



ISSN 0370-3908
eISSN 2382-4980

80
Años
1936 - 2016

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

Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

Vol. 41 • Número 161 • Págs. 413-554 • Octubre-Diciembre de 2017 • Bogotá - Colombia





Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

ISSN 0370-3908
eISSN 2382-4980

80
Años
1936 - 2016

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

Vol. 41 • Número 161 • Págs. 413-554 • Octubre-Diciembre de 2017 • Bogotá - Colombia

Comité editorial

Editora

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

Editores asociados

Ciencias Biomédicas

Luis Fernando García, M.D., M.Sc.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Gustavo Adolfo Vallejo, Ph. D.
Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

Luis Caraballo, Ph. D.
Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

Juanita Ángel, Ph. D.
Pontificia Universidad Javeriana,
Bogotá, Colombia

Manuel Franco, Ph. D.
Pontificia Universidad Javeriana,
Bogotá, Colombia

Alberto Gómez, Ph. D.
Pontificia Universidad Javeriana,
Bogotá, Colombia

John Mario González, Ph. D.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Ciencias del Comportamiento

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

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

Fernando Marmolejo-Ramos, Ph. D.
Universidad de Adelaide, Adelaide, Australia

Ciencias Físicas

Pedro Fernández de Córdoba, Ph. D.
Universidad Politécnica de Valencia, España

Diógenes Campos Romero, Dr. rer. nat.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Román Eduardo Castañeda, Dr. rer. nat.
Universidad Nacional, Medellín, Colombia

María Elena Gómez, Doctor
Universidad del Valle, Cali

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

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

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

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

Edgar González, Ph. D.
Pontificia Universidad Javeriana,
Bogotá, Colombia

Guillermo González, Ph. D.
Universidad Industrial de Santander,
Bucaramanga, Colombia

Ciencias Naturales

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

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

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

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

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

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

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

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

Jairo Castaño-Zapata, Ph. D.
Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

Ciencias Químicas

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

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

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

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

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

Ligia Sierra, Ph. D.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Luz Marina Jaramillo, Ph. D.
Universidad del Valle, Cali, Colombia

Edgar Páez, Ph. D.
Universidad Industrial de Santander,
Bucaramanga, Colombia

Luis Fernando Echeverry, Ph. D.
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Ciencias de la tierra

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

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

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

José Daniel Pabón, Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia,
Bogotá, Colombia

Matemáