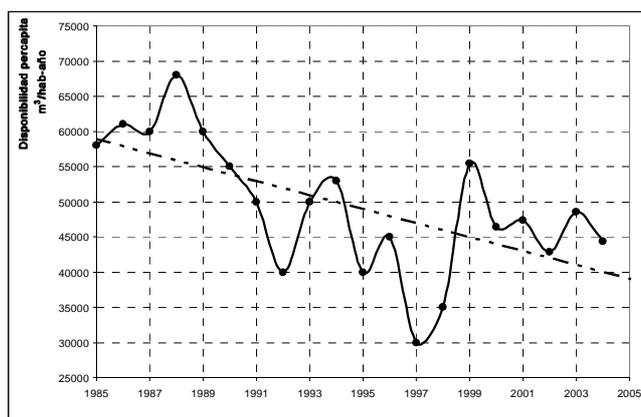


Figura 1. Dinámica anual de la disponibilidad per cápita de agua registrada en Colombia (Fuente: <http://www.ideam.gov.co/indicadores/agua5.htm>, modificada)

La anterior proyección, aunque gruesa, es muy desalentadora e indica que el periodo de tiempo en el que Colombia enfrentaría una crisis real de agua ya se encuentra en el intervalo de planificación del presente siglo.

La señal analizada con el indicador de disponibilidad per cápita habla de una situación de crisis potencial en el futuro, sin embargo en la actualidad, debido a que la población colombiana y sus principales actividades económicas se encuentran ubicadas en regiones con oferta hídrica natural no muy significativa, ya se presentan conflictos por uso y asignación del agua. De acuerdo con las valoraciones de la disponibilidad per cápita anual de agua, Colombia ocupa el lugar número 24 entre 203 países. Estados como Singapur, Malta, Arabia Saudita, Qatar y Bahamas ocupan los últimos puestos con disponibilidades per cápita menores a 150 m³ por habitante año (UN/WWAP, 2003). Si se estudia con detalle la distribución de la población y las actividades socioeconómicas en el territorio colombiano es claro que este indicador no refleja las situaciones de

alta presión sobre el recurso hídrico presentes en distintos núcleos de desarrollo de Colombia. Los mapas en las figuras 2 y 3 muestran la distribución espacial del recurso hídrico y de la demanda de agua en Colombia. En ellos se observa que los núcleos de mayor demanda de agua para las actividades socio-económicas se encuentran ubicados en espacios geográficos de baja oferta hídrica natural. Es así como el altiplano cundiboyacense, cuya oferta natural no supera los 600 mm de escorrentía superficial al año, presenta niveles de demanda altos. En igual situación se encuentran los departamentos del Atlántico, Cesar y Bolívar, algunos sectores del valle del río Cauca y del departamento de Norte de Santander.

Por los argumentos presentados en el párrafo anterior, el ENA, siguiendo las indicaciones del Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos examina las relaciones demanda-oferta de agua en Colombia para determinar las regiones donde la demanda de agua del conjunto de actividades socio-económicas ha alcanzado niveles críticos y así proporcionar información de apoyo para la gestión del recurso hídrico a escala regional y local. Con estos fines el IDEAM, en lugar del indicador de disponibilidad per cápita anual de agua, propuso el Índice de Escasez del Agua, el cual además de la demanda de agua de la población y los sectores productivos toma en cuenta restricciones de la oferta hídrica superficial por efecto de la irregularidad temporal de los caudales anuales y de la severidad de los periodos de estiaje en los ríos colombianos. El modelo conceptual de este índice se presenta a continuación.

Modelo conceptual del índice de escasez

Este índice fue construido a partir de las relaciones de presión sobre el recurso hídrico presentadas en la Evaluación General de los Recursos de Agua Dulce del Mundo (UN-Consejo Económico y Social, 1997), allí se propone que existe escasez de agua cuando la cantidad de agua tomada de las fuentes es tan grande que se suscitan conflictos entre el abastecimiento de agua para las necesidades humanas, las ecosistémicas, las de los sistemas de producción y las de las demandas hídricas proyectadas hacia el futuro inmediato. De conformidad con esta propuesta la relación oferta-demanda de agua es una medida de presión dado que se ha observado que cuando la utilización del agua dulce aumenta por sobre el 10% de los recursos de agua dulce de una corriente, en esta se manifiestan problemas por reducción de la oferta y de la calidad del agua, aguas abajo del lugar de la bocatoma. Estas presiones se tornan más pronunciadas cuando se cruza el umbral del 20%.

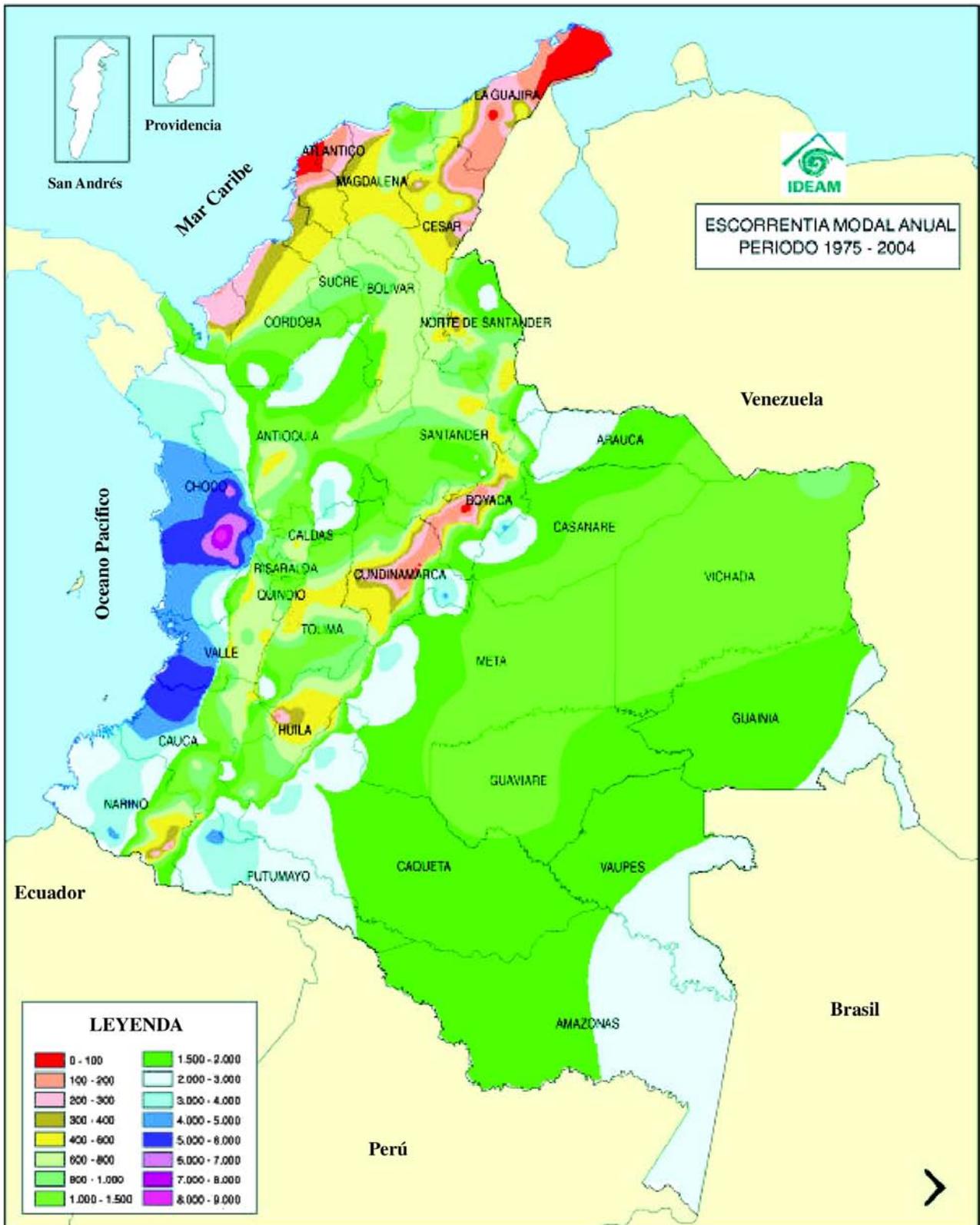


Figura 2. Oferta hídrica total anual en Colombia (IDEAM, 2004).

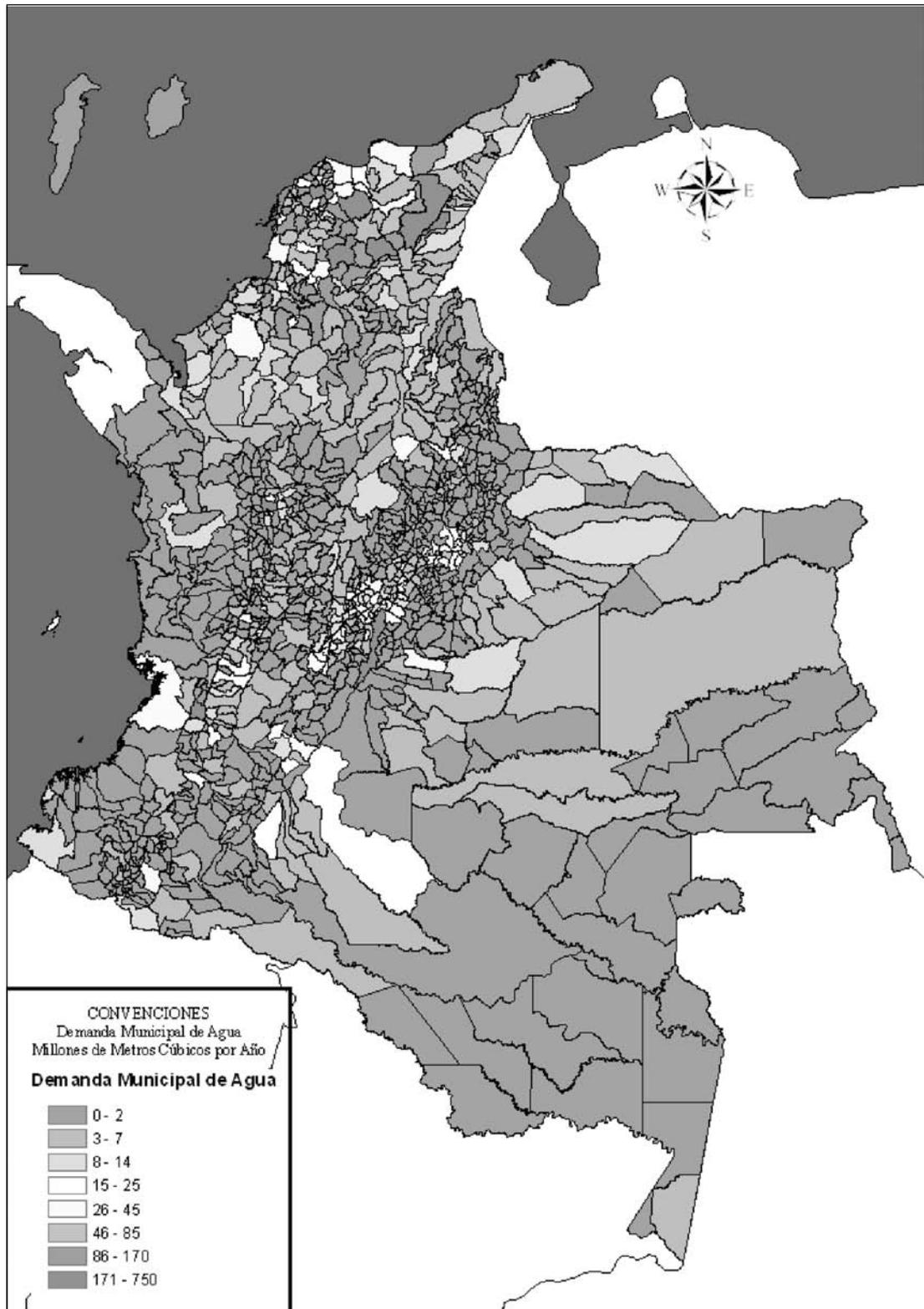


Figura 3. Distribución espacial de la demanda de agua de las actividades socio-económicas en el territorio colombiano.

La excesiva presión sobre una fuente de agua puede conducir a su desaparición, en este sentido es importante para la planificación sostenible del recurso hídrico conocer la cantidad de agua disponible, los niveles de demanda y las restricciones de uso necesarias para mantener la salud de la fuente abastecedora de agua. Esto indica, que además de ofrecer agua para el consumo humano y el abastecimiento de las actividades productivas, es necesario que las corrientes abastecedoras mantengan un remanente de agua para atender los requerimientos hídricos de los ecosistemas asociados a sus cauces, preservando así su biodiversidad, productividad y estabilidad.

La alta variabilidad temporal de las fuentes abastecedoras también afecta la disponibilidad real de agua. Una corriente con un régimen hidrológico muy inconstante es poco confiable como fuente abastecedora de agua por lo que la irregularidad temporal debe ser tenida en cuenta al estimar la oferta neta de una corriente de agua.

Por las razones anteriores es conveniente definir dos tipos de oferta de agua: a) oferta total que refleja el agua que circula por la fuente abastecedora y b) oferta neta que define la cantidad de agua que ofrece la fuente luego de haber descontado la cantidad de agua que debe quedar en ella para efectos de mantener el caudal mínimo del periodo de estiaje y para tomar en cuenta los efectos adversos de la irregularidad temporal de la oferta. De acuerdo con estas consideraciones el índice de escasez se establece como la relación entre la demanda de agua por parte de las actividades socioeconómicas y la oferta hídrica "neta".

La expresión de cálculo del índice de escasez en su forma porcentual es:

$$I_e = \frac{D_t}{O_n} \times 100\% \quad (1)$$

Donde: I_e - Índice de escasez [%], D - Demanda total de agua [m^3], O_n - Oferta hídrica superficial neta [m^3].

En la Evaluación General de los Recursos de Agua Dulce del Mundo se distinguen las siguientes categorías de presión sobre el recurso hídrico:

- Alta – la demanda alcanza el 40% del agua ofrecida potencialmente por la fuente abastecedora.
- Media – el nivel de demanda de agua se encuentra entre el 20 y 40% de la oferta.
- Moderada – Los requerimientos de agua están entre el 10 y el 20% de la oferta hídrica.

- Baja – la demanda de agua no supera el 10% de los volúmenes de agua ofrecidos por la fuente.

Para Colombia, el IDEAM introdujo en 1998 la siguiente escala de valoración para las categorías del índice de escasez (IDEAM, 1998):

- Alto – la demanda supera el 50% del agua ofrecida potencialmente por la fuente abastecedora.
- Medio-Alto – el nivel de demanda de agua se encuentra entre el 20 y 50% de la oferta neta.
- Medio – Los requerimientos de agua están entre el 10 y el 20% de la oferta hídrica neta.
- Mínima – la demanda de agua se encuentra entre el 1 y el 10% de los volúmenes de agua ofrecidos por la fuente.
- No significativo – demanda menor al 1% de la oferta hídrica neta.

Definición de la oferta hídrica

La oferta hídrica total está definida por el valor modal de los caudales promedio anuales. Esta magnitud representa el caudal anual promedio más probable y se extrae de la curva de densidad probabilística (CDP) de los caudales anuales. Esta curva se construye a partir de los registros en las estaciones hidrométricas que miden el flujo de agua de la fuente abastecedora. Como en Colombia no se cuenta con información hidrológica puntual para cada municipio, se utilizó la metodología de la UNESCO (Lvovitch, 1970) para extraer estos valores de mapas de escorrentía modal construidos con los registros anuales de caudal de la red de monitoreo hidrológico del IDEAM.

La oferta hídrica neta se calcula a partir de la oferta total a través de la siguiente expresión:

$$O_n = O_t \times (1 - R_e - R_{it}) \quad (2)$$

Donde:

O_t : Oferta hídrica superficial total [m^3];

R_e : Factor de reducción para mantener el régimen de estiaje;

R_{it} : Factor de reducción por irregularidad temporal de la oferta hídrica.

De acuerdo con las fórmulas (1) y (2) el índice de escasez requiere de la definición de cuatro elementos conceptuales, tres de ellos relacionados con la categoría de oferta

hídrica superficial y el restante relacionado con los requerimientos de agua de las actividades socioeconómicas.

El volumen de oferta hídrica total se obtiene como:

$$O_t = Q_o * T \quad (3)$$

Donde: Q_o - caudal modal de la fuente abastecedora [m^3/s] y T cantidad de segundos en un año.

Para definir R_e se construye la curva de densidad probabilística (CDP) de los caudales de estiaje Q_{min} . De esta curva se extrae el caudal de estiaje con el 97.5% de probabilidad de excedencia $Q_{min97,5\%}$ de modo que la reducción para mantener el régimen de estiaje de la fuente sería igual a:

$$R_e[\%] = 100 \times \frac{Q_{min97,5\%}}{Q_o} \quad (4)$$

La reducción por irregularidad temporal de la oferta hídrica se debe estimar a través de un funcional de la forma

$$R_{it} = f(Q_o, C_v, C_s, \rho) \quad (5)$$

Donde C_v, C_s, ρ representan los coeficientes de variación y de asimetría de los caudales promedio anuales y el radio de correlación de los caudales diarios.

La estructura explícita del funcional (5) es de antemano desconocida, por ello como primera aproximación para obtener R_{it} se recomienda aplicar la siguiente tabulación:

Tabla 1. Escala de reducciones por irregularidad temporal de la oferta hídrica.

C_v	R_{it} , [%]
0 - 0,2	15
0,2 - 0,3	25
0,3 - 0,4	35
0,4 - 0,6	40
>0,6	50

Los porcentajes de reducción fueron tomados de la comparación entre las magnitudes de los coeficientes de variación de la escorrentía anual y la desviación estándar de los caudales diarios alrededor de la media anual multianual. Este análisis mostró que la variabilidad de los caudales diarios es del doble de la variabilidad de la escorrentía promedio anual, lo que permite asegurar que los valores de C_v para caudales anuales sirven como

indicador de la variabilidad diaria. Se observó que a C_v mayores a 0.6 les corresponde una variabilidad diaria mayor al 100%, debido a que esta variabilidad arroja despliegues en ambos sentidos, hacia los máximos y hacia los mínimos, se aplicó un valor de reducción correspondiente a la mitad de la variabilidad total en caudales diarios. Para los C_v menores a 0.6 se asignaron reducciones siguiendo el mismo principio. La distribución espacial de C_v muestra que en el 70% del territorio colombiano este coeficiente alcanza valores entre 0.2 y 0.3, de modo que la reducción más frecuente por variabilidad de la oferta alcanza el 25% de acuerdo con la Tabla 1. Al 17% del territorio colombiano le correspondieron reducciones cercanas al 40%.

Definición de la demanda hídrica

Colombia no cuenta con un sistema de información continuo y homogéneo sobre el uso del agua en los distintos sectores productivos. Sin embargo una aproximación a la demanda hídrica se puede obtener a partir de los volúmenes de producción sectorial y de factores de consumo de agua por tipo de producto o servicio. En este escenario la demanda total D_t de agua es igual a:

$$D_t = D_{ud} + D_{ui} + D_{us} + D_{ua} + D_{up} \quad (6)$$

Donde:

D_{ud} : Demanda de agua para consumo doméstico;

D_{ui} : Demanda de agua para uso industrial;

D_{us} : Demanda de agua para el sector de servicios;

D_{ua} : Demanda de agua para uso agrícola;

D_{up} : Demanda para uso pecuario.

El cálculo de la demanda de agua para consumo doméstico D_{ud} - [m^3] se realiza utilizando la siguiente expresión:

$$D_{ud} = D_{pcu} \times n_{hu} + D_{pcr} \times n_{hr} \quad (7)$$

Donde: D_{pcu} - demanda per cápita urbana, n_{hu} - número de habitantes urbanos, D_{pcr} - demanda per cápita rural, n_{hr} - número de habitantes rurales.

La demanda de agua para uso industrial - [m^3] se calcula utilizando la siguiente expresión:

$$D_{ui} = \sum_{i=1}^n Vp_i \times Fc_{ji} \quad (8)$$

Donde: Vp_i , Fc_{ji} son el volumen de producción y factor de consumo de agua por tipo producción y n es el número de sectores industriales considerados (Lvovitch, 1986).

La demanda de agua para el sector de servicios " D_{us} " [m^3] se obtiene como

$$D_{us} = \sum_{i=1}^n N_i \times Fc_{si} \quad (9)$$

Donde: N_i y Fc_{si} representan el número de establecimientos por tipo de servicio y el factor de consumo por tipo de servicio. Aquí n representa el número de tipos de servicios tomados en cuenta.

Los requerimientos del uso agrícola " D_{ua} " [m^3] se establecen mediante la siguiente fórmula:

$$D_{ua} = \sum_{i=1}^n D_{ua}^i \quad (10)$$

$$D_{ua}^i = \left\{ \begin{array}{l} 0 \Rightarrow \text{Sí } [P - (ETP * kc_i)] \geq 0 \\ \text{abs}([P - (ETP * kc_i)] * ha_i) \Rightarrow \text{Sí } [P - (ETP * kc_i)] < 0 \end{array} \right\}$$

Aquí: D_{ua}^i - Demanda del i -ésimo cultivo, P - precipitación anual, ETP - "es la evapotranspiración potencial," kc_i es el factor de consumo del i -ésimo cultivo y ha_i el número de hectáreas cultivadas con el. Por último, n representa el número de cultivos considerados.

La demanda para uso pecuario D_{up} - [m^3] es:

$$D_{up} = \sum_{i=1}^n Vpa_i \times Fca_i \quad (11)$$

En (11) Vpa_i constituye el volumen de producción por tipo de animal industrial, Fca_i es el factor de consumo según tipo de animal y n representa el número de tipos considerados.

Métodos e información utilizados

Oferta hídrica

Para evaluar la oferta hídrica total y representarla en mapas de escorrentía modal y de diferente probabilidad de excedencia se utilizaron las series de caudales anuales de

las 775 estaciones hidrológicas que son operadas por el IDEAM en Colombia (véase figura 4). Para determinar R_{it} se construyó un mapa en isolíneas para el coeficiente de variación C_v de los caudales anuales. Para el cálculo de R_e fueron analizadas las series de caudales diarios con el fin de definir el caudal promedio para el periodo de estiaje de cada año en todas las series de caudales diarios disponibles.

Los registros de las estaciones del IDEAM fueron complementados mediante la metodología presentada en Martínez y Ruiz (1998) y Martínez (2001). De las 755 estaciones hidrométricas fueron escogidas aquellas con registro histórico continuo desde 1975 hasta 2004, garantizando la representatividad por regiones climáticas, hidrológicas y la resiliencia en el funcionamiento de las estaciones hidrométricas. Después de esta selección quedaron disponibles 467 estaciones hidrométricas. Las series de caudales anuales y de estiaje de estas estaciones se caracterizaron en términos probabilísticos con el fin de definir la oferta hídrica total en términos de probabilidad de excedencia. Para el ajuste de funciones de distribución probabilística se desarrolló un complemento de Microsoft Excel⁴ en Visual Basic para aplicaciones. Este programa realiza los cálculos necesarios para construir y analizar las series de caudales mínimos y medios anuales, de modo que automatiza el ajuste de funciones de distribución teóricas a las curvas empíricas de probabilidad de excedencia para caudales promedios anuales y promedios del periodo de estiaje. Este complemento estadístico utiliza el método del gradiente conjugado para optimizar el ajuste de las funciones de distribución probabilística teóricas a las curvas empíricas, como función objetivo aplica la minimización del error promedio absoluto entre coordenadas. Las funciones de distribución teóricas a ajustar se escogieron de la familia de curvas de Pearson tipo III. La bondad de ajuste de las curvas teórica y empírica se evaluó de tres formas: 1) análisis visual, 2) error absoluto promedio entre las coordenadas teóricas y empíricas y 3) mediante las pruebas estadísticas de Kolmogorov, Smirnov y Pearson (Bendat & Piersol 1986; Haan, 2002). En la validación del ajuste se exigió que además de una buena concordancia visual, el error promedio absoluto no superara el 20% y que cómo mínimo fuesen superadas dos de las pruebas estadísticas propuestas. En el 95% de los casos la función teórica que mejor ajustó fue la distribución γ de tres parámetros. El análisis de los errores de ajuste de las funciones de distribución muestra que en el 90% de los casos este fue menor

4 Para obtener una versión actualizada del programa y su manual del usuario contactar al autor: Efraín Domínguez en e.dominguez@javeriana.edu.co

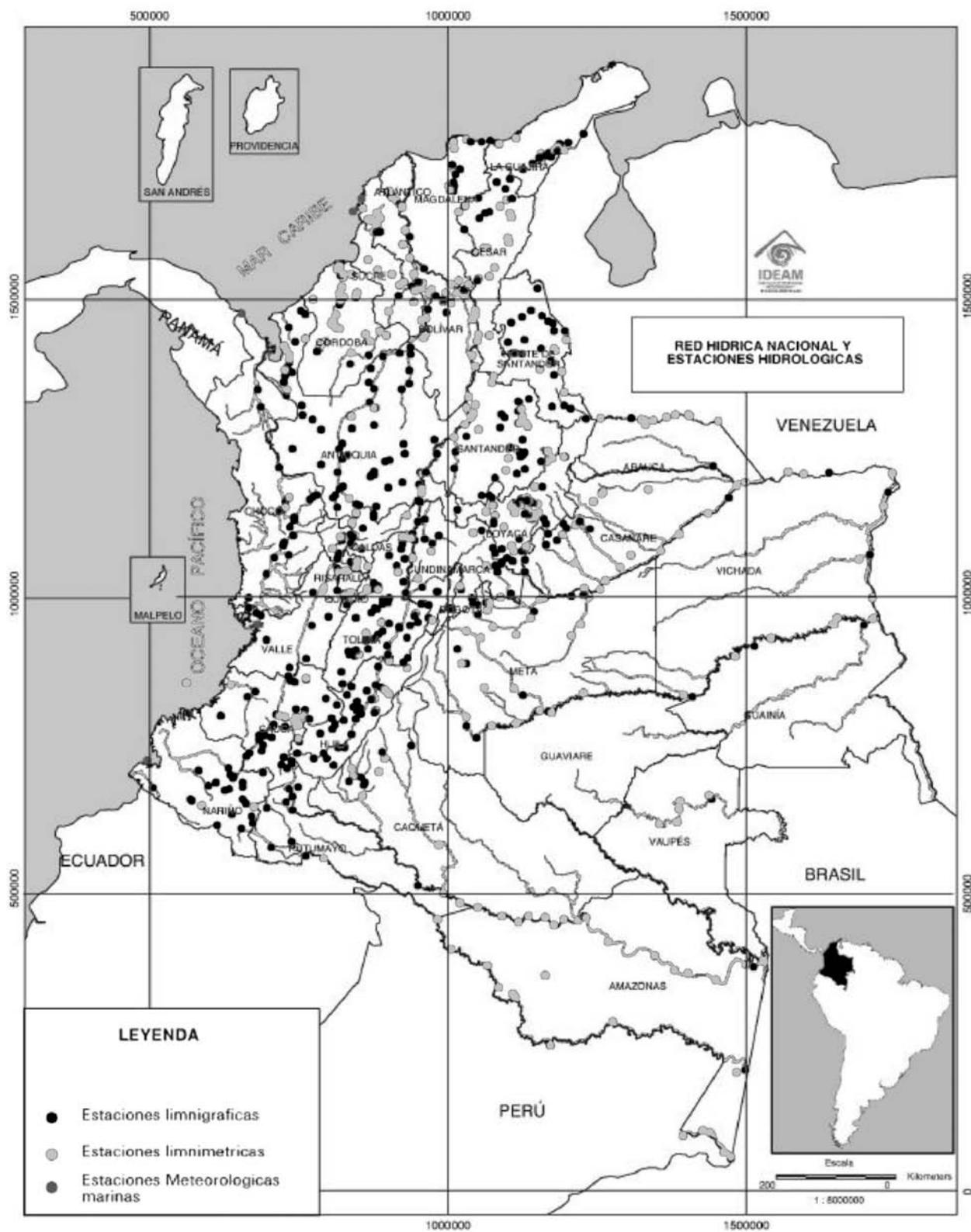


Figura 4. Red de monitoreo hidrológico (Fuente: <http://www.ideam.gov.co/series/mapa.htm#>)

al 17,5% y que menos del 5% de los ajustes se realizaron con errores superiores al 20% (véase figura 5).

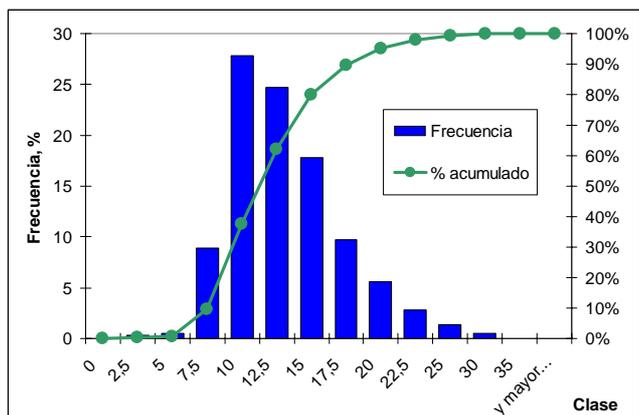


Figura 5. Análisis de errores en los ajustes funciones de distribución (caudales anuales)

Para la generalización espacial se aplicó el método de interpolación óptima. Como primer paso los estadísticos de caudales fueron expresados en términos de lámina de escorrentía anual y del periodo de estiaje (véase ecuaciones 12 y 13). Para realizar esta conversión fue necesario evaluar el área aferente a las 467 estaciones hidrológicas seleccionadas, esta delimitación se realizó en forma semiautomática analizando el modelo de elevación digital de Colombia, la cobertura de ríos y algunas delimitaciones preliminares realizadas en otros proyectos. Como técnica de interpolación se utilizó la técnica de interpolación óptima implementada en la Federación Rusa por los científicos **Drozdov** y **Shepeliovskiy** (1936, 1946) y perfeccionada por **Gandin** (1963, 1976). Las funciones estructurales y de correlación requeridas por esta técnica fueron estimadas para seis regiones hidrológicas de Colombia: Alto y Medio Magdalena, Cauca, Pacífico, Llanos orientales - Amazonía, Catatumbo y Caribe. Estas regiones definieron dominios de interpolación en los que se construyó una grilla de 10 Km. por 10 Km. de tamaño de celda.

$$Y_0 = \frac{Q_0 \times T}{A \times 10^3}; \quad (12)$$

$$Y_{97.5\%} = \frac{Q_{97.5\%} \times T}{A \times 10^3};$$

Y_0 : escorrentía superficial modal expresada en términos de lámina [mm];

$Y_{97.5\%}$: escorrentía superficial con probabilidad de excedencia del 97.5% expresada en términos de lámina [mm];

Q_0 : caudal modal de la serie de caudales anuales [m^3/s];

$Q_{97.5\%}$: caudal con probabilidad de excedencia del 97.5% de la serie de caudales anuales [m^3/s];

T : cantidad de segundos en el periodo de agregación de la oferta, anual en este caso [s];

A : área aferente al nodo de mediciones [km^2];

Los volúmenes de oferta anual modal (V_0) y de probabilidad de excedencia del 97,5% se definen como se muestra a continuación:

$$V_0 = A \times 10^3 \times Y_0;$$

$$V_{97.5\%} = A \times 10^3 \times Y_{97.5\%} . \quad (13)$$

Demanda potencial de agua

La información requerida por las ecuaciones (6) a la (11) para estimar la demanda potencial de agua en los distintos sectores fue obtenida de las siguientes fuentes:

Proyecciones de población del DANE para el año 2004 para cabeceras municipales y el área rural. El factor de consumo para la población fue estimado con base en la metodología del Reglamento Técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico RAS – 2000 Sección I Título A Capítulo A.3 y Sección II Título B Sistemas de Acueducto Capítulo B.2.

Para el segmento industrial se aplicaron los valores de volúmenes de producción de la encuesta anual manufacturera (**DANE**, 1999) incrementados por la tasa de crecimiento del PIB municipal. Los factores de consumo por tipo de producción se tomaron de (**UNESCO**, 1979). A partir de los flujos físicos de la producción, presentados en la encuesta anual manufacturera del DANE, se estimó para cada municipio, por código CIU a cuatro dígitos Revisión 2, el volumen de producción en toneladas, el cual se proyectó al año 2004 con base en el crecimiento de la industria manufacturera registrado en el Sistema de Cuentas Nacionales, publicado por el Banco de la República en su página Web. El valor obtenido se asoció con un factor de consumo de agua expresado en m^3 por tonelada producida, por tipo de producto⁵.

⁵ Los factores de consumo de agua por tipo de producto, son teóricos y se obtuvieron de revisión bibliográfica, algunos han sido actualizados con base en los reportes de indicadores de ecogestión que presenta el Centro de Empresarial Cecodes www.cecodes.org.co

Finalmente en el área de servicios fueron contemplados las estadísticas de aeropuertos, hospitales y centros educativos.

Discusión de resultados

Oferta hídrica en Colombia

En el territorio colombiano, cada año, en promedio, precipitan 3400 kms³ de agua, se evaporan 1100 kms³ y escurren 2300 kms³. Si se supone que un país es capaz de retener en sus dispositivos de abastecimiento el 40% de esta oferta (UN-Consejo Económico y Social, 1997), en efectivo Colombia contaría con 1150 kms³ al año de oferta hídrica superficial, aunque en realidad, la capacidad instalada en sistemas de abastecimiento y suministro de agua, aún no alcanza esta cifra. A su vez, la oferta modal de agua para el total del territorio colombiano alcanza la cifra de 1910 kms³ al año, mientras que en un año seco (véase figura 6) esta oferta no supera los 1240 kms³ al año. Al analizar la oferta hídrica neta por regiones se obtienen los resultados que se muestran en la Tabla 2.

Analizando el panorama de la oferta hídrica superficial neta es inevitable la conclusión sobre la abundancia de este recurso en Colombia. Para entender el problema del agua en Colombia es necesario establecer los niveles anuales de demanda potencial de agua, según los diferentes sectores y su distribución en el territorio nacional. Sólo esta correlación deja en evidencia el conflicto existente por la localización de las altas demandas de agua en territorios con una baja oferta hídrica natural. Para construir esta relación en el siguiente párrafo se discute la estructura por sectores y la distribución espacial de la demanda potencial de agua en Colombia.

Estructura de la demanda de agua en Colombia

Para las estimaciones proyectadas al año 2004, la demanda total de agua de los sectores socio-económicos al-

canzó los 13.000 millones de metros cúbicos de agua dulce al año. Estos requerimientos se distribuyen por sector según se presenta en la figura 7.

La estructura de demanda de agua en Colombia difiere de la estructura promedio de todos los países del mundo y de la de demanda de los países de altos ingresos. La demanda de agua en Colombia se diferencia de la de un país de alto ingresos en un receso de los requerimientos de agua para la industria que, en países industrializados constituye el 59% de toda la demanda. Adicionalmente, la estructura de demanda colombiana se caracteriza por grandes requerimientos de agua para el sector agrícola, los cuales sin embargo resultan inferiores en un 10% a la demanda agrícola promedio mundial y en un 22% con relación a la de un país de bajos a medios ingresos (UN/WWAP, 2003).

En la estructura de consumo del país, el departamento del Magdalena es el que más agua consume (véase figura 8) seguido por el Atlántico, Bolívar, Cundinamarca, Cesar, Sucre y el Distrito Capital. La demanda de agua del departamento del Magdalena es preponderantemente agrícola, alcanzando este sector el 93% de la demanda total de agua del Departamento (figura 9):

El patrón de mayor demanda hídrica por el sector agrícola se mantiene, con diferentes porcentajes, en los departamentos del Atlántico, Bolívar, Cundinamarca, Cesar y Sucre, siendo la excepción el Distrito Capital en cuya estructura el mayor aporte de demanda lo hace el sector doméstico (véase figura 10). Esta composición de la demanda de agua del Distrito Capital se puede explicar al considerar el hecho de que Bogotá ocupa el puesto número 31 en la clasificación de las ciudades más grandes del mundo del año 2000 (UN/WWAP, 2003). Esta clasificación registra 381 ciudades todas con un número de habitantes mayor al millón de personas.

Tabla 2. Oferta hídrica superficial por regiones.

Región	Oferta Neta [kms ³ por año]		
	Modal (oferta normal)	Con probabilidad de excedencia del 97,5% (año seco)	Promedio
Alto y medio Magdalena	140	80	150
Cauca	80	50	80
Pacífico	410	280	440
Caribe	70	40	80
Catatumbo	20	10	20
Llanos orientales y Amazonía	1190	780	1280

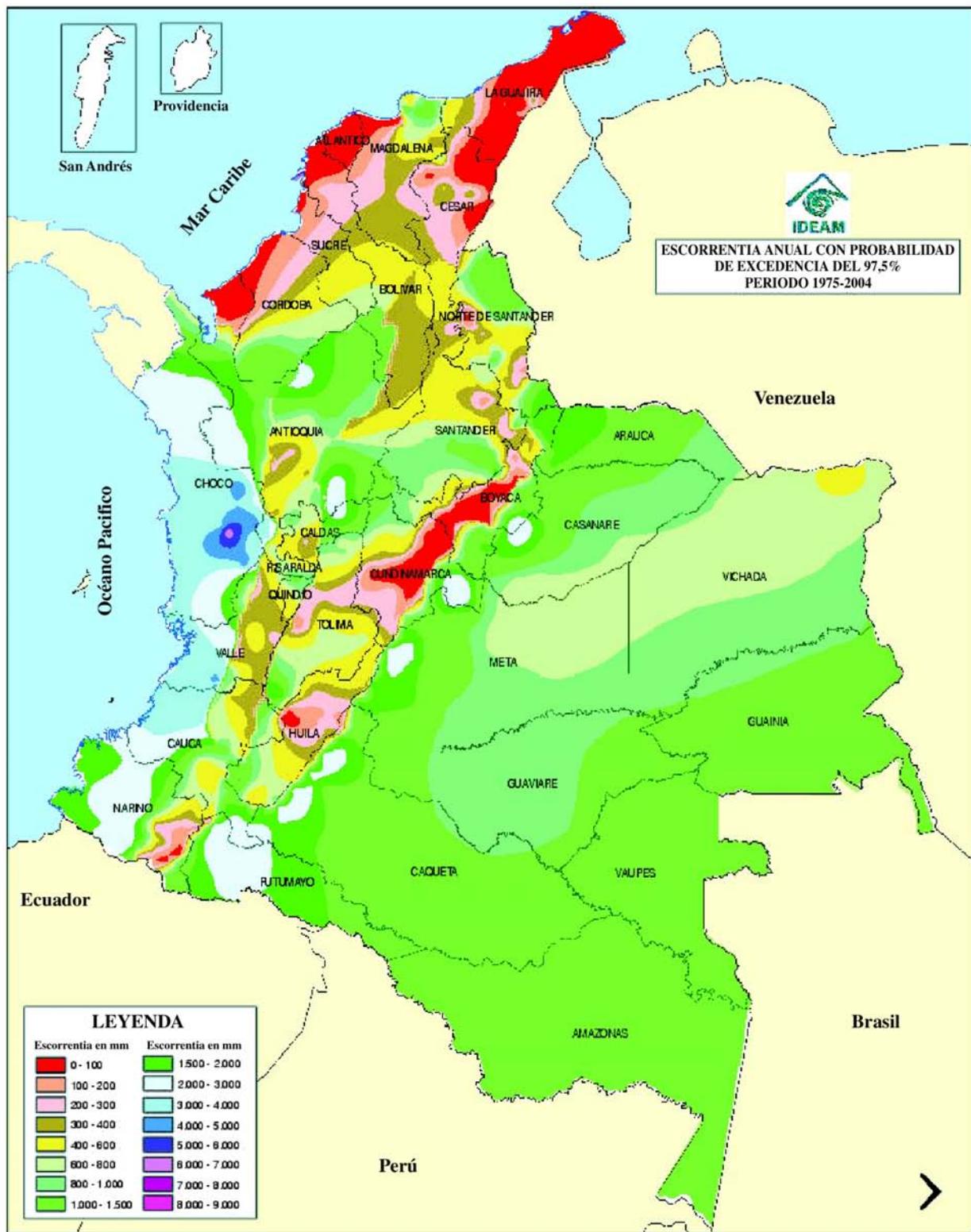


Figura 6. Escorrentía anual [mm/año] con probabilidad de excedencia del 97,5% (IDEAM, 2004).

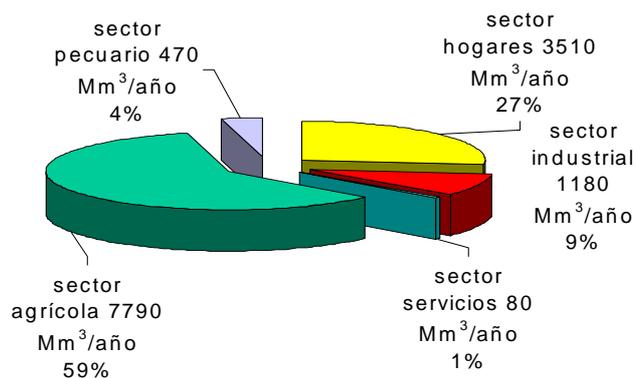


Figura 7. Estructura de la demanda de agua en Colombia

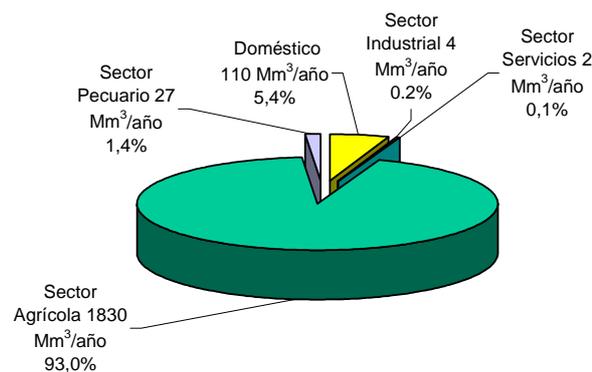


Figura 9. Estructura de demanda del departamento del Magdalena.

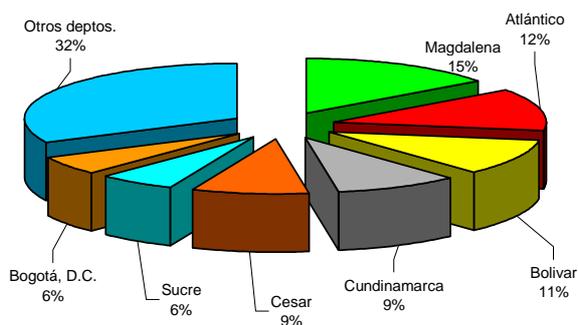


Figura 8. Demanda de agua en Colombia según departamentos.

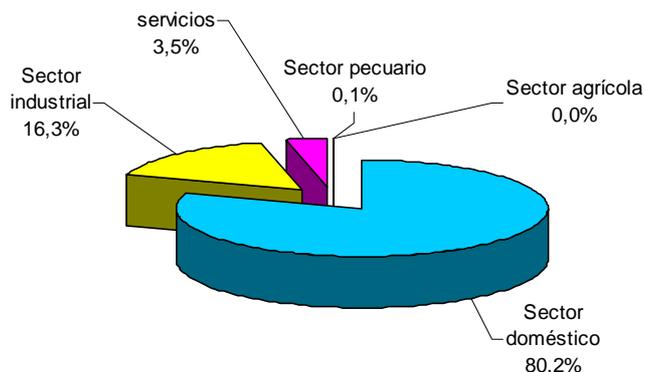


Figura 10. Estructura de demanda hídrica en el Distrito Capital.

Relaciones oferta-demanda de agua en Colombia

Uno de los principales factores de presión sobre los recursos hídricos de un país es el crecimiento poblacional. El mundo incrementa anualmente su población total en el equivalente al doble de la población colombiana actual. A la presión poblacional sobre el recurso hídrico se le adicionan las demandas agrícolas e industriales. Esta presión sobre el recurso hídrico tiene consecuencias adversas que se revierten a la sociedad que demanda el agua. Al crecer la demanda de agua aumentan los vertimientos de aguas residuales que impactan la calidad del recurso hídrico, en algunos casos induciendo la escasez de agua, no por disponibilidad de la misma sino por calidad inadecuada para el consumo humano o para su utilización en las actividades productivas.

Claros referentes del mencionado conflicto entre el uso del territorio y la disponibilidad hídrica de las distintas regiones quedan registradas en las relaciones demanda – oferta de agua, las cuales se evalúan para los escenarios

de niveles de oferta hídrica más probables (modales) y de año seco (de probabilidad de excedencia del 97,5%). Con el trasfondo de los mencionados escenarios el índice de escasez de agua superficial revela en Colombia las zonas con mayor presión sobre el recurso hídrico (véase figuras 11 y 12). De acuerdo con los escenarios presentados en estos mapas, en un año normal el 4% de la población colombiana es afectado por índices de escasez altos (la demanda supera el 50% de la oferta hídrica superficial), el 7% medio altos (entre el 20 y el 50%) y el 30% medios (del 10 al 20%). Por otro lado en un año seco el porcentaje de población afectado por un índice de escasez alto es del 23% (véase figuras 13 y 14).

Proyección del índice de escasez de agua para el año 2025

Estimar el crecimiento y comportamiento de los sectores económicos a largo plazo es muy riesgoso, por cuanto está sujeto a variables cuyo comportamiento es muy incierto en el tiempo. Aun más arriesgado es predecir el

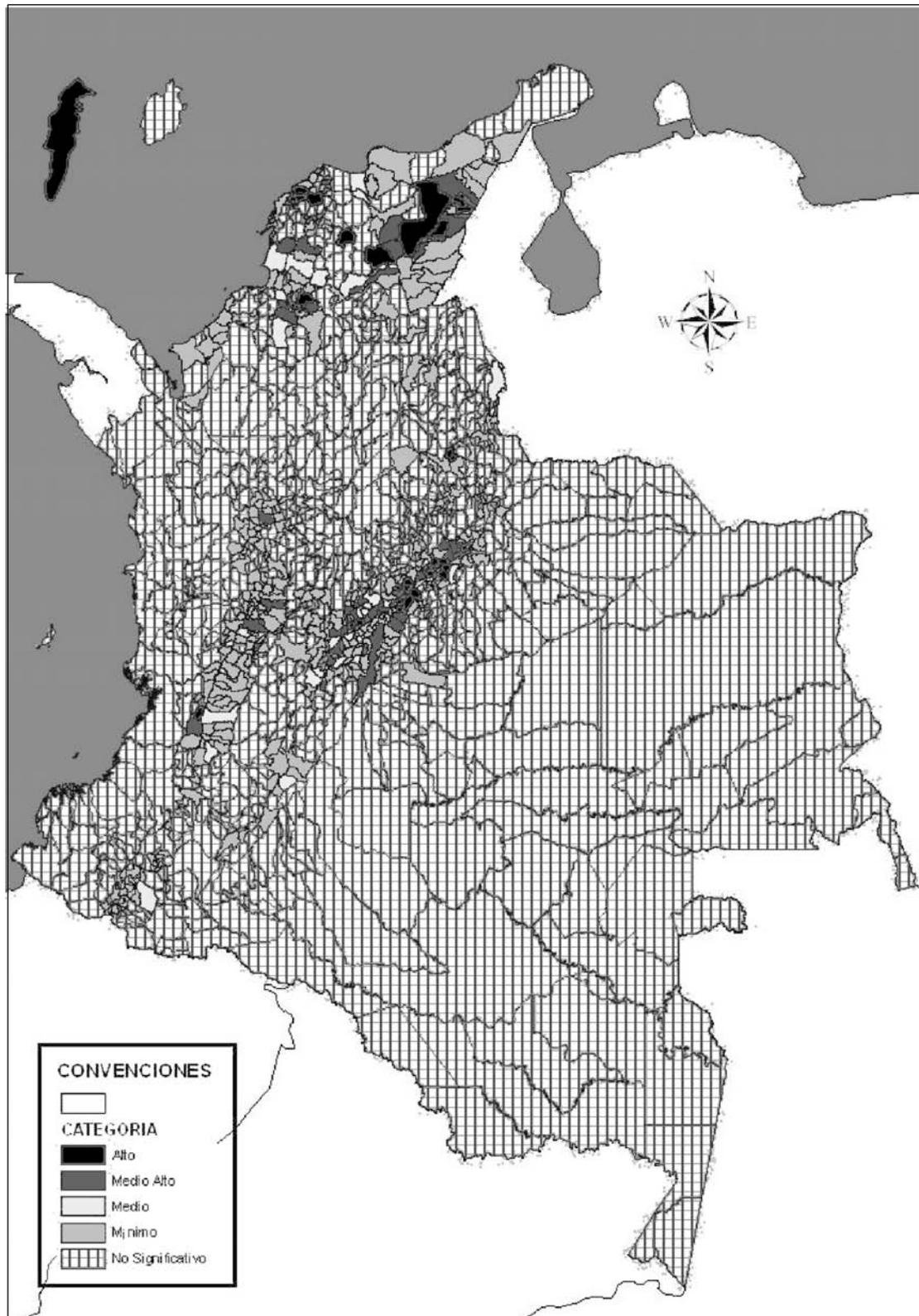


Figura 11. Índice de Escasez de Agua para un año de humedad normal (modal).

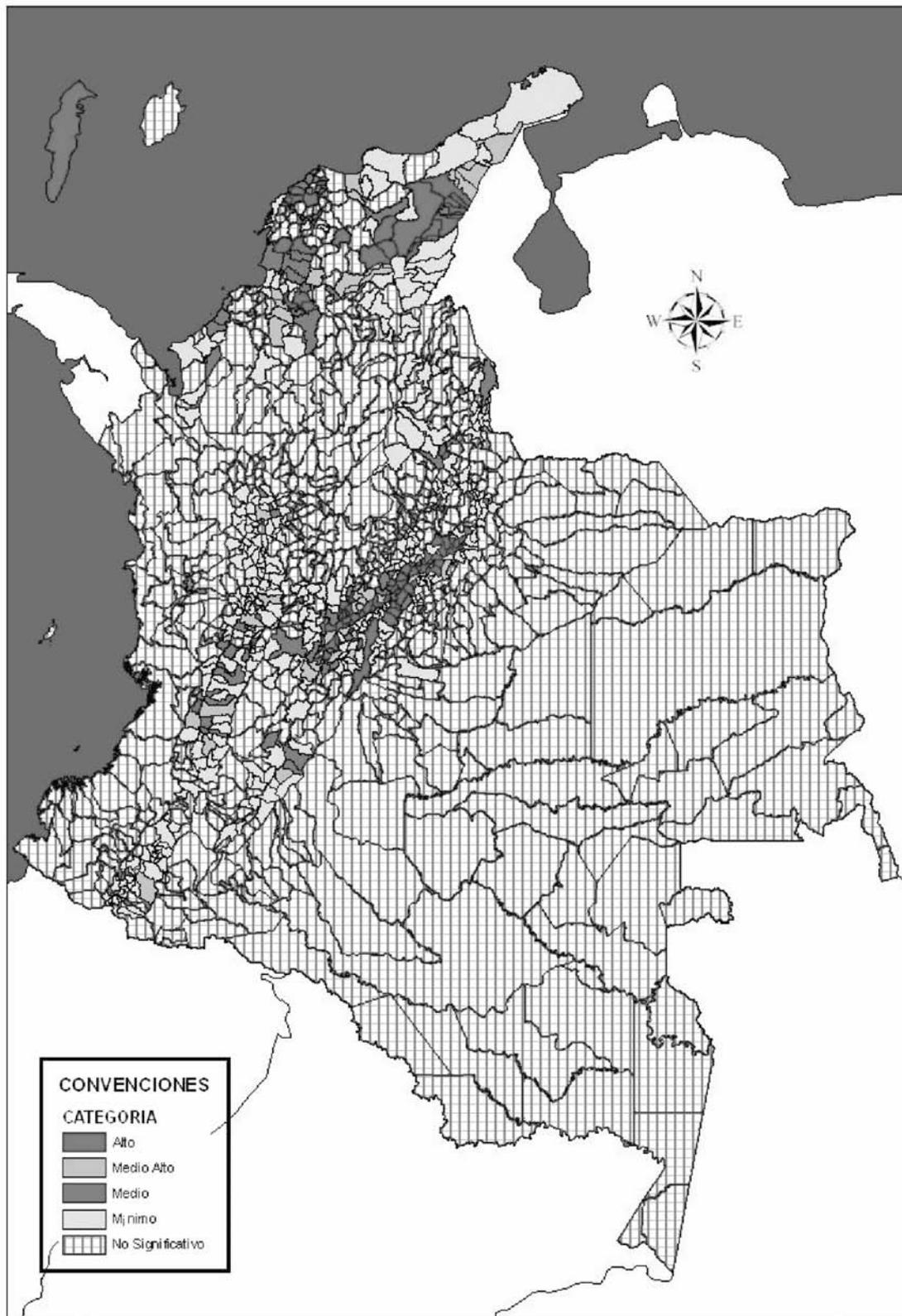


Figura 12. Índice de Escasez de Agua para un año seco (con probabilidad de excedencia del 97,5%).

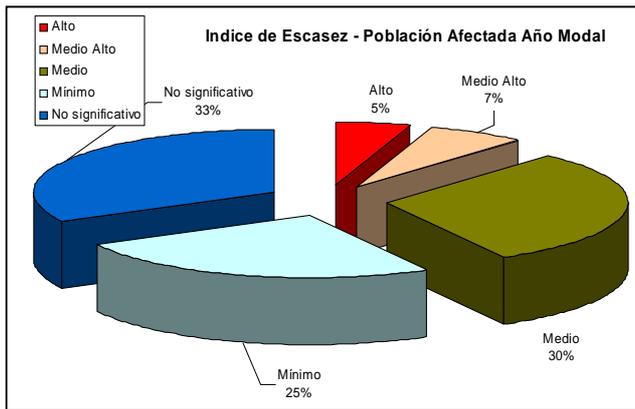


Figura 13. Distribución de la población según índice de escasez en un año normal.

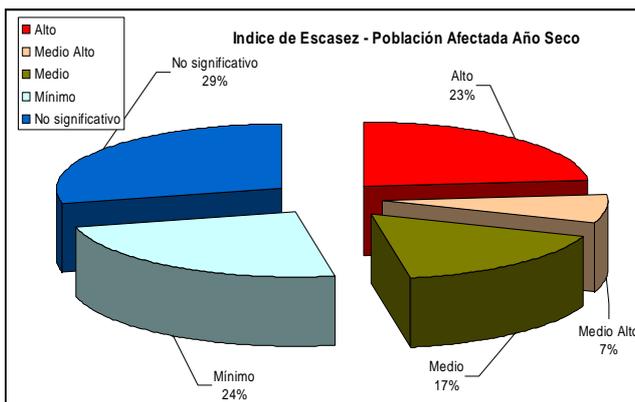


Figura 14. Distribución de la población según índice de escasez en un año seco.

desarrollo tecnológico que vendrá al país en los próximos diez o veinte años y que afectará el nivel de uso de los distintos insumos necesarios para los procesos productivos y para el consumo de agua de los diversos sectores que hacen parte de la economía nacional. Sin embargo, es preciso hacer una estimación así sea muy gruesa, de la demanda del recurso agua por parte de los grandes sectores económicos, pues siendo un recurso natural vital para el desarrollo del país, las instituciones encargadas de hacer prospectiva del desarrollo y bienestar de la población colombiana requieren tener unos elementos mínimos de comportamiento del recurso agua en los próximos veinte años.

Utilizando la información de demanda de agua del año 2004 como punto de partida, se estimó la demanda para el año 2025 teniendo en cuenta el crecimiento estimado de los sectores Agropecuario e Industrial, Consumo final de

Hogares y del sector Servicios, realizado dentro del estudio “Colombia en los próximos veinte años. El país que queremos”, elaborado por el Departamento Nacional de Planeación (Hommes R. Umaña C., 2005). De acuerdo con estos escenarios, manteniendo las conductas de producción actuales y suponiendo que la oferta hídrica superficial se mantiene en el nivel ofrecido por el régimen hidrológico existente se obtuvieron las siguientes proyecciones sobre el índice de escasez (véase figuras 15 y 16):

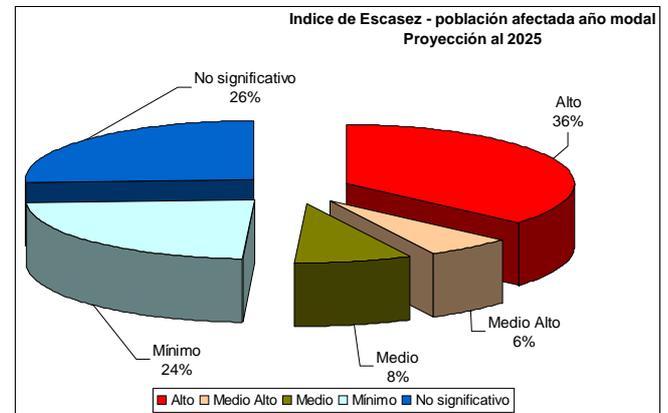


Figura 15. Proyección del índice de escasez para un año normal al 2025.

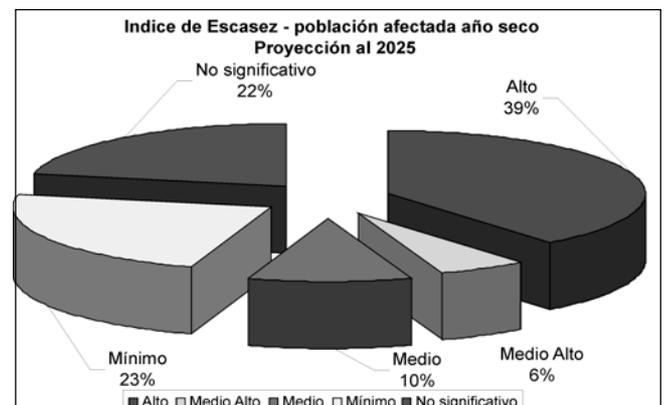


Figura 16. Proyección del índice de escasez para un año seco al 2025.

Conclusiones

Las relaciones demanda-oferta de agua para los sectores socioeconómicos de Colombia constituyen un indicador del estado del recurso hídrico en el país. Su expresión mediante el índice de escasez de agua permite vislumbrar un panorama en el que las magnitudes de demanda y de

oferta máximas no coinciden en el espacio, ocasionando conflicto y altos niveles de presión sobre el recurso hídrico. Esta situación, que refleja un uso inapropiado del territorio, es el resultado de una planeación con mecanismos inapropiados de asignación del agua, que en muchos casos, gracias a la ausencia de sistemas de seguimiento del estado del recurso hídrico amplifica la presión sobre el recurso hídrico dada la ausencia de elementos técnicos para la toma de decisiones en sectores de alta demanda hídrica.

La solución ante tal contexto consiste en el fortalecimiento de la gestión integral del recurso hídrico, especialmente en las estrategias no sólo de protección de la oferta hídrica existente, de la expansión de las redes hidrométricas y de otros mecanismos de seguimiento del recurso, sino también de reducción de la demanda de agua. La conclusión anterior es una invitación al fortalecimiento de los programas de ahorro y uso eficiente del agua y a la intensificación de los mecanismos limpios de producción. En este sentido es interesante observar y seguir de cerca la experiencia del sector hidrológico alemán que ha logrado significativas reducciones de la demanda de agua sobre fuentes alejadas aprovechando en forma creciente el agua de lluvia para sustituir el agua potable en retretes, lavamanos y riego de jardines (**Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Umwelt Bundes Amt für Mensch und Umwelt, 2001**).

En algunos lugares del país, de continuar la tendencia actual de presión sobre el recurso, será de obligación forzada la introducción de medidas estructurales para mitigar el estado de alta presión en que se encuentran las corrientes superficiales. A su vez, como estrategia de desarrollo sostenible, se recomienda a los municipios asociarse a fuentes seguras, mediante la implementación de acueductos regionales que presenten una buena relación costo beneficio. En el sector agrícola es necesario implementar programas de innovación tecnológica con el fin de reducir los altos niveles de pérdida de agua en este sector de gran demanda hídrica. Adicionalmente deben desarrollarse estrategias para la reducción de las cargas nutrientes aportadas por este sector, las cuales finalmente afectan a los cuerpos de agua superficiales y subterráneos.

Aunque puede parecer que el índice de escasez es un indicador muy exigente al generar alarmas a partir del momento en que la demanda alcanza el 20% de la oferta neta, es importante tener presente que se están usando los umbrales recomendados por el Programa Hidrológico Internacional de la UNESCO (**Shiklomanov, 1998**). Estos umbrales deben ser conservadores ya que deben tener en

cuenta las deficiencias del indicador como: a) la dificultad de considerar adecuadamente todos los factores que reducen la oferta total al estimar la oferta neta (ej. la calidad del agua y las necesidades ecológicas por encima de los caudales mínimos históricos); y b) la incertidumbre asociada a la escala de la información disponible (pocas veces se tiene información primaria a escala local forzando el uso de estimadores de la oferta y la demanda). Finalmente, al incrementar la intensidad de uso del agua de las corrientes superficiales se provoca un aumento en las tasas de vertimientos de aguas negras o grises a las mismas y por ende de los niveles de presión por contaminantes. Esto obliga a tener umbrales críticos por demanda más conservadores con el fin de evitar reacciones tardías no sólo ante limitaciones en cantidad sino también por restricciones en calidad.

Bibliografía

- Bendat J.S., Piersol A.G.** 1986. Random data analysis and measurements procedures. 540 p. John Wiley & Sons, New York.
- Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Umwelt Bundes Amt für Mensch und Umwelt,** 2001. El sector hidrológico en Alemania. Métodos y experiencias. Berlin, 150 p.
- Drozdov O.A.** 1936. Método de construcción de redes meteorológicas en regiones planas, Trabajos del GGO edición 12 (3).
- Drozdov O.A., Shepeliovskiy A.A.** 1946. Teoría de la interpolación de un campo estocástico y su utilización en mapas meteorológicos y racionalización de la red, Trabajos del NIU – GUGMS, serie 1, vol. 13.
- Falkenmark, M.** 1999. Forward to the future: a conceptual framework for water Dependence (Volvo environment prize lecture 1998), en *AMBIO a journal of the human environment*, Royal Swedish Academy of Sciences, **XXVIII**(4): 356-361.
- Gardner-Outlaw, T., Engelman, R.** 1997. Sustainig water, easing scarcity: a second update. Population Action International. Fuente en Internet: www.populationaction.org. 20 p. Revisado el 06 de junio de 2005.
- Gandin L. S.** 1963. Análisis objetivo de campos meteorológicos, Guidrometeoizdat, Leningrado, 287 p.
- Gandin L. S.** 1976. Análisis tetradimensional de campos meteorológicos, Guidrometeoizdat, Leningrado, 61 p.
- Haan, T.C.** 2002. Statistical methods in hydrology. 378 p. Iowa state press, Iowa.
- Hombres R. Umaña C.** 2005. *Colombia en los próximos veinte años. El país que queremos / Archivos de Economía*, Dirección de Estudios Económicos, Documento 280, 36 p.
- IDEAM,** 1998. Estudio Nacional del Agua. IDEAM. Bogotá D.C., 253 p.
- IDEAM,** 2004. Informe anual sobre el estado del medio ambiente en Colombia, Imprenta Nacional de Colombia, Bogotá, 256 p.

- Korzun, V.I., Sokolov, A.A., Budyko, M.I., Voskresensky, K.P., Kalinin, G.P., Konoplyantsev, A.A., Korotkevich, E.S. & L'vovitch, M. I., eds.** 1978. Atlas of world water balance. USSR National Committee for the International Hydrological Decade. English translation. Paris, UNESCO. 663 pp.
- L'vovitch, M. I.** 1970. World water balance (General Report). Symposium on the world water balance. Wallingford, International Association of Hydrological Sciences, Pub. No 93, Vol. II, pp. 401-415.
- L'vovitch, M.I.** 1986. Water and life. Moscow, Mysl.
- Martínez, L.F.** 2001. Control Estadístico de Calidad, Información Hidrológica Nivel Mensual. Automatización SPSS y DEMETRA. Investigación desarrollada para el IDEAM, Subdirección de Hidrología.
- Martínez, L.F. y Ruiz L.F.** 1998. Metodología para la estimación de datos faltantes en series temporales diarias, Investigación desarrollada para el IDEAM, Subdirección de Hidrología.
- Shiklomanov I.A.** 1998. World water resources a new appraisal and assessment for the 21st century. A summary of the monograph World Water Resources prepared in the framework of the International Hydrological Program, UNESCO, Paris, 40 p.
- UNESCO,** 1979. Balance hídrico mundial y recursos hidráulicos de la tierra / Estudios e informes sobre hidrología 25, 821 p, Madrid.
- UNESCO,** 2005. World Water assessment program, revisado el 01 de octubre de 2005, http://www.unesco.org/water/wwap/index_es.shtml.
- UN-Consejo Económico y Social,** 1997: Evaluación general de los recursos de agua dulce del mundo. Informe del Secretario General, Nueva York, 55 p.
- UN/WWAP (United Nations/World Water Assessment Programme).** 2003. UN World Water Development Report: Water for People, Water for Life. Paris, New York and Oxford, UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization) and Berghahn Books.

Recibido: 11 de abril de 2007

Aceptado para su publicación: 13 de junio de 2008

NANOMATERIALES: ¿QUO VADIS? UNA AGENDA PROSPECTIVA PARA EL CENTRO DE EXCELENCIA DE NUEVOS MATERIALES –CENM–

Por

Alfonso Reyes Alvarado¹, Gustavo Pedraza Camargo², Pedro Prieto³

Resumen

Reyes Alvarado, A., G. Pedraza Camargo, P. Prieto: Nanomateriales: ¿quo vadis? una agenda prospectiva para el centro de excelencia de nuevos materiales –CENM– Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 213-233, 2008. ISSN 0370-3908.

Por sus propiedades particulares, y potencial aplicabilidad, los nanomateriales han sido objeto de estudio en los laboratorios desde hace más de dos décadas. Para comprender cómo llegó la investigación en estos materiales artificiales a generar una de las industrias de mayor crecimiento en el mundo, se presenta una retrospectiva de su desarrollo histórico. Posteriormente se presenta una descripción breve del impacto actual, de estos materiales, en la investigación, la innovación y la tecnología. Lo anterior se describe en término de publicaciones, patentes, recursos invertidos en su desarrollo, y empresas creadas en torno a su producción. Dado el poco conocimiento que se tiene sobre los efectos de estos materiales sobre los seres vivos, son muchas las legislaciones que también han debido adaptarse a estas nuevas tecnologías, las cuales realizan un control ético y de seguridad sobre la manipulación y fabricación de nanotecnología. Se presenta un futuro cercano en el desarrollo de la nanotecnología con base en los factores de cambio identificados por la Fundación de la Innovación Bankinter. Finalmente se presentan las líneas estratégicas a través de una agenda prospectiva desarrollada desde la academia con proyección a la industria nacional, planteada por el CENM con base en estos factores de cambio que podrían delinear el desarrollo de la nanotecnología a futuro en Colombia.

Palabras clave: nanomateriales, prospectiva tecnológica, centros de excelencia.

1 Universidad de los Andes. Correo electrónico: areyes@uniandes.edu.co

2 Universidad de Ibagué. Correo electrónico: gpedrazacamargo@yahoo.com

3 Universidad del Valle. Correo electrónico: directorcenm@calima.univalle.edu.co

Abstract

Due to its particular properties and potential many applications, nanomaterials have been a target for research during the last two decades. In order to understand the industrial impact of the research in nanomaterials, we present a brief historical accounting of its development. Then we show its current impact in research, innovation and technology. In order to show this impact we use as variables the number of publications, patents, the amount of investment (public and private) and the number of companies, labs and research institutions that have been created during the last decades. Because of the loosely understanding we still have about their impact on living beings and the environment, governments in many countries have decided to adapt current legislation to deal with issues of health, security and ethics during its fabrication and commercialization. We also show a possible future scenario on the development of nanotechnology based of a recent workshop run by the Fundación de la Innovación, Bankinter in Spain. Finally, we show a prospective agenda for CENM in which the main strategic lines are delineated taking into account these trends in research and the industry. These strategic lines could be used to guide the development of nanotechnology in Colombia in the near future.

Key words: nanomaterials, technological foresight, center of excellence.

Nanotecnología: la realización de un sueño

La nanotecnología es un tema que ha sido ampliamente divulgado en todas las áreas del conocimiento humano (**Fundación de la Innovación Bankinter, 2006**). Hoy en día cualquier persona ajena del ambiente científico ha escuchado mencionar el término y seguramente lo asocia con ambientes futuristas conformados por artefactos que solo eran citados en textos de ciencia ficción. Textos que anticipaban mundos imaginarios en los que el hombre tendría el poder de manipular la materia para dar solución a problemas de gran envergadura como los relacionados con el deterioro del medio ambiente. Futuros en donde se construirían diminutos robots (nanobots) que fueran capaces de navegar por nuestra corriente sanguínea y reparar tejidos orgánicos para prolongar nuestra vida. Estas visiones eran los puntos centrales de escritores visionarios que anticipaban tiempos de prosperidad y una civilización altamente tecnificada. La ciencia actual, sin embargo, orienta sus esfuerzos hacia nuevos tecno-horizontes que sobrepasan las expectativas literarias.

La nanotecnología, más que un mero progreso en el ilimitado campo de la tecnología, representa el proceso de nacimiento de una nueva «era». Como un primer paso para entender la amplitud de la importancia de la nanotecnología y los nanomateriales, es fundamental definir apropiadamente este término, acuñado hace unos decenios, y que hoy enmarca nuestro desarrollo futuro. Se define la nanotecnología como el desarrollo y la aplicación práctica de estructuras y sistemas en una escala nanométrica, es decir, entre 1 y 100 nanómetros, siendo un nanómetro la millonésima parte de un milímetro (**Mansoori, 2005**). En

otras palabras, se está hablando de objetos cuyo tamaño es cien mil veces más pequeño que el diámetro del cabello humano.

Para hacerse a una idea práctica de esta escala de medida, la siguiente secuencia puede ser de utilidad. El tamaño aproximado de una hormiga, por ejemplo, es de 5 milímetros; el de la cabeza de un alfiler, entre uno y dos milímetros; el cabello humano puede tener de 10 a 50 micrómetros de ancho; las células de la sangre pueden medir de 2 a 5 micrómetros; el DNA mide unos 2,5 nanómetros y los nanotubos de carbón tienen un diámetro de 2 nanómetros.

La importancia del tamaño radica en que en la escala nanométrica las propiedades ópticas (coloración, absorción ultravioleta, luminiscencia y emisión), mecánicas (ultra-endurecimiento, anti-oxidación y anti-wear), térmicas (intercambio de calor, punto de fusión y resistencia térmica), eléctricas (conductividad y aislamiento), magnéticas y químicas de los materiales cambian al cambiar el tamaño (**Park Cirlin, 2004**).

Por ejemplo, el color de un objeto en esta escala varía dependiendo del tamaño de las partículas que lo componen. Si el ancho es de 5 nanómetros se verá de color plata, si se incrementa su ancho a 44 nanómetros su color cambiará a violeta y si se incrementa a 122 nanómetros se observará de color rojo. De hecho, el color rojo que se observa en los vitrales que se utilizaron para adornar las iglesias cristianas en Europa se debe a partículas de oro de escala nanométrica depositadas en el vidrio.

La variación de estas propiedades al modificar el tamaño de los componentes de un objeto permite construir una gran variedad de materiales que no existen de manera natural. Este es el principio que dio origen a los llamados nanomateriales. Hoy en día se comercializan varios cientos de estos productos como las baterías de litio, los nanocables para electrónica, los nanomedicamentos, la tecnología de las pantallas planas, algunos productos cosméticos, etc.

La fortaleza de la nanotecnología como práctica científica radica en que constituye un ensamblaje interdisciplinario de varios campos de las ciencias naturales que están altamente especializados. Por ejemplo los físicos juegan un importante rol ya que no sólo utilizan, arman e interpretan teorías, sino que diseñan y construyen dispositivos como microscopios de tunelamiento o de fuerza atómica, mediante los cuales pueden observar la estructura atómica y las propiedades físicas de los materiales. Por otro lado, alcanzar la estructura del material deseado y las configuraciones atómicas a nivel nanométrico es el papel que comparten los químicos junto con los físicos, los matemáticos y los ingenieros. En medicina, el desarrollo específico dirigido a nanopartículas promete ayudar al tratamiento de ciertas enfermedades. Aquí la ciencia ha alcanzado un punto en el que las fronteras que separan las diferentes disciplinas han empezado a diluirse. Por esta razón, la nanotecnología se considera como una ciencia convergente que permite la integración de la química, la bioquímica, la biología molecular, la física, la electrónica y la informática.

La nanotecnología corresponde al siguiente paso en la evolución tecnológica, una nueva era con imponentes cambios que transformarán la sociedad. Un sueño que se aproxima cada vez más a la realidad. Pero, ¿cómo se desarrolló la capacidad para manipular la materia a esta escala? La siguiente reseña (Fundación de Innovación Bankinter (2006)) sintetiza los principales eventos que determinaron su nacimiento y desarrollo inicial.

- Hacia el año 400 a.C. los griegos acuñan los términos de *elemento* y *átomo* para referirse a los componentes más pequeños constitutivos de la materia. La intuición de Demócrito de un mundo no continuo que está compuesto de partículas elementales de tamaño finito, puede considerarse como la referencia conceptual más antigua en este campo.
- Pasaron dos mil trescientos años para que Richard Feynman, seis años después de recibir el premio Nóbel de física, desarrollara las consecuencias de esta intuición en su célebre charla inaugural del congreso anual

de la Sociedad Americana de Física, el 29 de diciembre de 1959. Con el sugestivo título de “There’s Plenty of Room at the Bottom”, Feynman hizo una invitación a observar la infinidad de posibilidades que se abrirían para la elaboración de nuevos materiales si existiesen las herramientas necesarias para manipular, átomo a átomo, los componentes de la materia (Feynman, 1959).

- En 1966 aparece la película “Un viaje fantástico”, en donde se cuenta la travesía de un grupo de científicos que han sido miniaturizados para navegar por el torrente sanguíneo de una persona que tiene un tumor, llegar a este y destruirlo. Por primera vez se considera como posible esta forma de tratar una enfermedad, algo que hoy en día, cuarenta años después, es una de las principales aplicaciones de la nanotecnología.
- El término nanotecnología aparece unos años después, en 1974, cuando Norio Taniguchi lo acuña como una necesidad para diferenciar fenómenos que ocurren entre la nanoescala y la microescala con 1000 unidades de diferencia.
- En 1981 se inventa el microscopio de efecto túnel que permite observar una molécula al nivel atómico. Heinrich Rohrer y Gerd Kart Binnig, investigadores de IBM, recibieron el premio Nóbel de física en 1986 por este trabajo, casi treinta años después de la conferencia de Feynman.
- El primer artículo científico sobre nanotecnología, en donde se sugiere la posibilidad de fabricar máquinas complejas a esta escala, lo publica el doctor K. Eric Drexler con el sugestivo título de “Protein Design as a Pathway to Molecular Manufacturing”, en 1981.
- Cuatro años después ocurre un nuevo hito, se descubre la estructura de los fullerenos o buckyballs. Los fullerenos son una forma muy particular de la molécula del carbono diferente a la estructura del diamante y del grafito (figura 1). Esta forma permite su uso para lubricar superficies o como vehículo de entrega de

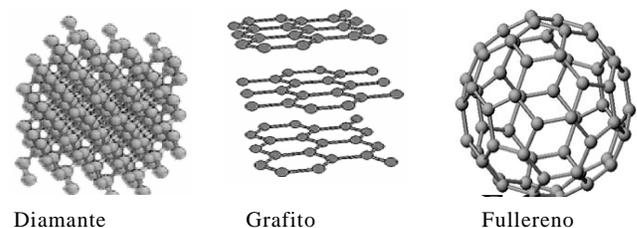


Figura 1. Variaciones de la estructura de moléculas de carbono.

medicamentos que son colocados en su interior.

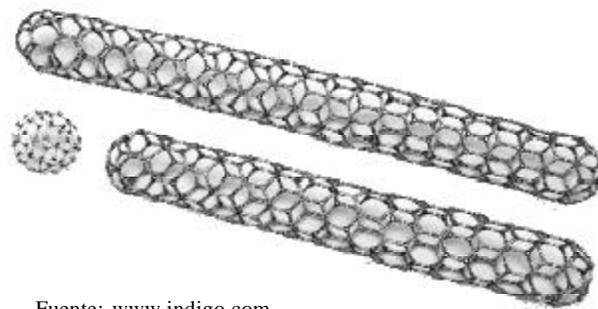
- El nombre fullerenos es un homenaje al trabajo del arquitecto norteamericano Buckminster Fuller quien dedicó gran parte de su vida al diseño de estructuras estables basadas en fuerzas de tensión. Sus más celebres construcciones son los famosos domos geodésicos. La foto de la figura 2 es uno de estos domos construido en Québec, Canadá. Puede apreciarse la similitud con la estructura de los fullerenos. En uno de



Figura 2. Estructura de uno de los domos geodésicos diseñados por Bukminster Fuller.

sus libros más conocidos Fuller (1979) predijo la existencia de estas estructuras a nivel molecular.

- En 1986 se construyó el primer microscopio de fuerza atómica que permitió manipular átomos uno a uno mediante el contacto entre el sensor y el átomo. Este nuevo instrumento permitió que tres años después científicos de IBM, con una variación del microscopio de efecto túnel, lograran deletrear el nombre de la compañía usando 35 átomos de xenón.
- El siguiente descubrimiento importante en la evolución de la nanotecnología fue el de los nanotubos de carbón que realizó Sumo Lijita (1991) en los laboratorios de NEC en Japón (ver figura 3). Estos nanotubos son las fibras más fuertes que se conocen hoy en día, su resistencia puede ser hasta 100 veces mayor que la del acero por unidad de peso. Son materiales de gran flexibilidad, con una conductividad superior, químicamente inertes, tienen propiedades intermedias de semiconductores y de metales, y una superconductividad intrínseca. Es tan promisorio su empleo que tan solo en los Estados Unidos existen más de veinte compañías dedicadas a su producción industrial.



Fuente: www.indigo.com

Figura 3. Nanotubos de carbón

- A partir de estas estructuras el equipo del Weizmann Institute of Science en Israel desarrolló en 1993 las primeras nanoestructuras que exhibían propiedades sorprendentes despertando, de esta manera, el interés mundial por el empleo de los nanotubos de carbón como base para la construcción de nuevos materiales. Cinco años después el equipo de investigación de Cees Dekker, de la Universidad Tecnológica de Delft en Holanda, construyó el primer transistor usando un nanotubo de carbón.
- En 1999 James Tour, en la Universidad de Rice, y Mark Reed, en la Universidad de Yale, elaboraron un interruptor molecular mostrando que los aparatos informáticos a escala nano podían construirse a partir de una sola molécula. En este mismo campo, y tres años atrás, George Whitesides había construido algunos circuitos integrados para computadores de 30 nanómetros de ancho. Estos circuitos podían operar a la increíble velocidad de un teraflop, es decir, cuatro mil veces más rápido que los computadores personales de la época.
- En el cambio del milenio, el mayor impulso al desarrollo de la nanotecnología provino del discurso que el presidente Clinton pronunció ante el congreso norteamericano, en donde reconoció este campo como el más promisorio para el desarrollo de la industria estadounidense de la siguiente década. Al lanzar la National Nanotechnology Initiative, Clinton solicitó un presupuesto de tres billones de dólares para apalancarla.
- El mismo año en que el programa gubernamental despegaba, Don Eigler y sus colegas en IBM crean el primer “corral cuántico” que permite pasar a la escala nanométrica el desarrollo de la computación. La figura 4 ilustra este cambio de escala en este dominio. En efecto, mientras que en 1947 los primeros transistores desarrollados en los laboratorios Bell tenían un tama-

ño del orden de milímetros; hoy en día Intel produce circuitos integrados del orden del micrómetro. En el futuro cercano, como lo muestra el trabajo de IBM, estos circuitos estarían en el orden del nanómetro (ver figura 4). A este desarrollo se unieron, al año siguiente, varios otros: la primera puerta lógica conformada por una sola molécula desarrollada por Phaedon Avouris de IBM; la construcción de un transistor con un nanotubo de carbón que podía encenderse y apagarse con un solo electrón; la fabricación del diodo emisor de luz (LED) más pequeño que existe a partir del uso de nanocables; y una tarjeta de memoria desarrollada por investigadores de IBM en Zurich con una capacidad de un terabit/pulgada.

Al año siguiente de la iniciativa norteamericana lanzada por el presidente Clinton, la Unión Europea responde declarando la nanotecnología como un área estratégica para el desarrollo de la región y asigna un presupuesto de 1300 millones de euros para adelantar investigación en este campo durante los siguientes cinco años. Al mismo tiempo Japón, Taiwán, Singapur, China, Israel y Suiza lanzan programas similares, dando comienzo a la carrera tecnológica más importante del nuevo siglo.

De la nano-infancia a la nano-adolescencia: de 1980 a 2005

Una mirada prospectiva debe partir por comprender la génesis del fenómeno que se estudia. La sección anterior se concentró precisamente en este punto. En esta sección,

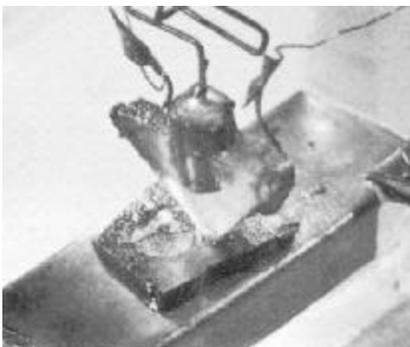
por otra parte, se describe el estado en que se encuentra el desarrollo actual de la nanotecnología.

La nanotecnología como un sistema productivo

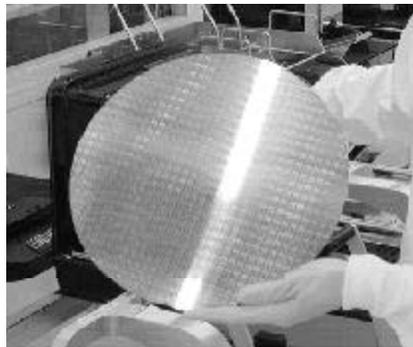
Como toda tecnología, la investigación a escala nanométrica busca la producción de bienes o servicios que puedan aportar en la solución de problemas específicos o al avance de otras áreas del conocimiento. Es posible, por lo tanto, identificar una cadena de valor que tradicionalmente parte de las actividades de investigación científica y termina con el ofrecimiento a la sociedad de estos bienes o servicios tecnológicos⁴.

A lo largo de esta cadena de valor se requiere la intervención de cuatro agentes: la universidad, la empresa, la sociedad y el gobierno. El desarrollo nanotecnológico, por otra parte, involucra el conocimiento en biología, matemáticas, física, química, materiales, ingeniería y tecnologías de información. Por lo tanto, se requiere de un trabajo multidisciplinario e interdisciplinario para producir estos bienes o servicios que, además, deberán incorporarse a la dinámica empresarial para responder a necesidades de un mercado potencial.

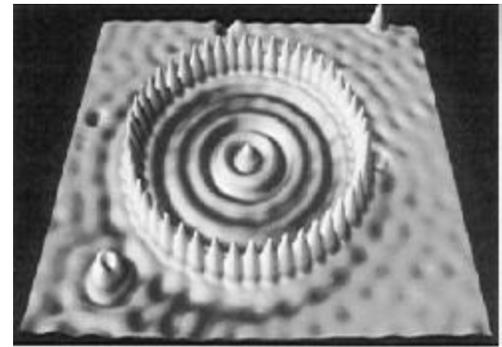
Esta concepción de la nanotecnología como un sistema productivo permite una planificación cuidadosa de su desarrollo. Es así como se deben dedicar recursos para impulsar las siguientes acciones: a) la construcción de la infraestructura necesaria para la investigación básica; b) la formación del recurso humano especializado;



Primer transistor. Laboratorios Bell, 1947. Escala en mm.



Circuitos integrados. Laboratorios de Intel, 2004. Escala en μm



Primer corral cuántico. Laboratorios de IBM, 2000. Escala en nm.

Figura 4. Contraste de tamaño en el desarrollo de componentes básicos para la computación.

⁴ Más adelante, cuando se aborde el tema del desarrollo futuro de los nanomateriales, se planteará cómo este orden tradicional debe invertirse.

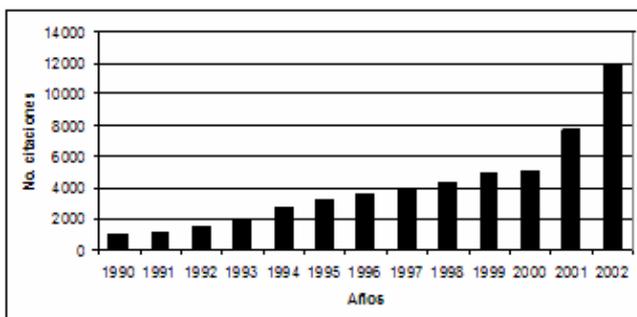
c) el desarrollo de herramientas adecuadas para apoyar la investigación; d) el ofrecimiento de becas y subvenciones para patrocinar las investigaciones; e) el surgimiento de empresas dedicadas a la producción masiva de los bienes o servicios generados; y f) el posicionamiento y distribución de estos bienes y servicios que respondan a las necesidades de un mercado potencial en crecimiento.

En el último cuarto de siglo el desarrollo de la nanotecnología ha sido vertiginoso. Para justificar esta apreciación se tomarán en cuenta cuatro perspectivas desde las cuales describir este desarrollo: a) desde la vigilancia tecnológica (o cienciometría) observando las publicaciones, citas de artículos y patentes relacionadas con esta tecnología; b) apreciando la capacidad institucional, es decir, los centros de investigación, las universidades y las empresas que respaldan este desarrollo; c) las fuentes de financiación, pública y privada, que impulsan esta tecnología; y d) los riesgos que se desprenden de su propio desarrollo.

Vigilancia tecnológica

La importancia científica de una tecnología puede medirse por el número de publicaciones y citas que se hacen sobre el tema. En 1987 el número de publicaciones en inglés que tenían como una de sus palabras claves el término nano en el índice de citas ISI era de 200 referencias. Casi tres lustros después, en 2001, la literatura científica incluyó cerca de 7700 citas y en el siguiente año esta cifra había ascendido a cerca de 12000 (ver la figura 5).

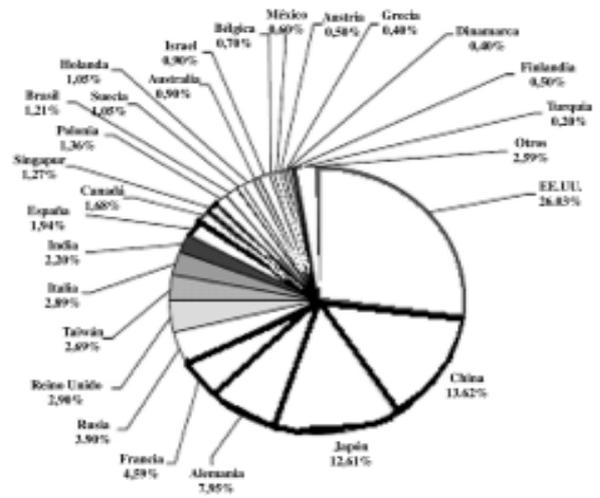
Si se observa la distribución por región del número de publicaciones científicas en nanotecnología en un período de diez años, entre 1992 y 2001, se aprecia que el mayor número proviene de Europa (39% en el período 1992-1995 y 41% en el período 1998-2001) seguido por Estados Unidos (34% en el primer período y 24% en el segundo) y



Fuente: índice ISI.

Figura 5. Número de veces que aparece la referencia *nano* como palabra clave de artículos científicos publicados en inglés (1990 a 2002).

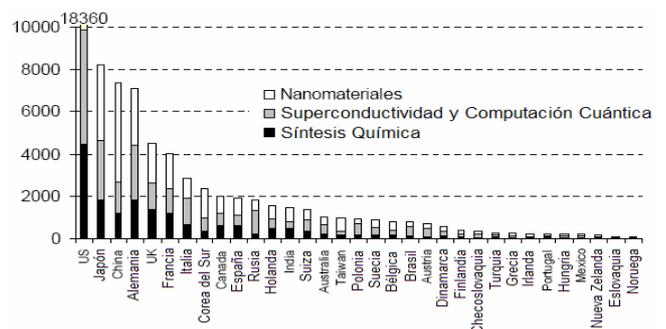
luego por Japón y los otros países asiáticos. Aquí vale la pena destacar el crecimiento vertiginoso de las publicaciones provenientes de China (el mayor participante en la categoría de otros países asiáticos) que se duplicó de un período al otro (Glänzel *et al.*, 2003). Sin embargo, cuando se observa el número de publicaciones por país es evidente el predominio de Norteamérica como principal autor de artículos publicados sobre el tema (figura 6).



Fuente: (*Nanotecnología en España*). Publicado por la Fundación Madrid, 2005).

Figura 6. Distribución por países de las publicaciones y actas de congresos en nanotecnología según la base de datos INSPEC para el período 2003-2004.

Cuando se indaga por los temas específicos sobre los cuales se publica, se encuentra que China se destaca en artículos sobre nanomateriales, seguido por Japón, Alemania y Francia. Los Estados Unidos, por su parte, parecen concentrar sus esfuerzos en los temas de superconductividad y computación cuántica, seguidos por artículos relacionados con la síntesis química (ver figura 7).



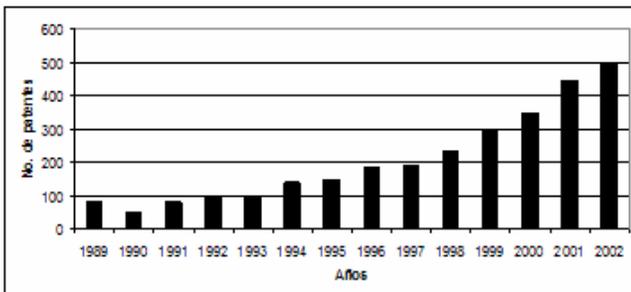
Fuente: Science Citation Index.

Figura 7. Número de publicaciones por país y tema de investigación (1999-2004).

Dado que el impacto de una tecnología no se mide únicamente por medio de las publicaciones científicas que se materializan sino también por la forma en que trasciende este conocimiento a un público más general. En este sentido, vale la pena mencionar que en septiembre de 2001 la revista Scientific American dedicó todo su número a la nanotecnología y que varios periódicos de distribución masiva, como el USA Today, cuentan hoy en día con secciones y reporteros especializados en el tema (Grupo ETC, 2003).

La relevancia de la nanotecnología como actividad actual de investigación se puede apreciar al observar el número de premios Nóbel que han sido otorgados a científicos que trabajan en el tema: cuatro en el campo de física y cinco en la química.

Por otra parte, el impacto potencial de una tecnología sobre la industria se mide directamente por el número de patentes que se otorgan. Aquí, nuevamente, la nanotecnología ha tenido una importante figuración. Mientras que en la década de los ochenta hubo 60 solicitudes de patentes relacionadas con el tema, veinte años después esta cifra se había incrementado a cerca de 445 por año (Grupo ETC, 2003). El crecimiento exponencial del número de patentes solicitadas, relacionadas con lo nanométrico, en solo Estados Unidos, se presenta en la figura 8.

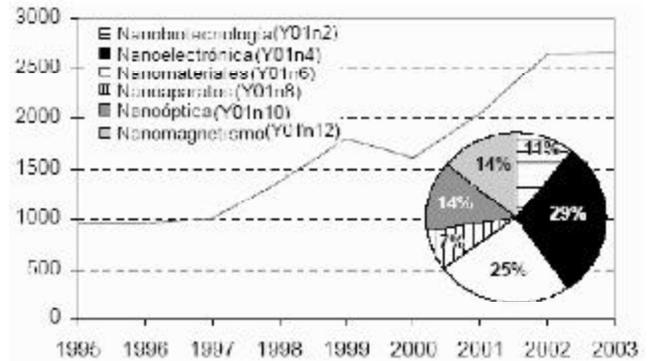


Fuente: (Grupo ETC, 2003).

Figura 8. Patentes relacionadas con nanotecnología en Estados Unidos (1989-2002).

Si se observa el número de patentes solicitadas a nivel mundial, discriminando por el tema específico de la aplicación, se encuentra que en 2003 las patentes sobre nanoelectrónica (29%) y nanomateriales (25%) fueron las más solicitadas (ver figura 9).

Al indagar por la tasa anual de crecimiento del número de patentes por tema se encuentra que, al comparar dos períodos (1995-1999 y 1999-2003), en el segundo período esta tasa es mayor en nanobiotecnología y nano-óptica, pero en términos absolutos el crecimiento de patentes en nanomateriales y nanoelectrónica es superior.

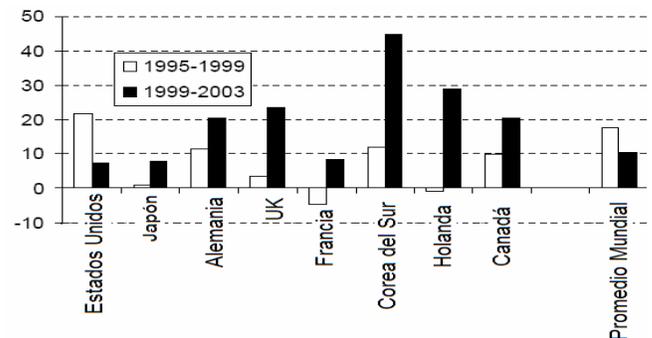


Fuente: Oficina Europea de Patentes (EPO, por sus siglas en inglés), 2006.

Figura 9. Número de patentes en el mundo (1995-2003) y el número de patentes por tema en 2003.

Las regiones que más patentes obtienen son América del Norte (Estados Unidos y luego Canadá), seguido por Asia (especialmente Corea del Sur y Japón) y, finalmente, Europa (Alemania, Gran Bretaña, Francia y Holanda). Sin embargo, cuando se indaga por el país de donde es natural el inventor o inventora, las cifras de las regiones de América y Asia tienden a acercarse. Esto puede explicarse por dos razones: 1) por la movilidad de los investigadores entre países; y 2) por el hecho de que la dueña del Asian Research Center es una compañía norteamericana.

Finalmente, si se observa la tasa anual de crecimiento del número de patentes por país, es importante destacar el impresionante desarrollo de Corea del Sur y de Holanda, seguidos por Gran Bretaña y Canadá. Los Estados Unidos, por su parte, han visto reducida la tasa anual de patentes en el tema (figura 10).



Fuente: Oficina Europea de Patentes (EPO, por sus siglas en inglés), 2006.

Figura 10. Tasa anual de crecimiento del número de patentes por país (1995-2003).

Capacidad institucional

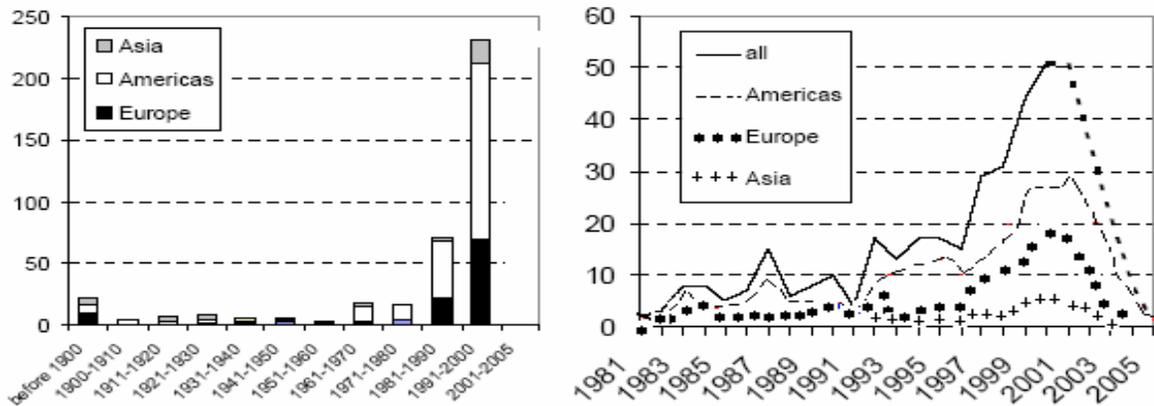
El desarrollo de una industria en nanotecnología requiere del trabajo articulado de las universidades, los centros de investigación y las empresas. En esta sección se presentan algunas cifras que dan cuenta de esta capacidad institucional en el último cuarto de siglo.

El número de empresas nuevas que se dedican a la nanotecnología solo empieza a crecer apreciablemente a partir de 1996. El mayor número de estas empresas están localizadas en las Américas seguida por Europa y finalmente Asia (figura 11).

Estas empresas se dedican principalmente al tema de los nanomateriales (33%) seguido por la nanobiotecnología (32%), la producción de herramientas para la investigación en este campo (25%) y, finalmente, nanoaparatos (10%) como se puede observar en la figura 12.

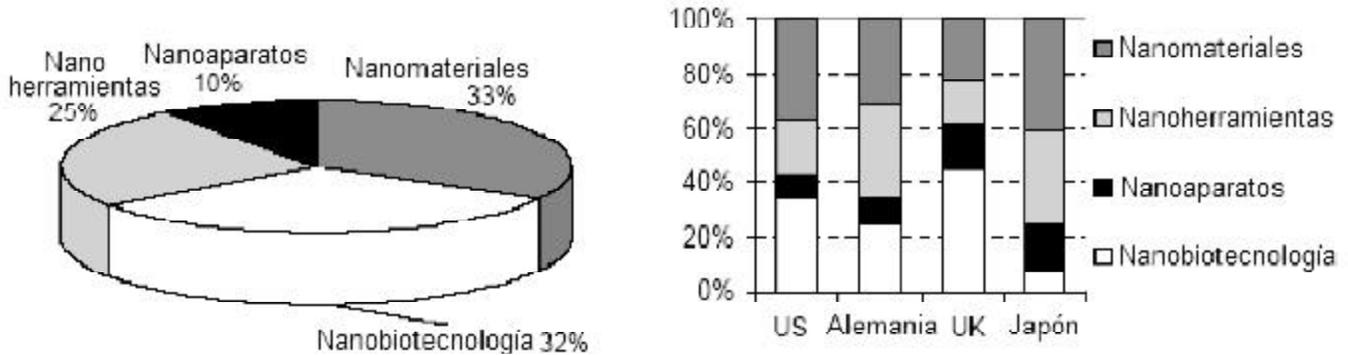
En la misma figura se aprecia que mientras que las empresas japonesas y norteamericanas se centran en la producción de nanomateriales, las alemanas se concentran en la fabricación de herramientas y las británicas se dedican principalmente al área de la nanobiotecnología.

En el 2003, la mayoría de estas empresas se encontraba en los Estados Unidos (alrededor de 160) seguidas por empresas Alemanas (100) y, un poco más lejos, estaban las compañías radicadas en el Reino Unido (poco más de 25). Si se ordenan por ventas anuales, las empresas norteamericanas eran las más exitosas. Casi 40, de una muestra de 357, recibieron entre diez y quinientos millones de dólares en ventas directas en el 2003. Otras diez empresas estadounidenses lograron ventas, ese mismo año, por más de US \$500 millones de dólares. En ingresos les siguen a las norteamericanas las empresas alemanas, las británicas y las japonesas. Es claro que ésta era una industrial que al inicio del milenio se mostraba como un negocio promisorio.



Fuente: Nanoinvestors News database en www.nanoinvestorsnews.com

Figura 11. Nuevas empresas dedicadas a la nanotecnología (1980-2005).



Fuente: Fecht *et al.* (2003).

Figura 12. Área en la que trabajan las nuevas empresas de nanotecnología en el 2003.

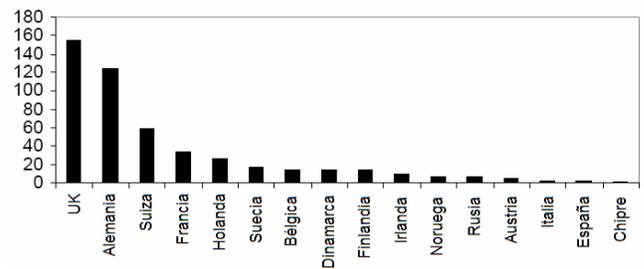
El desarrollo de la industria de la nanotecnología ha seguido estrategias claramente diferenciadas en Norteamérica, Europa y Asia. Mientras que en el país del norte predomina la creación de empresas semilla, así como de pequeñas y medianas empresas, en Europa y Asia predominan las universidades y los centros de investigación como pilares del desarrollo de la nanotecnología. Es abrumadora la concentración de esta capacidad institucional en tan solo cuatro países: Estados Unidos, Japón, Alemania y el Reino Unido.

Para conocer en detalle el tipo de productos que estaban comercializando la mayoría de estas empresas, se realizó un estudio a profundidad en el 2004 en 43 de las principales empresas norteamericanas (Científica, 2003). Tal vez el punto más relevante que se deriva de este estudio es que la gran mayoría de estas empresas se dedican a la producción y comercialización de productos, tecnologías y servicios que sirven de base para la realización de otros procesos más complejos de la industria. Este es un claro indicador del estado de una industria naciente que busca rápidamente fortalecerse.

Entre estos productos se encuentra la producción de nanotubos de carbono y fullerenos (21% de las empresas de la muestra⁵); la elaboración de nanopartículas de metal, cristal y cerámica (23,3%); el desarrollo de programas de computación, equipos, modelos de simulación y de visualización (21%); los servicios de consultoría y asistencia técnica (21%); y el desarrollo de otros útiles de apoyo para la nanociencia (11,6%).

Por otra parte, 17 de las 43 firmas estudiadas (el 39,5%) se dedicaba a la producción de nanomateriales para diferentes usos; el 18,6% fabricaba sensores de diversos tipos; seis empresas elaboraban compuestos químicos; cuatro fabricaban componentes de electrónica, tres estaban en el negocio de elementos ópticos, dos hacían filtros y otras dos se dedicaban a producir nanofluidos para impresión.

El panorama de la industria en Europa, por su parte, muestra un predominio del Reino Unido, Alemania y Suiza en donde se concentran el mayor número de empresas dedicadas a este campo (ver figura 13). Este número, en todo caso, es muy inferior al número de empresas norteamericanas lo que ha llevado a la Unión Europea a impulsar una estrategia para incentivar a sus científicos a que dediquen tiempo y esfuerzos para producir y comercializar los resultados de sus investigaciones.



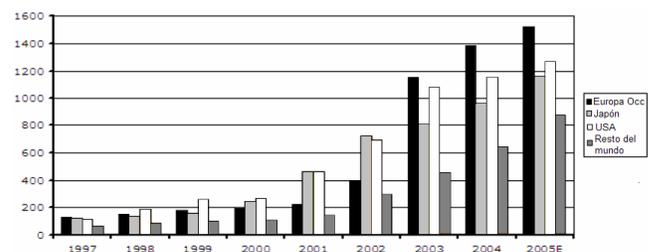
Fuente: Instituto de nanotecnología.

Figura 13. Empresas dedicadas a la nanotecnología en Europa (2005).

Financiación

La prioridad que tanto el sector público como el privado le dan al desarrollo de una industria está directamente asociada con los recursos que le destinan. En este sentido, una mirada a la inversión pública en nanotecnología durante la última década es importante.

La gráfica de la figura 14 muestra el crecimiento exponencial en la inversión pública a partir del cambio de milenio, precisamente cuando el presidente Clinton pronuncia su mencionado discurso ante el Congreso norteamericano. Mientras que Japón venía con una inversión similar a la estadounidense, la inversión en Europa Occidental comienza a acelerarse a partir de 2002.



Fuente: (Científica, 2003).

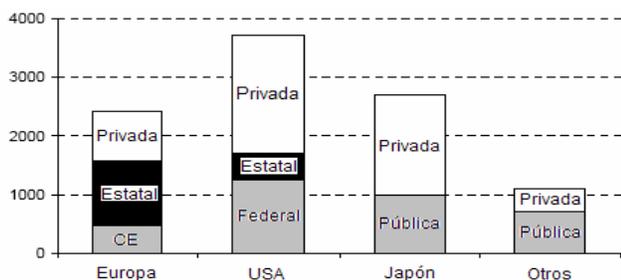
Figura 14. Inversión pública anual en nanotecnología (1997-2005).

Para tener una perspectiva concreta en cifras vale la pena mencionar que la National Nanotechnology Initiative, lanzada por el presidente Clinton en el 2000, recibió en el 2007 cerca de US \$ 1200 millones de dólares en presupuesto y que desde su fundación ha recibido aproximadamente US \$ 6500 millones. A nivel del país, el Centro de Excelencia

⁵ En solo los Estados Unidos la producción de nanotubos se estima en 2,5 toneladas métricas por día.

en Nuevos Materiales (CENM) recibirá cerca de dos millones de dólares para invertirlos entre 2005 y 2010 en investigación en esta área.

Cuando se tiene en cuenta la inversión privada en nanotecnología las cifras son aún más sorprendentes. En un solo año, en el 2005, la inversión mundial alcanzó los diez mil millones de dólares (US \$ 10.000). En los Estados Unidos la inversión privada es superior a la pública (estatal y federal) y lo mismo ocurre en Japón (figura 15).



Fuente: (European Commission, 2005).

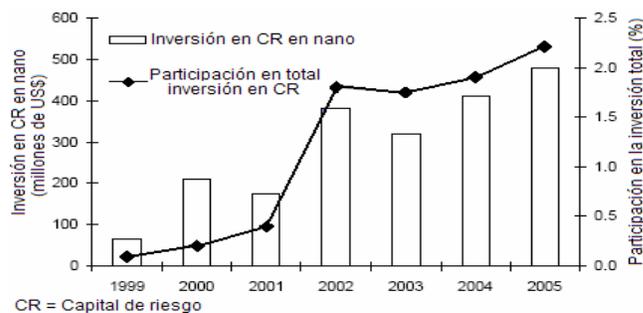
Figura 15. Inversión pública y privada en nanotecnología (2005).

Cuando se discrimina esta inversión por países en Europa, nuevamente se aprecia una concentración de recursos en dos de ellos: Alemania y el Reino Unido, con inversiones cercanas a los US \$ 200 millones de dólares anuales entre el 2003 y el 2005. Por otra parte, la inversión anual total que hizo la Unión Europea en nanotecnología (un poco más de US \$300 millones en el 2005) fue la cuarta parte de la inversión pública norteamericana en este campo en el mismo año (US \$ 1200 millones).

Pero en donde mejor se puede sentir la confianza del sector privado en el desarrollo promisorio de una industria, es a través del capital de riesgo que se invierte. Aquí, nuevamente las cifras sorprenden. A nivel mundial, entre 1999 y 2005 se destinaron un poco más de US 2000 millones de dólares como apuesta al desarrollo de productos en nanotecnología (figura 16).

Esta gráfica muestra que hubo un punto de inflexión en el 2002 en donde los empresarios del capital de riesgo disminuyeron su inversión. Es probable que esta decisión haya sido el resultado de los primeros estudios públicos sobre posibles efectos nocivos para la salud humana de las nanopartículas. Sobre este importante punto se volverá más adelante.

En los Estados Unidos, por su parte, la inversión de capital de riesgo se multiplicó por ocho en los últimos tres años del siglo anterior. Esta inversión se ha sostenido a

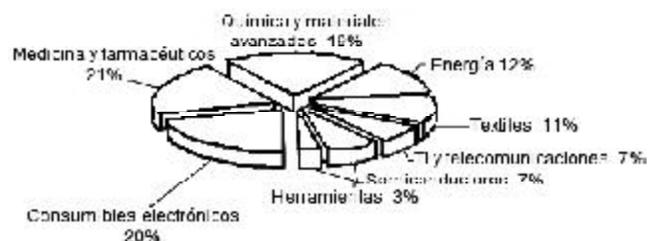


Fuentes: Anquetil (2005); Lux Research (2006).

Figura 16. Capital de riesgo en nanotecnología a nivel mundial (1999-2005).

pesar de que tan solo el 9% de los proyectos financiados con capital de riesgo había tenido éxito en el 2005; 83% continuaban operando y el 8% había fracasado. Vale la pena resaltar que los inversionistas norteamericanos invierten seis veces más dinero que sus colegas europeos lo cual marca una clara diferencia cultural, de espíritu empresarial, al respecto (Científica, 2005).

¿Pero en qué áreas de la nanotecnología invierten los empresarios? La figura 17 indica que la mayor cantidad de inversiones de capital de riesgo se está dirigiendo hacia el sector médico y el farmacéutico, así como hacia los de la electrónica, la química y los nuevos materiales.



Fuente: (Científica, 2005).

Figura 17. Distribución del capital de riesgo por área de aplicación (2005).

Pero invertir en estas tecnologías parece tener un riesgo, según lo han intuido los empresarios y por esta razón es probable que la inversión no haya sido mayor en los últimos años. ¿Qué tan reales son estos riesgos? La sección que sigue se ocupa de abordar en detalle este tema.

Riesgos

La esencia de la nanotecnología radica en la manipulación de objetos de tamaño tan pequeño que podrían con facilidad penetrar nuestra piel o inhalarse sin que pudiesen ser percibidos. Una vez en nuestro torrente sanguí-

neo podrían burlar al sistema inmunológico, penetrar las células y alojarse en órganos con potenciales efectos cancerígenos aún no estudiados (**Tomson et al.**, 2002).

De hecho, la baja inversión en proyectos de investigación asociados con el impacto ecológico, social y de salud que se desprende del trabajo en nanotecnología es una de las principales fuentes de preocupación de las instituciones gubernamentales y de las ONGs medio-ambientalistas (**Reynolds**, 2001).

Al considerar la nanotecnología como un sistema productivo, los riesgos pueden surgir en diferentes fases del proceso de producción. Pueden ocurrir fugas de materiales con potencial daño en las fábricas, los laboratorios, las bodegas de almacenamiento o durante el transporte de insumos o productos terminados. Estas fugas pueden afectar a los propios trabajadores o difundirse al medio ambiente en donde podrían contaminar el aire, la tierra y las fuentes de agua. Desde allí podrían entrar en la cadena alimenticia y terminar afectando al resto de la población.

Además de existir riesgos en el proceso mismo de elaboración de nuevos materiales, es necesario tener en cuenta los riesgos de los efectos secundarios que pueden traer el uso de los productos de la industria. El reciente escándalo mundial de una multinacional de juguetes que debió recoger cientos de miles de sus productos debido a los residuos de plomo de una pintura usada para recubrirlos, es tan solo un ejemplo del tipo de riesgo asociado con la industria de la nanotecnología.

Aunque parezca todavía parte de la ciencia ficción (y vale la pena recordar que en este campo estuvo la propia nanotecnología cincuenta años atrás), la creación de procesos de auto-replicación para la elaboración masiva de nuevos materiales puede ser otro riesgo latente. En efecto, a partir del estudio de cómo los seres vivos a escala muy pequeña operan como fábricas de producción – por ejemplo el funcionamiento de las células y los procesos de síntesis de proteínas – se ha planteado la posibilidad de construir fábricas de nuevos materiales que operen autónomamente a esta escala. La posibilidad de que éstas se salgan de control y provoquen accidentes de proporciones catastróficas es lo que algunos han llamado el pequeño riesgo del gran desastre (**Foresight Institute**, 2000).

Por otra parte, la nanotecnología hará posible la aplicación de terapias que pueden afectar la diversidad genética (al permitir la manipulación de genes) o de métodos de vigilancia que han sido éticamente cuestionados al afectar la privacidad. Por ejemplo la construcción de insectos me-

cánicos que portan cámaras minúsculas de vigilancia (**Foresight Institute**, 2000).

Para seguir en el ámbito de lo ético, la concentración del desarrollo de la nanotecnología en unos cuantos países, como se ha mostrado en las secciones anteriores, generará otra brecha importante entre países desarrollados y aquellos en vías de desarrollo. En otras palabras, los beneficios de la nanotecnología estarán a disposición de los países en desarrollo solamente si su uso se mantiene abierto. Pero, como ya se vio, el financiamiento del sector privado ya superó con creces la inversión pública en el desarrollo de nuevos productos. Esto llevará a una presión cada vez mayor de las grandes multinacionales por fortalecer la legislación de la propiedad intelectual sobre estos productos y los procesos y tecnologías asociadas.

Por supuesto que es importante defender la propiedad intelectual, pero cuando estas patentes se solicitan sobre moléculas debe haber por lo menos un amplio debate sobre los límites razonables a la propiedad intelectual en este terreno. Hoy en día existen varias patentes sobre la molécula C60 que tiene un gran potencial de aplicación para la liberación controlada de drogas.

Dentro del mismo debate ético se circunscribiría el empleo de la nanotecnología en el campo de las aplicaciones militares. La carrera armamentista internacional se inició hace ya varios años de manera acelerada. Los siguientes son algunos hechos que reflejan la seriedad con que los países industrializados están compitiendo en este tema (**Reynolds**, 2001).

- Estados Unidos invirtió 125 millones de dólares en investigación sobre aplicaciones militares de la nanotecnología en el 2001; cuatro años después, la inversión ascendió a 275 millones de dólares;
- En el 2005 se creó el Institute of Soldier Nanotechnologies en MIT con un presupuesto de US \$50 millones de dólares para cinco años;
- El ministerio de defensa del Reino Unido, por su parte, tiene desde el inicio del milenio un presupuesto público de 1,5 millones de libras para este tipo de investigación;
- Suecia dedicó 11 millones de euros para financiar siete proyectos en investigación militar recientemente;
- La Unión Europea lanzó en el 2004 un programa de 60 millones de euros dedicado a financiar proyectos sobre protección contra el terrorismo asociado con productos de la nanotecnología.

La existencia de todos estos riesgos potenciales justifica las protestas y la preocupación de grupos ecológicos y de otras ONG sobre el futuro de la nanotecnología.

Regulaciones

La propuesta de regulación más conocida en este tema proviene de un trabajo adelantado por el Foresight Institute. El documento se elaboró como colofón de un taller patrocinado por esta institución y por el Institute for Molecular Manufacturing (IMM) que se realizó entre el 19 y el 21 de febrero de 1999 en Monterrey, California. El documento contiene algunos supuestos, principios y recomendaciones para un “desarrollo responsable de la nanotecnología molecular” (Foresight Institute, 2000).

Por la misma época el gobierno británico le solicitó a la Royal Society y la Royal Academy of Engineering que estudiaran el tema. El reporte que produjeron conjuntamente concluyó, en primer término, que existía muy poca información sobre el efecto de las nanopartículas en los seres vivos y en el medio ambiente. Igualmente, señalaron que tampoco había suficiente información sobre cómo se transmite este efecto a lo largo de las cadenas alimenticias.

El estudio hace tres grandes recomendaciones: a) que las fábricas y los laboratorios de investigación consideren la manufactura de nanopartículas y nanotubos como un proceso de alto riesgo; b) que se prohíba el uso de nanopartículas libres en aplicaciones medio-ambientales; y c) que se dediquen recursos suficientes para adelantar investigaciones sobre el potencial efecto nocivo de las aplicaciones de nanotecnología para la salud y el medio ambiente.

Otro aspecto relacionado con el tema de la regulación tiene que ver con la normalización y estandarización de procesos. Estas normas ayudan a coordinar los esfuerzos de diferentes instituciones en todo el mundo, facilitan la comercialización de los productos derivados de la nanotecnología e impulsan un aseguramiento de la calidad de estos productos.

En este sentido el papel del Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST) del Departamento de Comercio de los Estados Unidos ha sido bien importante. Con un presupuesto inicial de US \$8 millones de dólares en el 2000, que se incrementó a US \$43 millones en el 2003, el NIST ha desarrollado normas para aplicaciones en semiconductores, comunicaciones y salud. Igualmente ha expedido directrices y herramientas para la visualización y caracterización a escala nanométrica, aspectos importantes para regular la investigación práctica en el campo (Valdés, 2001).

Un futuro posible en el 2015

Factores de cambio

En un taller de expertos realizado en Madrid en el 2006, con el apoyo financiero de la Unión Europea, se planteó la pregunta de los factores de cambio (Fundación de la Innovación Bankinter, 2006). Estos son todos aquellos aspectos que a futuro podrían afectar el desarrollo de la nanotecnología. Los expertos coincidieron en que los principales agentes aceleradores del desarrollo del mercado en nanotecnología serán los que conforman la tríada: universidad – gobierno – empresa. Las primeras, a través de la formación del capital humano y la investigación de punta en sus centros de investigación y laboratorios. Los segundos, mediante políticas que estimulen su desarrollo y una financiación continua que lo apalanque, y los empresarios, con la inversión y experiencia en gestión de procesos de producción para transformar el conocimiento adquirido en productos de impacto masivo.

Los factores que, a juicio de estos expertos, pueden acelerar el desarrollo futuro de la nanotecnología se agrupan en tres categorías: a) científico-tecnológicas (capacidad para crear herramientas que manipulen estructuras a escala atómica, poder aplicar en el mundo real los descubrimientos del “mundo nano”, y programas de formación interdisciplinarios); b) de costos (reducir costos de producción y disminuir el costo de las herramientas para construir nanoestructuras); y c) de acción gubernamental (políticas gubernamentales que impulsen la innovación, mejorar los procesos de patentes para agilizar la transferencia de resultados de la investigación a la industria, y lograr que los actores institucionales compartan recursos de infraestructura). Los expertos consideran que el acelerador de mayor importancia y que con seguridad ocurrirá, será el incremento en la capacidad para crear herramientas que manipulen estructuras a escala atómica.

De manera análoga, los factores que a juicio de estos expertos podrían frenar el desarrollo de la nanotecnología se clasifican en tres tipos de barreras: a) financieras (falta de inversión pública y privada, falta de infraestructura y una dispersión en la inversión entre los diferentes sectores); b) de cooperación (entre universidades y empresas, y entre países y regiones); y c) político-sociales (presión social para evitar efectos perjudiciales o no éticos derivados de la nanotecnología y falta de una regulación específica). Teniendo en cuenta el nivel de importancia adscrito a cada uno de estos factores y su probabilidad de ocurrencia, una reducción en la inversión (pública y privada), así como la falta de una infraestructura apropiada, son las principales barreras que deben evitarse.

Aplicaciones posibles

Estos mismos expertos (**Fundación de la Innovación Bankinter, 2006**) consideran que los países desarrollados deben centrar sus esfuerzos en la elaboración de productos derivados de la nanotecnología para apoyar principalmente el desarrollo de la industria farmacéutica, el monitoreo de pacientes y la generación de energía (ver figura 18).

Por otra parte, los mismos expertos consideran que los países en vías de desarrollo deberían centrar sus esfuerzos en aplicaciones de la nanotecnología que los ayuden al desarrollo de la agricultura, el tratamiento del agua, la lucha contra los factores de enfermedades y la detección de plagas, así como en el almacenamiento y procesamiento de alimentos.

En general, la nanotecnología puede ser utilizada para responder a una gran variedad de problemas sociales. Entre los más importantes se encuentran los siguientes:

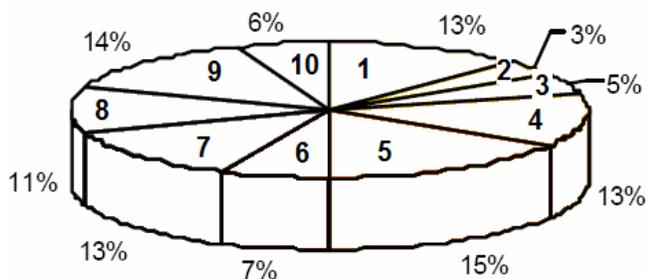
- La escasez de agua es un problema serio y se pronostica que se incrementará. La mayor parte del consumo del agua se utiliza en los sistemas de producción y agricultura, algo que la fabricación de productos mediante la fabricación molecular podría transformar.
- Las enfermedades infecciosas causan problemas en muchas partes del mundo. Productos sencillos como tubos, filtros y redes de mosquitos podrían reducir este problema.
- La información y la comunicación son herramientas útiles, pero en muchos casos ni siquiera existen. Con la nanotecnología, los ordenadores reducirían considerablemente su costo.
- Muchas regiones todavía carecen de energía eléctrica. Pero la construcción eficiente y barata de estructuras

ligeras y fuertes, equipos eléctricos y aparatos para almacenar la energía permitirían el uso de energía termal solar como fuente primaria y abundante de energía.

- El desgaste medioambiental es un serio problema en todo el mundo. Nuevos productos tecnológicos permitirían que las personas viviesen con un impacto medioambiental mucho menor.
- La nanotecnología molecular podría fabricar equipos baratos y avanzados para la investigación médica y la sanidad, haciendo mucho mayor la disponibilidad de medicinas más avanzadas.
- Agricultura y alimentación (abonos, plagas, pesticidas).

Por otra parte, y dejando de lado las aplicaciones militares, algunos de los productos derivados de la nanotecnología que se prevé que afectarán directamente nuestro estilo de vida serán los siguientes (**Fundación de la Innovación Bankinter, 2006; Coates, 1999**): gafas que no se rayan, parabrisas que se limpian solos, prendas de vestir que no se arrugan ni se manchan, equipamiento deportivo que ayuda a ser más competitivo (como el reciente traje de baño que ha permitido el rompimiento de 30 marcas mundiales), productos cosméticos más eficaces y protectores, computadores más rápidos y eficientes con nanoprocesadores que consumen menos energía y disminuyen los costos por compuerta, dispositivos de almacenamiento de información más ligeros y pequeños con capacidades en el orden de los Tb, mil veces más eficientes que los actuales, lubricantes producidos a partir de nanopartículas esféricas inorgánicas que proporcionen una lubricación más durable que los sólidos convencionales con aditivos.

Una vez identificados los productos más promisorios que pueden obtenerse a futuro como resultado del desarrollo de la nanotecnología surge una pregunta obvia: ¿cuál es el mercado para todos estos productos?



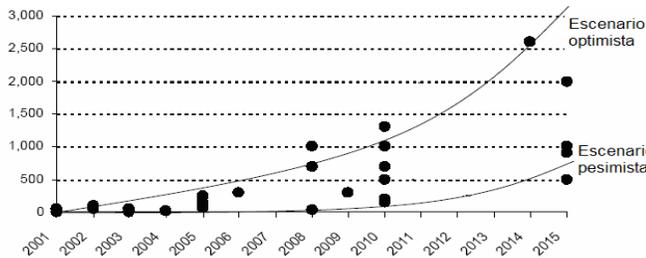
1 Energía	2 Agricultura
3 Tratamiento de agua	4 Diagnóstico de enfermedades
5 Sistema de reparto de medicamentos	6 Almacenamiento y proceso de alimentos
7 Remedio a la contaminación del aire	8 Construcción
9 Seguimiento del paciente	10 Vector de enfermedad y control de detección de peste

Fuente: Fundación de la Innovación Bankinter (2006).

Figura 18. Áreas prometedoras para el avance de la nanotecnología en los países desarrollados.

Mercado potencial

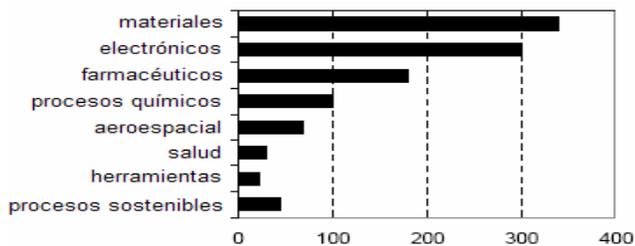
El mercado mundial esperado en nanotecnología para las siguientes dos décadas se ha estimado en cerca de 800 billones de dólares en el escenario más pesimista, y en cerca de tres mil billones de dólares en el más optimista. La evolución prevista de este mercado se aprecia en la gráfica de la figura 19.



Fuentes: NSF (2001).

Figura 19. Mercado esperado en nanotecnología en el mundo (2008-2015) [billones de dólares].

Si se observa el comportamiento del mercado mundial por áreas de aplicación se encuentra que el mercado de los nanomateriales y el de los productos en electrónica serán los de mayor importancia en la próxima década (figura 20). Mientras que éste se estima que tendrá un mercado de 300 billones de dólares en el 2015, aquél alcanzará los 350 billones de dólares en el mismo año. Este comportamiento del mercado, hace de esta área del desarrollo tecnológico un campo promisorio en el país, como una potencial herramienta de desarrollo social.



Fuente: Lux Research (2004).

Figura 20. Distribución del mercado mundial según áreas de aplicación de la nanotecnología (proyección al 2015, cifras en billones de dólares).

Para poder responder a esta demanda potencial de productos derivados de la nanotecnología se estima que para el año 2014 habrá una necesidad de cerca de 11 millones de vacantes para trabajar en este campo (figura 21). Esta proyección abre una valiosa oportunidad para crear progra-

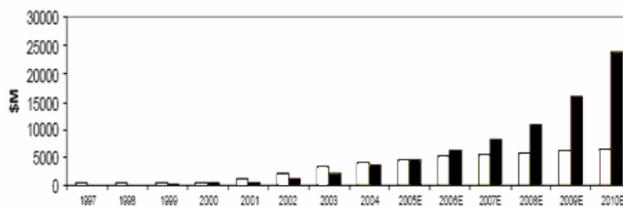


Fuente: Lux Research (2004).

Figura 21. Proyección de nuevos puestos creados para trabajar en nanotecnología.

mas de formación de profesionales y técnicos con los particulares perfiles que se requerirán para asumir estos nuevos puestos de trabajo.

De la misma manera se espera que la inversión pública y privada en nanotecnología continúe creciendo de manera exponencial hasta alcanzar los US \$25000 millones de dólares en el 2010 (figura 22). Es muy probable que mientras que la inversión pública se mantenga constante, la privada sea la que crezca exponencialmente.



Fuente: Científica (2005).

Figura 22. Proyección de la inversión pública y privada en nanotecnología (1997-2010).

Es igualmente probable que los sectores en los que se tendrá mayor influencia con productos derivados de la nanotecnología en el 2015 sean la comunicación, la higiene, el trabajo y el transporte. Los sectores con un menor impacto esperado serán el descanso, los deportes y el tiempo libre.

Por otra parte, se estima que en los próximos cinco años el sector que llevará el liderazgo será el de los nanomateriales seguido por el de la electrónica y el de las telecomunicaciones. A mediano plazo (en diez años) se espera que la electrónica y el sector farmacéutico sigan en la cresta del desarrollo nanotecnológico pero el cambio más significativo se prevé que será en las aplicaciones al medio ambiente y a la salud.

Nanomateriales: ¿quo vadis?

Los nanomateriales o el diseño y producción de nuevos materiales es una de las grandes áreas de trabajo de la

nanotecnología y una de las de mayor desarrollo promisorio por el impacto inmediato que puede tener en el desarrollo industrial y en la vida cotidiana.

Estado del arte

Así como fue posible identificar algunos hitos importantes en el desarrollo de la nanotecnología, es posible también indagar por hitos equivalentes que marcaron el desarrollo de nuevos materiales. Un rápido recuento destacaría los siguientes eventos:

- En 1855 Bessemer patenta la fabricación barata del acero. Este es el inicio de la era moderna de las grandes estructuras;
- En 1939 aparece el desarrollo comercial del nylon que es fundamental para la evolución de los plásticos;
- En los años 50 se desarrollan las aleaciones de alta temperatura basadas en Níquel las cuales tienen un fuerte impacto en el desarrollo de las turbinas;
- En la década de los 60 se perfecciona la capacidad de crecer estructuras micrométricas sobre Si dando nacimiento a la microelectrónica;
- En los años 80 aparecen los superconductores de alta temperatura crítica lo que permite el desarrollo de materiales cerámicos;
- Finalmente, en el nuevo milenio, la nanotecnología recibe un fuerte impulso haciendo realidad la manipulación de materiales a escala nanométrica.

Existen dos métodos para la elaboración de nuevos materiales desde la perspectiva de la nanotecnología. El más desarrollado por haber sido el primero sigue una aproximación de “arriba hacia abajo” (top down). La litografía es uno de ellos y ha sido la manera más común de fabricar los circuitos integrados para la industria computacional. El segundo método es el opuesto, de “abajo hacia arriba” (bottom up) que fue el método sugerido por Feynman en su célebre conferencia de finales de los años 50 del siglo anterior. Este método parte de la posibilidad de manipular la materia a escala atómica. Hay tres técnicas para hacerlo: la síntesis química, el auto-ensamblaje, y el ensamblaje posicional. Aunque opuestos en su concepción y técnicas, los dos métodos han venido convergiendo en los últimos años.

La investigación actual de nuevos materiales puede clasificarse de diversas maneras. Una primera clasificación reconoce las siguientes doce áreas: 1) materiales nanoestructurados; 2) nanopartículas y nanopulvos; 3)

nanocápsulas; 4) materiales nanoporosos; 5) nanofibras; 6) fullerenos; 7) nanoalambres; 8) nanotubos; 9) dendrímeros; 10) electrónica molecular; 11) puntos cuánticos; y 12) películas delgadas.

La aplicación específica de los nuevos materiales es muy variada. Algunas de estas son las siguientes: la generación y almacenamiento de energía con la construcción de novedosas celdas solares; la producción de luces de estado sólidos (nueva generación de LEDs); la producción de nanopartículas que ayuden en la purificación del agua; el desarrollo de recubrimientos duros para herramientas industriales; nuevas herramientas para el avance de la opto-electrónica; nuevos materiales para almacenar información; materiales para construir sensores más sensibles, rápidos y a menor costo; entre otras.

Otras aplicaciones de gran impacto potencial de los nuevos materiales se encuentran en el campo de la medicina. En efecto, la mayor flexibilidad de los nanotubos de carbón, así como su resistencia, los posicionan como base ideal para la fabricación de huesos artificiales, prótesis y el tratamiento de enfermedades óseas como la osteoporosis. Igualmente se prevén aplicaciones en el tratamiento de tumores con la posibilidad de enviar dosis de drogas a órganos específicos utilizando dendrímeros como una especie de sistema de correo a través del torrente sanguíneo. Esta sería una forma más efectiva, por ejemplo, de tratar la diabetes.

La conocida ley de Moore en el desarrollo de la capacidad computacional también ha sido afectada por el avance vertiginoso de los nuevos materiales. La aparición de las populares memorias USB (memory flash devices) de almacenamiento masivo (4 gigabytes) en tamaños cada vez más reducidos (menos de cuatro centímetros de largo, menos de dos cm. de ancho y unos cuantos milímetros de grosor) revolucionaron a comienzo de siglo (y continúan haciéndolo) la industria computacional. Igualmente, y solo para ilustrar una reciente aplicación de distribución masiva, la miniaturización de equipos electrónicos como el IPOD son también el resultado directo del desarrollo de nuevos materiales. Por su parte, los riesgos que se describieron en la sección anterior sobre el desarrollo de la nanotecnología también están latentes para el campo de las aplicaciones de los nuevos materiales.

Nanomateriales por diseño

Es posible identificar dos estrategias para el desarrollo de nuevos productos basados en nanomateriales (**Technology Partnership Energetics**, 2003). La primera se basa en el descubrimiento de nuevas propiedades y sigue la siguiente secuencia de actividades:

- Descubrir novedosas nanoestructuras, nanopartículas y nanomateriales a través de un proceso científico de investigación exploratoria en una gran variedad de materiales;
- Determinar las propiedades de estos nanomateriales (químicas, físicas y biológicas);
- Identificar potenciales aplicaciones de valor;
- Indagar su viabilidad comercial;

El resultado de este proceso, en términos de impacto comercial, suele ser el desarrollo de nanomateriales con un mercado limitado.

La segunda estrategia se basa en un proceso de búsqueda de soluciones aplicadas a problemas concretos. La secuencia de actividades, en este caso, es la siguiente:

- Identificar problemas, necesidades o retos específicos en un dominio particular de aplicación (por ejemplo en agroindustria, en la construcción, en la energía, en la salud, etc.);
- Diseñar, producir y escalar nanomateriales que tengan las propiedades específicas que se requieren para resolver los problemas identificados;

En este caso, el resultado esperado es una gran diversidad de productos basados en nanomateriales que han sido diseñados específicamente para responder a necesidades y requerimientos concretos.

Los retos en la investigación

El desarrollo de nanomateriales por diseño requiere del desarrollo en diferentes frentes de investigación. A continuación se mencionan cuatro áreas de investigación interdisciplinaria e interrelacionada:

- La comprensión de la química y la física al nivel nano;
- El desarrollo de modelos y técnicas de simulación;
- El desarrollo de herramientas para la observación y la manipulación;
- El desarrollo de procesos de manufactura

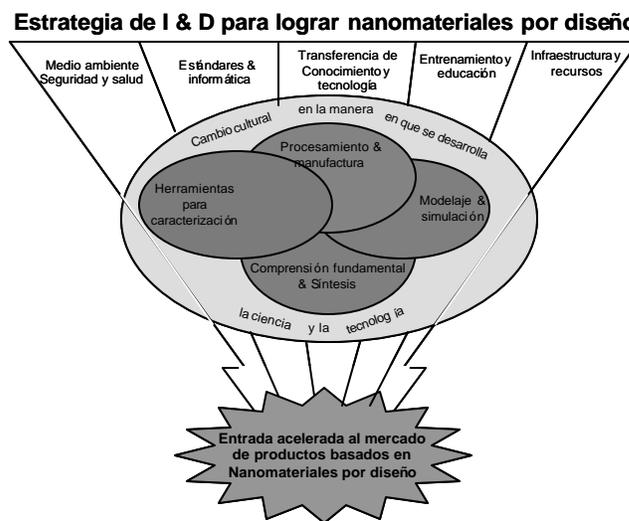
La estrecha relación entre estos frentes se ilustra con la gráfica de la figura 23.

Por otro lado, se pueden identificar cinco líneas adicionales que permiten asegurar el desarrollo productivo de los descubrimientos y diseños basados en nanomateriales.

Estas líneas se centran en la investigación y el desarrollo de actividades en:

- El impacto ambiental, para la salud y la seguridad ciudadana del desarrollo de los nanomateriales por diseño;
- El desarrollo de estándares que permitan el avance coordinado del campo;
- Formas de transferencia de conocimiento y tecnología entre investigadores y centros de investigación;
- Formas de enseñanza para la preparación del recurso humano necesario para impulsar el desarrollo de este campo del conocimiento;
- La conformación de una red de recursos e infraestructura que posibiliten el desarrollo de los nanomateriales por diseño.

La meta del avance simultáneo en estos nueve frentes de investigación y acción deberá ser el desarrollo acelerado de productos basados en nanomateriales con alto impacto práctico en los ámbitos de aplicación seleccionados (ver figura 23).



Fuente: Technology Partnership Energetics (2003).

Figura 23. Nueve frentes de investigación-acción en el campo de los nanomateriales por diseño.

A mediados del 2003 el Departamento de Energía de los Estados Unidos organizó un taller para determinar y priorizar los retos de investigación y acción futura en estos nueve frentes de trabajo en nanomateriales por diseño.

ño. Al taller asistieron 96 representantes de la industria, el gobierno, los centros de investigación y las universidades. El taller arrojó como resultado los 32 retos que se observan en el cuadro de la figura 24.

El centro de excelencia en nuevos materiales –CENM–

En el país, diversos grupos de investigación e investigadores, en la última década, han orientado sus esfuerzos investigativos en el área de la nanotecnología y los nuevos materiales. Recientemente, algunos de estos grupos han aunado su conocimiento y esfuerzo alrededor de esta temática, en torno a un Centro de Excelencia en Nuevos Materiales⁶. Esta unión constituye una alternativa para el desarrollo de nuevas tecnologías en Colombia enfocadas en la estudio y creación de nuevos materiales de dimensiones nanométricas. Hace parte de un esfuerzo nacional de alta prioridad apoyado por COLCIENCIAS y las Universidades del país a las cuales pertenecen 19 reconocidos grupos de investigación multidisciplinaria⁷.

El CENM busca desarrollar programas de investigación en ciencias de los materiales, física de la materia condensada, química de los materiales e ingeniería de materiales, a través de los cuales se formen científicos e ingenieros a niveles de pregrado, maestría y doctorado, así como proveer estancias de post-doctorado en estas áreas. Con lo anterior se busca realizar una transferencia de tecnología a la industria Colombiana.

Con base en la experiencia adquirida por estos grupos, el CENM ha definido cuatro temas de investigación interdisciplinaria: recubrimientos avanzados; materiales nanocompuestos; nanomagnetismo; y dispositivos de estado sólido, sensores y sistemas mesoscópicos. Una breve descripción de cada una de estas líneas se presenta a continuación.

Materiales de recubrimientos: su propósito es desarrollar nuevos materiales con mejorada resistencia a difíciles condiciones de corrosión, desgaste y alta temperatura. Se basa en el estudio de diferentes tipos de procesos y materiales, tanto desde el punto de vista científico como tecnológico, con el fin de controlar y ajustar sus propieda-

des. Dentro de los sistemas a considerar están los recubrimientos compuestos (como nanopartículas de SiC y diamante en matrices de Ni y Ni-Cr, y partículas nanométricas de óxidos de hierro en Ni-P) y recubrimientos de multicapa (como W/WC y CN_x/ZrN).

Materiales nanocompuestos: busca producir y evaluar nanopulvos activos, obtenidos de desechos y subproductos industriales, para fabricar materiales cementantes de alto rendimiento mecánico y durabilidad para aplicaciones en la construcción de viviendas y en el desarrollo de la infraestructura civil en Colombia. Estos nuevos materiales contribuirán a la sostenibilidad ambiental al disminuir el uso de recursos minerales, reducir la contaminación ambiental e incrementar su vida útil.

Nanomagnetismo: el confinamiento y los efectos de tamaño finito alteran las propiedades magnéticas de los materiales. Recientemente ha sido revelado que estos efectos de tamaño finito pueden ser empleados para nuevas aplicaciones magnéticas, como en dispositivos espintrónicos. Esta línea busca entender los comportamientos magnéticos de bloques de construcción individuales que eventualmente serán insertados dentro de estructuras más complejas para efectuar nuevas funciones.

Dispositivos de estado sólido, sensores, y sistemas mesoscópicos: se busca diseñar dispositivos optoelectrónicos, sensores no convencionales y nanodispositivos enfocándose en semiconductores cuaternarios, cristales iónicos y óxidos de tipo perovskita basados en Mn, Sn y Mo. Se estudian las propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas de estos materiales. En particular el efecto de la reducción de la dimensionalidad y la presencia de confinamientos y topologías no triviales en las propiedades de transporte de portadores confinados en dispositivos nano y mesoscópicos. También se estudian las propiedades ópticas de dispositivos asociados con impurezas y los estados excitónicos bajo la acción de perturbaciones externas. Se examina el efecto Raman en puntos cuánticos ensamblados, el efecto Overhouser, polaritones en microcavidades semiconductoras, y el efecto de un láser de alta densidad sobre iones y moléculas para predecir los espectros de fotoionización y foto-detachment.

6 La página institucional del centro es la siguiente: www.cenm.org.

7 Estos grupos forman parte de las siguientes universidades: Universidad del Valle, Universidad del Tolima, Universidad del Quindío, Universidad Tecnológica de Pereira, Universidad Nacional de Colombia, Universidad Industrial de Santander, Universidad del Cauca, Universidad Autónoma de Occidente, Universidad del Norte y Universidad de Antioquia. El CENM tiene estrechas relaciones con algunos centros de investigación internacionales como: The Nanotechnology Center (Northwestern University), The Thin Film and Nanoscience Group, The Department of Civil and Environmental Engineering (University of Michigan), y el Centro para la Investigación Interdisciplinaria Avanzada en Ciencias de los Materiales (CIMAT) de Chile.

Construcción de una agenda prospectiva

En concordancia con las prioridades y retos en la investigación de los nueve frentes de trabajo en nanomateriales por diseño (Figura 24), planteadas por la Technology Partnership Energetics (2003), el CENM planteó la agenda temática de prospectiva en nanomateriales. La agenda se propone a través de proyectos propuestos por el Centro para ser adelantados en los próximos años.

De los 32 retos de investigación planteados en el escenario de referencia, los investigadores del CENM seleccionaron 19. Se seleccionaron 3 retos como eje central de las actividades del CENM:

- **Desarrollo de una comprensión fundamental de las relaciones entre estructura y propiedades en la nanoescala.** Las propiedades de los nanomateriales son una función de su tamaño. Actualmente esta relación no puede predecirse apropiadamente para todas las variaciones de tamaño. Esto requerirá una mejor comprensión de las leyes que gobiernan el escalamiento físico de los materiales. Tampoco se comprende cabalmente, en este momento, el impacto que tiene la composición de las nanopartículas, ni la estructura de su superficie sobre las propiedades físicas y químicas. Lograr esta comprensión es necesario para el desarrollo de la estrategia de nanomateriales por diseño.
- **Desarrollo de una base de datos con los métodos para sintetizar y ensamblar nanomateriales que realizarán funciones predeterminadas en aplicaciones específicas.** Es imprescindible desarrollar un buen número de técnicas en tiempo real que permitan acelerar los procesos de síntesis de nuevos materiales con una estructura, función y nivel de pureza deseada. Estas técnicas deben estar rigurosamente documentadas de tal manera que puedan ser utilizadas como prácticas estándares tanto en los laboratorios de investigación como en las empresas de producción.
- **Implementar estrategias para atraer y preparar una fuerza de trabajo adecuada para la investigación y la manufactura de nuevos materiales.** La formación de investigadores, ingenieros y técnicos que dominen los fundamentos básicos de las diferentes disciplinas desde donde opera la nanotecnología y que, además, tengan las habilidades para poder diseñar y manipular la materia a escala nanométrica utilizando los instrumentos del sector, es fundamental para el impulso de los nanomateriales por diseño.

Los 9 retos a ser implementados por diversos grupos consisten en:

- **Desarrollar modelos, teorías y formas de validación experimental de las propiedades físicas y químicas en la nanoescala, incluyendo los principios cinéticos y termodinámicos que guían los procesos de síntesis y ensamble.** Es necesario comprender, con precisión, los límites cinemáticos y termodinámicos de los diferentes procesos de ensamble de nanomateriales, así como las implicaciones que estos tienen para los procesos de escalamiento de tamaño. Es probable que en muchas ocasiones los procesos de síntesis y de ensamble deban ocurrir en un solo proceso.
- **Desarrollar nuevos paradigmas para crear bloques primarios (“building blocks”) basados en la comprensión de la física y la química en la nanoescala.** Actualmente, el desarrollo sintético de los nuevos materiales se hace a través de un proceso heurístico ineficiente. Desarrollar métodos de síntesis que sean reproducibles y en los que la composición, los defectos, el tamaño y el orden de ensamblaje sean variables controlables vía nuestra comprensión de los principios físicos y químicos que los regulan, permitirá el diseño y fabricación de nuevos materiales con mayores oportunidades de éxito comercial.
- **Determinar el desempeño de los nanomateriales en la escala de trabajo de los laboratorios.** Este es un servicio que deben prestar cada vez con mayor precisión y celeridad los laboratorios para acelerar la comercialización de los productos que contienen componentes nanomateriales. Es muy probable que durante algún tiempo los productos que se fabriquen usen los nuevos materiales bajo los criterios actuales de diseño. Sin embargo, la meta es desarrollar un sistema de trabajo en donde las propiedades únicas de los nuevos materiales guíen el diseño de los nuevos productos.
- **Desarrollar procesos de dispersión y modificación de superficie que preserven la funcionalidad.** A menudo, una vez que un nanomaterial es producido (nanopartícula o nanotubo) debe ser modificado para poder ser utilizado en diversas aplicaciones. En estos casos, la preservación de las propiedades magnéticas, electrónicas, mecánicas y demás que le son únicas, es crucial. Es necesario el desarrollo de técnicas de diseño y de manipulación que permitan el escalamiento adecuado de los componentes nanomateriales y de los productos que los usan, manteniendo estas propiedades y asegurando que el proceso siga siendo

Comprensión fundamental y síntesis	*	Desarrollo de una comprensión fundamental de las relaciones entre estructura y propiedades en la nanoescala
	*	Desarrollar modelos, teorías y formas de validación experimental de las propiedades físicas y químicas en la nanoescala, incluyendo los principios cinéticos y termodinámicos que guían los procesos de síntesis y ensamble.
	*	Desarrollar nuevos paradigmas para crear bloques primarios (“building blocks”) basados en la comprensión de la física y la química en la nanoescala.
	*	Desarrollar nuevos paradigmas y estrategias de diseño para el ensamblaje controlado de nanocompuestos y resolver espacialmente nanoestructuras con grandes órdenes de alcance (“long-range order”)
	*	Desarrollar nuevos métodos de escaneo para determinar las relaciones entre estructura y propiedades.
	*	Determinar el desempeño de los nanomateriales en la escala de trabajo de los laboratorios.
	•	Desarrollo de una base de datos con los métodos para sintetizar y ensamblar nanomateriales que realizarán funciones predeterminadas en aplicaciones específicas.
Procesamiento y manufactura	*	Desarrollar unidades operacionales y métodos robustos para escalar hacia arriba y hacia abajo en los procesos de manufactura.
	*	Desarrollar novedosas técnicas de manufactura para un ensamblaje jerárquico.
	*	Desarrollar procesos de dispersión y modificación de superficie que preserven la funcionalidad.
	•	Desarrollar procesos de monitoreo y control para asegurar la consistencia de los productos nanomateriales.
	•	Desarrollar procesos que permitan integrar los nuevos materiales con aparatos existentes manteniendo las propiedades de nanoescala.
	–	Desarrollar la habilidad para remover impurezas en los insumos precursores para cumplir con las especificaciones de sus aplicaciones.
Herramientas para caracterización	*	Desarrollar métodos de caracterización en tiempo real y herramientas para la investigación y manufactura.
	•	Desarrollar la infraestructura necesaria para crear herramientas y procesos de manufactura.
Modelaje y simulación	*	Desarrollar modelos fundamentales para predecir con exactitud la formación de nanoestructuras.
	*	Desarrollar métodos para relacionar modelos entre escalas de tamaño.
	•	Mejorar la capacidad de investigación para apoyar el desarrollo de modelos.
Medio ambiente, seguridad y salud	*	Evaluar los impactos sobre la salud y el impacto en el medio ambiente.
	*	Determinar el potencial de impacto de la exposición de materiales en la escala nano.
	*	Establecer guías adecuadas para la operación de productos basados en nanomateriales.
Estándares e informática	*	Desarrollar procesos estándares para la síntesis de nanomateriales.
	*	Desarrollar un conjunto de materiales de referencia para estandarizar la medición de propiedades.
	*	Desarrollar métodos estándares para evaluar las propiedades físicas y químicas.
	*	Desarrollar estándares computacionales para mejorar el procesamiento y transferencia de información para modelar y simular.
	*	Desarrollar estándares para evaluar los materiales en sus aplicaciones.
	*	Establecer nomenclaturas estándares reconocidas internacionalmente.
	•	Establecer la infraestructura organizacional y otros requerimientos para impulsar el desarrollo de estándares.
Transferencia de conocimiento y tecnología	*	Establecer políticas para la transferencia de tecnología y el impulso de la comercialización.
	•	Construir una infraestructura que impulse compartir el conocimiento para facilitar la comprensión de la nanociencia e impulse su comercialización en el corto plazo.
Entrenamiento y educación	*	Implementar estrategias para atraer y preparar una fuerza de trabajo adecuada para la investigación y la manufactura de nuevos materiales.
	*	Promover el interés público y crítico por el desarrollo de la nanotecnología.

Rango de prioridad: Máximo * Alto • Medio –

Fuente: “Chemical industry R&D Roadmap for Nanomaterial by design”, Chemical Industry Vision 2020 Technology Partnership Energetics Inc., US Department of Energy, 2003.

Figura 24. Prioridades y retos en la investigación de los nueve frentes de trabajo en nanomateriales por diseño.

menos costoso que el de los productos sustitutos del mercado.

- **Desarrollar la habilidad para remover impurezas en los insumos precursores para cumplir con las especificaciones de sus aplicaciones.** Las aplicaciones de los nanomateriales suelen ser muy sensibles a las impurezas (por ejemplo en aplicaciones ópticas, electrónicas o médicas). Las técnicas actuales de remoción de impurezas a veces son demasiado costosas frente al valor marginal que se obtiene.
- **Desarrollar métodos para relacionar modelos entre escalas de tamaño.** Se necesitan modelos de predicción y de simulación que permitan relacionar las propiedades a nanoescala, a través del tiempo y de variaciones de tamaño, con algunas propiedades macroscópicas determinadas. Estos modelos facilitarán los procesos de diseño e ingeniería de los nuevos materiales.
- **Mejorar la capacidad de investigación para apoyar el desarrollo de modelos.** Para mejorar las técnicas y capacidades de modelaje y simulación es necesario desarrollar novedosas estrategias que permitan el trabajo mancomunado de diferentes expertos. Esto debe estar acompañado del mejoramiento de la capacidad de procesamiento y almacenamiento de datos.
- **Desarrollar procesos estándares para la síntesis de nanomateriales.** El estado actual de la síntesis de los nuevos materiales es similar al que tenía la química orgánica hace casi un siglo. En aquella época era común que cada nuevo método de síntesis que era descubierto fuese publicado en la literatura especializada. Sin embargo, una compilación sistemática de métodos verificados de síntesis no existía. La publicación del compendio sobre "Síntesis Orgánica" para llenar este vacío resultó en un incremento exponencial tanto en la preparación como en el uso de los materiales orgánicos. Un crecimiento similar ocurrió en la química inorgánica con la publicación de los métodos validados de "Síntesis Inorgánica". Es de esperar que el desarrollo de métodos estándares de síntesis de nanomateriales tenga un efecto similar en esta época.
- **Promover el interés público y crítico por el desarrollo de la nanotecnología.** Es muy importante propiciar espacios de formación y discusión en colegios, escuelas, universidades y demás instancias de participación sobre los riesgos reales del desarrollo y empleo de los nuevos materiales. Es necesario desmitificar el tema y generar una conciencia pública bien informada.

A corto plazo, las actividades del CENM buscarán establecer lazos estrechos con la industria para impulsar proyectos conjuntos de investigación. Lo anterior requerirá por parte del CENM, impulsar políticas gubernamentales que identifiquen áreas comunes de interés para la industria y el gobierno en el tema de los nuevos materiales y buscar fuentes de financiación a través de la oferta de servicios y del apoyo directo de la empresa privada a la investigación del Centro.

Conclusiones

El estudio prospectivo que aquí se presenta permitió proveer de un referente conceptual a los investigadores del CENM para determinar los quince objetivos que enmarcarán su agenda de trabajo en la siguiente década. Esta agenda, sin embargo, debe alinearse con una agenda nacional en nanotecnología.

En efecto, se observa que los tres actores claves en el desarrollo mundial de este campo son los centros de investigación (y universidades), las empresas y el gobierno. La creación de los Centros de Excelencia ha propiciado una integración entre los primeros actores. La integración con el sector empresarial, sin embargo, es crucial si se decide seguir el paradigma de nanomateriales por diseño que se presenta en este artículo. Determinar cuáles son los principales problemas de mayor impacto nacional en los que podría aportar la nanotecnología es una tarea impostergable. Esta tarea debe ser impulsada por el Gobierno Nacional a través de Colciencias.

La respuesta a esta pregunta permitirá focalizar los escasos recursos gubernamentales de investigación con los que se cuenta, facilitar la inversión de recursos del sector privado e integrar los proyectos de investigación de las Universidades y Centros de Investigación. Esta sería la respuesta nacional, *mutatis mutandi*, a la pregunta inicial planteada en este artículo: Nanotecnología, ¿Quo Vadis?

Referencias

- Anquetil, P. 2005. The impact of nanotechnology, Susquehanna Financial group, June 2005.
- Científica, 2003. The Nanotechnology Opportunity Report.
- Científica, 2005 ¿"Where has my money gone?"
- Coates, J. 1999. "Looking ahead: Opportunities and consequences in science and technology", Research and Technology Management, Jan/Feb., p. 36-41.
- Fecht, H., Ilgner, J. Köhler, T., Mietke, S., Werner, M. 2003. Nanotechnology Market and Company Report – Finding Hidden Pearls, WMtech Center of Excellence Micro and Nanomaterials, Ulm. citado en <http://cordis.europa.eu/nanotechnology>

- Feynman, R. P.** 1959. "There is plenty of room at the bottom", en Engineering and Science, Instituto Tecnológico de California. (También puede obtenerse una copia en la siguiente URL: <http://www.zyvex.com/nanotech/feynman.html>)
- Foresight Institute 2000. "Foresight guidelines on molecular nanotechnology". Revised version 3.7, en <http://www.foresight.org/iguidelines>
- Fuller, R. B.** 1979, "*Sinergetics: The Geometry of Thinking*", Macmillan, New York.
- Fundación de la Innovación Bankinter 2006. "La nanotecnología: la revolución industrial del siglo XXI", España.
- Grupo ETC 2003. "De los genomas a los átomos: la inmensidad de lo mínimo", www.etcgroup.org.
- Lux Research 2004. The Nanotech Report 2004.
- Lux Research 2006. Lux Research Report. Charts Shifts in Competitiveness as Winners and Losers Emerge in Nanotechnology, In: <http://www.prnewswire.com/cgi-bin/stories.pl?ACCT=104&STORY=/www/story/11-03-2005/0004207937&EDATE>
- Mansoori, A.** 2005. Principles of Nanotechnology, World Scientific Pub. Co.
- Mitsubishi Research Institute 2002. Cited by Kamel, S., Promoting Japanese-style Nanotechnology Enterprises, 2002.
- NSF 2001. NSF guide to programs Fiscal Year 2002 (NSF 02-03), Washington, D.C. p. 165.
- Park Cirlin, E.** 2004. "Overview of the Current status of Nanotechnology, Nanomaterials and their Applications". International Technology Associates. Los Angeles, California, UKC.
- Reynolds, G.H.** 2001. "Environmental regulations of nanotechnology", ELR News and Analysis, 6-2001. [Puede descargarse desde <http://www.wli.org>]
- Technology Partnership Energetics 2003, "Chemical industry R&D Roadmap for nanomaterial by design"; Chemical Industry Vision 2020; US. Department of Energy.
- Tomson, M.M., Wiesner, J., Hughes, C. and R. Smalley** 2002. "Nanomaterial fate and transport in the environment", NSF, EEC-0118007. [Puede descargarse desde www.cnst.rice.edu/cbnen/FateAndTransport.html]
- Valdés, J.** 2001. "La nanotecnología y el nuevo estudio del Comité internacional de Pesas y Medidas sobre las futuras necesidades en metrología".

Recibido: 5 de junio de 2008

Aceptado para su publicación: 7 de julio de 2008

MÉTRICAS PLANAS Y EL TEOREMA DE UNIFORMIZACIÓN EN TOROS MÍNIMOS DE LA ESFERA 3 DIMENSIONAL

Por

Oscar Montaña¹, Oscar Perdomo² & Nazly Salas³

Resumen

Montaña O, O. Perdomo & N. Salas: Métricas planas y el teorema de uniformización en toros mínimos de la esfera 3 dimensional. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 235-243, 2008. ISSN 0370-3908.

Sea (M, g) una superficie con una métrica riemanniana la cual es topológicamente un toro. El teorema de uniformización implica la existencia de una inmersión conforme $\phi: R^2 \rightarrow M$ la cual es una aplicación cubierta con la propiedad que el grupo H_0 de difeomorfismos $\rho: R^2 \rightarrow R^2$ tales que $\phi \circ \rho = \phi$, está conformado por traslaciones en R^2 y es isomorfo a Z^2 . La demostración clásica de este teorema utiliza herramientas de topología algebraica y de ecuaciones diferenciales parciales sobre espacios de Sobolev. En este artículo demostraremos este teorema en el caso particular de un toro mínimo inmerso en la esfera unidad 3 dimensional, S^3 , de una manera sencilla e innovadora, más precisamente, estos teoremas serán una consecuencia del estudio del operador de forma en toros mínimos en S^3 . En lo posible, trataremos que este artículo quede escrito de una manera auto-contenida, con el fin de darle un valor pedagógico y con el fin de inducir al lector en el estudio de toros mínimos en la esfera 3-dimensional. Recordemos que una de las conjeturas más importantes de la Geometría Diferencial Clásica es la conjetura de Lawson, la cual establece que el único toro encajado mínimo en S^3 es el toro de Clifford.

Palabras clave: esferas, toros mínimos, aplicaciones cubiertas.

Abstract

Let (M, g) be a torus with a riemannian metric g . The Uniformization theorem implies

¹ Universidad del Valle. Correo electrónico: oscar@puj.edu.co

² Central Connecticut State University, New Britain CT, USA. Correo electrónico: perdomoosm@ccsu.edu

³ Universidad Javeriana, Cali, Colombia, Correo electrónico: nazlyes@puj.edu.co

the existence of a covering conformal map $\phi : R^2 \rightarrow M$ such that the group H_ϕ of diffeomorphisms $\rho : R^2 \rightarrow R^2$ such that $\phi \circ \rho = \phi$, is a subgroup of the group of translations in R^2 and is isomorph to Z^2 . The classical proof of his theorem uses tools from algebraic topology and PDE's in Sobolev spaces. In this paper we will give an alternative and easier proof of this theorem in the case that M is a minimal immersed torus in the unit three dimensional sphere, S^3 . We will achieve this theorem by studying the shape operator of minimal torus on the sphere. One of the main ideas of the this paper is to induce the reader to the study of minimal torus in S^3 . Recall that one important conjecture in differential geometry is Lawson's conjecture. This conjecture states that the only minimal embedded tori in S^3 are the Clifford tori.

1. Introducción.

Sea $S^3 = \{x = (x_1, x_2, x_3, x_4) : |x|^2 = 1\}$ la esfera unidad contenida en R^4 , M una superficie topológicamente un toro y $\xi : M \rightarrow S^3$ una inmersión. Ya que M es un toro, M es orientable y existe una aplicación diferenciable $\nu : M \rightarrow S^3$ con la propiedad de que para todo $m \in M$, $\nu(\xi(m))$ es perpendicular a $\xi(m)$ y a $d\xi_m(T_m M) \subset R^4$. Ya que toda inmersión es localmente un encaje, muchas veces en este artículo, cuando estemos realizando argumentos locales, como cálculo de derivadas covariantes o laplacianos, identificaremos M con $\xi(M)$ y $T_m M$ con $d\xi_m(T_m M) \subset R^4$. Usando esta identificación se tiene que la diferencial de ν , $d\nu_m : T_m M \rightarrow d\xi_m(T_m M)$ puede ser vista, ya sea como una aplicación lineal de $d\xi_m(T_m M)$ a $d\xi_m(T_m M)$ o una aplicación lineal de $T_m M$ en $T_m M$. En la anterior afirmación hemos usado el hecho de que $d\nu_m(T_m M)$ no sólo es un subespacio de R^4 sino también un subespacio de $d\xi_m(T_m M)$. Al operador de forma en m lo denotaremos como $A_m : T_m M \rightarrow T_m M$ y está dado por $A_m(v) = -d\nu_m(v)$. La métrica riemanniana que se considerará en M será la inducida por la métrica estándar en S^3 y la inmersión ξ . Más precisamente, $g(m)(v, w) = \langle d\xi_m(v), d\xi_m(w) \rangle$ para todo $m \in M$ y $v, w \in T_m M$. Es bien conocido que el operador A_m es auto-adjunto, es decir $\langle A_m(v), w \rangle = \langle v, A_m(w) \rangle$. Nótese que de la misma forma como es natural identificar un vector $v \in T_m M$ con $d\xi_m(v) \in R^4$, es natural denotar a $g(m)(v, w)$ como $\langle v, w \rangle$; en la ecuación $\langle A_m(v), w \rangle = \langle v, A_m(w) \rangle$, estamos utilizando esta identificación. Ya que A_m es auto-adjunto, existen dos reales $\kappa_1(m)$ y $\kappa_2(m)$ y dos vectores unitarios y perpendiculares $V_1(m)$ y $V_2(m)$ en $T_m M$, tales que $A_m(V_1(m)) = \kappa_1(m)V_1(m)$, y $A_m(V_2(m)) = \kappa_2(m)V_2(m)$. Los valores $\kappa_1(m)$ y $\kappa_2(m)$ son llamados curvaturas principales y el promedio de las curvaturas principales es llamado la curvatura media de la inmersión ξ y denotado por $H(m)$. Diremos que la inmersión

M es mínima si $H(m) = 0$ para todo $m \in M$. En adelante supondremos que nuestra inmersión $\xi : M \rightarrow S^3$ es mínima, por lo tanto $\kappa_1(m) = -\kappa_2(m)$, y denotaremos a $a(m) = |\kappa_1(m)|$. Es conocido, véase [L] por ejemplo, que debido a que la característica de Euler de M es cero, entonces la función $a : M \rightarrow R$ nunca se anula, esto garantiza la existencia de campos vectoriales $V_1 : M \rightarrow R^4$ y $V_2 : M \rightarrow R^4$ diferenciables, unitarios y ortogonales los cuales satisfacen que $A(V_1) = aV_1$ y $A(V_2) = -aV_2$. Estos campos vectoriales serán muy importantes en este artículo y haremos referencia a ellos en varias ocasiones. Veamos un ejemplo concreto de una inmersión mínima. Sea

$$T = \left\{ (x_1, x_2, x_3, x_4) \in R^4 : x_1^2 + x_2^2 = \frac{1}{2}, x_3^2 + x_4^2 = \frac{1}{2} \right\}$$

Un cálculo directo muestra que $T \subset S^3$, $\nu(x) = (-x_1, -x_2, x_3, x_4)$ es una aplicación de Gauss, las curvaturas principales son $\kappa_1(x) = 1$ con vector propio asociado $V_1(x) = \sqrt{2}(-x_2, x_1, 0, 0)$ y $\kappa_2(x) = -1$ con vector propio asociado $V_2(x) = \sqrt{2}(0, 0, -x_4, x_3)$. Por lo tanto, tenemos que T es un toro mínimo encajado en S^3 y por ende cualquier movimiento rígido de T será también un toro mínimo. Estos toros son conocidos como toros de Clifford y hasta el momento, ellos constituyen los únicos ejemplos conocidos de toros mínimos encajados en S^3 . La conjetura que establece que los toros de Clifford son los únicos toros mínimos encajados en S^3 es conocida como la *conjetura de Lawson*.

Dados dos campos vectoriales V y W en R^n , denotaremos por $\bar{\nabla}$ la derivada conexión natural en R^n , es decir, si dV denota el diferencial de V y DV denota la matriz jacobiana de V vista como una función de R^n en R^n , entonces la siguiente relación se tiene,

$$(\bar{\nabla}_W V)(x) = dV_x(W(x)) = DV(x)W(x),$$

para todo $x \in R^n$. En el caso de que $V, W : M \rightarrow R^4$ sean dos campos vectoriales tangentes definidos en M , $\nabla_W V$ denotará la conexión de Levi-Civita en M . Nótese

que ([D, Capítulo 3])

$$\nabla_w V(m) = \{dV(m)(W(m))\}^T \quad \text{para todo } m \in M,$$

donde, para cualquier vector $\eta \in R^4$, η^T denota la proyección ortogonal del vector η en el subespacio dos dimensional $T_m M \subset R^4$.

Este artículo está organizado en 4 secciones. El primer teorema de la sección 2 y toda la sección 4 pueden ser omitidas por el lector experto en el área, pues ellas presentan resultados bien conocidos en geometría diferencial, aunque cabe rescatar que en estas secciones se han introducido pequeñas variaciones a las demostraciones clásicas con el fin de hacerlas más asequibles a una mayor cantidad de lectores.

Antes de continuar, los autores desean agradecer a la Pontificia Universidad Javeriana por su ayuda económica que permitió el desarrollo de este artículo.

2. Estudio del operador de forma para superficies en S^3 .

Consideremos una superficie M como en la introducción. En esta sección utilizaremos las ecuaciones de Codazzi para demostrar ciertas relaciones entre los campos vectoriales V_1 y V_2 y la función curvatura principal positiva $a : M \rightarrow R$ definida en la sección anterior. Estas relaciones nos permitirán definir la aplicación cubierta conforme de R^2 en el toro que satisface las condiciones mencionadas en el resumen. Con el fin de hacer la exposición más fácil de seguir para los lectores no especialistas en el área de la geometría diferencial, definiremos el tensor derivada covariante de A , DA , y luego demostraremos las ecuaciones de Codazzi.

Definición 2.1. Si A denota el operador de forma de la superficie M inmersa en S^3 , se define el tensor derivada covariante de A en el punto $m \in M$ como la aplicación lineal

$$DA_m : T_m M \times T_m M \longrightarrow T_m M$$

que toma dos vectores $v, w \in T_m M$ y los envía al vector,

$$DA_m(v, w) = \nabla_w A(V) - A_m(\nabla_w V),$$

donde V es un campo vectorial definido en una vecindad de m con la propiedad que $V(m) = v$.

Se demuestra que $DA(v, w)$ es independiente del campo vectorial V , siempre y cuando $V(m) = v$. A continuación enunciamos y demostraremos las ecuaciones de Codazzi.

Teorema 2.1. Sea $M \subset S^3 \subset R^4$ una superficie. Entonces $DA_m(v, w) = DA_m(w, v)$.

Demostración. Sean V y W dos campos vectoriales definidos en una vecindad de m tales que $V(m) = v$ y $W(m) = w$. Utilizando la definición de DA y la de tensor de curvatura, obtenemos que

$$\begin{aligned} DA_m(v, w) - DA_m(w, v) &= \\ \nabla_w A(V) - A_m(\nabla_w V) - \nabla_v A(W) + A_m(\nabla_v W) &= \\ = \nabla_w A(V) - \nabla_v A(W) - A_m([W, V]) &= \\ = -\nabla_w \bar{\nabla}_V \nu + \nabla_v \bar{\nabla}_W \nu + \bar{\nabla}_{[W, V]} \nu &= \\ = (\bar{R}(W, V)\nu)^T = 0^T = 0 \end{aligned}$$

donde \bar{R} es el tensor de curvatura en R^4 . ■

Usando las ecuaciones de Codazzi podemos encontrar ecuaciones para las derivadas de los campos vectoriales V_1 y V_2 correspondientes a los vectores propios del operador de forma. Veamos esto,

Proposición 2.1. Sea M una toro mínimo inmerso en S^3 y tomemos los campos vectoriales V_1, V_2 y la función $a : M \rightarrow R$ como en la sección 1. Las siguientes ecuaciones son ciertas,

- $\bar{\nabla}_{V_1} V_1 = \frac{D_{V_2}(a)}{2a} V_2 + a\nu - m$
- $\bar{\nabla}_{V_1} V_2 = -\frac{D_{V_2}(a)}{2a} V_1 = \nabla_{V_1} V_2$
- $\bar{\nabla}_{V_2} V_1 = -\frac{D_{V_1}(a)}{2a} V_2 = \nabla_{V_2} V_1$
- $\bar{\nabla}_{V_2} V_2 = \frac{D_{V_1}(a)}{2a} V_1 - a\nu - m,$

donde $D_{V_i}(a)$ representa a la derivada de a en la dirección de V_i para $i = 1$ ó 2 .

Demostración. Ya que para todo punto $m \in M$ los vectores $m, \nu(m), V_1(m), V_2(m)$ forman una base para R^4 , existen reales a_i, b_i, c_i y $d_i, i = 1, 2, 3, 4$, tales que

$$\begin{aligned} \bar{\nabla}_{V_1} V_1 &= a_1 V_1 + a_2 V_2 + a_3 \nu + a_4 m \\ \bar{\nabla}_{V_1} V_2 &= b_1 V_1 + b_2 V_2 + b_3 \nu + b_4 m \\ \bar{\nabla}_{V_2} V_1 &= c_1 V_1 + c_2 V_2 + c_3 \nu + c_4 m \\ \bar{\nabla}_{V_2} V_2 &= d_1 V_1 + d_2 V_2 + d_3 \nu + d_4 m \end{aligned}$$

Al derivar la ecuación $\langle V_1, V_1 \rangle = 1$ en la dirección V_1 , se obtiene que

$$a_1 = \langle \bar{\nabla}_{V_1} V_1, V_1 \rangle = \frac{1}{2} \nabla_{V_1} \langle V_1, V_1 \rangle = 0.$$

Análogamente al derivar la ecuación $\langle V_2, V_2 \rangle = 1$ en la dirección V_2 , obtenemos que $d_2 = 0$. De la misma manera se prueba que c_1 y b_2 son cero. Ahora, si derivamos

la expresión $\langle V_i(m), m \rangle = 0$ en las direcciones V_1 y V_2 , obtenemos que

$$a_4 = -1 \quad b_4 = 0 \quad c_4 = 0 \quad \text{y} \quad d_4 = -1.$$

Si utilizamos ahora las ecuaciones $\langle V_i, \nu \rangle = 0$ y las derivamos en las direcciones V_1 y V_2 , obtenemos que

$$a_3 = \langle \bar{\nabla}_{V_1} V_1, \nu \rangle = -\langle V_1, \bar{\nabla}_{V_1} \nu \rangle = \langle V_1, A(V_1) \rangle = a.$$

De la misma forma se deduce que

$$d_4 = -a.$$

Al derivar la ecuación $\langle V_1, V_2 \rangle = 0$ con respecto a V_1 y V_2 obtenemos que

$$a_2 = -b_1 \quad \text{y} \quad d_1 = -c_2.$$

A continuación se usa la ecuación de Codazzi $DA(V_1, V_2) = DA(V_2, V_1)$ para encontrar b_1 y c_2 .

$$\begin{aligned} DA(V_1, V_2) &= \nabla_{V_2} A(V_1) - A(\nabla_{V_2} V_1) \\ &= \nabla_{V_2} (aV_1) - A(c_2V_2) \\ &= D_{V_2}(a)V_1 + a\nabla_{V_2} V_1 - c_2A(V_2) \\ &= D_{V_2}(a)V_1 + ac_2V_2 + ac_2V_2 \\ &= D_{V_2}(a)V_1 + 2ac_2V_2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} DA(V_2, V_1) &= \nabla_{V_1} A(V_2) - A(\nabla_{V_1} V_2) \\ &= \nabla_{V_1} (-aV_2) - A(b_1V_1) \\ &= -D_{V_1}(a)V_2 - a\nabla_{V_1} V_2 - b_1A(V_1) \\ &= -D_{V_1}(a)V_2 - ab_1V_1 - ab_1V_1 \\ &= -D_{V_1}(a)V_2 - 2ab_1V_1 \end{aligned}$$

Igualando

$$D_{V_2}(a)V_1 + 2ac_2V_2 = -D_{V_1}(a)V_2 - 2ab_1V_1,$$

$$(D_{V_2}(a) + 2ab_1)V_1 + (D_{V_1}(a) + 2ac_2)V_2 = 0,$$

de donde podemos concluir usando la independencia lineal de los vectores V_1 y V_2 que

$$b_1 = -\frac{D_{V_2}(a)}{2a} \quad \text{y} \quad c_2 = -\frac{D_{V_1}(a)}{2a}.$$

Esto concluye la demostración de la proposición. ■

El siguiente lema establece una fórmula para calcular el laplaciano de una función definida en M en términos

de las derivadas con respecto a las direcciones V_i .

Lema 2.1: Sean M un toro mínimo inmerso en S^3 , $V_1 : M \rightarrow R^4$, $V_2 : M \rightarrow R^4$ y $a : M \rightarrow R$ como en la proposición anterior. Si $f : M \rightarrow R$ es una función diferenciable, entonces

$$\begin{aligned} \Delta f &= \nabla_{V_1} \nabla_{V_1} f + \nabla_{V_2} \nabla_{V_2} f \\ &\quad - \frac{1}{2a} (\nabla_{V_1} a \nabla_{V_1} f + \nabla_{V_2} a \nabla_{V_2} f) \\ &= \nabla_{V_1} \nabla_{V_1} f + \nabla_{V_2} \nabla_{V_2} f - \frac{1}{2a} \langle \nabla a, \nabla f \rangle \end{aligned}$$

Demostración. Por definición $\Delta f = \operatorname{div} \nabla f$ donde para todo campo vectorial X en M

$$\operatorname{div} X(m) = \langle \nabla_{e_1} X, e_1 \rangle + \langle \nabla_{e_2} X, e_2 \rangle$$

donde $\{e_1, e_2\}$ es cualquier base ortonormal de $T_m M$, en particular tenemos que

$$\operatorname{div} X = \langle \nabla_{V_1} X, V_1 \rangle + \langle \nabla_{V_2} X, V_2 \rangle$$

Ya que $\nabla f = \nabla_{V_1} f V_1 + \nabla_{V_2} f V_2$, entonces usando la expresión anterior obtenemos que

$$\begin{aligned} \Delta f &= \langle \nabla_{V_1} (\nabla_{V_1} f V_1 + \nabla_{V_2} f V_2), V_1 \rangle \\ &\quad + \langle \nabla_{V_2} (\nabla_{V_1} f V_1 + \nabla_{V_2} f V_2), V_2 \rangle \\ &= \nabla_{V_1} \nabla_{V_1} f + \nabla_{V_2} f \langle \nabla_{V_1} V_2, V_1 \rangle \\ &\quad + \nabla_{V_1} f \langle \nabla_{V_2} V_1, V_2 \rangle + \nabla_{V_2} \nabla_{V_2} f \\ &= \nabla_{V_1} \nabla_{V_1} f + \nabla_{V_2} \nabla_{V_2} f \\ &\quad - \frac{1}{2a} (\nabla_{V_1} a \nabla_{V_1} f + \nabla_{V_2} a \nabla_{V_2} f) \end{aligned}$$

Terminaremos esta sección con el siguiente lema cuya demostración utiliza la proposición y el lema anterior.

Lema 2.2. Sean M un toro mínimo inmerso en S^3 , $V_1 : M \rightarrow R^4$, $V_2 : M \rightarrow R^4$ y $a : M \rightarrow R$ como en la proposición anterior. Las siguientes fórmulas son ciertas,

$$[a^{-\frac{1}{2}} V_1, a^{-\frac{1}{2}} V_2] = 0 \quad \text{y} \quad \Delta \ln a = 2 - 2a^2$$

Demostración. La primera ecuación se demuestra usando la proposición 2.1, veamos esto,

$$\begin{aligned} [a^{-\frac{1}{2}}V_1, a^{-\frac{1}{2}}V_2] &= a^{-1}[V_1, V_2] + a^{-\frac{1}{2}}D_{V_1}(a^{-\frac{1}{2}})V_2 - a^{-\frac{1}{2}}D_{V_2}(a^{-\frac{1}{2}})V_1 \\ &= a^{-1}(\nabla_{V_1}V_2 - \nabla_{V_2}V_1) + a^{-\frac{1}{2}}\left[-\frac{1}{2a}D_{V_1}(a)V_2\right] - a^{-\frac{1}{2}}\left[-\frac{1}{2a}D_{V_2}(a)V_1\right] \\ &= a^{-1}\left(-\frac{D_{V_2}(a)}{2a}V_1 + \frac{D_{V_1}(a)}{2a}V_2\right) - \frac{D_{V_1}(a)}{2a^2}V_2 + \frac{D_{V_2}(a)}{2a^2}V_1 = \mathbf{0}. \end{aligned}$$

Para demostrar la segunda ecuación, calculemos primero la curvatura de Gauss K de M en términos de a y sus derivadas,

$$\begin{aligned} K &= \langle R(V_1, V_2)V_1, V_2 \rangle = \langle \nabla_{V_2}\nabla_{V_1}V_1 - \nabla_{V_1}\nabla_{V_2}V_1 + \nabla_{[V_1, V_2]}V_1, V_2 \rangle \\ &= \langle \nabla_{V_2}\left[\frac{\nabla_{V_2}(a)}{2a}V_2\right] - \nabla_{V_1}\left[-\frac{\nabla_{V_1}(a)}{2a}V_2\right] + \nabla_{(\nabla_{V_1}V_2 - \nabla_{V_2}V_1)}V_1, V_2 \rangle \\ &= -\frac{[\nabla_{V_2}(a)]^2}{2a^2} + \frac{\nabla_{V_2}\nabla_{V_2}(a)}{2a} - \frac{[\nabla_{V_1}(a)]^2}{2a^2} + \frac{\nabla_{V_1}\nabla_{V_1}(a)}{2a} + \langle \nabla_{(-\frac{\nabla_{V_2}(a)}{2a}V_1 + \frac{\nabla_{V_1}(a)}{2a}V_2)}V_1, V_2 \rangle \\ &= -\frac{[\nabla_{V_2}(a)]^2}{2a^2} + \frac{\nabla_{V_2}\nabla_{V_2}(a)}{2a} - \frac{[\nabla_{V_1}(a)]^2}{2a^2} + \frac{\nabla_{V_1}\nabla_{V_1}(a)}{2a} - \left[\frac{\nabla_{V_2}(a)}{2a}\right]^2 - \left[\frac{\nabla_{V_1}(a)}{2a}\right]^2 \\ &= \frac{\nabla_{V_1}\nabla_{V_1}(a)}{2a} + \frac{\nabla_{V_2}\nabla_{V_2}(a)}{2a} - \frac{3}{4a^2}[\nabla_{V_1}(a)]^2 - \frac{3}{4a^2}[\nabla_{V_2}(a)]^2 \\ &= \frac{\nabla_{V_1}\nabla_{V_1}(a)}{2a} + \frac{\nabla_{V_2}\nabla_{V_2}(a)}{2a} - \frac{3}{4a^2}|\nabla a|^2 \end{aligned}$$

Ahora, ya que S^3 tiene curvatura seccional constante igual a 1, la ecuación de Gauss nos dice que $K = 1 + \kappa_1\kappa_2 = 1 - a^2$. Combinando estas dos expresiones para K obtenemos que,

$$\frac{\nabla_{V_1}\nabla_{V_1}(a)}{2a} + \frac{\nabla_{V_2}\nabla_{V_2}(a)}{2a} - \frac{3}{4a^2}|\nabla a|^2 = 1 - a^2.$$

Usando esta última ecuación y el lemma 2.1 obtenemos que

$$\begin{aligned} \Delta \ln a &= D_{V_1}D_{V_1}(\ln a) + D_{V_2}D_{V_2}(\ln a) - \frac{1}{2a}\langle \nabla \ln a, \nabla a \rangle \\ &= D_{V_1}(a^{-1}D_{V_1}(a)) + D_{V_2}(a^{-1}D_{V_2}(a)) - \frac{1}{2a}\frac{1}{a}\langle \nabla a, \nabla a \rangle \\ &= -a^{-2}[(D_{V_1}(a))^2 + (D_{V_2}(a))^2] + a^{-1}[D_{V_1}D_{V_1}(a) + D_{V_2}D_{V_2}(a)] - \frac{1}{2a^2}|\nabla a|^2 \\ &= -a^{-2}|\nabla a|^2 + a^{-1}[2a(1 - a^2) + \frac{3}{2a}|\nabla a|^2] - \frac{1}{2a^2}|\nabla a|^2 \\ &= 2 - 2a^2 \end{aligned}$$

Lo cual termina la demostración. ■

3. Una aplicación cubierta para toros mínimos en S^3 .

En esta sección construiremos una aplicación cubierta de R^2 a un toro M inmerso en S^3 . Antes de continuar, escribamos uno de los lemas más importantes de la demostración. Este lema puede ser encontrado en [B], o

para una demostración más elemental, invitamos al lector a leer el apéndice al final de este artículo.

Lema 3.1: Sean M un toro inmerso en S^3 , X y Y dos campos vectoriales en M y $\theta : M \times R \rightarrow M$ y $\eta : M \times R \rightarrow M$ los flujos asociados a los campos vectoriales X y Y respectivamente. Si $[X, Y](p) = \mathbf{0}$ para todo $p \in M$, entonces los flujos conmutan.

La demostración de este lema está en la sección 4. Ahora enunciemos el resultado más importante de esta sección

Teorema 3.1. *Sea M un toro mínimo inmerso en S^3 , $a : M \rightarrow R$ la función curvatura principal positiva, V_1 y V_2 , los campos vectoriales unitarios definidos en la sección 1, $X = a^{-\frac{1}{2}}V_1$ y $Y = a^{-\frac{1}{2}}V_2$ y $\theta : M \times R \rightarrow M$ y $\eta : M \times R \rightarrow M$ los flujos asociados a los campos vectoriales X y Y respectivamente. Si p_0 es un punto fijo en M , entonces la aplicación $\phi : R^2 \rightarrow M$ dada por*

$$\phi(x, y) = \theta_x(\eta_y(p_0))$$

es una aplicación cubierta tal que el grupo de difeomorfismos $\rho : R^2 \rightarrow R^2$ es un subgrupo, isomorfo a Z^2 , del grupo de traslaciones.

Demostración: Por la definición de flujo, tenemos que $\frac{\partial \phi}{\partial x}(x, y) = X(\phi(x, y))$ y ya que $[X, Y] = \mathbf{0}$, por el lema 3.1, deducimos que

$$\phi(x, y) = \theta_x(\eta_y(p_0)) = \eta_y(\theta_x(p_0))$$

Por lo tanto, también podemos concluir que $\frac{\partial \phi}{\partial y}(x, y) = Y(\phi(x, y))$. Puesto que los vectores $X(p)$ y $Y(p)$ son linealmente independientes para todo $p \in M$, el teorema de la función inversa implica que ϕ es un difeomorfismo local. $\phi(R^2)$ no es vacío porque $\phi(0, 0) = p_0 \in M$. Para demostrar que ϕ cubre todo M basta demostrar que $\phi(R^2)$ es abierto y cerrado porque M es conexo.

Claramente $\phi(R^2)$ es abierto porque ϕ es un difeomorfismo local y porque R^2 es abierto. Demostremos ahora que $\phi(R^2)$ es cerrado. Sea $p_1 \notin \phi(R^2)$ y definimos

$$\xi(x, y) = \theta_x(\eta_y(p_1)) = \eta_y(\theta_x(p_1))$$

y demostremos por contradicción que $\xi(R^2)$ está contenido en el complemento de $\phi(R^2)$ lo que termina la demostración porque $\xi(R^2)$ es un abierto que contiene a p_1 . Supongamos que $\xi(R^2) \cap \phi(R^2) \neq \emptyset$, entonces, existe $q \in M$ tal que $q = \xi(s, t) = \phi(u, v)$, esto es una contradicción porque de ser cierto se tendría que,

$$\phi(u-s, v-t) = \theta_{-s}(\eta_{-t}(\theta_u(\eta_v(p_0)))) = \theta_{-s}(\eta_{-t}(q)) = p_1,$$

lo cual es imposible porque estamos suponiendo que $p_1 \notin \phi(R^2)$. Por lo tanto ϕ es sobreyectiva. Demostremos que $H_\phi = \{\rho : R^2 \rightarrow R^2 : \phi \circ \rho = \phi\}$ está conformado por traslaciones, es decir, que si $\phi(\rho(x, y)) = \phi(x, y)$ entonces $\rho(x, y)$ es una traslación.

Sea $A = \phi^{-1}(p_0)$. Para cualquier $a = (s, t) \in A$ definamos $\rho_a(x, y) = (x + s, y + t)$. La siguiente igualdad

demuestra que $\rho_a \in H_\phi$

$$\phi(\rho_a(x, y)) = \theta_x(\eta_y(\theta_s(\eta_t(p_0)))) = \theta_x(\eta_y(p_0)) = \phi(x, y).$$

Demostremos ahora que cualquier elemento en H_ϕ es de la forma ρ_a para algún $a \in A$. Dado $\rho \in H_\phi$, tomemos $h = \rho_a^{-1} \circ \rho$ donde $a = \rho(0, 0)$. Nótese que $a \in A$ porque $\phi(\rho(a)) = \phi(a) = p_0$. Ya que H_ϕ es un grupo, se tiene que $h \in H_\phi$. Nótese que $h(0, 0) = \rho_a^{-1}(\rho(0, 0)) = \rho_a^{-1}(a) = (0, 0)$. Ya que

$$h(0, 0) = (0, 0) \quad \text{y} \quad \phi(h(x, y)) = \phi(x, y),$$

entonces podemos deducir del hecho de que ϕ es localmente invertible, que h es la aplicación identidad, por lo tanto $\rho = \rho_a$.

El anterior argumento demostró que (i) H_ϕ está conformado por traslaciones, (ii) el conjunto A es un conjunto sin puntos límites (ya que ϕ es localmente invertible) y (iii) A es un subgrupo del grupo aditivo R^2 el cual es isomorfo a H_ϕ .

Una vez conocido el grupo H_ϕ , se verifica fácilmente que si $p = \phi(x, y) \in M$, entonces existe un abierto U de M que contiene a p tal que $\phi^{-1}(U)$ es abierto y tal que ϕ restringido a cada componente conexa de $\phi^{-1}(U)$ es invertible. Para ver esto basta tomar abiertos U de M y V de R^2 tales que $\phi(V) = U$ y tales que ϕ restringida a V sea inyectiva. Se verifica que $\cup_{a \in A} \rho_a(V) = \phi^{-1}(U)$, que $\phi_a(V) \cap \phi_b(V) = \emptyset$ si $a \neq b$ y que ϕ restringida a cada $\phi_a(V)$ es inyectiva. Esto completa la demostración de que ϕ es una aplicación cubierta. Resta demostrar que el grupo A es un grupo isomorfo a Z^2 . Empecemos notando que A no puede ser el conjunto $\{(0, 0)\}$, porque de serlo, tendríamos que ϕ sería inyectiva y por lo tanto un difeomorfismo. Esto es imposible porque un toro es compacto y R^2 no lo es. Sea $a_1 \neq (0, 0)$ un elemento en A con la propiedad de que $|a_1| \leq |a|$ para todo $a \in A$, este a_1 existe porque el conjunto A no tiene puntos límites. Ya que A es grupo, tenemos que el conjunto $B = \{na_1 : n \in Z\}$ está contenido en A . Demostremos por contradicción que $A \neq B$. Si A fuese igual a B , entonces, definiendo la relación de equivalencia $(x, y) \sim (s, t)$ si $(x - s, y - t) \in B$, tendríamos que $C = \frac{R^2}{\sim}$ es topológicamente un cilindro, en particular C , con la topología cociente inducida por R^2 y por la relación de equivalencia no es compacta, por otro lado, la aplicación

$$\tilde{\phi}([(x, y)]) = \phi(x, y)$$

está bien definida por la definición de A y claramente define un homeomorfismo entre C y M , lo cual es imposible porque C no compacta y M si lo es. Por lo tanto $A \neq B$

y podemos tomar un vector $a_2 \in A \setminus B$, $a_2 \neq (0, 0)$ con la propiedad de que $|a_2| \leq |a|$ para todo $a \in A \setminus B$. Definamos

$$D = \{na_1 + ma_2 : n, m \in M\}$$

Claramente, $D \subset A$ porque A es un grupo. Demostremos que $A = D$. Primero, note que por la definición de a_1 y a_2 tenemos que ϕ es inyectiva cuando la restringimos al conjunto

$$E = \{xa_1 + ya_2 : 0 \leq x < 1, 0 \leq y < 1\},$$

ya que si $\phi(c) = \phi(d)$ para algún par de puntos en E tendríamos que al menos uno de los 9 vectores de la forma

$$c - d + na_1 + ma_2 \quad \text{con} \quad n, m \in Z, -1 \leq n, m \leq 1,$$

no pertenece a B y tiene norma menor que $|a_2|$, esto es una contradicción porque todos estos 9 vectores son elementos de A . El hecho de que ϕ sea inyectiva en E garantiza que $A = D$ porque si existiese un vector e en $A \setminus D$, entonces sería posible encontrar enteros r y s tales que $g = e + ra_1 + sa_2$ pertenece a E , es diferente de $(0, 0)$ y tal que $\phi(g) = p_0 = \phi(0, 0)$, lo cual es una contradicción. Esto termina la demostración que H_ϕ es isomorfo a Z^2 y por lo tanto la demostración del teorema. ■

Corolario 3.1. Si M es un toro mínimo inmerso en S^3 y g_0 es la métrica inducida por S^3 , entonces la métrica $g = ag_0$ es una métrica plana.

Demostración. Basta verificar que si tomamos esta métrica $g = ag_0$ y tomamos los campos vectoriales X y Y y la función ϕ como en el teorema anterior, se tiene que

$$\begin{aligned} g(X, X) &= g(a^{-\frac{1}{2}}V_1, a^{-\frac{1}{2}}V_1) \\ &= ag_0(a^{-\frac{1}{2}}V_1, a^{-\frac{1}{2}}V_1) \\ &= aa^{-1}g_0(V_1, V_1) = 1, \end{aligned}$$

lo cual es equivalente al hecho de que $g\left(\frac{\partial\phi}{\partial x}, \frac{\partial\phi}{\partial x}\right) = 1$. De la misma manera se verifica que $g(X, Y) = 0$ y que $g(Y, Y) = 1$. Estas igualdades implican que ϕ es una isometría local cuando tomamos la métrica g en M . Ya que R^2 tiene curvatura 0, concluimos que g , por ser localmente isométrica a R^2 , también tiene curvatura 0, es decir, es una métrica plana. ■

Observación. Este corolario confirma la ecuación para el laplaciano de $\ln a$ en el lema 2.2 y la ecuación para que un cambio conforme de la métrica sea una métrica plana. Es conocido que $g = e^{2f}g_0$ es una métrica plana

si y solo si (véase [K])

$$\Delta f - K = 0, \quad (1)$$

donde el laplaciano es tomado con respecto a la métrica inicial g_0 y K es la curvatura de Gauss del M con respecto a la métrica g_0 . En nuestro caso $e^{2f} = a$ y por lo tanto $f = \frac{1}{2} \ln(a)$, pero por el lema 2.2, tenemos que

$$\Delta f = 1 - a^2.$$

Nótese que en últimas, mediante el estudio del operador de forma, hemos encontrado una solución explícita a la ecuación (1) en derivadas parciales.

4. Apéndice: Demostraciones elementales de algunos lemas.

En esta sección presentamos varios lemas que se emplearon en la demostración del teorema central, el Teorema 3.1, los cuales a pesar de ser conocidos, pues en esencia, estos lemas hacen parte de la demostración del teorema de Frobenius, los presentaremos en este artículo por completés y porque las demostraciones que mostramos tienen unos pequeños cambios que los hacen más fáciles de entender para el lector que sólo tiene un buen dominio de cálculo avanzado. Enunciemos y demostremos estos lemas

Lema 4.1. Sean \tilde{X} y \tilde{Y} dos campos vectoriales en R^2 y $\tilde{\theta} : R^2 \times R \rightarrow R^2$ y $\tilde{\eta} : R^2 \times R \rightarrow R^2$ los flujos asociados a los campos vectoriales \tilde{X} y \tilde{Y} respectivamente. Si (x_0, y_0) es un punto fijo en R^2 y $\tilde{\alpha} : R \rightarrow R^2$ es la curva

$$\tilde{\alpha}(t) = D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(x_0, y_0)) \cdot \tilde{Y}(\tilde{\theta}_t(x_0, y_0))$$

entonces $\tilde{\alpha}'(0) = [\tilde{X}, \tilde{Y}](x_0, y_0)$, donde D es la derivada con respecto a las variables espaciales x y y .

Demostración. Sea p un punto en una vecindad de $(x_0, y_0) \in R^2$. Se pretende demostrar que

$$\left[\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \right]_{t=0} = -D\tilde{X}(p).$$

Para ello partamos de $\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) = p$; entonces $D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \cdot D\tilde{\theta}_t(p) = I$ y para $t = 0$, $D\tilde{\theta}_0(p) = D(p) = I$, lo que implica que $D\tilde{\theta}_0(\tilde{\theta}_0(p)) = I$ y además

$$\left[\left(\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \right) \cdot D\tilde{\theta}_t(p) + D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \cdot \frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_t(p) \right]_{t=0} = 0$$

$$\left[\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \right]_{t=0} + \left[\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_t(p) \right]_{t=0} = 0$$

$$\left[\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \right]_{t=0} = - \left[\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_t(p) \right]_{t=0} = -D\tilde{X}(p)$$

Para comprobar la última igualdad, suponga que $\tilde{\theta}_t(u_1, u_2) = (\tilde{\theta}_1(t, u_1, u_2), \tilde{\theta}_2(t, u_1, u_2))$ y $X(u_1, u_2) = (b_1(u_1, u_2), b_2(u_1, u_2))$ entonces

$$\begin{aligned} D\tilde{\theta}_t(p) &= \begin{bmatrix} \frac{\partial \tilde{\theta}_1}{\partial u_1} & \frac{\partial \tilde{\theta}_1}{\partial u_2} \\ \frac{\partial \tilde{\theta}_2}{\partial u_1} & \frac{\partial \tilde{\theta}_2}{\partial u_2} \end{bmatrix} (p) \\ \frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_t(p) &= \begin{bmatrix} \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial \tilde{\theta}_1}{\partial u_1} & \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial \tilde{\theta}_1}{\partial u_2} \\ \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial \tilde{\theta}_2}{\partial u_1} & \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial \tilde{\theta}_2}{\partial u_2} \end{bmatrix} (p) \\ &= \begin{bmatrix} \frac{\partial}{\partial u_1} \frac{\partial \tilde{\theta}_1}{\partial t} & \frac{\partial}{\partial u_2} \frac{\partial \tilde{\theta}_1}{\partial t} \\ \frac{\partial}{\partial u_1} \frac{\partial \tilde{\theta}_2}{\partial t} & \frac{\partial}{\partial u_2} \frac{\partial \tilde{\theta}_2}{\partial t} \end{bmatrix} (p) \\ &= \begin{bmatrix} \frac{\partial b_1}{\partial u_1} & \frac{\partial b_1}{\partial u_2} \\ \frac{\partial b_2}{\partial u_1} & \frac{\partial b_2}{\partial u_2} \end{bmatrix} (\tilde{\theta}_t(p)) \end{aligned}$$

porque $\frac{d}{dt} \tilde{\theta}_t(p) = X(\tilde{\theta}_t(p)) = (b_1(\tilde{\theta}_t(p)), b_2(\tilde{\theta}_t(p)))$. Así

$$\begin{aligned} \tilde{\alpha}'(0) &= \left[\frac{d}{dt} D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(x_0, y_0)) \right]_{t=0} \tilde{Y}(x_0, y_0) \\ &+ \left[D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(x_0, y_0)) \right]_{t=0} \left[\frac{d}{dt} \tilde{Y}(\tilde{\theta}_t(x_0, y_0)) \right]_{t=0} \\ &= -D\tilde{X}(x_0, y_0) \tilde{Y}(x_0, y_0) + D_{\tilde{X}} \tilde{Y}(x_0, y_0) \\ &= [\tilde{X}, \tilde{Y}](x_0, y_0). \quad \blacksquare \end{aligned}$$

Lema 4.2. Sean M un toro inmerso en S^3 , X y Y dos campos vectoriales en M y $\theta : M \times R \rightarrow M$ y $\eta : M \times R \rightarrow M$ los flujos asociados a los campos vectoriales X y Y respectivamente. Si (x_0, y_0) es un punto fijo en M y $\alpha : R \rightarrow M$ es la curva $\alpha(t) = d\theta_{-t}(\theta_t(p)) \cdot Y(\theta_t(p))$ entonces $\alpha'(0) = [X, Y](p)$.

Demostración. Sea $\varphi : R^2 \rightarrow M$ una parametrización de M . Se cumple entonces que

$$X(\varphi(u, v)) = \tilde{a}_1(u, v) \frac{\partial \varphi}{\partial u}(u, v) + \tilde{a}_2(u, v) \frac{\partial \varphi}{\partial v}(u, v)$$

y

$$Y(\varphi(u, v)) = \tilde{b}_1(u, v) \frac{\partial \varphi}{\partial u}(u, v) + \tilde{b}_2(u, v) \frac{\partial \varphi}{\partial v}(u, v).$$

Si definimos los campos vectoriales \tilde{X} y \tilde{Y} en R^2 como, $\tilde{X}(u, v) = \tilde{a}_1(u, v)e_1 + \tilde{a}_2(u, v)e_2$ y $\tilde{Y}(u, v) = \tilde{b}_1(u, v)e_1 +$

$\tilde{b}_2(u, v)e_2$ entonces, se verifica fácilmente que

$$d\varphi(\tilde{X}(r, s)) = X(\varphi(r, s)) \quad \text{y} \quad d\varphi(\tilde{Y}(r, s)) = Y(\varphi(r, s)).$$

Más aún, si $[\tilde{X}, \tilde{Y}](u, v) = \tilde{c}_1(u, v)e_1 + \tilde{c}_2(u, v)e_2$, usando la definición de "bracket" entre dos campos vectoriales en coordenadas (véase [D]), se tiene que

$$[X, Y](\varphi(u, v)) = \tilde{c}_1(u, v) \frac{\partial \varphi}{\partial u}(u, v) + \tilde{c}_2(u, v) \frac{\partial \varphi}{\partial v}(u, v).$$

Sean $\tilde{\theta} : R^2 \times R \rightarrow R^2$ y $\tilde{\eta} : R^2 \times R \rightarrow R^2$ los flujos asociados a los campos vectoriales \tilde{X} y \tilde{Y} respectivamente, y demostremos que

$$\varphi(\tilde{\theta}_t(u, v)) = \theta_t(\varphi(u, v)).$$

Nótese que la curva $\gamma(t) = \varphi(\tilde{\theta}_t(u, v))$ satisface $\gamma(0) = \varphi(u, v)$ y

$$\begin{aligned} \gamma'(t) &= d\varphi\left(\frac{d\tilde{\theta}_t(u, v)}{dt}\right) = d\varphi(\tilde{X}(\tilde{\theta}_t(u, v))) \\ &= X(\varphi(\tilde{\theta}_t(u, v))) = X(\gamma(t)) \end{aligned}$$

Por lo tanto, $\theta_t(\varphi(u, v)) = \gamma(t) = \varphi(\tilde{\theta}_t(u, v))$ lo cual era lo que deseábamos probar. Esta última igualdad la podemos escribir como,

$$\theta_{-t}(w) = \varphi \circ \tilde{\theta}_{-t} \circ \varphi^{-1}(w).$$

Nótese que si tomamos $p = \varphi(u, v)$, $w = \theta_t(p)$, entonces $w = \varphi(z)$ donde $z = \tilde{\theta}_t(u, v)$. Más aún, usando la relación que existe entre Y y \tilde{Y} , tenemos que $d\varphi(z)(\tilde{Y}(z)) = Y(w)$. Terminemos la demostración comprobando que si $\alpha(t) = d\theta_{-t}(\theta_t(p))(Y(\theta_t(p)))$ entonces $\alpha'(0) = [X, Y](p)$. Por la regla de la cadena se tiene que

$$\begin{aligned} d\theta_{-t}(w)(Y(w)) &= d\varphi(u, v) \circ d\tilde{\theta}_{-t}(z) \circ D\varphi^{-1}(w)(Y(w)) \\ &= d\varphi(u, v) \circ d\tilde{\theta}_{-t}(z) \circ D\varphi^{-1}(w)(D\varphi(z)(\tilde{Y}(z))) \\ &= d\varphi(u, v) \circ d\tilde{\theta}_{-t}(z)(\tilde{Y}(z)). \end{aligned}$$

La igualdad anterior muestra que si definimos

$$\tilde{\alpha}(t) = D\tilde{\theta}_{-t}(\tilde{\theta}_t(p)) \cdot \tilde{Y}(\tilde{\theta}_t(u, v))$$

entonces, $\alpha(t) = d\varphi(u, v)(\tilde{\alpha}(t))$, de donde se deduce, usando el lema anterior, que $\alpha'(0) = d\varphi(u, v)([\tilde{X}, \tilde{Y}](u, v)) = [X, Y](p)$. ■

Lema 3.1. Sean M un toro inmerso en S^3 , X y Y dos campos vectoriales en M y $\theta : M \times R \rightarrow M$ y $\eta : M \times R \rightarrow M$ los flujos asociados a los campos vectoriales X y Y respectivamente. Si $[X, Y](p) = 0$ para todo $p \in M$ entonces los flujos conmutan.

Demostración. Para cada $m \in M$ definamos $\alpha_m(t) = d\theta_{-t}(\theta_t(m))Y(\theta_t(m))$. Por el lema anterior tenemos que $\alpha_m'(0) = [X, Y](m) = 0$.

Sea $\beta(\tau) = \alpha_p(t + \tau)$ luego $\beta'(0) = \alpha'(t)$. Por otro lado tenemos que

$$\beta(\tau) = d\theta_{-t-\tau}(\theta_{t+\tau}(p))Y(\theta_{t+\tau}(p)).$$

Como $\theta_{-t-\tau}(z) = \theta_{-t}(\theta_{-\tau}(z))$, entonces,

$$d\theta_{-t-\tau}(z) = d\theta_{-t}(\theta_{-\tau}(z)) \circ d\theta_{-\tau}(z).$$

Haciendo $z = \theta_{t+\tau}(p)$ se cumple que

$$\beta(\tau) = d\theta_{-t}(\theta_t(p)) \circ d\theta_{-\tau}(\theta_{t+\tau}(p))Y(\theta_{t+\tau}(p))$$

Si definimos $q = \theta_t(p)$, se obtiene que

$$\beta(\tau) = d\theta_{-t}(q)(d\theta_{-\tau}(\theta_\tau(q))Y(\theta_\tau(q))).$$

Por tanto $\beta(\tau) = d\theta_{-t}(q)(\alpha_q(\tau))$. De aquí se obtiene que

$$\frac{d}{d\tau}\beta(\tau) = d\theta_{-t}(q)\frac{d}{d\tau}\alpha_q(\tau) = \mathbf{0}.$$

Como $\alpha_p'(t) = \mathbf{0}$ se cumple que $\alpha_p(t) = \alpha_p(-t) = \alpha_p(0) = Y(p)$ por tanto $d\theta_t(\theta_{-t}(p))Y(\theta_{-t}(p)) = Y(p)$. Si $q = \theta_{-t}(p)$ entonces $p = \theta_t(q)$ y se tiene que $d\theta_t(q)Y(q) = Y(\theta_t(q))$. Sea $F = \theta_t$ entonces se cumple que $dF(q)Y(q) = Y(F(q))$. Sea η_s el flujo asociado al campo vectorial Y y consideremos las curvas $\delta(s) = \eta_s(F(q))$ y $\gamma(s) = F(\eta_s(q))$. Ellas cumplen que $\delta(0) = \eta_0(F(q)) = F(q) = p$ y $\gamma(0) = F(\eta_0(q)) = F(q) = p$, por tanto $\delta(0) = \gamma(0)$. Además se tiene que

$$\delta'(s) = Y(\delta(s))$$

y

$$\gamma'(s) = dF(\eta_s(q))Y(\eta_s(q)) = Y(F(\eta_s(q))) = Y(\gamma(s)).$$

Por el teorema de existencia y unicidad se tiene que $\delta(s) = \gamma(s)$, lo que implica que $\eta_s(F(q)) = F(\eta_s(q))$, es decir que $\eta_s(\theta_t(q)) = \theta_t(\eta_s(q))$; por tanto los flujos conmutan. ■

Bibliografía

- [B] **Boothby, W. M.** *An introduction to differentiable manifolds and riemannian geometry*. Second Edition. Academic Press, Inc. (1990).
- [D] **Do Carmo, Manfredo.** *Riemannian Geometry*. Second Edition. Birkhäuser, Boston. (1992).
- [K] **Kazdan, J. L. & Warner, F.** *Scalar curvature and conformal deformations of riemannian structure*. J. Diff. Geometry. **10** (1975), 113–134.
- [L] **Lawson, H. B.** *Complete minimal surfaces in S^3* , Ann. Math. (2) **92** (1970) pp. 335–374.

Recibido el 26 de marzo de 2007

Aceptado para su publicación el 30 de mayo de 2008

INVERSE FINITE-TYPE RELATIONS BETWEEN SEQUENCES OF POLYNOMIALS

By

Francisco Marcellán¹ & Ridha Sfaxi²

Abstract

Marcellán, F. & R. Sfaxi: Inverse finite-type relations between sequences of polynomials. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 245-255, 2008. ISSN 0370-3908.

Let ϕ be a monic polynomial, with $\deg \phi = t \geq 0$. We say that there is a finite-type relation between two monic polynomial sequences $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ with respect to ϕ , if there exists $(s, r) \in \mathbb{N}^2$, $r \geq s$, such that

$$\phi(x)Q_n(x) = \sum_{\nu=n-s}^{n+t} \lambda_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq s, \quad \text{with } \lambda_{r,r-s} \neq 0. \quad (*)$$

The corresponding inverse finite-type relation of $(*)$ consists in a finite-type relation as follows:

$$\Omega_s^*(x; n)B_n(x) = \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu} Q_\nu(x), \quad n \geq t, \quad \text{with } \theta_{r+t,r} \neq 0,$$

where $\deg \Omega_s^*(x; n) = s$, $n \geq t$. When the orthogonality of the two previous sequences is assumed, the inverse finite-type relation is always possible [11]. This work essentially studies the case when only the sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is orthogonal. In fact, we find necessary and sufficient conditions leading to inverse finite-type relations. In particular, the structure relation characterizing semi-classical sequences is a special case of the general situation. Some examples will be analyzed.

¹ Departamento de Matemáticas, Universidad Carlos III de Madrid, Avenida de la Universidad 30, 28911 Leganés, Spain. Correo electrónico: pacomarc@ing.uc3m.es

² Département des Méthodes Quantitatives, Institut Supérieur de Gestion de Gabès, Avenue Jilani Habib 6002, Gabès, Tunisie. Correo electrónico: ridhasfaxi@yahoo.fr

Key words: Finite-type relations, recurrence relations, orthogonal polynomials, semi-classical polynomials.

Resumen

Sea ϕ un polinomio mónico, con $\deg \phi = t \geq 0$. Decimos que hay relación de tipo finito entre dos sucesiones de polinomios mónicos $\{B_n\}_{n \geq 0}$ y $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ con respecto a ϕ , si existe $(s, r) \in \mathbb{N}^2$, $r \geq s$, tal que

$$\phi(x)Q_n(x) = \sum_{\nu=n-s}^{n+t} \lambda_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq s, \quad \text{with } \lambda_{r,r-s} \neq 0. \quad (*)$$

La correspondiente relación de tipo finito de $(*)$ consiste en una relación de tipo finito como sigue:

$$\Omega_s^*(x; n)B_n(x) = \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* Q_\nu(x), \quad n \geq t, \quad \text{with } \theta_{r+t,r}^* \neq 0,$$

donde $\deg \Omega_s^*(x; n) = s$, $n \geq t$. Cuando se supone la ortogonalidad de las dos sucesiones previas, la relación de tipo finito inversa siempre es posible [11]. En este trabajo se estudia el caso en que solo la sucesión $\{B_n\}_{n \geq 0}$ es ortogonal. De hecho, encontramos condiciones necesarias y suficientes que conducen a relaciones de tipo finito inversas. En particular, la la relación de estructura que caracteriza a las sucesiones semiclásicas es un caso especial de la situación general. Se estudian varios ejemplos.

Palabras clave: Relaciones de tipo finito, relaciones de recurrencia, polinomios ortogonales, polinomios semi clásicos.

1. Introduction and background

Let \mathbb{P} be the linear space of complex polynomials in one variable and \mathbb{P}' its topological dual space. We denote by $\langle u, f \rangle$ the action of $u \in \mathbb{P}'$ on $f \in \mathbb{P}$ and by $(u)_n := \langle u, x^n \rangle$, $n \geq 0$, the moments of u with respect to the polynomial sequence $\{x^n\}_{n \geq 0}$.

We will introduce some useful operations in \mathbb{P}' . For any linear functional u and any polynomial h , let $Du = u'$ and hu be the linear functionals defined by duality

$$\begin{aligned} \langle u', f \rangle &:= -\langle u, f' \rangle, & f &\in \mathbb{P}, \\ \langle hu, f \rangle &:= \langle u, hf \rangle, & f, h &\in \mathbb{P}. \end{aligned}$$

Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a monic polynomial sequence (MPS), $\deg B_n = n$, $n \geq 0$, and $\{u_n\}_{n \geq 0}$ its dual sequence, $u_n \in \mathbb{P}'$, $n \geq 0$, defined by $\langle u_n, B_m \rangle := \delta_{n,m}$, $n, m \geq 0$, where $\delta_{n,m}$ is the Kronecker symbol.

Let recall the following results [11].

Lemma 1.1. *For any $u \in \mathbb{P}'$ and any integer $m \geq 1$, the following statements are equivalent.*

i) $\langle u, B_{m-1} \rangle \neq 0$, $\langle u, B_n \rangle = 0$, $n \geq m$.

ii) *There exist $\lambda_\nu \in \mathbb{C}$, $0 \leq \nu \leq m-1$, $\lambda_{m-1} \neq 0$, such that $u = \sum_{\nu=0}^{m-1} \lambda_\nu u_\nu$.*

As a consequence, the dual sequence $\{u_n^{[1]}\}_{n \geq 0}$ of the sequence $\{B_n^{[1]}\}_{n \geq 0}$, where $B_n^{[1]}(x) = (n+1)^{-1}B'_{n+1}(x)$, $n \geq 0$, satisfies

$$(u_n^{[1]})' = -(n+1)u_{n+1}, \quad n \geq 0. \quad (1.1)$$

Definition 1.2. The linear functional u is said to be regular if there exists a monic polynomial sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ such that

$$\langle u, B_n B_m \rangle = b_n \delta_{n,m}, \quad n, m \geq 0, \quad (1.2)$$

where

$$b_n = \langle u, B_n^2 \rangle \neq 0, \quad n \geq 0. \quad (1.3)$$

Then the sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is said to be orthogonal (MOPS) with respect to u .

As a straightforward consequence we get

• The linear functional can be represented by $u = (u)_0 u_0$, and the following relations hold

$$u_n = b_n^{-1} B_n u, \quad n \geq 0. \quad (1.4)$$

•• The sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ satisfies the three-term recurrence relation

$$B_{n+2}(x) = (x - \beta_{n+1})B_{n+1}(x) - \gamma_{n+1}B_n(x), \quad n \geq 0, \\ B_1(x) = x - \beta_0, \quad B_0(x) = 1, \quad (1.5)$$

where $\gamma_{n+1} \neq 0, n \geq 0$ (see [4]).

In the sequel and under the assumption of the previous definition, we need to put

$$b_{n,m}^\nu = b_m^{-1} \langle u, x^\nu B_m B_n \rangle, \quad (n, \nu, m) \in \mathbb{N}^3. \quad (1.6)$$

In particular, one has

$$b_{n,m}^\nu = \begin{cases} 0, & \text{if } \nu + m < n, \quad 0 \leq m < n, \nu \geq 0, \\ (b_n/b_m), & \text{if } \nu = n - m, \quad 0 \leq m \leq n. \end{cases}$$

Let ϕ be a monic polynomial, with $\deg \phi = t \geq 0$. For any MPS $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ with dual sequences $\{u_n\}_{n \geq 0}$ and $\{v_n\}_{n \geq 0}$ respectively, the following formula always holds

$$\phi(x)Q_n(x) = \sum_{\nu=0}^{n+t} \lambda_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq 0, \quad (1.7)$$

where $\lambda_{n,\nu} = \langle u_\nu, \phi Q_n \rangle, 0 \leq \nu \leq n + t, n \geq 0$.

Definition 1.3. ([12]) If there exists an integer $s \geq 0$ such that

$$\phi(x)Q_n(x) = \sum_{\nu=n-s}^{n+t} \lambda_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq s, \quad (1.8)$$

and

$$\exists r \geq s, \lambda_{r,r-s} \neq 0, \quad (1.9)$$

then, we shall say that (1.8) – (1.9) gives a finite-type relation between $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$, with respect to ϕ .

When instead of (1.9), we take

$$\lambda_{n,n-s} \neq 0, \quad n \geq s, \quad (1.9')$$

we shall say that (1.8) – (1.9') is a strictly finite-type relation.

The corresponding inverse finite-type relation of (1.8) – (1.9) consists in establishing, whenever it is possible, a finite-type relation between $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ and $\{B_n\}_{n \geq 0}$, as follows

$$\Omega_s^*(x; n)B_n(x) = \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* Q_\nu(x), \quad n \geq t, \quad (1.10)$$

$\theta_{r+t,r}^* \neq 0$, where $\{\Omega_s^*(x; n)\}_{n \geq t}$ is a MPS, $\deg \Omega_s^*(x; n) = s, n \geq t$, and

$$(\theta_{n,\nu}^*)_{\nu=n-t}^{n+s}, \quad n \geq t, \quad (1.11)$$

a system of complex numbers (SCN), with $\theta_{n,n+s}^* = 1, n \geq t$.

When both two sequences are orthogonal, the inverse relation is always possible. In this case, the polynomials $\Omega_s^*(x; n), n \geq 0$, are independent of n , (see [12], Proposition 2.4). As a current example, we can mention the two structure relations characterizing the classical polynomials, (**Hermite, Laguerre, Bessel, Jacobi**, see [11]), which could solely be two inverse finite-type relations.

In other studies, we find several situations where one of the two sequences is orthogonal. For example, the structure relations characterizing semi-classical sequences associated with Hahn's operators $L_{q,\omega}$, with parameters q and ω , [9]. The Coherent pairs and Diagonal sequences are also examples of finite type-relations [7, 12, 13, 14]. But the inverse relations corresponding to other finite-type relations are not yet considered.

The paper essentially gives a necessary and sufficient condition allowing the existence of the inverse finite-type relations when the orthogonality of the sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is assumed. From now on, it would be necessary to study the case where the sequence $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ is orthogonal. It would be very useful to deal with many other situations like General Coherent pairs, see [6, 8] in the framework of Sobolev inner products.

2. A basic result

We use this section to introduce some auxiliary result for the proof of the main theorem in section 3.

Lemma 2.1. Suppose $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ fulfils (1.8) – (1.9), where $t = 0$ and $s \geq 1$. For any SCN $(\theta_{n,\nu}^*)_{\nu=n}^{n+s}, n \geq 0$, where $\theta_{n,n+s} = 1, n \geq 0$, and $\theta_{r,r} \neq 0$, there exist a unique MPS $\{\Omega_s(x; n)\}_{n \geq 0}$, $\deg \Omega_s(x; n) = s, n \geq 0$, and a SCN $(\zeta_{n,\nu}^{[0]})_{\nu=n-s}^{n-1}, n \geq 0$, such that

$$\sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* Q_\nu(x) = \sum_{i=n-s}^{n+s} \theta_{n,i}^{[0]} B_i(x) \\ = \Omega_s(x; n)B_n(x) + \sum_{\nu=n-s}^{n-1} \zeta_{n,\nu}^{[0]} B_\nu(x), \quad n \geq 0, \quad (2.1)$$

where

$$\theta_{n,i}^{[0]} = \sum_{\nu=\max(n,i)}^{\min(n,i)+s} \theta_{n,\nu} \lambda_{\nu,i}, \quad n-s \leq i \leq n+s, n \geq 0, \quad (2.2)$$

$$\theta_{r,r-s}^{[0]} = \theta_{r,r} \lambda_{r,r-s} \neq 0, \quad (2.3)$$

$$\sum_{\nu=n}^{m+s} \theta_{n,\nu} \lambda_{\nu,m} = b_m^{-1} \langle u, \Omega_s(x; n) B_n B_m \rangle + \zeta_{n,m}^{[0]}, \quad n-s \leq m \leq n-1, n \geq 0, \quad (2.4)$$

$$\sum_{\nu=m}^{n+s} \theta_{n,\nu} \lambda_{\nu,m} = b_m^{-1} \langle u, \Omega_s(x; n) B_n B_m \rangle, \quad n \leq m \leq n+s-1, n \geq 0. \quad (2.5)$$

Proof. Let $(\theta_{n,\nu})_{\nu=n}^{n+s}$, $n \geq 0$, where $\theta_{n,n+s} = 1$, $n \geq 0$, and $\theta_{r,r} \neq 0$, be a SCN. From (1.8) – (1.9), with $t = 0$ and $s \geq 1$, we get

$$\begin{aligned} \sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu} Q_{\nu}(x) &= \sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu} \sum_{i=\nu-s}^{\nu} \lambda_{\nu,i} B_i(x) \\ &= \sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu} \sum_{i=n-s}^{n+s} \chi_{i,\nu} \lambda_{\nu,i} B_i(x), \quad n \geq 0, \end{aligned}$$

where, for each pair of integers (i, ν) such that $n-s \leq i \leq n+s$ and $n \leq \nu \leq n+s$, we took

$$\chi_{i,\nu} = \begin{cases} 1, & \text{if } \nu-s \leq i \leq \nu, \\ 0, & \text{otherwise.} \end{cases}$$

The permutation of these two sums yields

$$\sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu} Q_{\nu}(x) = \sum_{i=n-s}^{n+s} \theta_{n,i}^{[0]} B_i(x),$$

where

$$\theta_{n,i}^{[0]} = \sum_{\nu=\max(n,i)}^{\min(i+s,n+s)} \theta_{n,\nu} \lambda_{\nu,i}, \quad n-s \leq i \leq n+s, n \geq 0, \quad (2.6)$$

$$\theta_{r,r-s}^{[0]} = \theta_{r,r} \lambda_{r,r-s} \neq 0.$$

Hence, (2.2) and (2.3) are valid.

The Euclidean division by $B_n(x)$ in the right hand side in (2.6) gives

$$\sum_{i=n-s}^{n+s} \theta_{n,i}^{[0]} B_i(x) = \Omega_s(x; n) B_n(x) + \sum_{\nu=0}^{n-1} \zeta_{n,\nu}^{[0]} B_{\nu}(x), \quad n \geq 0.$$

Multiplying by $B_m(x)$ and using the orthogonality of $\{B_n\}_{n \geq 0}$,

$$\sum_{i=n-s}^{n+s} \theta_{n,i}^{[0]} \delta_{m,i} = b_m^{-1} \langle u, \Omega_s(x; n) B_n B_m \rangle + \sum_{\nu=0}^{n-1} \zeta_{n,\nu}^{[0]} \delta_{m,\nu}.$$

In particular, for $0 \leq m \leq n-s-1$ and $n \geq s+1$, it follows that $\zeta_{n,m}^{[0]} = 0$. Hence, (2.1) holds. Moreover, for $n-s \leq m \leq n-1$ and $n \geq s$, we recover (2.4).

Finally, for $n \leq m \leq n+s-1$ and $n \geq 0$, we deduce (2.5). \square

Proposition 2.2. Assume $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ fulfils (1.8) – (1.9), with $t \geq 1$. For any SCN $(\theta_{n,\nu})_{\nu=n-t}^{n+s}$, $n \geq 0$, where $\theta_{n,n+s} = 1$, $n \geq 0$ and $\theta_{r+t,r} \neq 0$, there exist a unique MPS $\{\Omega_{s+t}(x; n)\}_{n \geq 0}$, where $\deg \Omega_{s+t}(x; n) = s+t$, $n \geq 0$, and a SCN $(\zeta_{n,\nu}^{[t]})_{\nu=n-s-t}^{n-1}$, $n \geq 0$, such that for every integer $n \geq 0$

$$\begin{aligned} \phi(x) \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu} Q_{\nu}(x) &= \sum_{i=n-s-t}^{n+s+t} \theta_{n,i}^{[t]} B_i(x) \\ &= \Omega_{s+t}(x; n) B_n(x) \\ &\quad + \sum_{\nu=n-s-t}^{n-1} \zeta_{n,\nu}^{[t]} B_{\nu}(x), \quad (2.7) \end{aligned}$$

where

$$\theta_{n,i}^{[t]} = \sum_{\nu=\max(n,i)}^{\min(n,i)+s+t} \theta_{n,\nu-t} \lambda_{\nu-t,i}, \quad n-s-t \leq i \leq n+s+t, \quad (2.8)$$

$$\theta_{r+t,r-s}^{[t]} = \theta_{r+t,r} \lambda_{r,r-s} \neq 0, \quad (2.9)$$

$$\sum_{\nu=n}^{m+s+t} \theta_{n,\nu-t} \lambda_{\nu-t,m} = b_m^{-1} \langle u, \Omega_{s+t}(x; n) B_n B_m \rangle + \zeta_{n,m}^{[t]}, \quad n-s-t \leq m \leq n-1, \quad (2.10)$$

$$\sum_{\nu=m}^{n+s+t} \theta_{n,\nu-t} \lambda_{\nu-t,m} = b_m^{-1} \langle u, \Omega_{s+t}(x; n) B_n B_m \rangle, \quad n \leq m \leq n+s+t-1. \quad (2.11)$$

Proof. The case $t = 0$ was analyzed in Lemma 2.1. Let us take $t \geq 1$. Consider the MPS $\{P_n\}_{n \geq t}$ defined by

$$P_{n+t}(x) = \phi(x) Q_n(x), \quad n \geq 0, \quad (2.12)$$

From (1.8) – (1.9), we have

$$P_n(x) = \sum_{\nu=n-t-s}^n \tilde{\lambda}_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq t,$$

where $\tilde{\lambda}_{n,\nu} = \lambda_{n-t,\nu}$, $n-t-s \leq \nu \leq n$, $n \geq t$, and $\tilde{\lambda}_{t+r,r-s} \neq 0$. Now, let $(\theta_{n,\nu})_{\nu=n-t}^{n+s}$, $n \geq 0$, where $\theta_{n,n+s} = 1$, $n \geq 0$, and $\theta_{r+t,r} \neq 0$, be a SCN. One has

$$\begin{aligned} \phi(x) \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu} Q_\nu(x) &= \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu} P_{\nu+t}(x) \\ &= \sum_{\nu=n}^{n+t+s} \tilde{\theta}_{n,\nu} P_\nu(x), \quad n \geq 0, \end{aligned} \quad (2.13)$$

where $\tilde{\theta}_{n,\nu} = \theta_{n,\nu-t}$, $n \leq \nu \leq n+t+s$, $n \geq 0$. Obviously, $(\tilde{\theta}_{n,\nu})_{\nu=n}^{n+t+s}$, $n \geq 0$, is a SCN such that

$$\tilde{\theta}_{n,n+t+s} = \theta_{n,n+s} = 1, \quad n \geq 0, \quad \tilde{\theta}_{r+t,r+t} = \theta_{r+t,r} \neq 0.$$

But from Lemma 2.1, there exist a unique MPS $\{\Omega_{t+s}(x;n)\}_{n \geq 0}$ and a SCN $(\zeta_{n,\nu}^{[t]})_{\nu=n-t-s}^{n-1}$, $n \geq 0$, such that

$$\begin{aligned} \sum_{\nu=n}^{n+t+s} \tilde{\theta}_{n,\nu} P_\nu(x) &= \sum_{i=n-t-s}^{n+t+s} \theta_{n,i}^{[t]} B_i(x) \\ &= \Omega_{t+s}(x;n) B_n(x) + \sum_{\nu=n-t-s}^{n-1} \zeta_{n,\nu}^{[t]} B_\nu(x), \end{aligned} \quad (2.14)$$

for every integer $n \geq 0$, where

$$\theta_{n,i}^{[t]} = \sum_{\nu=\max(n,i)}^{\min(n,i)+t+s} \tilde{\theta}_{n,\nu} \tilde{\lambda}_{\nu,i}, \quad n-t-s \leq i \leq n+t+s,$$

$$\theta_{r+t,r-s}^{[t]} = \tilde{\theta}_{r+t,r+t} \tilde{\lambda}_{r+t,r-s} \neq 0,$$

$$\begin{aligned} \sum_{\nu=n}^{m+t+s} \tilde{\theta}_{n,\nu} \tilde{\lambda}_{\nu,m} &= b_m^{-1} \langle u, \Omega_{t+s}(x;n) B_n B_m \rangle + \zeta_{n,m}^{[t]}, \\ n-t-s &\leq m \leq n-1, \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sum_{\nu=m}^{n+t+s} \tilde{\theta}_{n,\nu} \tilde{\lambda}_{\nu,m} &= b_m^{-1} \langle u, \Omega_{t+s}(x;n) B_n B_m \rangle, \\ n &\leq m \leq n+t+s-1. \end{aligned}$$

Finally, by using (2.13), (2.14), and taking into account the expressions of $\tilde{\lambda}_{n,\nu}$ and $\tilde{\theta}_{n,\nu}$, we find the desired results. \square

3. A matrix approach and main results

In this section, we will work under the assumptions of the Proposition 2.2 and we will give a matrix approach to our problem.

If $\Omega_{t+s}(x;n) = \sum_{\nu=0}^{t+s} v_{n,\nu} x^\nu$, $n \geq 0$, where $v_{n,t+s} = 1$, then relation (2.10) reads

$$\sum_{\nu=n}^{m+t+t} \lambda_{\nu-t,m} \theta_{n,\nu-t} = \sum_{\nu=0}^{t+s-1} b_{n,m}^\nu v_{n,\nu} + \zeta_{n,m}^{[t]} + b_{n,m}^{s+t}, \quad n-s-t \leq m \leq n-1,$$

or, alternatively,

$$\begin{aligned} \sum_{j=1}^{m+s+t-n+1} \lambda_{j+n-t-1,m} \theta_{n,j+n-t-1} \\ = \sum_{j=1}^{t+s} b_{n,m}^{j-1} v_{n,j-1} + \zeta_{n,m}^{[t]} + b_{n,m}^{s+t}, \end{aligned}$$

for every $n-s-t \leq m \leq n-1$.

Replacing m by $i+n-s-t-1$, we get

$$\begin{aligned} \sum_{j=1}^i k_{i,j}^n \Theta_{n,j} = \sum_{j=1}^{t+s} t_{i,j}^n V_{n,j} + \zeta_{n,i+n-s-t-1}^{[t]} \\ b_{n,i+n-s-t-1}^{s+t}, \quad 1 \leq i \leq s+t, \end{aligned}$$

where for $i, j = 1, 2, \dots, s+t$,

$$k_{i,j}^n = \begin{cases} \lambda_{j+n-t-1,i+n-s-t-1}, & 1 \leq j \leq i \\ 0, & \text{otherwise,} \end{cases}$$

and $t_{i,j}^n = b_{n,i+n-s-t-1}^{j-1}$,

$$\Theta_{n,j} = \theta_{n,j+n-t-1}, \quad \text{and} \quad V_{n,j} = v_{n,j-1}.$$

So we can write it as

$$\mathbf{K}_n \Theta_n = \mathbf{T}_n V_n + W_n + E_n, \quad n \geq 0, \quad (3.1)$$

where

$$\mathbf{K}_n = (k_{i,j}^n)_{1 \leq i,j \leq s+t}, \quad \mathbf{T}_n = (t_{i,j}^n)_{1 \leq i,j \leq s+t},$$

$$\Theta_n = (\Theta_{n,1}, \Theta_{n,2}, \dots, \Theta_{n,s+t})^T,$$

$$V_n = (V_{n,1}, V_{n,2}, \dots, V_{n,s+t})^T,$$

$$W_n = (\zeta_{n,n-s-t}^{[t]}, \zeta_{n,n+1-s-t}^{[t]}, \dots, \zeta_{n,n-1}^{[t]})^T, \quad \text{and}$$

$$E_n = (b_{n,n-s-t}^{s+t}, b_{n,n+1-s-t}^{s+t}, \dots, b_{n,n-1}^{s+t})^T.$$

In the same way, using $\theta_{n,n+s} = 1$, (2.11) can be written as

$$\sum_{\nu=m}^{n+s+t-1} \lambda_{\nu-t,m} \theta_{n,\nu-t} = \sum_{\nu=0}^{t+s-1} b_{n,m}^{\nu} v_{n,\nu} + b_{n,m}^{s+t} - \lambda_{n+s,m},$$

$$n \leq m \leq n + s + t - 1,$$

or, equivalently,

$$\sum_{j=m-n+1}^{s+t} \lambda_{j+n-t-1,m} \theta_{n,j+n-t-1} =$$

$$\sum_{j=1}^{t+s} b_{n,m}^{j-1} v_{n,j-1} + b_{n,m}^{s+t} - \lambda_{n+s,m},$$

for every $n \leq m \leq n+s+t-1$. Replacing m by $i+n-1$, we get

$$\sum_{j=i-1}^{t+s} m_{i,j}^n \Theta_{n,j} = \sum_{j=1}^{t+s} s_{i,j}^n V_{n,j} + b_{n,i+n-1}^{s+t} - \lambda_{n+s,i+n-1},$$

$$1 \leq i \leq s+t,$$

where for $i, j = 1, 2, \dots, s+t$,

$$m_{i,j}^n := \begin{cases} \lambda_{j+n-t-1,i+n-1}, & 1 \leq i \leq j \\ 0, & \text{otherwise,} \end{cases}$$

$$s_{i,j}^n := \begin{cases} b_{n,i+n-1}^{j-1}, & 1 \leq i \leq j \\ 0, & \text{otherwise.} \end{cases}$$

Thus, we can use the matrix representation

$$M_n \Theta_n = S_n V_n + F_n, \quad n \geq 0, \quad (3.2)$$

where

$$M_n = (m_{i,j}^n)_{1 \leq i,j \leq s+t}, \quad S_n = (s_{i,j}^n)_{1 \leq i,j \leq s+t}$$

and

$$F_n = (b_{n,n}^{s+t} - \lambda_{n+s,n}, b_{n,n+1}^{s+t} - \lambda_{n+s,n+1}, \dots, b_{n,n+s+t-1}^{s+t} - \lambda_{n+s,n+s+t-1})^T.$$

Our data are $\Theta_n, E_n, F_n, M_n, S_n, T_n, K_n$ and our unknowns are V_n and W_n .

From (3.2), we get

$$V_n = S_n^{-1}(M_n \Theta_n - F_n). \quad (3.3)$$

Thus, substituting in (3.1) we get $K_n \Theta_n - W_n - E_n = T_n S_n^{-1}(M_n \Theta_n - F_n)$, i.e,

$$W_n = (K_n - T_n S_n^{-1} M_n) \Theta_n + T_n S_n^{-1} F_n - E_n.$$

As a consequence, for every choice of Θ_n , we get W_n . From (3.3), we deduce V_n .

On the other hand, there exists a one-to-one correspondence between the vectors W_n and Θ_n if and only if the matrix of dimension $s+t$, $K_n - T_n S_n^{-1} M_n$, is nonsingular.

Under such a condition, there exists a unique choice for Θ_n such that $W_n = 0$. Thus, we get

$$\Theta_n = (K_n - T_n S_n^{-1} M_n)^{-1} (E_n - T_n S_n^{-1} F_n),$$

and from (3.3), $V_n = S_n^{-1} M_n \Theta_n - S_n^{-1} F_n$. Then,

$$V_n = (K_n M_n^{-1} S_n - T_n)^{-1} E_n - [(K_n M_n^{-1} S_n - T_n)^{-1} T_n + I_{s+t}] S_n^{-1} F_n,$$

where I_{s+t} is the unit matrix. Hence, the polynomial $\Omega_{s+t}(x; n)$ is explicitly given.

Let introduce

$$\Delta_n(t, s) = \det(K_n - T_n S_n^{-1} M_n), \quad n \geq 0.$$

Thus, we have proved the following result

Proposition 3.1. Assume $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ fulfils (1.8)–(1.9). For a fixed integer $p \geq t+1$, the following statements are equivalent.

- i) $\Delta_n(t, s) \neq 0, n \geq p$.
- ii) There exist a unique SCN $(\theta_{n,\nu}^*)_{\nu=n-t}^{n+s}, n \geq p$, with $\theta_{n,n+s}^* = 1, n \geq p$, and $\theta_{r+t,r}^* \neq 0$, if $p \leq r+t$, and a unique MPS $\{\Omega_{s+t}^*(x; n)\}_{n \geq p}$, $\deg \Omega_{s+t}^*(x; n) = s+t, n \geq p$, such that

$$\Omega_{s+t}^*(x; n) B_n(x) = \phi(x) \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* Q_\nu(x), \quad (3.4)$$

for $n \geq p$.

Our main result is

Theorem 3.2. Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ be the MPS satisfying (1.8) – (1.9). For each fixed integer $p \geq t+1$, if we suppose that $\phi(x)$ and $B_n(x)$ are coprime for every $n \geq p$, then the following statements are equivalent.

- i) $\Delta_n(t, s) \neq 0, n \geq p$.
- ii) There exist a unique SCN $(\theta_{n,\nu}^*)_{\nu=n-t}^{n+s}, n \geq p$, where $\theta_{n,n+s}^* = 1, n \geq p$, and $\theta_{r+t,r}^* \neq 0$ if $p \leq r+t$, and a unique MPS $\{\Omega_s^*(x; n)\}_{n \geq p}$, $\deg \Omega_s^*(x; n) = s, n \geq p$, such that

$$\Omega_s^*(x; n) B_n(x) = \sum_{\nu=n-t}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* Q_\nu(x), \quad n \geq p. \quad (3.5)$$

Proof. Taking into account $\phi(x)$ and $B_n(x)$ are coprime for every $n \geq p$, from (3.4) we deduce that ϕ divides $\Omega_{s+t}^*(x; n)$, $n \geq p$. So, $\Omega_{s+t}^*(x; n) = \phi(x)\Omega_s^*(x; n)$, $n \geq p$. Hence, the desired result follows. \square

The orthogonal polynomial sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and the polynomial sequence $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ can be related by a general finite-type relation (see [1]). It reads as follows

$$F(Q_n, \dots, Q_{n-l}) = G(B_n, \dots, B_{n-s}),$$

where F and G are fixed functions.

When F and G are linear functions, some situations dealing with the inverse problem have been analyzed in [1,2]. There, necessary and sufficient conditions in order to $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ be orthogonal are obtained.

This kind of linear relations reads as follows.

There exists $(l, s, r) \in \mathbb{N}^3$, with $r \geq \tilde{s} = \max(l, s)$ such that

$$\sum_{\nu=n-l}^n \zeta_{n,\nu} Q_\nu(x) = \sum_{\nu=n-s}^n \lambda_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq \tilde{s}, \quad (3.6)$$

with $\zeta_{r,r-l} \lambda_{r,r-s} \neq 0$. Here, $\zeta_{n,n} = \lambda_{n,n} = 1$, $n \geq \tilde{s}$.

More recently, in [5], **A. M. Delgado** and **F. Marcellán** exhaustively describe all the set of pairs of quasi-definite (regular) linear functionals such that their corresponding sequences of monic polynomials $\{P_n\}_{n \geq 0}$ and $\{R_n\}_{n \geq 0}$ are related by a differential expression

$$P_n(x) + s_n P_{n-1}(x) = R_n^{[1]}(x) + t_n R_{n-1}^{[1]}(x), \quad n \geq 1,$$

where $t_n \neq 0$, for every $n \geq 1$, and with the technical condition $t_1 \neq s_1$.

Notice that in general $\{R_n^{[1]}\}_{n \geq 0}$ is not a MOPS.

In the same context of our contribution, we show that the corresponding inverse finite-type relation between two sequences satisfying (3.6) is possible under certain conditions.

Indeed, let consider the MPS $\{C_n\}_{n \geq \tilde{s}}$ given by

$$C_n(x) = \sum_{\nu=n-s}^n \lambda_{n,\nu} B_\nu(x), \quad n \geq \tilde{s}. \quad (3.7)$$

With the finite-type relation between the sequences $\{C_n\}_{n \geq \tilde{s}}$ and $\{B_n\}_{n \geq \tilde{s}}$, we can associate the determinants $\Delta_n(0, s)$, $n \geq \tilde{s}$. So, we have.

Corollary 3.3. *Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ be the MPS satisfying (3.6). For each fixed integer*

$p \geq \max(s, l, 1)$, if $\Delta_n(0, s) \neq 0$, $n \geq p$, then there exist a unique SCN $(\zeta_{n,\nu}^*)_{\nu=n-l}^{n+s}$, $n \geq p$, where $\zeta_{n,n+s}^* = 1$, $n \geq p$, and $\zeta_{r,r-l}^* \neq 0$ if $p \leq r$, and a unique MPS $\{\Omega_s^*(x; n)\}_{n \geq p}$, $\deg \Omega_s^*(x; n) = s$, $n \geq p$, such that

$$\Omega_s^*(x; n) B_n(x) = \sum_{\nu=n-l}^{n+s} \zeta_{n,\nu}^* Q_\nu(x), \quad n \geq p. \quad (3.8)$$

Proof. From Theorem 3.2, with $t = 0$, there exists the corresponding inverse finite-type relation associated with the relation (3.7) if and only if $\Delta_n(0, s) \neq 0$, $n \geq p$. Equivalently, there exist a unique SCN $(\theta_{n,\nu}^*)_{\nu=n}^{n+s}$, $n \geq p$, where $\theta_{n,n+s}^* = 1$, $n \geq p$, and $\theta_{r,r}^* \neq 0$, if $p \leq r$, and a unique MPS $\{\Omega_s^*(x; n)\}_{n \geq p}$, $\deg \Omega_s^*(x; n) = s$, $n \geq p$, such that

$$\Omega_s^*(x; n) B_n(x) = \sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* C_\nu(x), \quad n \geq p. \quad (3.9)$$

But from (3.6) and (3.7), the above expression becomes

$$\begin{aligned} \Omega_s^*(x; n) B_n(x) &= \sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* \sum_{i=\nu-l}^{\nu} \zeta_{\nu,i} Q_i(x) \\ &= \sum_{\nu=n}^{n+s} \theta_{n,\nu}^* \sum_{i=n-l}^{n+s} \tilde{\chi}_{i,\nu} \zeta_{\nu,i} Q_i(x), \quad n \geq p, \end{aligned}$$

where, for each pair of integers (i, ν) such that $n-l \leq i \leq \nu$ and $n \leq \nu \leq n+s$, we took

$$\tilde{\chi}_{i,\nu} = \begin{cases} 1, & \text{if } \nu-l \leq i \leq \nu, \\ 0, & \text{otherwise.} \end{cases}$$

The permutation inside these two sums yields

$$\Omega_s^*(x; n) B_n(x) = \sum_{i=n-l}^{n+s} \zeta_{n,i}^* Q_i(x),$$

where

$$\zeta_{n,i}^* = \sum_{\nu=\max(n,i)}^{\min(i+l,n+s)} \theta_{n,\nu}^* \zeta_{\nu,i}$$

if $n-l \leq i \leq n+s$, $n \geq p$, and

$$\zeta_{r,r-l}^* = \theta_{r,r}^* \zeta_{r,r-l} \neq 0,$$

if $p \leq r$. \square

4. The case: $(t, s) = (0, 1)$

Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS with respect to the linear functional u and satisfying the three-term recurrence relation (1.5).

Consider the following finite-type relation between $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$, with index $s = 1$, with respect to $\phi(x) = 1$,

$$Q_n(x) = B_n(x) + \lambda_{n,n-1}B_{n-1}(x), \quad n \geq 0, \quad (4.1)$$

$$\exists r \geq 1, \quad \lambda_{r,r-1} \neq 0. \quad (4.2)$$

From Lemma 2.1, for every set of complex numbers, $\theta_{n,n}$, $n \geq 0$, with $\theta_{r,r} \neq 0$, there exists a unique MPS $\{\Omega_1(x; n)\}_{n \geq 0}$, where $\Omega_1(x; n) = x + v_{n,0}$, $n \geq 0$, and a unique set of complex numbers, $\zeta_{n,n-1}^{[0]}$, $n \geq 0$, such that

$$Q_{n+1}(x) + \theta_{n,n}Q_n(x) = \Omega_1(x; n)B_n(x) + \zeta_{n,n-1}^{[0]}B_{n-1}(x), \quad n \geq 0, \quad (4.3)$$

where

$$\begin{cases} \lambda_{n,n-1}\theta_{n,n} &= \zeta_{n,n-1}^{[0]} + \gamma_n, \quad n \geq 1, \\ \theta_{n,n} - v_{n,0} &= -\lambda_{n+1,n} + \beta_n, \quad n \geq 0. \end{cases} \quad (4.4)$$

The determinants associated with (4.1) – (4.2) are given by

$$\Delta_0(0, 1) = 0, \quad \Delta_n(0, 1) = \lambda_{n,n-1}, \quad n \geq 1, \quad (4.5)$$

where $\Delta_r(0, 1) = \lambda_{r,r-1} \neq 0$. As a consequence of Theorem 3.2, when $t = 0$ and $s = 1$, we have the following result

Proposition 4.1. *Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ be the MPS satisfying (4.1) – (4.2). For every fixed integer $p \geq 1$, the following statements are equivalent*

- i) $\lambda_{n,n-1} \neq 0$, $n \geq p$.
- ii) There exist a unique set of complex numbers $\theta_{n,n}^* \neq 0$, $n \geq p$, and a unique MPS $\{\Omega_1^*(x; n)\}_{n \geq p}$, $\deg \Omega_1^*(x; n) = 1$, $n \geq p$, such that

$$\Omega_1^*(x; n)B_n(x) = Q_{n+1}(x) + \theta_{n,n}^*Q_n(x), \quad n \geq p. \quad (4.6)$$

We write

$$\theta_{n,n}^* = \frac{\gamma_n}{\lambda_{n,n-1}}, \quad n \geq p, \quad (4.7)$$

$$\Omega_1^*(x; n) = x + v_{n,0}^*,$$

where

$$v_{n,0}^* = \frac{\gamma_n}{\lambda_{n,n-1}} + \lambda_{n+1,n} - \beta_n, \quad n \geq p. \quad (4.8)$$

Example. In order to illustrate the result of Proposition 4.1, we study the structure relation characterizing a semi-classical polynomial sequence, $\{B_n\}_{n \geq 0}$, orthogonal with respect to the linear functional u solution of the functional equation

$$u' + \psi u = 0, \quad (4.9)$$

where $\psi(x) = -ix^2 + 2x - i(\alpha - 1)$ and with regularity condition $\alpha \notin \bigcup_{n \geq 0} E_n$, where $E_0 = \{\alpha \in \mathbb{C} : F(\alpha) = 0\}$, $F(\alpha) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\frac{\alpha^3}{3} - x^2 + i(\alpha-1)x} dx$, and for each integer $n \geq 1$, $E_n = \{\alpha \in \mathbb{C} : \Xi_n(\alpha) = 0\}$. Here, $\Xi_n(\alpha)$ is the Hankel determinant associated with u . Notice that u is a semi-classical linear functional of class one [10].

The recurrence coefficients β_n and γ_{n+1} , $n \geq 0$, of the sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ are determined by the system [10] :

$$\begin{cases} \frac{n+1}{\gamma_{n+1}} &= 2 - i(\beta_n + \beta_{n+1}), \quad n \geq 0, \\ i(\gamma_{n+2} + \gamma_{n+1}) &= \psi(\beta_{n+1}), \quad n \geq 0, \\ \gamma_1 = -i\psi(\beta_0), \quad \beta_0 &= -i\frac{F'(\alpha)}{F(\alpha)}. \end{cases} \quad (4.10)$$

The sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ is characterized by the following structure relation [10] :

$$B_n^{[1]}(x) = B_n(x) - \frac{i\gamma_n\gamma_{n+1}}{n+1}B_{n-1}(x), \quad n \geq 1. \quad (4.11)$$

Thus, taking into account $\lambda_{n,n-1} = -\frac{i\gamma_n\gamma_{n+1}}{n+1} \neq 0$, $n \geq 1$, we deduce a strictly finite-type relation between the sequences $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{B_n^{[1]}\}_{n \geq 0}$ with index $s = 1$, with respect to $\phi(x) = 1$,

From Proposition 4.1. we get the following inverse relation, for $n \geq 1$,

$$(x + v_{n,0}^*)B_n(x) = B_{n+1}^{[1]}(x) + \frac{i(n+1)}{\gamma_{n+1}}B_n^{[1]}(x), \quad (4.12)$$

where $v_{n,0}^* = \frac{i(n+1)}{\gamma_{n+1}} - \frac{i\gamma_{n+1}\gamma_{n+2}}{n+2} - \beta_n$, $n \geq 1$. The sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ could be characterized by a relation as (4.12). It is the aim of the following result.

Proposition 4.2. *Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS satisfying (1.5). Then the following statements are equivalent.*

- i) There exists a set of non-zero complex numbers $\{\lambda_{n,n-1}\}_{n \geq 1}$ such that, for $n \geq 1$,
- $$B_n^{[1]}(x) = B_n(x) + \lambda_{n,n-1}B_{n-1}(x). \quad (4.13)$$

ii) There exists a set of complex numbers $\{\varrho_n\}_{n \geq 0}$, with $\varrho_n \neq 0$, $n \geq 1$, and $\varrho_0 = 0$, such that for $n \geq 0$,

$$(x + \frac{\gamma_{n+1}}{\varrho_{n+1}} + \varrho_n - \beta_n)B_n(x) = B_{n+1}^{[1]}(x) + \varrho_n B_n^{[1]}(x). \quad (4.14)$$

Proof. Assume that i) holds. From Proposition 4.1, we get

$$(x + \frac{\gamma_{n+1}}{\varrho_{n+1}} + \varrho_n - \beta_n)B_n(x) = B_{n+1}^{[1]}(x) + \varrho_n B_n^{[1]}(x), \quad n \geq 1,$$

where $\varrho_n = \gamma_n \lambda_{n,n-1}^{-1}$, $n \geq 1$. For $n = 1$, in (4.13), we obtain $\lambda_{1,0} = \frac{\beta_0 - \beta_1}{2}$. Then, $\frac{\gamma_1}{\varrho_1} = \frac{\beta_0 - \beta_1}{2}$. Hence,

$$(x + \frac{\gamma_1}{\varrho_1} - \beta_0)B_0(x) = x - \frac{\beta_0 + \beta_1}{2} = B_1^{[1]}(x) + \varrho_0 B_0^{[1]}(x),$$

i.e. $\varrho_0 = 0$. Thus, ii) holds. Conversely, let us take $\lambda_{n,n-1} = \frac{\gamma_n}{\varrho_n}$, $n \geq 1$, and consider the MPS $\{A_n\}_{n \geq 0}$ defined by

$$A_n(x) = B_n(x) + \lambda_{n,n-1}B_{n-1}(x), \quad n \geq 1. \quad (4.15)$$

From Proposition 4.1, we get

$$(x + v_{n,0}^*)B_n(x) = A_{n+1}(x) + \theta_{n,n}^*A_n(x), \quad n \geq 1,$$

where $v_{n,0}^* = \frac{\gamma_{n+1}}{\varrho_{n+1}} + \varrho_n - \beta_n$, $n \geq 1$, and $\theta_{n,n}^* = \frac{\gamma_n}{\lambda_{n,n-1}} = \varrho_n$, $n \geq 1$. From the assumption ii) and the previous relation, it follows that

$$A_{n+1}(x) + \varrho_n A_n(x) = B_{n+1}^{[1]}(x) + \varrho_n B_n^{[1]}(x), \quad n \geq 1.$$

Equivalently,

$$A_n(x) - B_n^{[1]}(x) = (\prod_{\nu=1}^n \varrho_\nu)(A_1(x) - B_1^{[1]}(x)) = 0, \quad n \geq 1.$$

But, from (4.15) for $n = 1$ we get $A_1(x) = x - \beta_0 + \frac{\gamma_1}{\varrho_1}$.

From (4.14), with $n = 0$, we get $B_1^{[1]}(x) = x - \beta_0 + \frac{\gamma_1}{\varrho_1}$.

Hence, $A_n(x) = B_n^{[1]}(x)$, $n \geq 0$. Thus according to (4.15), i) holds. \square

5. The case $(t, s) = (0, 2)$

Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS with respect to the linear functional u and satisfying (1.5). Consider the following finite-type relation between $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$, with index $s = 2$, with respect to $\phi(x) = 1$, for $n \geq 0$,

$$Q_n(x) = B_n(x) + \lambda_{n,n-1}B_{n-1}(x) + \lambda_{n,n-2}B_{n-2}(x), \quad (5.1)$$

$$\exists r \geq 2, \quad \lambda_{r,r-2} \neq 0. \quad (5.2)$$

From Lemma 2.1, for every system of complex numbers $(\theta_{n,\nu})_{\nu=n}^{n+2}$, $n \geq 0$, where $\theta_{n,n+2} = 1$, $n \geq 0$ and $\theta_{r,r} \neq 0$, there exists a unique MPS $\{\Omega_2(x; n)\}_{n \geq 0}$, where $\Omega_2(x; n) = x^2 + v_{n,1}x + v_{n,0}$, $n \geq 0$, and a unique system of complex numbers, $(\zeta_{n,\nu}^{[0]})_{\nu=n-2}^{n-1}$, $n \geq 0$, such that

$$\sum_{\nu=n}^{n+2} \theta_{n,\nu} Q_\nu(x) = \Omega_2(x; n)B_n(x) + \zeta_{n,n-1}^{[0]}B_{n-1}(x) + \zeta_{n,n-2}^{[0]}B_{n-2}(x), \quad n \geq 0, \quad (5.3)$$

where

$$\left\{ \begin{array}{l} \lambda_{n+2,n+1} + \theta_{n,n+1} = \beta_{n+1} + \beta_n + v_{n,1}, \quad n \geq 0, \\ \lambda_{2,0} + \theta_{0,1}\lambda_{1,0} + \theta_{0,0} = \gamma_1 + \beta_0(\beta_0 + v_{0,1}) + v_{0,0}, \\ \lambda_{n+2,n} + \theta_{n,n+1}\lambda_{n+1,n} + \theta_{n,n} = \gamma_{n+1} + \gamma_n + \beta_n(\beta_n + v_{n,1}) + v_{n,0}, \quad n \geq 1, \\ \theta_{n,n+1}\lambda_{n+1,n-1} + \theta_{n,n}\lambda_{n,n-1} = \gamma_n(\beta_n + \beta_{n-1} + v_{n,1}) + \zeta_{n,n-1}^{[0]}, \quad n \geq 1, \\ \theta_{n,n}\lambda_{n,n-2} = \gamma_n\gamma_{n-1} + \zeta_{n,n-2}^{[0]}, \quad n \geq 2, \end{array} \right. \quad (5.4)$$

The determinants associated with (5.1) – (5.2) are

$$\begin{aligned} \Delta_0(0, 2) &= \Delta_1(0, 2) = 0, \\ \Delta_n(0, 2) &= \lambda_{n,n-2}(\lambda_{n+1,n-1} - \gamma_n), \quad n \geq 2. \end{aligned} \quad (5.5)$$

Proposition 5.1. Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be a MOPS and $\{Q_n\}_{n \geq 0}$ be the MPS satisfying (5.1) – (5.2). For every fixed integer $p \geq 2$, the following statements are equivalent

$$i) \lambda_{n,n-2}(\lambda_{n+1,n-1} - \gamma_n) \neq 0, \quad n \geq p.$$

As a consequence of Theorem 3.2, where $t = 0$ and $s = 2$, we have the following result

- ii) There exist a unique SCN $(\theta_{n,\nu}^*)_{\nu=n}^{n+2}$, $n \geq p$, with $\theta_{n,n+2}^* = 1$, $n \geq p$, and $\theta_{r,r}^* \neq 0$, if $p \leq r$, and there exists a unique MPS $\{\Omega_2^*(x; n)\}_{n \geq p}$, where $\deg \Omega_2^*(x; n) = 2$, $n \geq p$, such that, for $n \geq p$,

$$\Omega_2^*(x; n)B_n(x) = Q_{n+2}(x) + \theta_{n,n+1}^*Q_{n+1}(x) + \theta_{n,n}^*Q_n(x). \tag{5.6}$$

We write

$$\theta_{n,n+1}^* = \frac{[\lambda_{n,n-2}(\beta_{n-1} - \beta_{n+1} + \lambda_{n+2,n+1}) - \lambda_{n,n-1}\gamma_{n-1}]\gamma_n}{\lambda_{n,n-2}(\lambda_{n+1,n-1} - \gamma_n)},$$

$$\theta_{n,n}^* = \frac{\gamma_n\gamma_{n-1}}{\lambda_{n,n-2}},$$

$$\Omega_2^*(x; n) = x^2 + v_{n,1}^*x + v_{n,0}^*, \quad n \geq p, \tag{5.7}$$

where

$$v_{n,0}^* = \theta_{n,n}^* + (\lambda_{n+1,n} - \beta_n)\theta_{n,n+1}^* - \gamma_{n+1} - \gamma_n + \lambda_{n+2,n} + \beta_n(\beta_{n+1} - \lambda_{n+2,n+1}),$$

$$v_{n,1}^* = \theta_{n,n+1}^* - \beta_{n+1} - \beta_n + \lambda_{n+2,n+1}.$$

Example. Let $\{B_n\}_{n \geq 0}$ be the sequence of monic polynomials, orthogonal with respect to the linear functional u such that

$$\langle u, p \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} p(x)e^{-x^4} dx.$$

This sequence of polynomials was introduced by P. Nevai (see [15]) in the framework of the so-called Freud measures. These polynomials satisfy the three-term recurrence relation (1.5), with coefficients $\beta_n = 0$, $n \geq 0$, and where γ_{n+1} , $n \geq 0$, are given by a non-linear recurrence relation (see [3] and [15])

$$n = 4\gamma_n(\gamma_{n+1} + \gamma_n + \gamma_{n-1}), \quad n \geq 1,$$

with $\gamma_0 = 0$ and $\gamma_1 = \Gamma(3/4)\Gamma(1/4)$.

The sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$ satisfies the following structure relation (see [3])

$$B_n^{[1]}(x) = B_n(x) + \lambda_{n,n-2}B_{n-2}(x), \quad n \geq 2, \tag{5.8}$$

where

$$\lambda_{n,n-2} = \frac{4}{n+1}\gamma_{n+1}\gamma_n\gamma_{n-1} \neq 0, \quad n \geq 2.$$

From (5.3), with $Q_n(x) = B_n^{[1]}(x)$, $n \geq 0$, and the fact that the polynomial sequences $\{B_n\}_{n \geq 0}$ and $\{B_n^{[1]}\}_{n \geq 0}$

are symmetric, i.e. $B_n(-x) = (-1)^n B_n(x)$, $n \geq 0$, we get, for $n \geq 0$,

$$B_{n+2}^{[1]}(x) + \theta_{n,n}B_n^{[1]}(x) = (x^2 + v_{n,0})B_n(x) + \zeta_{n,n-2}^{[0]}B_{n-2}(x), \tag{5.9}$$

where

$$\begin{cases} \lambda_{2,0} + \theta_{0,0} & = \gamma_1 + v_{0,0}, \\ \lambda_{n+2,n} + \theta_{n,n} & = \gamma_{n+1} + \gamma_n + v_{n,0}, \quad n \geq 1, \\ \theta_{n,n}\lambda_{n,n-2} & = \gamma_n\gamma_{n-1} + \zeta_{n,n-2}^{[0]}, \quad n \geq 2. \end{cases} \tag{5.10}$$

Since we have $\lambda_{n,n-2}$, $n \geq 2$, the choice $\zeta_{n,n-2}^{[0]} = 0$, $n \geq 2$, is possible and yields the inverse relation

$$(x^2 + v_{n,0}^*)B_n(x) = B_{n+2}^{[1]}(x) + \theta_{n,n}^*B_n^{[1]}(x), \quad n \geq 0, \tag{5.11}$$

where

$$\theta_{n,n}^* = \frac{n+1}{4\gamma_{n+1}},$$

$$v_{n,0}^* = \frac{n+1}{4\gamma_{n+1}} - \gamma_n - \gamma_{n+1} + \frac{4}{n+3}\gamma_{n+1}\gamma_{n+2}\gamma_{n+3}.$$

Here, the determinants associated with (5.8) are

$$\Delta_n(0, 2) = \frac{4}{n+1}\gamma_{n+1}\gamma_n^2\gamma_{n-1} \left[\frac{4}{n+2}\gamma_{n+2}\gamma_{n+1} - 1 \right], \tag{5.12}$$

$n \geq 2$, with $\Delta_0(0, 2) = \Delta_1(0, 2) = 0$.

From Proposition 5.1, we deduce that the uniqueness of the previous inverse relation requires that $\lambda_{n+1,n-1} - \gamma_n = \gamma_n \left[\frac{4}{n+2}\gamma_{n+2}\gamma_{n+1} - 1 \right] \neq 0$, $n \geq 2$. Equivalently, $4\gamma_{n+2}\gamma_{n+1} \neq n+2$, $n \geq 2$. Indeed, by using (5.8), where n is replaced by $n+1$ and taking into account the orthogonality of the polynomial sequence $\{B_n\}_{n \geq 0}$, we get $B_{n+1}^{[1]}(x) = xB_n(x) + (\lambda_{n+1,n-1} - \gamma_n)B_{n-1}(x)$, $n \geq 1$. On the other hand, if we suppose that there exists an integer $n_0 \geq 2$ such that $\lambda_{n_0+1,n_0-1} - \gamma_{n_0} = 0$, then $B_{n_0+1}^{[1]}(x) = xB_{n_0}(x)$. In this case (5.11), with $n = n_0$ will be written as $(x^2 + \alpha x + v_{n,0}^*)B_n(x) = B_{n+2}^{[1]}(x) + \alpha B_{n+1}^{[1]}(x) + \theta_{n,n}^*B_n^{[1]}(x)$, for all $\alpha \in \mathbb{C}$. This contradicts the uniqueness of the inverse relation.

Acknowledgements: The first author (FM) was supported by Dirección General de Investigación (Ministerio de Educación y Ciencia) of Spain under grant MTM 2006-13000-C03-02. The work of second author (RS) was supported by Entreprise Kilani at Gabès and Institut Supérieur de Gestion de Gabès, Tunisie.

References

- [1] M. Alfaro, F. Marcellán, A. Peña & M. L. Rezola, *On linearly related orthogonal polynomials and their functionals*, J. Math. Anal. Appl. **287** (2003), 307–319.
- [2] M. Alfaro, F. Marcellán, A. Peña & M. L. Rezola, *On rational transformations of linear functionals. A direct problem*, J. Math. Anal. Appl. **298** (2004), 171–183.
- [3] A. Cachafeiro, F. Marcellán & J. J. Moreno-Balcázar, *On asymptotic properties of Freud-Sobolev orthogonal polynomials*, J. Approx. Theory **125** (2003), 26–41.
- [4] T. S. Chihara, "An Introduction to Orthogonal Polynomials", Gordon and Breach, New York, 1978.
- [5] A. M. Delgado & F. Marcellán. *Companion linear functionals and Sobolev inner products: a case study*, Meth. Appl. Anal. **11** (2004), 237–266.
- [6] F. Marcellán, M. Alfaro & M. L. Rezola, *Orthogonal polynomials on Sobolev spaces: Old and new directions*, J. Comput. Appl. Math. **48** (1993), 113–131.
- [7] F. Marcellán & J. C. Petronilho, *Orthogonal polynomials and coherent pairs: The classical case*, Indag. Math. (NS), **6** (1995), 287–307.
- [8] F. Marcellán, T. E. Pérez & M. A. Piñar, *Orthogonal polynomials on weighted Sobolev spaces: the semiclassical case*, Ann. Numer. Math. **2** (1995), 93–122.
- [9] F. Marcellán & J. C. Medem, *Q-Classical orthogonal polynomials: a very classical approach*, Elect. Trans. on Numer. Anal. **9** (1999), 112–127.
- [10] P. Maroni, *Un exemple d'une suite orthogonal semi-classique de classe un*. In Publ. Labo. d'Analyse Numérique, Université Pierre et Marie Curie, Paris. **89033** (1989).
- [11] P. Maroni, *Fonctions eulériennes. Polynômes orthogonaux classiques*. In Techniques de l'ingénieur, A **154** (1994), 1–30.
- [12] P. Maroni, *Semi-classical character and finite-type relations between polynomial sequences*. J. Appl. Num. Math. **31** (1999), 295–330.
- [13] P. Maroni & R. Sfaxi, *Diagonal orthogonal polynomial sequences*, Meth. Appl. Anal. **7** (2000), 769–792.
- [14] H. G. Meijer, *Determination of all Coherent Pairs*. J. Approx. Theory, **89** (1997), 321–343.
- [15] P. Nevai, *Orthogonal Polynomials associated with $\exp(-x^4)$* . Proc. Canad. Math. Soc. **3** (1983), 263–285.

Recibido el 16 de diciembre de 2007

Aceptado para su publicación el 14 de marzo de 2008

EVALUACIÓN DEL ESTADO DE POBLACIONES DE BAGRE RAYADO *PSEUDOPLATYSTOMA MAGDALENIATUM* EN LA CUENCA MEDIA DEL RÍO MAGDALENA DURANTE LA TEMPORADA DE SUBIENDA DEL 2004

Por

Mariangeles Arce Hernández¹

Resumen

Arce Hernández, M.: Evaluación del estado de poblaciones de bagre rayado *Pseudoplatystoma magdaleniatum* en la cuenca media del río Magdalena durante la temporada de subienda del 2004. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 257-266, 2008. ISSN 0370-3908.

Se llevó a cabo un estudio sobre el bagre rayado *Pseudoplatystoma magdaleniatum* (Buitrago-Suárez & Burr, 2007) en la cuenca media del río Magdalena, específicamente en los municipios de Honda, La Dorada, Puerto Boyacá, Puerto Berrío y Barrancabermeja durante los meses de enero y febrero de 2004. La situación de esta especie en la cuenca es grave desde la década de los setenta debido al decrecimiento de las poblaciones y a la disminución de la talla media de captura. Se encontró una curva de crecimiento que responde a un coeficiente de alometría positivo directamente relacionado con el hecho de que los ejemplares analizados se encuentran en un proceso de migración, la proporción de sexos fue de 1:1 y casi la mitad de los individuos analizados se encontraron en estado de maduración gonadal I. El presente estudio permitió verificar la constante amenaza sobre la especie evidenciada en la baja talla de captura manejada por los pescadores. Los resultados sugieren la posible existencia de una población diferenciada morfométricamente en la zona de Honda, pero es necesario verificar dicha información mediante nuevos estudios en la misma zona.

Palabras clave: peces, ecología, poblaciones, talla mínima de captura.

¹ Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Museu de Ciências e Tecnologia, Laboratório de Ictiologia, Av. Ipiranga, 6681, Caixa Postal 1429, 90619-900, Porto Alegre, RS, Brazil. Correo electrónico: mariangelesarce@yahoo.com.ar

Abstract

An study about the “bagre rayado” *Pseudoplatystoma magdaleniatum* (**Buitrago-Suarez & Burr, 2007**) was develop on the middle Magdalena river basin, specifically on Honda, La Dorada, Puerto Boyacá, Puerto Berrio y Barrancabermeja during January and February of 2004. The situation of the species is difficult since the sixties due to the population decreasing and the diminution of the capture size. Was find a growing curve that has an allometry coefficient positive directly related with the fact that the analyzed specimens are on a migration process, the sex proportion was 1:1 and almost half of the analyzed specimens were find in maturity state I. This study allows to verify the constant threat over the species evidenced by the lowest capture size. The results suggest the possible existence of a morphometric differentiated population on Honda, but is necessary to verify that information doing new studies on the same area.

Key words: fishes, ecology, populations, minimum capture size.

Introducción

Pseudoplatystoma magdaleniatum es una especie de bagre perteneciente a la familia Pimelodidae, que se distingue de manera general por tener la cabeza deprimida con un proceso occipital largo que alcanza a unirse a las placas predorsales de la aleta dorsal y una larga fontanela en la región media del cráneo (**Buitrago-Suarez, 2006**). La pigmentación del cuerpo es oscura dorsal y lateralmente sin delimitación evidente entre las zonas pálidas y las zonas grisáceas, con una serie de barras oscuras extendiéndose hasta la línea lateral y conectándose dorsalmente con las del lado opuesto (**Buitrago-Suarez & Burr, 2007**). Esta especie era reconocida como *Pseudoplatystoma fasciatum* hasta que en el 2007, **Buitrago-Suarez & Burr**, realizaron un estudio taxonómico de las especies pertenecientes a este género y determinaron que los individuos que se encuentran distribuidos en la cuenca Magdalénica incluyendo el río Cauca pertenecen a esta nueva especie, la cual es considerada endémica para la cuenca.

La especie es conocida como bagre rayado o pintadillo y constituye una de las especies de mayor importancia económica en esta región, debido principalmente a su gran tamaño, alcanza a crecer hasta 1.40 m de longitud (**Ajiaco et al., 2002**), y a la buena calidad de su carne. Presenta una tasa de crecimiento comparativamente lenta (**Valderrama et al., 1988**) y es una especie migratoria, condiciones que hacen que sea bastante vulnerable a la pesca.

Como ya se mencionó anteriormente se consideraba esta especie junto con aquellas distribuidas en las cuencas del Amazonas, Meta y Orinoco como *Pseudoplatystoma fasciatum*, así que varios de los estudios realizados, aquí citados, recopilaron información para la conocida *P. fasciatum*, indistintamente de la región de donde provinie-

ran. Fueron realizados estudios sobre aspectos pesqueros de la especie en las cuencas del Amazonas, Meta y Orinoco como los de **Lamus de Beltrán & Beltrán (1975)**, **Escorcía et al. (1989)**, **Ramírez-Gil & Ajiaco (1995)**, **Ajiaco et al. (2000)**, **Ajiaco et al. (2001)** y **Pineda et al. (2001)**; además de trabajos encaminados a conocer la biología y ecología de la especie como los de **Contreras (1989a)**, **Contreras (1989b)**, **Contreras (1990)**, **Cancino (1990)**, **Rodríguez & Nielsen (1990)**, **Eslava & Muñoz (1995)**, **Brand (1996)** y tan sólo un trabajo (**Ramírez, 2001**) que pretendió comparar algunas de las características genéticas de las poblaciones del Magdalena, Orinoco y Amazonas. Exclusivamente para el Magdalena fueron realizados trabajos por **Valderrama et al. (1987)** y **Moreno et al. (1993)** que buscaron establecer estados de reproducción además de tallas de madurez y de captura para la especie; **Camacho (1998)**, **Camacho y Burbano (1999)** y **Gallo (2000)** realizaron trabajos que llevaron al conocimiento de la citogenética y la variabilidad genética de la especie.

Según **Ajiaco et al. (2002)** se evidencia una gran disminución en las poblaciones del bagre rayado, ya que en 1977 representaba el 37% de la pesca total del Magdalena, y en 1986 alcanzó tan sólo el 9% (tabla 1). Según los datos suministrados por el INCODER para el año de 1999 el bagre sólo aportaba el 2% de la producción total de la cuenca. En estudios realizados anteriormente se observa cómo en 1973 el bagre presentaba una talla promedio de captura de 87 cm (**Arias, 1985**) y en 1988 esta talla disminuyó a 54 cm (**Zarate, 1989**). Este valor se encuentra bastante cerca al valor de talla media de madurez de la especie, que está entre 52 y 60 cm (**Valderrama et al., 1988**), lo que hace evidente el enorme peligro en que se encuentra la especie, estando actualmente catalogada como especie en peligro crítico para la cuenca del Magdalena (**Ajiaco et al., 2002**)

Tabla 1. Valores de captura en general y valores de captura del bagre rayado durante la subienda en diversos años en la cuenca del Magdalena (Fuente **Valderrama et al., 1988**)

Año	Captura total subienda (toneladas)	Captura de bagre <i>P. magdaleniatum</i> (toneladas)	Porcentaje de bagre en la producción total de la cuenca	Fuente
1977	43134	15960	37%	Chapman <i>et al.</i> (1977)
1978	34415	10669	31%	Valderrama <i>et al.</i> (1978)
1981	12091	1451	12%	Arias <i>et al.</i> (1981)
1982	20683	2689	13%	Arboleda <i>et al.</i> (1982)
1985	19244	2694	14%	Zárate y Martínez (1985)
1986	17099	1539	9%	Zárate y Martínez (1986)

En la tabla 2 es posible observar los valores de producción total de pescado en la cuenca en la década de los 90, además de la representatividad del bagre en ese total durante los mismos años, la cantidad, en toneladas, de bagre capturado durante esa década varía medianamente pero lo más evidente es cómo la representatividad de las capturas de *Pseudoplatystoma* disminuye notoriamente. Es preocupante cómo durante los años 1991 y 1992, la producción total de la cuenca es bastante baja. De manera general se observa una reducción de la representatividad del bagre de casi el 80% entre 1991 y 1999.

Comparando estos valores con los registrados en la tabla 1, se observa una gran diferencia en las capturas, por ejemplo en 1977 la producción de bagre durante la subienda fue de 15960 toneladas (**Chapman et al., 1977** en **Valderrama et al., 1988**), producción que no es alcanzada en ninguno de los años de la década de los noventa ni siquiera para el total de peces de la cuenca.

El panorama general para la cuenca es preocupante, así que entidades como el INCODER se han dedicado a generar leyes que permitan proteger de alguna manera el recurso pesquero de las cuencas colombianas. Particularmente para la cuenca magdalénica, el entonces INDERENA creó la resolución No. 025 del 2 de enero de 1971 que establece que la talla mínima de captura para esta especie es de 60 cm., tamaño que permite que el animal alcance la madurez sexual y pueda reproducirse por lo menos una vez antes de ser capturado. La evidente disminución en las tallas de captura y la disminución de la población (**Dahl, 1971; Zárate, 1986; Vera, 1987; Caraballo, 1987; Moreno, 1987; Valderrama y Zárate, 1988** en **Valderrama et al., 1988** y **Ajiaco et al., 2002**) estimuló la formulación de más medidas al respecto y por esto el acuerdo 16 de 1997 estableció una veda temporal para la pesca, modificada por el acuerdo 242 de 1996 y el acuerdo 09 de 1996 que establece que la veda en la cuenca del Magdalena se lleve a cabo del 1 al 30 de mayo y de 15 de septiembre al 15 de octubre de cada año,

Tabla 2. Porcentaje de producción del bagre rayado (*Pseudoplatystoma magdaleniatum*) en la cuenca magdalénica. Fuente INPA (1991-1999).

Año	Producción total de la cuenca (toneladas)	Producción de bagre (toneladas)	Porcentaje de bagre en la producción total de la cuenca
1991	1550,97	160,774	10,3%
1992	623,739	19,078	3,0%
1993	11828,8	149,92	1,3%
1994	19486	263,7	1,4%
1995	10258,6	398,9	3,9%
1996	8918,6	221,028	2,5%
1998	7582,37	373,24	4,9%
1999	8629,4	170,15	1,9%

protegiendo de esta manera a la especie durante la época que ha sido determinada como la época de reproducción.

Debido a la evidente reducción de las poblaciones de bagre rayado, se planteó este estudio bajo el marco de la Iniciativa de Especies Amenazadas (IEA) Jorge Hernández Camacho, con el apoyo y financiación de Conservación Internacional Colombia y la Fundación Omacha, con el fin de evaluar el estado de la población de *Pseudoplatystoma magdaleniatum* en cinco puntos a lo largo de la cuenca del Magdalena, además de revisar el cumplimiento de la normatividad vigente y generar algunos conocimientos sobre la biología y ecología de esta especie encaminados a la futura formulación de medidas de manejo y conservación de la especie.

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se desarrolló en cinco puertos ubicados sobre la cuenca media del río Magdalena: 1) El municipio de Honda, Departamento del Tolima a $5^{\circ} 12' \text{ LN}$ y $74^{\circ} 44' \text{ LO}$ y 225 m.s.n.m. 2) Municipio de Dorada, Departamento de Caldas a $15^{\circ} 27' \text{ LN}$ y $74^{\circ} 40' \text{ LO}$ y 178 m.s.n.m. 3) Puerto Boyacá, municipio del Departamento de Boyacá a $5^{\circ} 58' \text{ LN}$ y $74^{\circ} 36' \text{ LO}$ y 150 m.s.n.m. 4) Municipio de Puerto Berrío, Departamento de Antioquia a $6^{\circ} 29' \text{ LN}$ y $74^{\circ} 24' \text{ LO}$ y 123 m.s.n.m. y 5) el municipio de Barrancabermeja, Departamento de Santander a $7^{\circ} 04' \text{ LN}$ y $73^{\circ} 52' \text{ LO}$ a 75 m.s.n.m. (IGAC, 1970). La figura 1 muestra la localización de los puntos en que fue realizado el muestreo.

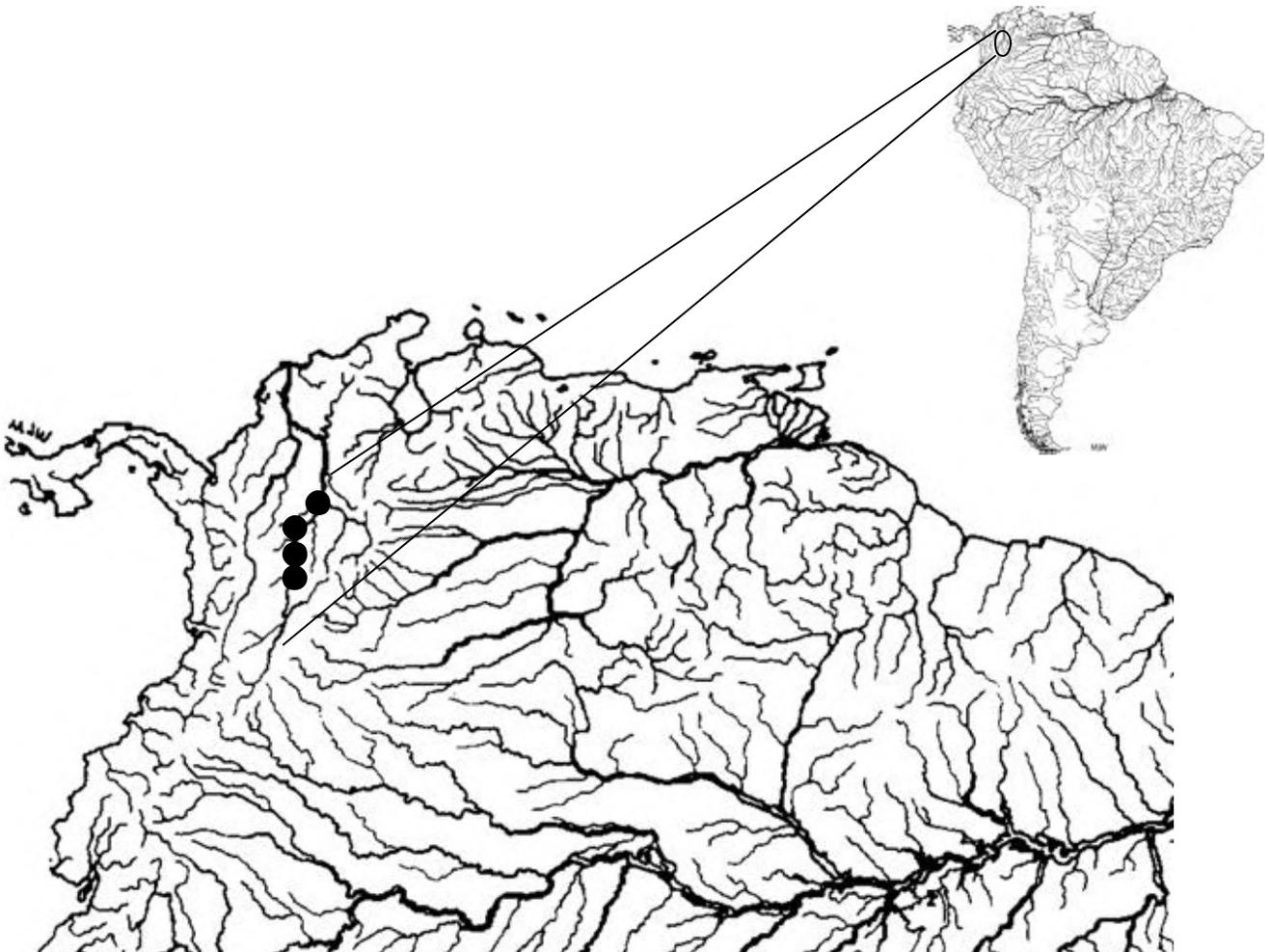


Figura 1. Área de estudio sobre el río Magdalena.

Fase de campo

Fueron realizadas dos salidas de campo a estos cinco puntos, durante los meses de enero y febrero de 2004, durante las cuales se registraron medidas morfométricas y merísticas de los ejemplares pertenecientes a la especie. Los ejemplares usados en el estudio corresponden a aquellos colectados directamente por los pescadores y a individuos almacenados en mercados de cada uno de los puntos muestreados.

Las medidas tomadas en los ejemplares fueron escogidas siguiendo la metodología de **Bookstein et al.** (1985) empleada para diferenciar poblaciones bagres (Figura 2). De cada uno de los individuos se registró, además, la longitud total, la longitud estándar, el peso, el sexo y de ser posible el estado de maduración gonadal de acuerdo con la metodología de **Galvis** (1989).

Durante las salidas de campo fueron aplicadas encuestas a los pescadores, encaminadas a determinar el grado de conocimiento existente sobre la biología de la especie, además del conocimiento sobre la normatividad vigente sobre la pesca en general y específicamente sobre la pesca del bagre en la cuenca.

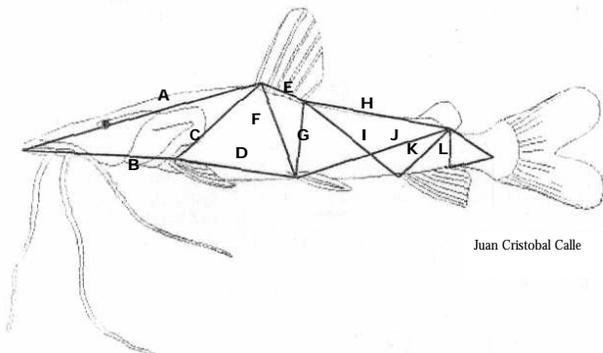


Figura 2. Medidas registradas sobre cada uno de los individuos analizados. A: Distancia predorsal. B: Hocico-origen aleta pectoral. C: Origen aleta dorsal - origen aleta pectoral. D: Base aleta dorsal. E: Origen aleta dorsal - origen aleta ventral. F: Origen aleta pectoral - origen aleta ventral. G: Último radio aleta dorsal - origen aleta ventral. H: Último radio aleta dorsal - último radio aleta adiposa. I: Último radio aleta dorsal - origen aleta anal. J: Origen aleta ventral - último radio aleta adiposa. K: Último radio aleta adiposa - origen aleta anal. L: Último radio aleta adiposa - último radio aleta anal. M: Distancia interorbital.

Fase de análisis de la información

Los datos registrados en campo fueron consignados en matrices de Excell, se trazaron curvas de relación longi-

tud estándar-peso y se halló la fórmula de relación de estos dos factores. En cuanto a los aspectos reproductivos se tuvieron en cuenta proporciones de sexo y proporciones de estados de maduración gonadal dentro de la población. Para determinar la existencia de poblaciones diferenciadas en la cuenca, se emplearon los datos de morfometría. Se hizo una selección de los datos y sólo fueron tenidos en cuenta aquellos ejemplares para los que se registraron todas las medidas, se contó con 156 ejemplares. Los datos fueron estandarizados mediante el logaritmo en base 10 y posteriormente se llevó a cabo el Análisis de Componentes Principales del cual se graficaron el componente 2 y 3, mediante el programa Past 1.21. Las encuestas realizadas fueron tabuladas y se llevó a cabo un análisis cualitativo de dichos resultados.

Resultados y discusión

1. Aspectos biológicos

1.1. Abundancia

Durante la fase de campo fueron medidos un total de 183 individuos de *P. magdaleniatum*, para algunos de estos individuos no fue posible registrar todas las medidas, debido al estado de conservación. La tabla 3 relaciona la cantidad de individuos medidos y analizados en cada uno de los puntos de muestreo.

1.2. Crecimiento y reproducción

A través de la figura 3 es posible establecer la relación entre el peso total (g) y la longitud estándar (cm.), descrita mediante la ecuación $W = 0,0006LS^{3,641}$ ($r=0,69$; $n=85$). Dicha relación muestra un crecimiento alométrico positivo para los individuos de la especie registrados en el estudio, lo que indica que hay un mayor crecimiento en peso que en longitud.

Este resultado estaría directamente relacionado con el hecho de que la especie realiza dos migraciones anuales: una alimenticia, en la época de verano, y otra reproductiva, al inicio de las lluvias, la primera migración (subienda) se lleva a cabo en los meses de enero y febrero y se dirige hacia las cabeceras del río, la segunda (bajanza) ocurre durante los meses de abril y mayo y surge de las cabeceras del río. Según **Reid** (1983) el bagre rayado sigue las grandes migraciones de *Prochilodus* y otras especies acompañantes, realizadas durante la época de verano, ya que estas especies constituyen su principal fuente de alimento, lo cual le permite aumentar la cantidad de reservas energéticas (peso) y estar preparado para la segunda migración que se hace necesaria para realizar las desovas en las ciénagas.

Tabla 3. Abundancia de individuos observados y analizados en la cuenca media del Magdalena durante los meses de enero y febrero de 2004.

	Honda	La Dorada	Puerto Boyacá	Puerto Berrío	Barrancabermeja	Total
Total de individuos	30	21	49	42	42	183
Individuos analizados	23	18	40	36	39	156

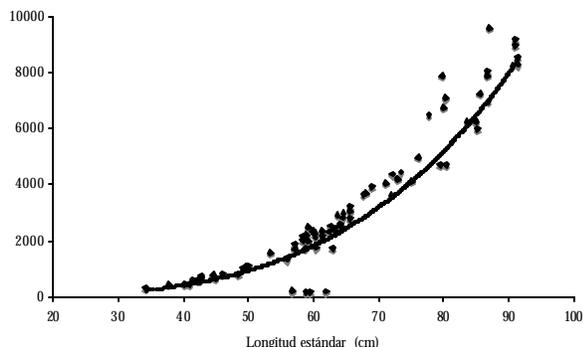


Figura 3. Relación longitud estándar-talla para *Pseudoplatystoma magdaleniatum* en la cuenca media del río Magdalena durante los meses de enero y febrero de 2004.

Esta información fue corroborada al revisar los estados de maduración gonadal (Tabla 4) de los individuos analizados, ya que más de la mitad de la población se encontraba en estado I, lo cual indica que los individuos se encontraban lejos del desarrollo máximo de las gónadas que les permite la reproducción.

Tabla 4. Porcentaje de estados gonadales de machos y hembras dentro del total de individuos de *P. magdaleniatum* analizados en el estudio.

Sexo	Machos			Hembras		
	I	II	III	I	II	III
Porcentaje	54%	39%	7%	55%	38%	7%

De los individuos analizados se observa que la proporción de sexos para la especie, en esta cuenca durante el período de muestreo es de 1:1, presentándose proporciones casi iguales de hembras y de machos. En cuanto a los estados de maduración sexual de estos individuos se puede afirmar también que las proporciones son casi iguales para los dos sexos, ya que se reportaron, para hembras 55%, 38% y 7%, y para machos 54%, 39% y 7% respectivamente para los estados I, II y III.

1.3. Análisis de las poblaciones encontradas en la cuenca

El análisis de componentes principales indica que existen al menos dos poblaciones diferenciadas de bagre en la cuenca del Magdalena. De los 23 individuos medidos en Honda, al menos 15 (65%) forman un evidente grupo aparte del resto. Según los resultados del análisis (Figura 4) la separación de esta población está dada, en su mayoría, por el componente dos que explica el 2.17% de la varianza y que corresponde a la distancia predorsal.

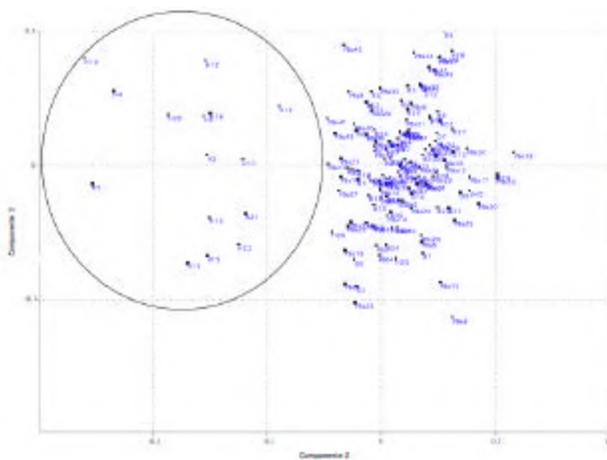


Figura 4. Análisis de componentes principales de los datos de morfometría de los individuos de *Pseudoplatystoma magdaleniatum* registrados en la cuenca magdalénica durante los meses de enero y febrero de 2004.

Es posible que este grupo diferenciado en Honda se deba a que todos los ejemplares de esta localidad fueron medidos en la plaza de mercado, que en esta población constituye un centro de acopio bastante grande debido a la cercanía con Bogotá. Durante el muestreo se intentó medir ejemplares que correspondieran únicamente a capturas en el Magdalena, pero la falta de conocimiento de la taxonomía de la especie que fue recientemente revisada por **Buitrago-Suarez & Burr (2007)** puede haber ocasionado falsos resultados como este.

Por otro lado, es posible que este resultado responda a una verdadera diferenciación de poblaciones en la cuenca, debido a la constante intervención de este trecho del río, sin embargo este resultado sólo puede ser verificado mediante la realización de estudios más detalladas de las poblaciones de estas zona, corroborados mediante análisis genéticos.

2. Aspectos socioeconómicos

2.1. Efectividad de la normatividad vigente

De manera general se puede afirmar que sólo el 28% de los individuos analizados alcanzan o sobrepasan el valor de la talla mínima de captura para la cuenca (80 cm.), este dato es preocupante si analizamos que la talla mínima de captura garantiza que los ejemplares pescados alcancen por lo menos una época reproductiva en la vida, asegurando así la supervivencia de la especie. La figura 5 analiza estos datos especificando valores para cada uno de los puntos de muestreo y permite evidenciar que el promedio de la longitud estándar de los individuos capturados en los cinco puntos está por debajo de la talla media de captura permitida por el INCODER. Es así que se reporta la captura de individuos muy pequeños (35-40 cm.). Esta situación representa una amenaza grande para la especie, ya que no se observa ningún tipo de control permanente en los puntos de comercialización del pescado.

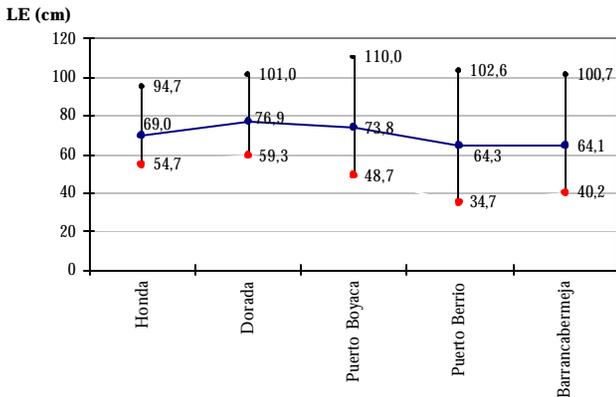


Figura 5. Valores máximos, mínimos y promedio de tallas de captura de *Pseudoplatystoma magdaleniatum* en cada uno de los puntos muestreados en la cuenca magdalénica entre enero y febrero de 2004.

El punto que presenta el menor valor mínimo de talla, y por consiguiente el promedio más bajo de los cinco puntos, es Puerto Berrío. Cuando se analizan los porcentajes de individuos que sobrepasan la talla mínima de captura en cada uno de los puntos (Tabla 5) encontramos que el

punto más crítico es Barrancabermeja, ya que en este municipio sólo el 14% de los individuos analizados sobrepasan la talla mínima de captura. En Puerto Berrío, al igual que en Barrancabermeja, se observó la comercialización de **sartas** de la especie, es decir grupos de pescados de 30-35 cm. amarrados para ser vendidos, aspecto que entre otros evidencia la fuerte amenaza y presión que se está generando en estos municipios sobre las poblaciones de la especie.

2.2. Análisis de las encuestas

La realización de las encuestas permite recopilar información sobre algunos aspectos sociales de la comunidad de pescadores que está manejando el recurso en el río Magdalena. Dicha información puede ser útil para generar medidas de conservación específicas para la especie en la cuenca.

Es importante tener en cuenta que un poco más de la mitad de los pescadores encuestados, son considerados pescadores sólo de temporada (subienda), que es cuando se encuentran grandes cantidades de pescado viajando detrás del bocachico en una migración alimenticia como ya se mencionó anteriormente. Es muy posible que durante este periodo la mayoría de los bagres no hayan alcanzado la talla de madurez sexual ni hayan realizado posturas de huevos y aún así es uno de los periodos en que la amenaza es mayor. Gran cantidad de los pescadores encuestados (66%) afirman conocer la normatividad vigente sobre la pesca, en temas relacionados con el tipo de artes de pesca que están permitidas, así como afirman conocer las tallas mínimas de captura, pero aún así argumentan que el cumplimiento de las mismas no es posible, en ocasiones, debido a sus necesidades económicas; en otros casos afirman que no las cumplen porque existen otros pescadores que no las cumplen y ellos no están dispuestos a “quedarse” sin pescado.

Los pescadores también fueron encuestados sobre el tipo de artes de pesca que están empleando (Tabla 6) y lo que se registra es que aguas abajo del río se están empleando artes de pesca bastante efectivas como la atarraya barredera que impide casi por completo el paso de la especie, poniéndola en riesgo mayor. Es importante mencionar que el tipo de artes empleadas en las zonas, afirman los pescadores, varía dependiendo de las épocas del año.

Por último, es importante mencionar que un alto porcentaje de pescadores (77%) afirma no haber recibido ningún tipo de capacitación sobre el recurso pesquero en la cuenca, este es un factor que vale la pena considerar ya que se hace necesaria la generación de alguna clase de talleres en miras de conservar esta y otras especies en peligro en la cuenca magdalénica.

Tabla 5. Porcentaje de individuos de *Pseudoplatystoma magdaleniatum* que sobrepasan la talla mínima de captura en la cuenca magdalénica durante los meses de enero y febrero de 2004.

Municipio	Individuos analizados	Individuos que alcanzan o sobrepasan la talla mínima de captura	Porcentaje de individuos que sobrepasan la TMC
Honda	30	8	26%
La Dorada	21	8	38%
Puerto Boyacá	49	16	39%
Puerto Berrío	42	13	30%
Barrancabermeja	42	6	14%

Tabla 6. Porcentaje de artes de pesca empleada Honda, La Dorada, Pto. Boyacá y Pto. Berrío de acuerdo con los resultados tabulados de las encuestas a pescadores de cada una de las regiones.

Arte de pesca Localidad	Atarraya	Atarraya barredera	Barredera	Chichorro	Anzuelo individual / Calandrio	Otras
Honda	77%		3%		6%	14%
Dorada	19%	6%	19%	37%	19%	
Puerto Boyacá	24%		12%	52%		12%
Puerto Berrío		55%		36%		9%

Conclusiones

Como se evidencia a lo largo del estudio, la información biológica encontrada corresponde completamente con lo esperado para la especie, pero es importante prestar atención sobre el hecho de la posibilidad de la existencia de poblaciones diferenciadas en el municipio de Honda. Sería bueno realizar estudios de sistemática molecular con el género, que combinados con los estudios morfológicos actuales, podrían establecer una filogenia definitiva del grupo y determinar si en realidad existen más de dos especies en la cuenca.

Los resultados del estudio señalan una situación crítica para la especie, debido a la alta presión de pesca que no está permitiendo el adecuado desarrollo de las poblaciones del bagre en la cuenca. Es necesario generar medidas de control permanentes que permitan la protección de esta especie, específicamente durante los periodos de reproducción para de esta manera asegurar su supervivencia. La nueva revisión taxonómica la convierten en una más de las especies endémicas del Magdalena sobre la cual no hay suficiente protección. Es importante corroborar el cumplimiento de la normatividad vigente y capacitar a pescadores de las diferentes regiones sobre la importancia de la conservación del recurso, además de ofrecer para ellos alternativas laborales durante las épocas de veda.

Bibliografía

- Ajiaco-Martínez, R. E. y H. Ramírez-Gil. 2000. Análisis de la captura comercial de peces de consumo de Puerto López, Meta, 1999. Informe Técnico. INPA, Puerto López (Meta).
- Ajiaco-Martínez, R. E., H. Ramírez-Gil y L. Carrillo. 2001. La pesca de especies de consumo en el área de influencia de Puerto Carreño. En: Ramírez, H. Y R. E. Ajiaco (Ed.). La pesca en la baja Orinoquia colombiana: Una visión integral. MINAGRICULTURA / PRONATA / COLCIENCIAS / INPA, Bogotá D. C.
- Ajiaco, R. E., H. Ramírez y R. Álvarez. 2002. *Pseudoplatystoma fasciatum*. Pp. En: Mojica, J. I., c. Castellanos, S. Usma y R. Álvarez (Eds.). 2002. Libro Rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, Colombia.
- Arias, P. A. 1985. Las ciénagas de Colombia. INDERENA-Rev. Divulgación Pesquera, 22 (3-): 38-70.
- Bookstein, F. L., R. L. Chernoff, J. M. Humphries, G. R. Smith y R. E. Strauss. 1985. Morphometrics in evolutionary biology. Acad. Nat. Sci., Philad. 277 pp.
- Brand, O. 1996. Caracterización y preservación del semen del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Tesis de Pregrado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Biología Marina, Bogotá, Colombia.
- Buitrago-Suárez, U.A. (2006) Anatomía comparada y evolución de las especies de *Pseudoplatystoma* Bleeker 1762. Revista Academia Colombiana de Ciencias, XXX(114): 117-141.

- Buitrago-Suárez U.A. y B.M. Burr.** 2007. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. *Zootaxa*, 1512: 1-38.
- Camacho, J.** 1998. Caracterización citogenética e implicaciones evolutivas en poblaciones colombianas de *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. triginum* (Pisces: Siluriformes: Pimelodidae). Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá, Colombia.
- Camacho, J. y C. Burbano.** 1999. Técnica para el cultivo in vitro de linfocitos de peces. *Dalia (Rev. Asoc. Colomb. de Ictiol.)* 3: 69-79.
- Cancino, L.** 1990. Efecto del extracto de pituitaria de carpa y de hormona liberadora de gonadotropina (LH-Rha) sobre la maduración gonadal del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766) (Pisces: Siluriformes). Tesis de Pregrado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Biología Marina, Bogotá, Colombia.
- Contreras, P. J. y J. Contreras.** 1989a. Resultados preliminares de la reproducción inducida del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Estación Piscícola de San Silvestre, Barrancabermeja (Sant.).
- Contreras, P. J. y J. Contreras.** 1989b. Desarrollo embrionario y larval del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Estación Piscícola de San Silvestre, Barrancabermeja (Sant.). Informe Técnico.
- Contreras, P. J. y J. Contreras.** 1990. Resultados preliminares de la reproducción inducida del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Pp. 21-30. En: Mem. 2º Seminario Nacional. Presente y futuro de la Acuicultura en Colombia, CORNARE / INDERENA-Reg. Antioquia / Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid, Medellín (Ant.), agosto 21-24.
- Escorcía, F., H. Lozano, T. Fernández, A. Pión, R. Turriago y O. Baena.** 1989. Caracterización tecnológica de productos pesqueros: bocachico (*Prochilodus reticulatus magdalanae*) y bagre (*Pseudoplatystoma fasciatum*). Recursos Hidrobiológicos (Rev. Cient.Tecn. Inf. INDERENA-CIP). 1: 30-49.
- Eslava, P. R. y D. Muñoz-Lara.** 1995. Infestación por *Dolops sp.*: Reporte de un caso en (*Pseudoplatystoma fasciatum*) procedente de Maní-Casanare-Colombia. *Acovez* (diciembre) 1995: 23-24.
- Gallo, H. M.** 2000. Variabilidad genética del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), en el río Magdalena. Tesis de Pregrado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Biología Marina, Bogotá, Colombia.
- Galvis, G, J. Mojica y F. Rodríguez.** 1989. Estudio ecológico de una laguna de desborde del río Metica. Fondo FEN / Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- INPA. 1991. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1992. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1993. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1994. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1995. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1996. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1998. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- _____. 1999. Boletín de Estadísticas Pesqueras. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Santa Fe de Bogotá D. C.
- Lamus de Beltrán, E. y C. N. Beltrán.** 1975. Contribución al conocimiento de la biología del bagre pintado, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) 1766, y su importancia pesquera. Tesis de Pregrado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Biología Marina, Bogotá, Colombia.
- Mojica, J. I., C. Castellanos, S. Usma y R. Alvarez** (Eds.). 2002. Libro Rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, Colombia
- Moreno, C.A., M. Valderrama y I. C. Beltrán.** 1993. Épocas de reproducción, talla media de madurez gonadal y análisis de problemática con referencia a las tallas de captura del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), en el medio Magdalena. Sector de Barrancabermeja. Informe técnico. INPA, Santafé de Bogotá, D.C.
- Pineda, I. Z., H. Ramírez y R. E. Ajiaco.** 2001. El recurso pesquero de consumo en el área de influencia de Inírida, Guainía. Pp. 39-56. En: Ramírez, H. Y R. E. Ajiaco (Ed.). La pesca de la baja Orinoquia colombiana: Una visión integral, INPA, Bogotá D. C.
- Ramírez-Gil, H.** 2001. Diferenciação genética de populações de Surubim (*Pseudoplatystoma fasciatum*) e de Caparari (*Pseudoplatystoma tigrinum*) nos bacios Magdalena, Orinoco e Amazonas. Instituto Nacional de Pesquisas de Amazonia, Ph. D. Thesis. Manaus. Brasil.
- Ramírez-Gil, H. y R. E. Ajiaco-Martínez.** 1995. El bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) y *Pseudoplatystoma tigrinum* (Valenciennes) aspectos biológico pesqueros en el alto río Meta. *Bol. Cient. INPA.* (3): 157-167.
- Ramírez-Gil, H. y R. E. Ajiaco-Martínez.** 2001. La pesca en la Baja Orinoquia colombiana: Una visión Integral. MINAGRICULTURA / PRONATA / COLCIENCIAS / INPA, Bogotá D. C.
- Reid, B. S.** 1983. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *Pseudoplatystoma tigrinum* en la cuenca del río Apure, Venezuela. *Rev. UNELLEZ de Cienc. y Tecnol. Ser. Prod. Agric.* 1(1): 13-41.
- Rodríguez, J. A. y G. J. Nielsen.** 1990. Algunas observaciones sobre reproducción y alevinaje del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). *Unillanos-Rev. Ciencia y Tecnología.* 12: 20-23.
- Valderrama-Barco, M., I.C. Beltrán y C. A. Moreno.** 1987. Épocas de reproducción, talla media de madurez gonadal y análisis de

problemática con referencia a las tallas de captura del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), en el medio Magdalena. Sector de Barrancabermeja. En: Mem. Resúmenes IV Simp. Colomb. De Ictiología. ACICTIOS / INVEMAR / UDM / INPA, Santa Marta (Mag), agosto 7-10.

Valderrama, M., M. Zarate, G. Vera, C. Moreno, P Caraballo y J. Martínez. 1988. Determinación de la talla media de madurez y análisis de la problemática con referencia a las tallas medias de captura del bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) Linnaeus 1766 (Pises: Pimelodidae) en la cuenca del río Magdalena, Colombia. Trianea (Act. Cienc. Tecn. INDERENA) 2: 537-549

Zárate, M., J. Martínez, P. R. Caraballo, G. Vera y M. Valderrama. 1989. Evaluación de la captura y esfuerzo pesquero en la cuenca del río Magdalena y su sistema de planos inundables durante la subienda 1988. Informe Técnico. INDERENA, San Cristóbal (Bolívar). Zarate, 1989.

Recibido: 24 de febrero de 2006

Aceptado para su publicación: 7 de julio de 2008

NEUROENDOCRINOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS EN PECES

Por

Lilian M. Barandica C.* & Luis Tort B.

Resumen

Barandica C., L.M. & L. Tort B.: Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 267-284, 2008. ISSN 0370-3908.

En los peces, al igual que en los mamíferos, se ha visto una íntima comunicación entre los sistemas nervioso, endocrino e inmune. Esta comunicación bi-direccional es posible gracias a que las señales moleculares sintetizadas por células y tejidos de los tres sistemas son similares y en algún caso idénticas. Esta estrecha interrelación es fundamental, entre otras cosas, para hacer frente de manera coordinada y eficaz a las situaciones de estrés. El estrés se puede definir como cualquier situación que somete al organismo a unas condiciones fuera del rango fisiológico estable o normal (enfermedades, cambios extremos en las condiciones medio ambientales, etc.). El conjunto de cambios en los tres sistemas orgánicos que genera la situación de estrés como respuesta a dicha situación se conoce genéricamente como síndrome de adaptación general (SAG). Las situaciones de estrés en los peces y los mamíferos guardan gran similitud, aunque existen diferencias en cuanto a los órganos implicados y el tiempo de respuesta, siendo éste un factor importante para la recuperación de la homeostasis. Los parámetros utilizados para identificar los peces estresados son los relacionados con las diferentes fases de la respuesta al estrés: respuesta primaria (adrenalina y cortisol), secundaria (glucosa, lactato e iones del plasma) y las proteínas de fase aguda (APP); además de indicadores inmunes como los indicadores fagocíticos, las enzimas líticas del sistema alternativo del complemento, las aglutininas y las precipitinas (opsoninas, sobre todo lectinas), los anticuerpos naturales, las citoquinas, los quimiocinas y los péptidos anti-bacterianos. Todo ello cobra gran relevancia desde el punto de vista económico, por cuanto la producción industrial de recursos pesqueros (piscifactorías) muestra cada vez mayor importancia económica en todo el mundo debido al crecimiento de su demanda y a la creciente calidad del producto comercial.

Palabras clave: peces, cortisol, estrés, catecolaminas, hormonas.

¹ Departamento de Biología Celular y Fisiología, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España.

* Autor de correspondencia: Lilianmilena.barandica@uab.es (L.Barandica)

Abstract

In fish, like in mammals, an intimate communication between the nervous, endocrine and immune systems has been observed. This bidirectional communication is possible thanks to the molecular signals synthesized by cells and tissues of the three systems are similar or in some cases identical. This intimate interrelation is fundamental, among other factors to cope, in coordinated and effective manner, with the stress situations. Stress can be defined as any situation that puts the organism under the conditions outside the stable or normal physiological range (extreme diseases, changes in the environmental conditions, etc.). The changes in the three regulatory systems that the stress situation generates as a response to this situation is known generically as the general adaptation syndrome (GAS). The stress situations in fish and the mammals keep great similarities, although there exist differences in terms of the organs involved and the response time, being this, an important factor for the recovery of the homeostasis. The parameters used to identify a stressed fish are the ones related to the different response phases after stress: primary response (adrenalin and cortisol), secondary (glucose, lactate and ions of the plasma) and the proteins of acute phase (APP). In addition, immune parameters like phagocytosis indicators, lytic enzymes of the alternative system of the complement, the agglutinines and precipitines (opsonines, mainly lectines), the natural antibodies, the anti-bacterial cytokines, chemokines and peptides, may be indicative of stress episodes. All of it shows great relevance from the economic point of view, inasmuch as the industrial production of fishing resources (fish farms) anywhere in the world shows greater economic importance due to the growth of their demand and to the increasing quality of the commercial product.

Key words: fish, cortisol, stress, catecholamines, hormones.

Introducción

La inmuno-fisiología es la disciplina que investiga las interacciones del sistema inmune con los otros sistemas fisiológicos. Los organismos requieren una buena comunicación entre sus sistemas inmune, nervioso y endocrino para responder adecuadamente a los cambios en su ambiente. En este sentido se comprueba la existencia de un importante número de interconexiones, constituyendo una compleja red de transmisores entre los tres sistemas (Tort, 1998). Esta comunicación bidireccional es posible gracias a que las señales moleculares sintetizadas por células y tejidos de los tres sistemas son similares o idénticas (Baigent 2001/5; Turnbull and Rivier, 1999), por ello se dice que hablan el mismo lenguaje bioquímico. Dicha comunicación involucra una compleja red de señales, cuyos mensajeros (hormonas y citocinas de los sistemas neuroendocrinos e inmune) parecen interactuar en íntima colaboración (Engelsma, *et al.* 2002).

Esta intercomunicación es determinante en los cambios psicológicos y fisiológicos necesarios para que el organismo pueda dar una respuesta adecuada a las variaciones ambientales y mantener así su homeostasis (Engelsma, *et al.* 2002).

En los vertebrados en general, se ha llamado a este proceso de ajuste continuo de su fisiología a los cambios en el medio ambiente o **estrés ambiental** (“respuestas de adaptación”) como homeostasia, que tiene lugar por medio de un repertorio de respuestas fisiológicas, endocrinas e inmunológicas que les permiten, hacer frente a los cambios físicos, químicos y biológicos (Flik, *et al.* 2006/3). En el caso de los animales y los humanos sometidos a estrés ambiental, coinciden igualmente los cambios de su comportamiento además de los de su fisiología (Flik, *et al.* 2006/3).

En el caso concreto de los peces, fueron los primeros vertebrados en desarrollar una respuesta al estrés, que incluye, interrelaciones entre los ejes relacionados con el sistema nervioso y el sistema endocrino (Engelsma, *et al.* 2002; Flik, *et al.* 2006/3).

En peces teleósteos se conoce el efecto neuro-endocrino en el sistema inmune (Harris and Bird 2000; Weyts, *et al.* 1999/1). Sin embargo se conoce poco acerca de las señales de las células inmunes hacia el sistema neuroendocrino en peces. Aunque el rápido descubrimiento de las secuencias de las citocinas, ha hecho posible investigar esta interacción (Engelsma, *et al.* 2002).

Las investigaciones sobre la fisiología del estrés se basaron en los trabajos de Canon (**Cannon, 1929**) que describió los cambios en las funciones corporales durante “las situaciones que estimulan las emociones”: aumento del ritmo cardiaco, ritmo respiratorio, presión sanguínea y azúcar en la sangre, como la disminución de la función gástrica e intestinal, atribuidas por el incremento de la actividad del sistema nervioso simpático. Además, Canon concluye que todos estos efectos sirven para aumentar la capacidad de un individuo a reaccionar activamente a situaciones críticas, para preparar “la lucha o la huida”.

Pocos términos son tan frecuentemente utilizados en biología, medicina, psicología y sociología como “estrés”. La definición ha cambiado a lo largo de la historia (**Engel, 1998; Levine, 1991; Selye, 1950**). El endocrinólogo Hans Selye, introdujo el término estrés y estresor dentro de la investigación biomédica; señaló que frente a cualquier agente agresor al organismo, se producen simultáneamente una serie de reacciones típicas, en función del estímulo agresor (estresor), y otras reacciones atípicas (siempre las mismas), independientemente de la naturaleza de los estímulos. Estas reacciones suponen: aumento de la actividad suprarrenal, atrofia del sistema metabólico de las grasas; otras tales como pérdida o aumento del peso y aumento del cortisol en sangre, etc. Así como incremento de la actividad del córtex adrenal, dato particularmente importante.

El síndrome de adaptación general (GAS, en inglés) engloba los cambios que se producen como respuesta al “estrés” ambiental (**Roberts Ronald J. 1981**). Este conjunto de manifestaciones atípicas reciben diferentes nombres: Síndrome de Estrés, o también Ley de Selye. El GAS tiene distintas etapas según la duración del agente estresante: a)

reacción de alarma inicial, b) fase de resistencia, y c) fase de agotamiento (**Cannon, 1929; Maule, et al. 1989; Roberts Ronald J. 1981**). En la Tabla 1, se enumeran las características más importante del síndrome de adaptación general.

Así que, el estrés se puede definir como una situación en la cual el equilibrio homeostático es modificado como consecuencia de la acción de un estímulo (intrínseco o extrínseco) al animal, denominado agente estresante. El animal responde mediante una serie de reacciones de comportamiento y/o fisiológicas con objeto de compensar y/o adaptarse a la nueva situación (**Overli, et al. 2001; Overli, et al. 2004; Wendelaar Bonga, 1997**).

1. Estrés y la activación del sistema de respuesta

En los vertebrados superiores (mamíferos) el conjunto de sistemas orgánicos interrelacionados implicados en la respuesta a las situaciones de estrés se denomina eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA).

El eje HPA se denomina en los peces eje hipotálamo-pituitario-interrenal (HPI), ya que los peces no poseen una glándula adrenal como tal, sino un conjunto difuso de células interrenales. El término “eje del estrés” se ha utilizado en los peces debido a la clara interacción entre los estímulos al estrés y las funciones de las células del eje HPI (**Weyts, et al. 1999/1**).

Además, en los peces existe un segundo eje fisiológico implicado en el conjunto de la respuesta a los factores estresantes: el eje Hipotálamo Simpático Cromafin (HSC). Los estresores son primero percibidos por los sensores del sistema nervioso central (CNS, en inglés), específicamente en el hipotálamo donde los dos grandes ejes

Tabla 1. Síndrome de adaptación general o ley de Seyle 1963.

Reacción de alarma inicial	Fase de resistencia	Fase de agotamiento
<p>La primera reacción del animal, es intentar huir o enfrentar el peligro, lo cual activa un amplio rango de funciones fisiológicas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Activación motora, ritmo cardiaco, flujo sanguíneo hacia los órganos más activos: cerebro corazón y músculos esqueléticos. 2. Flujo sanguíneo hacia las branquias y estímulo de la captación de oxígeno. 3. Aumento de la tasa metabólica basal e intermedia 	<p>Continúa el estrés, el animal trata de adaptarse a la nueva situación y los niveles de las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) volverían a valores normales y se libera el cortisol.</p>	<p>Se mantiene la situación de estrés y los niveles de cortisol durante un largo período y la activación del metabolismo interfieren con los demás procesos fisiológicos y pueden llegar a ser letales para el animal.</p>

reguladores son estimulados: el eje Hipotálamo Simpático Cromafin (HSC) y el eje Hipotálamo-Pituitario-Interrenal (HPI) (Weyts, *et al.* 1999/1).

En el eje HSC, la síntesis y liberación de las CA (adrenalina A, noradrenalina NA) en la circulación, está estimulada por las fibras colinérgicas del sistema simpático y un leve aumento tardío (retraso en minutos) de la liberación de las hormonas glucocorticoides (GC). Los somas de estas neuronas se encuentran en centros neuronales del hipotálamo anterior y medial.

Las catecolaminas (CA) son liberadas de la médula adrenal en los mamíferos; en los peces teleósteos el principal origen de las CA circulantes son las células cromafin dispuestas en la pared de la vena cardinal posterior en la región del riñón anterior (Nilsson, 1984; Reid, Bernier and Perry 1998/7/1) y activa varias respuestas cardiovasculares, respiratoria y metabólica dirigidas a aliviar los efectos perjudiciales asociados con los estresores agudos (Perry, *et al.* 2004).

La primera hormona en el eje HPI es la hormona liberadora de la corticotropina (CRH, en inglés), liberada por las neuronas hipotalámicas de la región pre-óptica. La CRH se ha encontrado en peces, con la hormona liberadora de la tiroides (TRH, en inglés) (Pepels, Peter P L M., *et al.* 2002). La TRH y la CRH estimulan la liberación de la ACTH, en inglés de la pituitaria, a inducir la producción y liberación del mayor esteroide estresor (cortisol), por las células interrenales (Mommsen, Vijayan and Moon 1999; Pepels, Peter P L M., *et al.* 2002; Pickering, *et al.* 1991; Pottinger, Balm and Pickering 1995; Wendelaar Bonga 1997). Además de la ACTH, otras hormonas participan en la secreción del cortisol, como el péptido Terminal N, angiotensina, urotensinas I y II, péptido natriurético atrial, entre otros (Mommsen, Vijayan and Moon 1999).

Los teleósteos no poseen un sistema portal y las células corticotrópicas de la adenohipófisis son directamente innervadas por axones del hipotálamo, regulando la liberación de la hormona adrenocorticotropina (ACTH) (Rotlant, *et al.* 2003; Rotlant, *et al.* 2003).

El cortisol sintetizado en las células interrenales, localizadas también en el riñón anterior o pronefrítico en los peces es un órgano mixto, compuesto por elementos hematopoyéticos, reticulo-endoteliales, endocrinos y excretorios, que participan en la osmo-regulación, hematopoyesis, inmunidad, metabolismo endocrino y excreción (Matty, 1985); a pesar de su sencillez aparente en el riñón se localizan las glándulas interrenales, las células cromafines, los folículos tiroideos, y una red vascular y

nerviosa amplia. Esta ubicación no es aleatoria, revelándose la importante relación entre los tres sistemas, existente en las especies filogenéticamente más antiguas.

Avances recientes en el campo de la fisiología comparativa del estrés sugieren, que el factor liberador de la corticotropina (CRF, en inglés) juega un papel clave en la regulación e integración de los sistemas neuroendocrino, autonómico, inmune y del comportamiento como respuesta a estresores (Crespi and Denver 2004; Heinrichs and Koob 2004; Lovejoy and Jahan 2006/3; Volkoff, *et al.* 2005). Su aumento provoca la liberación de otras hormonas como las endorfinas y los péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC, en inglés) (Matteri and Becker 1994/4). Tanto ACTH como endorfinas y melanotrofinas derivan de un precursor común, la POMC, y son sintetizados por dos tipos celulares: células corticotropas, de la parte anterior de la hipófisis que secreta como principal producto biológicamente activo la ACTH; en tanto que las hormonas estimulantes de los melanocitos (?-MSH, en inglés) y ?-endorfinas, son los principales productos secretados por células melanotropas, localizadas en la parte intermedia de la glándula.

La presencia de estos tipos celulares posibilitaría que diferentes tipos de estrés actúen sobre una u otra célula, secretándose hormonas específicas para cada caso, originando respuestas (Pepels, Peter P L M. and Balm 2004; Rotlant, *et al.* 2000b). Un gran número de citocinas son ahora conocidas por interactuar con el eje HPA en mamíferos y las células que son parte integral del sistema nervioso también producen citocinas que originalmente se pensó que eran sólo producidas por las células del sistema inmune (Weyts, *et al.* 1998). Las citocinas proinflamatorias interleucina (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF-?, en inglés) e IL-6, son consideradas las principales efectoras en esta comunicación entre el sistema inmune y el eje HPA en mamíferos (Engelsma, *et al.* 2003). En las Figuras 1 y 2 se observa el conjunto de órganos implicados en los dos ejes reguladores descritos (Overli, *et al.* 2001; Reid, Bernier and Perry 1998/7/1) y un esquema del funcionamiento de estos ejes (según la explicación del texto) (Tort, 1998).

Respuestas primaria, secundaria y terciaria al estrés

El alcance y la dinámica de la respuesta al estrés puede ser fuertemente influenciada por el estado de desarrollo del animal, la gravedad y la duración del estresor, entre otros factores (Maule and Schreck 1991; Barton, *et al.* 1998/5). Por ejemplo los factores de la respuesta primaria y secundaria al estrés, pueden manifestar diferentes patrones entre peces maduros o inmaduros expuestos a algún

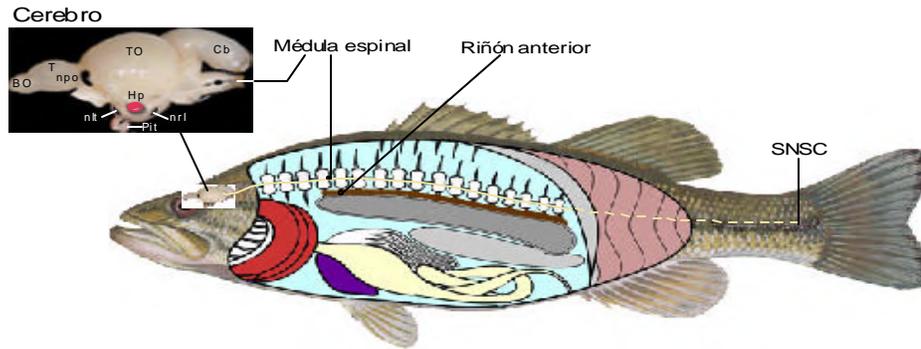


Figura 1. Esquema de la anatomía interna de un pez teleosteo (lubina *Dicentrarchus labrax*) mostrando los principales órganos implicados en los ejes neuroendocrinos Hipotálamo-Hipófisis-Interrenal (HPI) y Hipotálamo-Simpático-Cromafín (HSC). Abreviaturas: BO: bulbo olfativo, Cb: Cerebelo, Hp: Hipotálamo, nlt: *nucleus laterales tuberis*; npo: *nucleus preopticus*; nrl: *nucleus recessis lateralis*; Pit: Pituitaria o Hipófisis; SNSC: sistema neurosecretor caudal (neurohipófisis), T: telencéfalo, TO: tectum óptico (Adaptado de Bernier 2006/3; kentuckylake.com 2007).

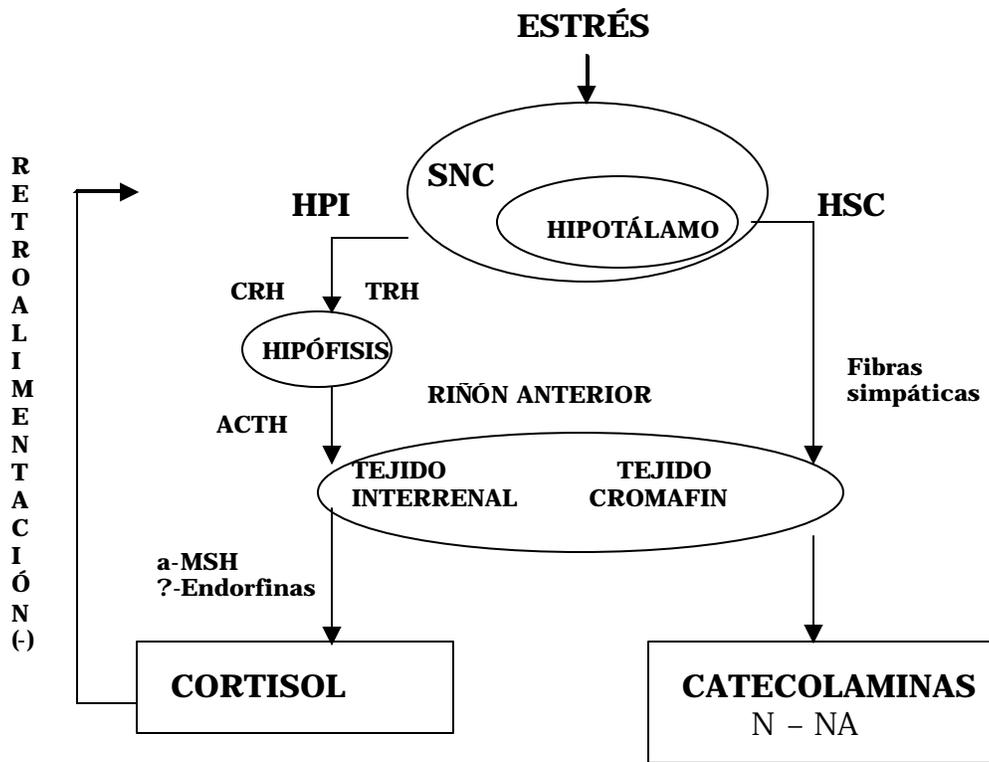


Figura 2. Esquema de la relación existente en la respuesta a un estímulo estresante (Tort 1998).

estrés generalizado (Carragher, *et al.* 1989; Slater, Fitzpatrick and Schreck 1995/11/15). En el análisis de las respuestas fisiológicas al estrés en los animales, se distinguen tres tipos de respuestas según los diferentes niveles de organización biológica (Wendelaar Bonga, 1997).

Respuesta primaria. Consiste en la activación de los núcleos cerebrales, células adenohipofisarias, tejido interrenal y cromafín, con un incremento en los niveles de catecolaminas y corticosteroides adrenales en plasma.

Respuesta secundaria. Considerada como las modificaciones fisiológicas originadas por las catecolaminas y corticosteroides: aumento del consumo de oxígeno, actividad cardíaca, hiperglucemia, perturbaciones del equilibrio hidromineral, etc.

Respuesta terciaria. Se extienden al nivel de organismo y la población: inhibición del crecimiento, problemas en la reproducción, perturbación del sistema inmune y disminución de la tolerancia a nuevas situaciones de estrés (Arends, *et al.* 1999; Mommsen, Vijayan and Moon 1999; Moon, *et al.* 1999). Los procesos involucrados en los sistemas de coordinación de las respuestas fisiológicas y del comportamiento, pueden ser compensadas y/o adaptadas permitiendo al animal superar la amenaza. Sin embargo, en algunas ocasiones la respuesta al estrés puede perder su valor adaptativo, pudiendo afectar la inhibición del creci-

miento, características reproductivas e inmuno-supresión (Wendelaar Bonga, 1997; Weyts, *et al.* 1998). Como se muestra en la Figura 3.

2. Estresores

La respuesta al estrés es un proceso que demanda energía (Davis and Schreck, 1997; Schreck, 1982/6). Durante ella, un organismo puede tener menos energía disponible destinada para otras funciones vitales, comprometiéndolas, temporal o permanentemente (Barton, *et al.* 1998/5).

Las respuestas al estrés son de diferente duración dependiendo de los estresores y de los indicadores medidos; el tiempo es un factor importante para la recuperación de la homeostasis. La duración del estresor influencia significativamente el estado fisiológico total. Los estresores agudos involucran rápidos y altos niveles de

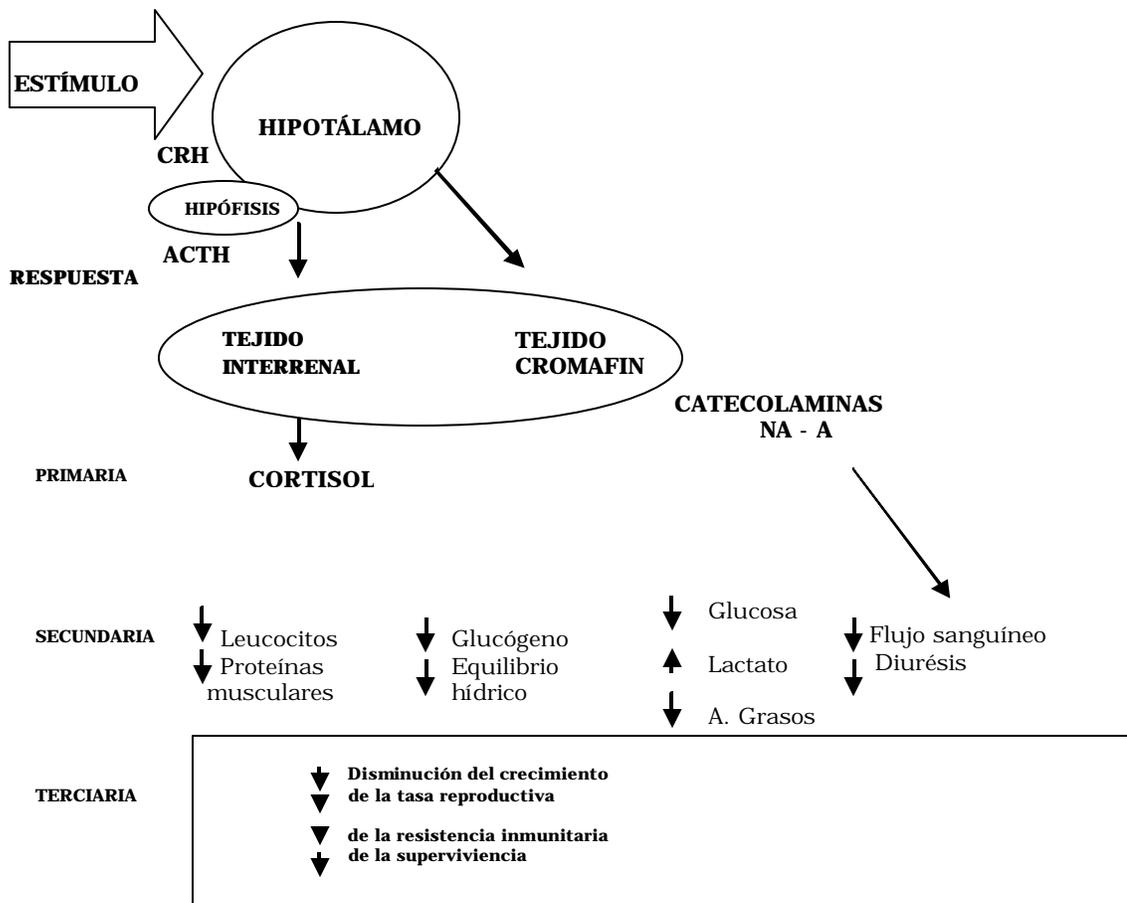


Figura 3. Tipos de respuestas fisiológicas a estrés desde el punto de vista de los niveles de organización biológica (Tort 1998).

secreciones, seguido una recuperación a las pocas horas después de la inducción, siendo por ello los costos de estos episodios de estrés reducidos. Por el contrario en los casos de estresores crónicos o repetitivos son más constantes niveles de esteroides secretados, que involucran frecuentemente largos períodos de recuperación, mayor coste energético y de funcionamiento, debido a la persistencia del estresor y al efecto derivado de la respuesta del estrés al estresor.

Se han identificado numerosos estresores que afectan a los peces. Estos incluyen los cambios físicos extremos del medio ambiente (por ejemplo temperatura, salinidad y turbidez), interacción animal (por ejemplo prelación, parasitismo, competición por espacio, alimentación, parejas sexuales), interferencia humana (incluyendo prácticas acuícolas, por ejemplo, captura y manejo, transporte, anestesia) y aguas contaminadas (por ejemplo, pH bajo, alta armonía, metales pesados y metales pesados) (Bly, Quiniou and Clem 1997; Gerwick, Demers and Bayne 1999; Iwama 1991; Mazon, *et al.* 2004; Weyts, *et al.* 1998). La exposición química aumenta hasta tres veces la respuesta integrada al estrés y puede causar inmunosupresión e inmunocompetencia (Wendelaar Bonga, 1997).

Numerosos estresores son conocidos por iniciar la secreción de las CA en peces, provocando varias alteraciones fisiológicas como anoxia, anemia acidosis, ejercicio exhaustivo y perturbación física (Nakano and Tomlinso N., 1967; Ristori and Laurent 1985). Una gran variedad de condiciones tales como la polución, el estrés nutricional y físico, la influencia hormonal puede modificar todo los niveles de almacenamiento de las CA en el tejido cromafín (Reid, Bernier and Perry 1998/7/1).

La anorexia es una respuesta característica en peces sometidos a diversos agentes infecciosos virales, bacteriales y parásitos; al ingerir menos alimentos como consecuencia de la infección, se ven afectados sus mecanismos de defensa (Bernier 2006/3).

Existen también otros efectos en el comportamiento, por ejemplo: un animal en repetidas ocasiones sujeto a acciones agresivas por un individuo dominante, mostrará casi inevitablemente un comportamiento fuertemente inhibido, con la tendencia a reducir la competencia por el alimento, compañeras reproductivas o espacios territoriales como principales características (Maule and Schreck, 1991; Overli, *et al.* 2004; Sloman, Montpetit and Gilmour 2002).

Asimismo, cuando un animal es amenazado inesperadamente por un predador, detendrá precipitadamente su alimentación e intentará escapar, pero incluso, si se esca-

pa no comenzará a comer de nuevo inmediatamente después que el predador se ha ido (Bernier and Peter 2001; Berthoud 2002; Bernier 2006/3; Munkittrick, *et al.* 1991/6; Volkoff, *et al.* 2005).

En mamíferos la derrota social, induce cambios del comportamiento y elevación crónica de glucocorticoides en el plasma, así como alteraciones neuroquímicas en el cerebro de poiquiloterms (Korzan, *et al.* 2002; Summers, *et al.* 2005). La hipótesis es que este tipo de comportamiento agresivo hacia otros, es un reductor de estrés; copiando la estrategia sufrida después de una derrota y generalmente contra individuos de menor tamaño (Overli, *et al.* 2004; Summers, *et al.* 2005).

3. Indicadores de estrés

3.1. Indicadores neuroendocrinos (adrenalina y cortisol)

Los parámetros utilizados para identificar los peces estresados son los denominados de respuesta primaria, es decir, indicadores neuroendocrinos como la adrenalina y el cortisol, que son inductores de cambios rápidos a nivel cardiovascular y metabólico. El cortisol está más relacionado con los estresores crónicos, como parte final del eje HPI (Tort, Balasch and MacKenzie 2005).

3.2. Proteínas de choque térmico (HSP)

Actualmente se estudian otros parámetros como indicadores más rápidos, por ejemplo las Proteínas de Choque Térmico (HSP, en inglés), una familia de proteínas de bajo peso molecular que son inducidas en mamíferos y peces después de situaciones de estrés (Abukhalaf, *et al.* 1994; Iwama, *et al.* 1998), estas proteínas son esenciales para la activación de los receptores hormonales del núcleo e interactúan con las señales moleculares del ciclo celular y de la vía de muerte celular (Harris and Bird 2000). Las HSPs están implicadas en uno de los mecanismos más importantes para prevenir y reparar los efectos nocivos de los estresores proteo-tóxicos tales como la alta temperatura y juegan un papel relevante en la termo-tolerancia (Feige, Morimoto and Yahara 1996). También están implicadas en la respuesta al estrés por contaminantes, manipulación excesiva o cambios bruscos medio ambientales (Vijayan, *et al.* 1997). Otras proteínas como las metalotioneínas que son inducidas después de situaciones de estrés también pueden intervenir en relación a la protección de la oxidación tisular (Tort, *et al.* 1996).

3.3. Proteínas de fase aguda (APP)

Otra posibilidad de indicadores rápidos son las proteínas de fase aguda La primera línea de defensa contra los

agentes ambientales es una serie de proteínas en la circulación y las membranas mucosas, que protegen de los patógenos en procesos asociados con la infección o el trauma químico. La liberación de estas proteínas, denominadas también reactantes principales de fase aguda, forma parte de la respuesta de fase aguda (APR, en inglés) de la inflamación. Su concentración puede aumentar de 100-1000 veces sobre el nivel basal. La liberación de las APR, desencadena un amplio rango de cambios fisiológicos y metabólicos iniciados como respuesta inmediata a una infección, trauma o daño tisular (**Macintyre, Schultz and Kushner, 1983**). Este proceso involucra la modulación de la función inmune y la regulación del sistema cardiovascular, SNC, sistema nervioso periférico (Steel and **Whitehead, 1994/2**) produciendo somnolencia, fiebre y anorexia; involucran también los sistemas: hepático, músculo-esquelético y hematopoyético (**Kushner, 1993**). El incremento de la concentración sérica de las APP es medible a las 4-6 horas de la agresión tisular, su vida biológica es rápida (de 8 -12 horas).

Dos de las APP más conocidas son la proteína C reactiva (CRP, en inglés) y la proteína sérica amiloide (SAP, en inglés). Las dos son pentraxinas multifuncionales con capacidad para unirse al Calcio. La CRP descubierta en los años 30 en el suero humano debe su nombre a la reacción con el polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae* (CPS, en inglés). Desde entonces se ha encontrado en muchas especies (**Nakanishi, et al. 1991; Magnadóttir 2006/2**).

En los peces, la presencia de la CRP es conocida en platija *Pleuronectes platessa L.*, y trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, Lumpo *Cyclopterus lumpus*, gato de río *Ictalurus punctatus Rafinesque*, salmon Atlántico *Salmo salar L.*, bacalao *Gadus morhua*, mero *Hippoglossus hippoglossus*, pez lobo *Anarhichas lupus*, y pintarroja *Mustelus canis* (**Bayne and Gerwick 2001; Lund and Olafsen 1998/4/1**). Además la SAP unida a pentraxinas del salmón Atlántico *Salmo salar L.* y trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* ha sido clonada y secuenciada y se mostró una homología del 38 a 40% del humano para CRP y SAP respectivamente. Y un porcentaje de 95 y 86 en la N-Terminal identificada de la proteína aislada del salmón Atlántico *Salmo salar L.* (**Lund and Olafsen 1998/4/1**).

Las CRP tienen un papel biológico importante como la interacción con la fosfatidilcolina en tejidos inflamados y en la activación del sistema inmune (**Kodama, et al. 2004; Liu, et al. 2004**), uniéndose a materiales autógenos y exógenos nocivos como componentes nucleares (**Edagawa,**

et al. 1993; Magnadóttir 2006/2). La CRP se cree por lo tanto es importante en la defensa innata del huésped especialmente en vertebrados inferiores ya que la CRP es evolutivamente conservada en vertebrados e invertebrados y tienen un rango amplio de propiedades. La SAP tiene afinidad con la fosforiletalonamina, se une también al LPS de las bacterias Gram positivas (**Lund and Olafsen 1998/4/1; Lund and Olafsen 1999/1/2**).

El nivel de las pentraxinas es normalmente alto en los peces cuando se compara con los mamíferos y puede elevarse o no durante APR (**Tort, Balasch and MacKenzie 2005**). Se considera que las pentraxinas juegan un importante papel en la función inmune demostrándose que pueden iniciar la clásica cascada del complemento (**Cook, et al. 2003/0**). La unión CRP-CPS o APS puede activar el sistema del complemento y suprimir el crecimiento bacteriano en trucha arco iris (**Nakanishi, et al. 1991**).

3.4. Índices metabólicos de respuesta secundaria

Otros indicadores utilizados son los índices metabólicos de respuesta secundaria a estrés midiendo los niveles de glucosa, de lactato y los iones del plasma (**Rotllant and Tort 1997; Rotllant, et al. 2000a; Sunyer and Tort 1995**). Debido a que se produce su incremento en situaciones de estrés debido a una mayor movilización energética y metabólica (**Rotllant and Tort 1997; Rotllant, et al. 2000a; Tort, Balasch and MacKenzie 2005**). Los parámetros hematológicos y metabólicos en sangre (**Rotllant and Tort 1997; Sunyer and Tort 1995; Tort, Balasch and MacKenzie 2005; Tort, et al. 1996**), son herramientas para medir la fase de resistencia ya que responden a la acción del cortisol y las CA. Estos indicadores fisiológicos generales se miden en sangre y plasma. El lactato y la glucosa en el plasma son útiles indicadores metabólicos y energéticos del estrés (**Tort and Hernandez Pascual 1990; Tort, Gonzalez Arch and Balasch 1994; Tort, et al. 1991**). El estrés aumenta los niveles de glucosa liberando las reservas de glúcidos en corto tiempo. A largo plazo, el estrés puede contribuir al incremento de los niveles de glucosa y a la disminución de las reservas de glucógeno, rompiéndose entonces la glucosa y liberándola en la sangre. El lactato también incrementa sus niveles debido al estrés. En situaciones agudas, se produce una demanda de energía y la vía anaerobia que produce el lactato es rápidamente disponible. Sin embargo, los estresores crónicos y los de poca intensidad no inducen cambios en el lactato. La osmolalidad en el plasma y el balance en los niveles de iones, son indicadores plasmáticos también modificados por las CA y el cortisol (**Rotllant, et al. 2000a; Tort and Hernandez**

Pascual 1990; Tort, Gonzalez Arch and Balasch 1994; Tort, et al. 1991).

La adrenalina produce desequilibrio en los iones y los niveles del agua produciendo hinchamiento de las células sanguíneas (Nikinmaa and Soivio 1982; Nikinmaa, Soivio and Railo 1981), modificando el número y tamaño de las células y el valor hematocrito, demanda oxígeno, especialmente en estrés agudo, durante el cual se observan cambios significativos en los valores hematológicos o en el número de glóbulos rojos. Mientras el cortisol actúa en el tejido branquial modifica el flujo de los iones a través del agua. En la figura 4 se muestra detalladamente la activación de la respuesta secundaria como resultado de la activación por el estrés de la respuesta primaria.

4. Indicadores inmunes del estrés

Las situaciones de estrés alteran gran número de parámetros inmunes, pero existen dificultades para identificar los más adecuados debido a la falta de conocimiento de los mecanismos involucrados en la respuesta al estrés en los peces en comparación con lo que se conoce en vertebrados superiores.

Los peces son organismos poiquiloterms y de medio acuático, por lo que necesitan adaptarse a grandes cambios ambientales de temperatura, niveles de oxígeno, salinidad etc. Por esto su sistema inmune debe actuar rápida, eficientemente y con un amplio rango de antígenos. Además, el hecho de vivir en un medio acuático los expone a gran cantidad de patógenos. Por lo tanto, un buen

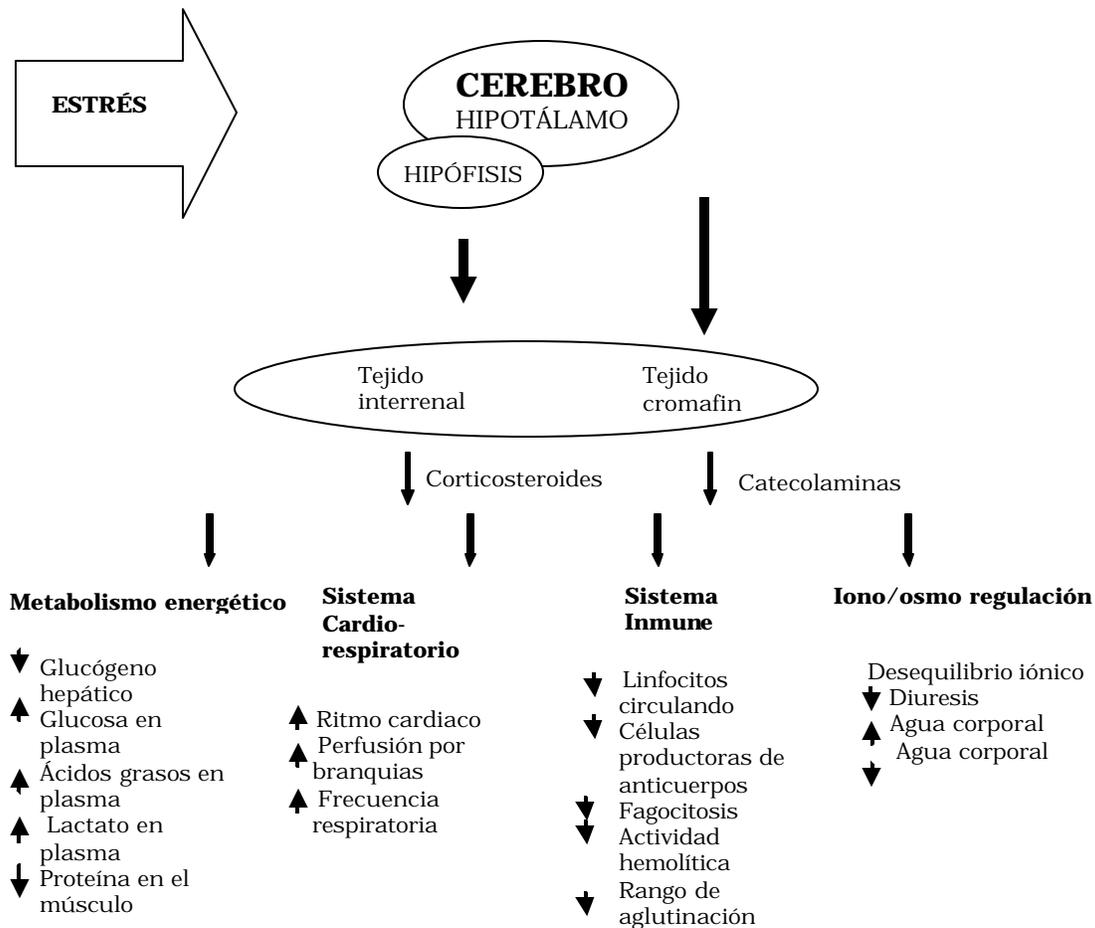


Figura 4. Respuesta secundaria al estrés, donde se observa cómo afecta la actividad y fisiología de los sistemas neuroendocrino, cardio-respiratorio e inmune y el metabolismo y la regulación corporal, razón para ser utilizados como indicadores (Tort, 1998).

indicador en peces es aquel que representa la respuesta inmune, es decir que responde a un amplio rango de antígenos, que sea eficiente y potente en corto período de tiempo (**Magnadóttir** 2006/2).

Los peces dependen de la respuesta inmunitaria innata, un conjunto de mecanismos que parece que juegan un papel mucho más importante en peces que en los vertebrados superiores. En otros vertebrados estas respuestas las realizan, la inmunidad celular adaptativa o las moléculas de plasma o suero, siendo específicas o no específicas (**Tort, Balasch and MacKenzie** 2005).

En los peces, la respuesta inmune central es no específica. Se ha demostrado que la parte más importante de la respuesta inmune se centra en la respuesta fagocítica. Dicha actividad fagocítica puede ser detectada por los indicadores de la reacción de explosión respiratoria donde se mide la producción de radicales libres de oxígeno. Durante esta reacción las células incrementan el consumo de oxígeno y los intermediarios reactivos del oxígeno (IROS, en inglés). Esta respuesta también es detectable por los indicadores fagocíticos como la reducción del *Nitro-Blue Tetrazolium* (NBT) causado por los radicales libres del oxígeno, la adherencia celular o la capacidad de fagocitar partículas de los macrófagos (**Secombes, Hardie and Daniels** 1996/5).

Otros indicadores pueden ser derivados de los cambios celulares inducidos por el estrés, ya que en condiciones de estrés se modifica el número y la distribución de células blancas. Sin embargo, no hay suficientes estudios que muestren un panorama completo de estos parámetros por ejemplo, el número de células (leucocitos o linfocitos) en la sangre y en los órganos linfoides

(bazo, riñón anterior y timo) (**Tort, Balasch and MacKenzie** 2005).

Las inmunoglobulinas (Igs) de los peces están menos desarrolladas que en los grandes vertebrados. Así, las formas de Igs en los peces son muy reducidas en comparación a los grandes vertebrados, el poder de la respuesta es bajo y la respuesta de la memoria secundaria es muy reducida en potencia y rapidez en el tiempo (requiere un período de 3-5 semanas para desarrollar la máxima respuesta). Por el contrario, otras respuestas son buenas, como las del sistema alternativo del complemento, en peces sus propiedades líticas son 10 veces mayores que en mamíferos y este sistema está activo a un amplio rango de temperaturas y pH (**Sunyer and Tort** 1995).

Nuevas investigaciones han mostrado la relación entre el aumento de condiciones de potencia y una gran variabilidad para las proteínas del sistema del complemento y disminuyendo las condiciones de las proteínas Igs en vertebrados inferiores. La relación inversa se ha observado en vertebrados superiores (**Sunyer, Tort and Lambris** 1997). Otro sistema no específico más eficiente en los peces que en los vertebrados homeotérmicos es la actividad lisozímica en la sangre, tejidos y piel u otras moléculas en el suero como lectinas o aglutininas (**Mock and Peters** 1990; Tort, *et al.* 1996).

La Tabla 2 muestra los indicadores más utilizados para medir inmuno-competencia no específica en peces (**Anderson**, 1997). Los cambios en las pruebas son siempre herramientas muy útiles para determinar la eficiencia del sistema inmune bajo las condiciones de estudio requeridas. Las pruebas de resistencia a enfermedades con algún patógeno específico u oportunista, indican la capacidad

Tabla 2. Indicadores inmunes en peces. Agentes y localización en el cuerpo (Tort, 1998).

Indicador	Unidades	Agente	Localización
Complemento (alternativo)	ACTH unit/mL	Proteínas C3	Suero
Complemento (Clásico)	CH50 unit/mL	Proteínas del suero + anticuerpo	Suero
Aglutinación	Títulos	Ig + Lectinas	Suero
Lisozima	Títulos	Lisozima	Moco, Suero
Reducción NBT	Absorbancia	Macrófagos	Sangre
Explosión respiratoria	Absorbancia	Macrófagos	Riñón anterior
Adherencia de WBC	Porcentaje	Macrófagos	Riñón anterior
Linfocitos circulantes	1000/ μ L	Linfocitos	Sangre
Quimioluminiscencia	Centelleo	Macrófagos	Linfocitos
Proliferación celular		Linfocitos	Tejido linfoide
Células formadoras de placas	Pfu/mL	Linfocitos	Tejido linfoide
Cantidad diferencial de WBC	Fórmula	Células sanguíneas	Sangre

del sistema inmune de vencer los cambios (Tort, Balasch and MacKenzie 2005).

5. Inmunosupresión inducida por estrés

Como se ha comentado, las situaciones de estrés, tienen consecuencias no sólo a nivel energético y metabólico sino que además son supresoras potentes de las funciones fisiológicas y dependen del tiempo de exposición al supresor. El estudio de estresores tales como, captura, hacinamiento o dietas deficientes pueden afectar la homeostasis en general de los animales, y en concreto del sistema inmune, como puede ponerse de manifiesto estudiando algunos indicadores inmunes la función de los algunos indicadores en dorada *Sparus aurata*. En la Tabla 3, se muestran algunos de estos indicadores.

Existen múltiples y variados estudios sobre los efectos de los estresores en el sistema inmune de los peces, relacionados con los cambios ambientales (estados reproductivos, características del agua), la presencia de productos químicos en el agua y con los procedimientos de cultivo. La mayoría de las investigaciones demuestran que el estrés produce inmunosupresión, pero la prolongación de sus efectos es muy variable y depende de muchos factores claves. La naturaleza de la respuesta está relacionada con el estresor: dependiendo de su tipo, intensidad, persistencia y duración de la exposición (tiempo) generando diferentes respuestas. La respuesta del organismo de-

pende del particular indicador medido y la localización en el cuerpo (sangre, órganos o tejidos periféricos) y el estado del pez (Acerete, *et al.* 2004; Altimiras, *et al.* 1994; Barton, *et al.* 2005; Montero, *et al.* 1999; Rotllant and Tort 1997; Rotllant, *et al.* 1997).

Durante la primera fase de activación en el caso del estrés agudo (por ejemplo estrés social o confinamiento (Cubero and Molinero 1997; Pickering, *et al.* 1991; Pottinger, Balm and Pickering 1995), las células inmuno-competentes de los tejidos linfoides tales como el riñón anterior, el bazo o el timo pueden mejorar la respuesta proliferativa/mitótica (Demers and Bayne 1997). La asfixia (sostener un pez fuera del agua) produce estrés agudo e incrementa el número de receptores de los leucocitos del bazo y el riñón anterior, disminuyendo la afinidad de estos receptores en el bazo pero no en las células del riñón anterior (Maule and Schreck, 1991).

Sin embargo, otros estresores tales como el transporte o hacinamiento originan una importante disminución de la tasa mitótica (Maule, *et al.* 1989; Mazur and Iwama 1993). Los estresores químicos tales como pesticidas, metales o componentes orgánicos usualmente suprimen la función inmune, pero incrementan los indicadores inmunes y específicamente el índice de fagocitosis (Fries 1986; Roberts, Davies and Pulsford 1995/1; Thuvander, Wichardt and Reitan 1993).

Tabla 3. Cambios de algunos indicadores seleccionados después de exposición a diferentes estresores en *Sparus aurata* (Tort, *et al.* 1996).

Indicador	Unidades	Porcentaje de cambio	Tiempo	Estresor
Complemento ACP (hemólisis)	ACTH50 unidad/mL	97,4	24 horas	Captura (agudo, 5 minutos)
		88,9	5 días	Hacinamiento (crónico)
		70,1	16 días	Captura diaria (repetición agudo)
		53,3	2 meses	Deficientes en vitamina E y n-3 HUFAs
		52,1	2 meses	
Actividad de Aglutinación	Títulos	87,9	24 horas	Captura (agudo, 5 minutos)
		64,7	9 días	Hacinamiento (crónico)
		79,5	16 días	Captura diaria (repetición agudo)
Linfocitos Sangre	10 ⁶ cel/mL	94,7	2 meses	n-3 HUFAs deficientes Captura (agudo, 5 minutos)
		84,4	24 meses	
		70,2	9 días	Hacinamiento (crónico)
		68,7	16 días	Captura diaria (repetición aguda)

Estas discrepancias son probablemente explicadas por las circunstancias en que los indicadores son medidos, por ejemplo en el tiempo transcurrido desde la iniciación del efecto del estresor y la dinámica del mecanismo inmune particular (Tort, 1998). Por lo tanto, numerosos indicadores podrían mostrar incremento cuando el sistema inmune está en la primera fase de reacción contra el cambio. Así, el aumento o disminución del número de linfocitos podría ser registrado dependiendo del lugar donde se toman las muestras (sangre o tejidos linfoides) y el tiempo después de la incursión del estresor. Los índices fagocíticos también son contradictorios dependiendo de las condiciones particulares del experimento. No obstante, parece no haber duda, que un efecto principal es la supresión o mala adaptación y esto podría ser especialmente claro a medio o largo plazo cuando el estresor es crónico o repetitivo (Barton, Iwama and Pickering 1997; Tort, 1998; Tort, *et al.* 1996; Tort, *et al.* 1996).

6. Cortisol y sistema inmune

En los vertebrados, las hormonas corticoesteroides (mineralcorticoides MCs, y glucocorticoides GCs) son esenciales para el desarrollo normal, el mantenimiento de la homeostasis basal y los eventos relacionados con el estrés. Regulan una amplia gama de procesos metabólicos y de funciones fisiológicas a través de dos clases de los receptores del corticoesteroide (CR y GR, en inglés). Los GCs ejercen una parte de sus efectos por la vía de difusión a través de la membrana de la célula, ocupando los receptores situados en el citosol, el desplazamiento del complejo del GC-receptor en el núcleo, en combinación con los elementos específicos responsables de GCs presentes en promotores del gen o por interacción con el factor de la transcripción de NF- κ B (Cupps and Fauci 1982; McKay and Cidlowski 1999) induciendo o reprimiendo la transcripción que conduce a la función biológica (Cupps and Fauci 1982).

El indicador de estrés de uso más común en peces es la concentración del cortisol. Existen numerosos y variados datos en plasma, por su fácil accesibilidad experimental:

1. El cortisol puede medirse fácil y precisamente utilizando un radio-ensayo (RIA, en inglés) (Gamperl, Vijayan and Boutilier 1994) o un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA, en inglés) (Barry, *et al.* 1993/11/15a; Barry, *et al.* 1993/11/15b).
2. Es posible obtener niveles de cortisol en organismos no estresados del plasma por el propio procedimiento de las muestras, incluida la anestesia (Iwama, Mcgeer and Pawluk 1989; Laidley and Leatherland 1988a; Boesgaard, Nielsen and Rosenkilde 1993/12).

3. Los niveles de cortisol en plasma tienden a incrementarse con la exposición al estresor (Mommssen, Vijayan and Moon, 1999).

Las investigaciones realizadas en el *salmon coho* alimentado con cortisol muestran un aumento en el número de leucocitos en el timo y el riñón anterior mientras, en el bazo ~~los leucocitos disminuyen~~ (Maule and Schreck 1991). Otros autores describen cambios significativos en la respuesta mitogénica a lipopolisacáridos (LPS) o después de incubación de linfocitos con medios enriquecidos con cortisol (Laidley and Leatherland 1988b). Sin embargo, el estudio de Narnaware (Narnaware and Baker 1996/9) no muestra disminución significativa de la actividad fagocítica de macrófagos después de la inyección de 200nM del cortisol. Inconsistentes resultados fueron también encontrados en el *salmon salar* dependiendo de los indicadores analizados. Después de la inyección de cortisol, no fueron observados cambios en los niveles de granulocitos en sangre, linfocitos o monocitos pero sí, significativos incrementos de trombocitos (Narnaware and Baker 1996/9). Los niveles de cortisol tienen un impacto negativo en la resistencia a infecciones microbianas en dorada *Sparus aurata* como resultado de una reducción de la actividad fagocítica de los leucocitos; se demostró que el cortisol (especialmente en altas dosis) tiene un efecto en la regulación de la fagocitosis pero no en la actividad citotóxica (Narnaware and Baker 1996/9). Las células dianas receptoras del cortisol se han detectado en muchos órganos de teleosteos incluyendo leucocitos (Maule, *et al.* 1989; Weyts, *et al.* 1998); no obstante el mecanismo que gobierna este efecto en peces permanece desconocido.

7. Conclusiones finales y preguntas abiertas

• *Interrelación entre sistemas: nervioso, endocrino e inmune*

En los peces al igual que en los mamíferos se ha visto una interrelación entre los tres sistemas: nervioso, endocrino e inmune, a pesar que no se ha estudiado con tanta extensión en peces como en mamíferos.

Por ejemplo, se conoce poco acerca de las señales de las células inmunes hacia el sistema neuroendocrino en peces. En este sentido, parece que debería ponerse especial atención en el potencial de las citocinas para la recíproca comunicación entre el sistema neuro-endocrino y el sistema inmune en los peces (Engelsma, *et al.* 2002). Las citocinas proinflamatorias o antiinflamatorias podrían tener un papel en esta comunicación, en especial en procesos patológicos que a su vez activen señales neuroendocrinas.

Asimismo, desde la activación neural, avances recientes sugieren que el factor liberador de la corticotropina (CRH) juega un papel clave en la regulación e integración de los sistemas neuroendocrino, autonómico, inmune y del comportamiento como respuesta a estresores (**Crespi and Denver 2004; Heinrichs and Koob 2004; Lovejoy and Jahan 2006/3; Volkoff, et al. 2005**).

En relación con la función del sistema inmune: las enfermedades y la dieta constituyen dos de los mayores limitantes en el desarrollo de la industria acuícola afectando la producción y comercialización e incrementando la vulnerabilidad del sector; a pesar que la mayoría de enfermedades bacterianas y virales no se consideran peligrosas para la salud y el consumo humano, sí influyen negativamente en su venta y en la confianza de los consumidores, y sobre todo el control de estos patógenos es un reto y un factor determinante para la viabilidad de la actividad de acuicultura (**Vela Vallejo and Ojeda González 2007**). Por ello, el estudio del sistema inmune de los peces, el conocimiento de sus patógenos específicos y la investigación sobre los mecanismos de interacción entre patógenos y huésped son de vital importancia para el futuro del sector.

• *Sistema inmune en peces: posibles líneas de estudio*

En relación a la respuesta inmune, una de las áreas de estudio del futuro son los lipopolisacáridos bacterianos (LPS), también denominados endotoxinas, considerados como un importante factor de virulencia; son los responsables de los efectos letales y manifestaciones clínicas de enfermedades en los seres humanos y animales; a pesar de que se ha estudiado su toxicidad en diferentes peces con respecto a su hábitat, poco se ha estudiado sobre la potencia para expresar citoquinas y otras proteínas de fase aguda, también ejerce efectos neuro-inmunológicos, patológicos, fisiológicos, inmuno-endocrinológicos en varias especies de peces. Los efectos inmuno estimulantes de la endotoxina activan diversos parámetros inmunes como los linfocitos T y B, los macrófagos y el sistema del complemento en los teleósteos. La investigación sobre las endotoxinas (LPS) es de suma importancia en la alimentación humana y animal debido a las ciencias de sus múltiples efectos biológicos (**Swain, et al.**).

Se considera que las pentraxinas juegan un importante papel en la función inmune demostrándose que pueden iniciar la clásica cascada del complemento (**Cook, et al. 2003/0**). La CRP cumple un rol clave en la defensa innata del huésped especialmente en vertebrados inferiores, está evolutivamente conservada en vertebrados e invertebrados con un rango amplio de propiedades. La unión CRP-CPS o APS puede activar el sistema del complemento y

suprimir el crecimiento bacteriano en trucha arco iris (**Nakanishi, et al. 1991**).

Es importante destacar que cualquiera que sean las condiciones ambientales, el sistema inmunitario no está deprimido en todos sus mecanismos de defensa y siempre hay alguno en mayor actividad (**Cuesta and Vargas-Chacoff 2007**). Son necesarios exhaustivos estudios sobre los mecanismos que inmunomodulan y/o inmunoestimulan las especies de cultivo intensivo; creando nuevas herramientas de aplicación en la industria acuícola.

• *Dieta y salud en peces: posibles líneas de estudio*

La dieta y el estado nutricional son factores fundamentales para una explotación piscícola, resulta determinante del estado fisiológico de los animales, tanto de manera directa por su influencia sobre el estado energético, como de manera indirecta por su influencia sobre la resistencia al estrés. La ración adecuada de alimentación se ha demostrado que afecta el crecimiento, la eficacia de la alimentación, el estado inmunológico y la fisiología de peces como la dorada (**Canario, et al. 1998**). Existen evidencias de que algunas dietas mejoran la resistencia de algunos animales a esas condiciones. Tales dietas son enriquecidas con vitaminas como la C y E, inositol, ácidos grasos insaturados y fosfolípidos (**Montero, et al. 1998; Montero, et al. 1999b; Ortuño, Esteban and Meseguer 1999/7; Ortuño, et al. 2001/5/30; Tort, Balasch and MacKenzie 2005**). Una de las estrategias con mayor potencial es el enriquecimiento de las dietas con productos inmuno estimulantes o inmuno moduladores, tales como los probióticos, levaduras de diversos hongos, etc. Todo ello enmarcado en las estrictas normas existentes para la utilización de antibióticos, vacunas vivas etc. En consecuencia, se hacen necesarios estudios para conocer el verdadero alcance fisiológico de estas substituciones en la alimentación de los peces afectando lo menos posible su salud y, por lo tanto, su rendimiento comercial

• *Estudio del estrés: nuevos indicadores inmunitarios*

En el campo de la investigación sobre nuevos indicadores inmunitarios del estrés, parece que un parámetro interesante podría ser el número y la distribución de los glóbulos blancos. Sin embargo, no hay suficientes estudios que muestren un panorama completo de estos parámetros por ejemplo, el número de células (leucocitos o linfocitos) en la sangre y en los órganos linfoides (bazo, riñón anterior y timo) (**Tort, Balasch and MacKenzie 2005**).

Por otro lado, mediante métodos genómicos y proteómicos, se espera que se detecten procesos inmunes, tales

como los mecanismos inmunes siguientes a la infección o durante el desarrollo embrionario y larval, y que esto conduzca a un avance considerable en el campo de la inmunología de los peces en el futuro cercano (**Magnadóttir** 2006/2).

En esta línea de investigación, las pruebas experimentales de retos (*challenge*) son siempre herramientas útiles para determinar la eficiencia del sistema inmune bajo condiciones de estudio requeridas. Las pruebas de resistencia a enfermedades con algún patógeno específico u oportunista indican la capacidad del sistema inmune de vencer los cambios (**Tort, Balasch and MacKenzie** 2005) y por tanto, constituyen un buen modelo para el estudio del estrés.

Los estudios sobre la comunicación entre el sistema inmune innato y el adquirido han recibido mucha atención en especies mamíferas en años recientes, y son de particular interés en los peces debido a los largos períodos entre la detección de la infección hasta la respuesta específica. Un número en aumento de parámetros inmunes innatos comparable a los de especies mamíferas o invertebradas se está describiendo en peces (**Magnadóttir** 2006/2).

Por otro lado, existen discrepancias en cuanto al efecto de ciertos estresores sobre algunos factores fisiológicos, que pueden ser debidas por ejemplo al tiempo transcurrido desde la iniciación del efecto del estresor y la dinámica del mecanismo inmune particular (**Tort**, 1998). Parece, pues, conveniente realizar estudios que tuvieran en cuenta más sistemáticamente la evolución del efecto del estresor en función del tiempo.

- *Interés económico del estudio del estrés en acuicultura*

Por lo que respecta al punto de vista del interés económico del estudio del estrés en peces, resulta obvio por cuanto el estrés suele ser la antesala de los problemas metabólicos, energéticos o la entrada de patologías. A menudo, cuando los tres grandes retos de la acuicultura, la reproducción, nutrición y patología están solucionados o controlados, los problemas que se presentan suelen estar relacionados con alteraciones del medio o de los propios peces que generan una situación de estrés y consecuentemente bajos rendimientos, patógenos oportunistas o alteraciones en la reproducción.

Evidentemente, en la piscicultura es fundamental la correcta adaptación del animal a las condiciones de cultivo (**Davis, Okihiro and Hinton** 2002/10/30). Cuanto mejor es la adaptación (es decir, menor estrés soportado), tanto mejor serán las posibilidades del mantenimiento en cauti-

vidad, el crecimiento y la reproducción de la especie, y en consecuencia, la productividad comercial y la rentabilidad de estas explotaciones. Finalmente, las condiciones de cultivo deben evitar o minimizar las situaciones de estrés en los procesos de producción de las especies acuícolas (**Van Weerd and Komen** 1998/5/1; **Weyts, et al.** 1999/1).

Referencias bibliográficas

- Abukhalaf, I. K., Covington, S., Zimmerman, E. G., Dickson, K. L., Masaracchia, R. A. and Donahue, M. J.** (1994). Purification of the 70-Kda Heat-Shock Protein from Catfish Liver - Immunological Comparison of the Protein in Different Fish Species and its Potential use as a Stress Indicator. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13: 1251-1257.
- Acerete, L., Balasch, J. C., Espinosa, E., Josa, A. and Tort, L.** (2004). Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*, 237: 167-178.
- Altimiras, J., Champion, S. R., Puigserver, M. and Tort, L.** (1994). Physiological- responses of the gilthead sea bream *Sparus aurata* to hypoosmotic shock. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology* 108: 81-85.
- Anderson, D. P.** (1997) Adjuvants and immunostimulants for enhancing vaccine potency in fish. *Fish Vaccinology* 90, 257-265.
- Arends, R. J., Mancera, J. M., Muñoz, J. L., Wendelaar Bonga, S. E. and Flik, G.** (1999) The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *J. Endocrinol.* 163: 149-157.
- Baigent, S. M.** (2001/5) Peripheral corticotropin-releasing hormone and urocortin in the control of the immune response. *Peptides* 22, 809-820.
- Barry, T. P., Lapp, A. F., Kayes, T. B. and Malison, J. A.** (1993/11/15) Validation of a microtitre plate ELISA for measuring cortisol in fish and comparison of stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquaculture* 117: 351-363.
- Barton, B. A., Iwama, G. K. and Pickering, A. D.** (1997). *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Soc. Exp. Biol. Seminar Series. 62.
- Barton, B. A., Rahn, A. B., Feist, G., Bollig, H. and Schreck, C. B.** (1998/5). Physiological stress responses of the freshwater chondrosteian paddlefish (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 120: 355-363.
- Barton, B. A., Ribas, L., Acerete, L. and Tort, L.** (2005). Effects of chronic confinement on physiological responses of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., to acute handling. *Aquacult. Res.* 36: 172-179.
- Bayne, C. J. and Gerwick, L.** (2001). The acute phase response and innate immunity of fish. *Dev. Comp. Immunol.* 25: 725-743.
- Bernier, N. J.** (2006/3). The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *General and Comparative Endocrinology* 146: 45-55.

- Bernier, N. J. and Peter, R. E.** (2001). Appetite-suppressing effects of urotensin I and corticotropin-releasing hormone in goldfish (*Carassius auratus*). *Neuroendocrinology* 73: 248-260.
- Berthoud, H.** (2002). Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26: 393-428.
- Bly, J. E., Quiniou, S. M. A. and Clem, L. W.** (1997). Environmental effects on fish immune mechanisms. *Fish Vaccinology* 90: 33-43.
- Boesgaard, L., Nielsen, M. E. and Rosenkilde, P.** (1993/12). Moderate exercise decreases plasma cortisol levels in atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 106: 641-643.
- Canario, A. V. M., J. C., M. P., D. and M. I., P.** (1998). The effect of stocking density on growth in the gilthead sea-bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquacult. Res.* 29: 177-181.
- Cannon, W. B.** (1929). *Bodily changes in Pain, Hunger, Fear and Rage.* Branford, Boston.
- Carragher, J. F., Sumpter, J. P., Pottinger, T. G. and Pickering, A. D.** (1989). The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* L. and *Salmo gairdneri* Richardson. *Gen. Comp. Endocrinol.* 76: 310-321.
- Cook, M. T., Hayball, P. J., Birdseye, L., Bagley, C., Nowak, B. F. and Hayball, J. D.** (2003/0). Isolation and partial characterization of a pentraxin-like protein with complement-fixing activity from snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae) serum. *Developmental & Comparative Immunology* 27: 579-588.
- Crespi, E. J. and Denver, R. J.** (2004). Ontogeny of corticotropin-releasing factor effects on locomotion and foraging in the Western spadefoot toad (*Spea hammondi*). *Horm. Behav.* 46: 399-410.
- Cubero, L. and Molinero, A.** (1997). Handling, confinement and anaesthetic exposure induces changes in the blood and tissue immune characteristics of gilthead sea bream. *Dis. Aquat. Org.* 31: 89-94.
- Cuesta, A. and Vargas-Chacoff, L.** (2007). Efecto de la temperatura y salinidad sobre parámetros humorales del sistema inmunitario de la dorada (*Sparus aurata* L.). XI Congreso Nacional de Acuicultura (Vigo, 24-28, Septiembre, 2007).
- Cupps, T. R. and Fauci, A. S.** (1982). Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol. Rev.* 65: 133-155.
- Davis, C. R., Okihiro, M. S. and Hinton, D. E.** (2002/10/30). Effects of husbandry practices, gender, and normal physiological variation on growth and reproduction of Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology* 60: 185-201.
- Davis, L. E. and Schreck, C. B.** (1997). The energetic response to handling stress in juvenile coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 126: 248-258.
- Demers, N. E. and Bayne, C. J.** (1997). The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Dev. Comp. Immunol.* 21: 363-373.
- Edagawa, T., Murata, M., Hattori, M., Onuma, M. and Kodama, H.** (1993). Cell-Surface C-Reactive Protein of Rainbow-Trout Lymphocytes. *Dev. Comp. Immunol.* 17: 119-127.
- Engel, B. T.** (1998). An historical and critical review of the articles on blood pressure published in *Psychosomatic Medicine* between 1939 and 1997. *Psychosom. Med.* 60: 682-696.
- Engelsma, M. Y., Hougee, S., Nap, D., Hofenk, M., Rombout, Jan H W M., van Muiswinkel, W. B. and Lidy Verburg-van Kemenade, B M.** (2003). Multiple acute temperature stress affects leucocyte populations and antibody responses in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish Shellfish Immunol.* 15: 397-410.
- Engelsma, M. Y., Huising, M. O., van Muiswinkel, W. B., Flik, G., Kwang, J., Savelkoul, H. F. J. and Verburg-van Kemenade, B. M.** (2002). Neuroendocrine-immune interactions in fish: a role for interleukin-1. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87: 467-479.
- Feige, U., Morimoto, R. I. and Yahara, I.** (1996). Stress-inducible cellular response.
- Flik, G., Klaren, P. H. M., Van den Burg, Erwin H., Metz, J. R. and Huising, M. O.** (2006/3). CRF and stress in fish. *General and Comparative Endocrinology* 146: 36-44.
- Fries, C. R.** (1986). Effects of Environmental Stressors and Immunosuppressants on Immunity in *Fundulus-Heteroclitus*. *Am. Zool.* 26: 271-282.
- Gamperl, A. K., Vijayan, M. M. and Boutilier, R. G.** (1994). Experimental control of stress hormone levels in fishes - techniques and applications. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4: 215-255.
- Gerwick, L., Demers, N. E. and Bayne, C. J.** (1999). Modulation of stress hormones in rainbow trout by means of anesthesia, sensory deprivation and receptor blockade. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 124: 329-334.
- Harris, J. and Bird, D. J.** (2000). Modulation of the fish immune system by hormones. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 77: 163-176.
- Heinrichs, S. C. and Koob, G. F.** (2004). Corticotropin-releasing factor in brain: A role in activation, arousal, and affect regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 311: 427-440.
- Iwama, G. K.** (1991). Interactions between aquaculture and the environment. *Critical Reviews in Environmental Control* 21: 177-216.
- Iwama, G. K., Mcgeer, J. C. and Pawluk, M. P.** (1989) The effects of 5 fish anesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood-gases, cortisol, and adrenaline in rainbow-trout. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 67: 2065-2073.
- Iwama, G. K., Thomas, P. T., Forsyth, R. H. B. and Vijayan, M. M.** (1998). Heat shock protein expression in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 8: 35-56.
- kentuckylake.com. (2007). www.kentuckylake.com/.../pics/Fish-Anatomy.jpg.
- Kodama, H., Matsuoka, Y., Tanaka, Y., Liu, Y. C., Iwasaki, T. and Watarai, S.** (2004). Changes of C-reactive protein levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sera after exposure to anti-ectoparasitic chemicals used in aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 16: 589-597.
- Korzan, W. J., Overli, O., Watt, M. J., Forster, G. L., Höglund, E. and Summers, C. H.** (2002). Behavior in established social

hierarchies are influenced by visual sympathetic signals. *Integrative and Comparative Biology* 42: 1259-1259.

- Kushner, I.** (1993). Regulation of the acute-phase response by cytokines. *Perspect. Biol. Med.* 36: 611-622.
- Laidley, C. W. and Leatherland, J. F.** (1988a). Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and spleen weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri richardson*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 89: 495-502.
- Laidley, C. W. and Leatherland, J. F.** (1988b). Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and spleen weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri richardson*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 89: 495-502.
- Levine, S. & U., H.** (1991). What is Stress? *Stress, Neurobiology and Endocrinology* 3-21.
- Liu, Y. C., Iwasaki, T., Watarai, S. and Kodama, H.** (2004). Effect of turpentine oil on C-reactive protein (CRP) production in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.* 17: 203-210.
- Lovejoy, D. A. and Jahan, S.** (2006/3). Phylogeny of the corticotropin-releasing factor family of peptides in the metazoa. *General and Comparative Endocrinology* 146, 1-8.
- Lund, V. and Olafsen, J. A.** (1999/1/2). Changes in serum concentration of a serum amyloid P-like pentraxin in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., during infection and inflammation. *Developmental & Comparative Immunology* 23: 61-70.
- Lund, V. and Olafsen, J. A.** (1998/4/1). A comparative study of pentraxin-like proteins in different fish species. *Developmental & Comparative Immunology* 22: 185-194.
- Macintyre, S., Schultz, D. and Kushner, I.** (1983). Studies of the relationship between synthesis and secretion of c-reactive protein during the acute phase response. *Fed. Proc.* 42: 600-600.
- Magnadóttir, B.** (2006/2). Innate immunity of fish (overview). *Fish & Shellfish Immunology* 20, 137-151.
- Matteri, R. L. and Becker, B. A.** (1994/4). Somatotroph, lactotroph and thyrotroph function in three-week-old gilts reared in a hot or cool environment. *Domestic Animal Endocrinology* 11: 217-226.
- Matty, A. J.** (1985). Nutrition and aquaculture. *Outlook Agric.* 14: 14-20.
- Maule, A. G. and Schreck, C. B.** (1991). Stress and cortisol treatment changed affinity and number of glucocorticoid receptors in leukocytes and gill of coho salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 84: 83-93.
- Maule, A. G., Tripp, R. A., Kaattari, S. L. and Schreck, C. B.** (1989). Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J. Endocrinol.* 120: 135-142.
- Mazon, A. F., Nolan, D. T., Lock, R. A. C., Fernandes, M. N. and Wendelaar Bonga, S. E.** (2004). A short-term in vitro gill culture system to study the effects of toxic (copper) and non-toxic (cortisol) stressors on the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Toxicol. In Vitro.* 18: 691-701.
- Mazur, C. F. and Iwama, G. K.** (1993). Effect of handling and stocking density on hematocrit, plasma-cortisol, and survival in wild and hatchery-reared chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 112: 291-299.
- McKay, L. I. and Cidlowski, J. A.** (1999). Molecular control of immune. *Endocr. Rev.* 20: 435-459.
- Mock, A. and Peters, G.** (1990). Lysozyme activity in rainbow-trout, *oncorhynchus-mykiss* (walbaum), stressed by handling, transport and water-pollution. *J. Fish Biol.* 37: 873-885.
- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M. and Moon, T. W.** (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.* 9: 211-268.
- Montero, D., Izquierdo, M. S., Tort, L., Robaina, L. E. and Vergara, J. M.** (1999a). High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20: 53-60.
- Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M. S., Robaina, L. E., Vergara, J. M. and Tort, L.** (1999b). Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture* 171: 269-278.
- Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M. S., Robaina, L. E. and Vergara, J. M.** (1998). Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by alpha-tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiol. Biochem.* 18: 399-407.
- Moon, T. W., Busby, E. R., Cooper, G. A. and Mommsen, T. P.** (1999). Fish hepatocyte glycogen phosphorylase - a sensitive indicator for hormonal modulation. *Fish Physiol. Biochem.* 21: 15-24.
- Munkittrick, K. R., Miller, P. A., Barton, D. R. and Dixon, D. G.** (1991/6). Altered performance of white sucker populations in the manitouwadge chain of lakes is associated with changes in benthic macroinvertebrate communities as a result of copper and zinc contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 21: 318-326.
- Nakanishi, Y., Kodama, H., Murai, T., Mikami, T. and Izawa, H.** (1991). Activation of Rainbow-Trout Complement by C-Reactive Protein. *Am. J. Vet. Res.* 52: 397-401.
- Nakano, T. and Tolimso, N.** (1967). Catecholamine and carbohydrate concentrations in rainbow trout (*salmo gairdneri*) in relation to physical disturbance. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 24: 1701.
- Narnaware, Y. K. and Baker, B. I.** (1996/9). Evidence That Cortisol May Protect against the Immediate Effects of Stress on Circulating Leukocytes in the Trout. *General and Comparative Endocrinology* 103: 359-366.
- Nikinmaa, M. and Soivio, A.** (1982). Blood-oxygen transport of hypoxic *salmo-gairdneri*. *J. Exp. Zool.* 219: 173-178.

- Nikinmaa, M., Soivio, A. and Railo, E.** (1981). Blood-volume of salmo-gairdneri - influence of ambient-temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology* 69: 767-769.
- Nilsson, S.** (1984). Adrenergic control-systems in fish. *Marine Biology Letters* 5: 127-146.
- Ortuño, J., Cuesta, A., Angeles Esteban, M. and Meseguer, J.** (2001/5/30). Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 79: 167-180.
- Ortuño, J., Esteban, M. A. and Meseguer, J.** (1999/7). Effect of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 9: 429-443.
- Overli, O., Korzan, W. J., Larson, E. T., Winberg, S., Lepage, O., Pottinger, T. G., Renner, K. J. and Summers, C. H.** (2004). Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. *Horm. Behav.* 45: 324-329.
- Overli, O., Pottinger, T. G., Carrick, T. R., Overli, E. and Winberg, S.** (2001). Brain monoaminergic activity in rainbow trout selected for high and low stress responsiveness. *Brain Behav. Evol.* 57: 214-224.
- Pepeles, Peter P L M. and Balm, P. H. M.** (2004). Ontogeny of corticotropin-releasing factor and of hypothalamic-pituitary-interrenal axis responsiveness to stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*; Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.* 139: 251-265.
- Pepeles, Peter P L M., Pesman, G., Korsten, H., Wendelaar Bonga, S. E. and Balm, P. H. M.** (2002). Corticotropin-releasing hormone (CRH) in the teleost fish *Oreochromis mossambicus* (tilapia): in vitro release and brain distribution determined by a novel radioimmunoassay. *Peptides* 23: 1053-1062.
- Perry, S. F., Reid, S. G., Gilmour, K. M., Bojink, C. L., Lopes, J. M., Milsom, W. K. and Rantin, F. T.** (2004). A comparison of adrenergic stress responses in three tropical teleosts exposed to acute hypoxia. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 287: R188-R197.
- Pickering, A. D., Pottinger, T. G., Sumpter, J. P., Carragher, J. F. and Le Bail, P. Y.** (1991). Effects of acute and chronic stress on the levels of circulating growth hormone in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 83: 86-93.
- Pottinger, T. G., Balm, P. H. M. and Pickering, A. D.** (1995). Sexual maturity modifies the responsiveness of the pituitary-interrenal axis to stress in male rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 98: 311-320.
- Reid, S. G., Bernier, N. J. and Perry, S. F.** (1998/7/1). The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 120: 1-27.
- Ristori, M. T. and Laurent, P.** (1985). Plasma-catecholamines and glucose during moderate exercise in the trout - comparison with bursts of violent activity. *Exp. Biol.* 44: 247-253.
- Roberts Ronald J.** (1981). *Patología de los peces*. Mundi-Prensa 1981.
- Roberts, M. L., Davies, S. J. and Pulsford, A. L.** (1995/1). The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 5: 27-38.
- Rotllant, J., Arends, R. J., Mancera, J. M., Flik, G., Bonga, S. E. W. and Tort, L.** (2000a). Inhibition of HPI axis response to stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) with physiological plasma levels of cortisol. *Fish Physiol. Biochem.* 23: 13-22.
- Rotllant, J., Balm, P. H. M., Ruane, N. M., Perez-Sanchez, J., Wendelaar Bonga, S. E. and Tort, L.** (2000b). Pituitary proopiomelanocortin-derived peptides and hypothalamus-pituitary-interrenal axis activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during prolonged crowding stress: Differential regulation of adrenocorticotropin hormone and alpha-melanocyte-stimulating hormone release by corticotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 119: 152-163.
- Rotllant, J., Montero, D., Caballero, M. J., Robaina, L. E., Izquierdo, M. S. and Tort, L.** (2003). Differences in interrenal tissue, biosynthetic capacity and ACTH sensitivity in progeny of sea bream from parents selected for high or low cortisol response. *J. Fish Biol.* 62: 744-748.
- Rotllant, J., Pavlidis, M., Kentouri, M., Adad, M. E. and Tort, L.** (1997). Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress. *Aquaculture* 156: 279-290.
- Rotllant, J., Ruane, N. M., Caballero, M. J., Montero, D. and Tort, L.** (2003). Response to confinement in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is characterised by an increased biosynthetic capacity of interrenal tissue with no effect on ACTH sensitivity. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology* 136: 613-620.
- Rotllant, J. and Tort, L.** (1997). Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *J. Fish Biol.* 51: 21-28.
- Schreck, C. B.** (1982/6). Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture* 28: 241-249.
- Secombes, C. J., Hardie, L. J. and Daniel, G.** (1996/5). Cytokines in fish: an update. *Fish & Shellfish Immunology* 6: 291-304.
- Selye, H.** (1950). *Stress*. Acta, Montreal
- Slater, C. H., Fitzpatrick, M. S. and Schreck, C. B.** (1995/11/15). Androgens and immunocompetence in salmonids: Specific binding in and reduced immunocompetence of salmonid lymphocytes exposed to natural and synthetic androgens. *Aquaculture* 136: 363-370.
- Sloman, K. A., Montpetit, C. J. and Gilmour, K. M.** (2002). Modulation of catecholamine release and cortisol secretion by social interactions in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 127: 136-146.
- Steel, D. M. and Whitehead, A. S.** (1994/2). The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today* 15: 81-88.
- Summers, C. H., Forster, G. L., Korzan, W. J., Watt, M. J., Larson, E. T., Overli, O., Höglund, E., Ronan, P. J., Summers, T. R., Renner, K. J. and Greenberg, N.** (2005). Dynamics and

- mechanics of social rank reversal. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 191, 241-252.
- Sunyer, J. O. and Tort, L.** (1995). Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by alternative complement pathway. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 45: 333-345.
- Sunyer, J. O., Tort, L. and Lambris, J. D.** (1997). Diversity of the third form of complement, C3, in fish: Functional characterization of five forms of C3 in the diploid fish *Sparus aurata*. *Biochem. J.* 326: 877-881.
- Swain, P., Nayak, S. K., Nanda, P. K. and Dash, S.** Biological effects of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in fish: A review. 2008 In Press, Corrected Proof,
- Thuvander, A., Wichardt, U. P. and Reitan, L. J.** (1993). Humoral Antibody-Response of Brown Trout *Salmo-Trutta* Vaccinated Against Furunculosis. *Dis. Aquat. Org.* 17: 17-23.
- Tort, L.** (1998). Stress and immunosuppression in fish. *Trends in Comparative Biochem. & Physiol.* 5: 17-29.
- Tort, L., Balasch, J. C. and MacKenzie, S.** (2005). Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contributions to Science* 2-4, 443-454.
- Tort, L., Gomez, E., Montero, D. and Sunyer, J. O.** (1996). Serum haemolytic and agglutinating activity as indicators of fish immunocompetence: Their suitability in stress and dietary studies. *Aquacult. Int.* 4: 31-41.
- Tort, L., Gonzalezarch, F. and Balasch, J.** (1994). Plasma-glucose and lactate and hematological-changes after handling stresses in the dogfish. *Rev. Esp. Fisiol.* 50: 41-46.
- Tort, L., Gonzalezarch, F., Torres, P. and Hidalgo, J.** (1991). On the blood-volume of the mediterranean dogfish, *Scyliorhinus-canicula*. *Fish Physiol. Biochem.* 9: 173-177.
- Tort, L. and Hernandezpascual, M. D.** (1990). Hematological effects in dogfish (*Scyliorhinus-canicula*) after short-term sublethal cadmium exposure. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 18: 379-383.
- Tort, L., Kargacin, B., Torres, P., Giralt, M. and Hidalgo, J.** (1996). The effect of cadmium exposure and stress on plasma cortisol, metallothionein levels and oxidative status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology* 114: 29-34.
- Turnbull, A. V. and Rivier, C. L.** (1999). Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.* 79: 1-71.
- Van Weerd, J. H. and Komen, J.** (1998/5/1). The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 120: 107-112.
- Vela Vallejo, S. and Ojeda Gonzalez, J.** (2007). *Revolución azul*, APROMAR, Madrid.
- Vijayan, M. M., Pereira, C., Forsyth, R. B., Kennedy, C. J. and Iwama, G. K.** (1997). Handling stress does not affect the expression of hepatic heat shock protein 70 and conjugation enzymes in rainbow trout treated with beta-naphthoflavone. *Life Sci.* 61: 117-127.
- Volkoff, H., Canosa, L. F., Unniappan, S., Cerdá-Reverter, J. M., Bernier, N. J., Kelly, S. P. and Peter, R. E.** (2005). Neuropeptides and the control of food intake in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 142: 3-19.
- Wendelaar Bonga, S. E.** (1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77: 591-625.
- Weyts, F. A., Cohen, N., Flik, G. and Verburg-van Kemenade, B. M.** (1999/1). Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 9: 1-20.
- Weyts, F. A., Flik, G., Rombout, Jan H W M. and Verburg-van Kemenade, B. M.** (1998). Cortisol induces apoptosis in activated B cells, not in other lymphoid cells of the common carp, *Cyprinus carpio* L. *Dev. Comp. Immunol.* 22: 551-562.

Recibido: 15 de febrero de 2008

Aceptado para su publicación: 16 de julio de 2008

GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF *LIMNOPHYS SULCATUS*, *RHINELLA CASTANEOTICA* AND *SCINAX CRUENTOMMUS* (AMPHIBIA: ANURA) FOR COLOMBIA

By

César Malambo-L¹ & Mario A. Madrid-Ordóñez²

Resumen

Malambo-L, C & M. A. Madrid-Ordóñez: Geographic distribution of *Limnophys sulcatus*, *Rhinella castaneotica* AND *Scinax cruentommus* (Amphibia: Anura) for Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 285-289, 2008. ISSN 0370-3908.

Se amplía la distribución geográfica de tres anuros poco conocidos para Colombia, *Limnophys sulcatus*, *Rhinella castaneotica* y *Scinax cruentommus* y es el registro más norteño para las especies.

Palabras clave: distribución geográfica, *Limnophys sulcatus*, *Rhinella castaneotica*, *Scinax cruentomma*, Caquetá-Colombia.

Abstract

Wide the geographical distribution of three anuros little known for Colombia, *Limnophys sulcatus*, *Rhinella castaneotica* and *Scinax cruentommus* and it is the most northern record for the species.

Key words: geographic distribution, *Eleutherodactylus sulcatus*, *Rhinella castaneotica*, *Scinax cruentomma*, Caquetá-Colombia.

¹ Grupo de Investigación Fauna Silvestre, Museo de Historia Natural, Semillero de Investigación en Biodiversidad amazónica (SIBA) Universidad de la Amazonia, Florencia-Caquetá. Correo electrónico: malambidae@gmail.com

² Grupo de Investigación Fauna Silvestre, Semillero de Investigaciones en fauna silvestre ANKORE, Museo de Historia Natural, Universidad de la Amazonia, Florencia-Caquetá. Correo electrónico: madrid@tucan.uniamazonia.edu.co

Introduction

The herpetofauna of the Amazonian lowlands was thought of as well known historically. Even though, **Lynch** (2005) from a study in Leticia, Amazonas department of Colombia, demonstrated how far we are from knowing the true amphibian diversity in the Amazon forests and suggests, that those forests are much more complex than what is actually believed; therefore, it is possible that other localities in the western Amazon basin might be as or richer than Leticia, but inventoried with less effective methodologies.

Eastern Caquetá, from the Montañita municipality up to the Alto Gabinete, has 56 inventoried species, with 55 anurans and one species of the order Caudata (**Suárez-Mayorga**, 2000). Even though, in recent field work a lot more species have been found in the region, indicating how the area needs to be inventoried with much more intensity. In this study we offer new records for three anuran species extending their distribution areas known in Colombia, being their northern most records.

Materials and methods

Examined specimens are listed in the Appendix. Abbreviations used for the two herpetological collections housing the materials are ICN: Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogota and UAM: Museo de Historia Natural de la Universidad de la Amazonia. Abbreviations used are SVL (snout-vent length).

For the taxonomic basis, was followed the classification proposed by Heinicke *et al.* (2007) for the family Brachycephalidae, Frost *et al.* (2006) for Bufonidae y Faivovich *et al.* (2005) for Hylidae.

Limnophys sulcatus (Cope, 1984)

COLOMBIA: **Caquetá**, Municipio de Florencia, Corregimiento Puerto Arango, Vereda Balcanes (N 1° 25' 27", O 75° 30' 58.1"), twenty-two kilometers (22Km) Southeast of the city of Florencia (UAM 378). The specimen is a juvenile male with SVL 30.5mm, collected on 15 November 1998 by Fernando Ortiz. This specimen found inside secondary forest.

Limnophys sulcatus is distributed in cloud forests of Colombia and Ecuador as well as in lower elevations in the western Amazon basin (Brazil, Colombia, Ecuador, and

Peru) and eastern Ecuador and Peru at elevations below 1100m (**Lynch**, 1997). The second report was done in Colombia in the departments of Vaupés and Amazonas (**Lynch**, 1997, 2005).

We make an additional report of the species in Colombia and extend its distribution 339 km north of its northernmost register (Fig. 1A).

Rhinella castaneotica (Caldwell, 1971)

COLOMBIA: **Caquetá**, Municipio de Florencia, Corregimiento Puerto Arango, Vereda Balcanes (N 1° 25' 27", W 75° 30' 58.1"), twenty-two kilometers (22Km) southeast of the city of Florencia (UAM 271). The specimen is an adult male with SVL 29.6mm, The specimen is collected on 15 November 1998 by Fernando Ortiz. It was found inside secondary forest.

Caldwell (1991) described this species from State of Para, Brazil. However, this species occurs in Amazonian Colombia, eastern Perú, and the departamento Pando, Amazonian Bolivian (**Azevedo-Ramos et al** 2004; **Frost**, 2007). **Lynch** (2005) found this species in Leticia.

This report represents the second report for the species and the northern most record in Colombia, extending its range ca. 389km in airline from its northernmost record. (Fig. 1B) As well as **Lynch** (2005) reported, *Limnophys sulcatus* and *Rhinella castaneotica* are sympatric species in our study area.

Scinax cruentommus (Duellman, 1972)

COLOMBIA: **Caquetá**, Municipio de Florencia, Corregimiento Santo Domingo, Vereda El Venado, Granja Macagual (1°37'N, 75°36'W), (UAM 668). The specimen is an adult female with SVL 24.4mm, found in secondary forest on the road edge on the upper side of a leaf of *Heliconia* ca. 1m above the floor. The individual was collected on 25 March 2007 by Yudi Gómez, Mario A. Madrid and Cesar Malambo.

Scinax cruentommus is widely distributed through the Amazon Basin (**Duellman & Wiens**, 1993; **Frost**, 2007; **Angulo et al**, 2004). We report the third record of *Scinax cruentommus* from Colombia, which was previously known from Vaupés (**Ruiz-Carranza et al.** 1996; **Acosta-Gálvis**, 2000; **Nieto**, 2000) and Leticia (**Lynch**, 2005). This record represents the northern most record for Colombia, extending its range ca. 389km in airline from the northernmost record (Fig. 1C).

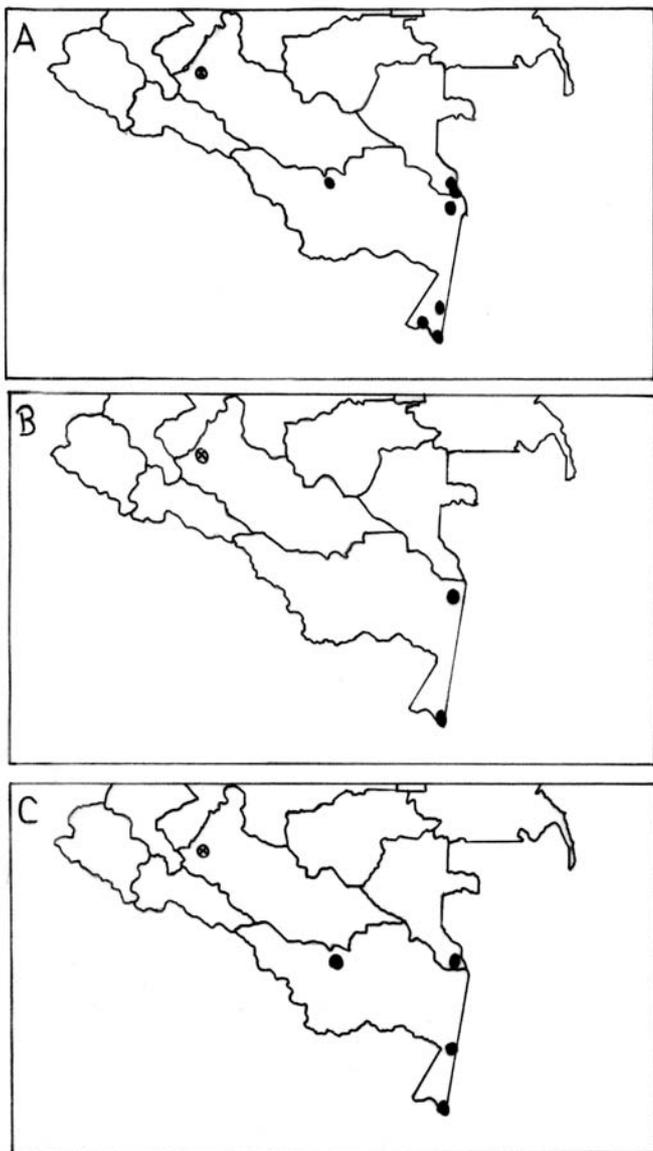


Figure 1. Geographic distribution of the species reports (A) *Limnophys sulcatus*. (B) *Rhinella castaneotica*. (C) *Scinax cruentommus* ⊗ New record ● Records in literature (Lynch, 1997, 2005; Ruiz-Carranza *et al.* 1996; Acosta-Galvis, 2000; Nieto, 2000).

Discussion

Some anuran species with few previous reports in Colombian amazon have the same distributional pattern as *L. sulcatus*, *R. castaneotica* and *S. cruentommus*. Lynch (2008) reported recently the distribution of *Osteocephalus planiceps* in Colombia, with the same pattern: “Leticia-Caquetá-Vaupés”. *Dendropsophus miyatai*, which was

previously known only from the forests near Leticia, Amazonas, was recently found in the municipality of Solano, Caquetá (Malambo *et al.*, in press). This is demonstrating once again that most of the localities in the upper Amazon basin might show a similar diversity than the one found in Leticia, Amazonas.

Information about the herpetofauna of Florencia’s lowland vicinities is scarce, and most data is not published, being available only some published information by Suárez-Mayorga (2000). This is due to the lack of serious inventory work done in lowland rain forests, not only of this region but of the rest of the Colombian Amazon, which is not possible to develop because of public order problems.

This report will help increase the knowledge of the Amazon foothills’ amphibian fauna, in order to develop conservation plans and strategies and to demonstrate that this foothills need an evaluation with much more intensity, to find undescribed species and test our ignorance about the fauna, which we are far from filling.

Acknowledgments

We are grateful to Alexander Velasquez, Cesar Estrada and Fernando Ortiz, for their support to the herpetological surveys of the Granjas Balcanes and Macagual; to Yudi Gomez and the local people for field companionship and assistance; to John D. Lynch specialist in amphibious for the revision and correction of the specimens; to Sandy Arroyo, David Sanchez and John Jairo Mueses-Cisneros for very useful comments on the manuscript.

Literature cited

- Acosta-Galvis, A. R. 2000. Ranas, Salamandras y Caecilias (Tetrapoda: Amphibia) de Colombia. *Biota Colombiana* 1: 289-319.
- Angulo, A, C. Azevedo-Ramos, L.A. Coloma, S. Ron, 2004b. *Scinax cruentommus*. Electronic database accessible at IUCN, Conservation International, and NatureServe. 2006. Global Amphibian Assessment. <www.globalamphibians.org>. Accessed 23 June 2007.
- Azevedo-Ramos, C, J. V. Rueda, S. Reichle 2004. Electronic database accessible at IUCN, Conservation International, and NatureServe. 2006. Global Amphibian Assessment. <www.globalamphibians.org>. Accessed 23 June 2007.
- Caldwell, J.P.1991. A new species of toad in the genus *Bufo* from Pará, Brazil, with an unusual breeding site. *Papéis Avulsos de Zoologia*. 37(26): 389-400.
- Duellman, W.E. and J. J. Wiens, 1993. Hylid frogs of the genus *Scinax* Wagler, 1830, in Amazonian Ecuador and Peru. *Occasional Papers of the Museum of Natural History of the University of Kansas*. 153: 1-57.

- Faivovich, J., C. F. B. Haddad, P. C. A. García, D. R. Frost, y J. A. Campbell.** 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 294:1-240.
- Frost, D. R., T. Grant, J. Faivovich, R. H. Bain, A. Haas, C. F. B. Haddad, R. O. De Sa, A. Channing, M. Wilkinson, S. C. Donnellan, C. J. Raxworthy, J. A. Campbell, B. L. Blotto, P. Moler, R. C. Drewes, R. A. Nussbaum, J. D. Lynch, D. M. Green, y W. C. Wheeler.** 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 297: 8-370.
- Frost, D. R., 2007.** Amphibian Species of the World: an online reference. Version 5.0 Electronic database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York. USA. Accessed 19 June 2007.
- Heinicke, M. P., W. E. Duellman, and S. B. Hedges.** 2007. Major Caribbean and Central American frog faunas originated by ancient oceanic dispersal. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*: 104:10092-10097.
- Lynch, J. D.** 1997. Intrageneric relationships of mainland *Electherodactylus* II. A review of the *Electherodactylus sulcatus* group. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **21**(80): 353-372.
- Lynch, J. D.** 2005. Discovery of the richest frog fauna in the world—An exploration of the forests to the North of Leticia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **29**(113): 581-588.
- Lynch, J. D.** 2008. *Osteocephalus planiceps* Cope (Amphibia: Hylidae): Its distribution in Colombia and significance. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **32**(122).
- Malambo, C., M. A. Madrid-Ordoñez, A. Velasquez-Valencia, J.A. Zapata-Ortiz, and D. C. Aristizabal-Valbuena (In press).** Geographic distributional: *Dendropsophus miyatai*. *Herpetological Review*.
- Nieto, M. J. 2000 (1999).** Estudio preliminar de las especies del género *Scinax* (Amphibia: Anura: Hylidae) en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* **23** (suplemento especial): 339-346.
- Ruiz-Carranza, P. M., M. C. Ardila-Robayo, and J. D. Lynch,** 1996. Lista actualizada de la fauna Amphibia de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.* **20**(77): 365-415.
- Suárez-Mayorga, A. M.** 2000 (1999). Lista preliminar de la fauna anfibia presente en el transepto la Montañita-Alto de Gabinete, Caquetá, Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **23**: 395-405.

Recibido el 15 de agosto de 2007

Aceptado para su publicación el 7 de julio de 2008

Appendix (Expecimens Examined)

Limnophys sulcatus. COLOMBIA, **Amazonas**: Leticia; 2Km SW Comunidad Monifue Amana Josie, 80m (ICN50397), 28 December 2001 by J. D. Lynch (field series JDL 23391); 9km limits with Brasil, 85m (ICN47290), November 2001 by O. V. Castaño & estudiante (field series GR2 #115); Río Pureta, 88m (ICN50175), 3 January 2004 by R. Mesa (field series JDL 24154); Tarapacá 11Km, 95m ((ICN50174), 1 November 2002 by students (field series JDL 23951); (ICN50176-7), 20 February 2003 by J. J. Mueses (field series JDL 25355, VmR 4129)); La Pedrera, Comunidad Tamanitagua, 240m (ICN36461-62), 11 November 1994 by M. C. Ardila *et al.* (field series MC 7800-1); 50Km N de La Chorrera sobre el Igará-Parana, 195m (ICN3462), August 1977 By V. Corredor & J. Morales. **Caquetá**: Florencia; Vereda Balcanes, 255M (UAM 378), 15 November 1998 by F. Ortiz (field series FIOS 024). **Vaupés**: Serranía Taraira, Biological Station Caparu, 240m (ICN 33662), July 28 to September 10 1993 by Ian Stephen; Lago Taraira, Biological Station Mosiro Itajuara, 120m (ICN 52992), 22 May 2004 by J. Cortes-Duque (field series JCD 020).

Rhinella castaneotica. BRASIL, **Tabatinga**: Qda. Potoa, 80m (ICN51598), 3 January 2003 by J. D. Lynch & J. M. Rengifo (field series JDL 24139). COLOMBIA, **Amazonas**: Leticia: Río Puré, 100m (ICN46802-25) (ICN46827-37) 21 December 1999 by J.D. Lynch; 1.5Km NE Comunidad Monifue Amana Josie, 80m (ICN51593) 3 January 2002 by J.D. Lynch & R. Mesa (field series JDL 23406); 18.5Km Via Leticia – Tarapacá, Finca Agua Claras, 89m (ICN51594) 9 January 2002 by A. Suárez (field series JDL 23467), (ICN51595) 9 January 2002 by J.D. Lynch (field series JDL 23470); Comunidad Jitoma, 90m (ICN51596-7) 27 October 2002 by students (field series JDL 23797, JDL 23795); Comunidad 11Km, 95m (ICN 51599-601) (51603) 13 January 2003 by J.D. Lynch *et al.*; 13.8km vía a Tarapacá, 100m (ICN 51602) 13 January 2003 by A. Duarte & A. Téllez; 10Km vía a Tarapacá, 84m (ICN 51604-19) 31 October to November 6 2003 by M. C. Ardila & Students. **Caquetá**: Florencia: Vereda Balcanes, 255m (UAM 217), 15 November 1998 by F. Ortiz (field series FIOS 001).

Scinax cruentommus. COLOMBIA, **Amazonas**: Leticia: Comunidad Monifue Amana Josie 2Km SW, Amana Josie, 80m (ICN50708), 18 January 2002 by J.D. Lynch (field series JDL 23629); Comunidad Jitoma, 90M (ICN50709-11), 27 October 2002 by Students; Comunidad Monilla Amena 10Km, 91m (ICN50719-27), 22 January to 30 January 2003 by J.D. Lynch; Casa Rodolfo Mesa, 88m (ICN50728), 1 February 2003 by J. J. Mueses (field series JDL 50728) ; Comunidad 11Km, 95m (ICN5014-16), 27 October 2003 by Students, (ICN50729-51) 1 February 2003 by J. J. Mueses; Cananguche 10Km, 90m (ICN50752), 26 February 2003 by R. Mesa (field series JDL 25392); Qda. Yahwarcaca, 67m (ICN50718), 22 January 2003 by J.J. Nueses & A. Téllez (field series JDL 24439); La Pedrera, 96m (ICN36610), November 1994 by M. C. Ardila *et al.* (field series MC 7819); La Chorrera, 195m (ICN02044, ICN02048), May 1975 by J. M. Idropo; Tarapacá 4Km, 76m (ICN46439-40), 14 April 2001 by A. Suarez (field series JDL 23013-14); 11Km, 95m (ICN50712), 31 October 2002 by J. D. Lynch (field series JDL 23909), (ICN50713) 1 November 2002 by A. Tellez (field series JDL 23964), (ICN50753) 6 March 2003 by A. Tellez (field series JDL 25407), (ICN50754) 20 February 2003 by D. Sanchez & J. D. Lynch (field series JDL 25555). **Caquetá**: Florencia: Vereda Venado, 276m (UAM 668), 25 March 2007 by Y. C. Gómez, C. Malambo & M. A. Madrid (field series CML 182). **Vaupés**: Taraira, 155m (ICN 36614) 23 November 1994 by M. C. Ardila *et al.* (field series MC 7925).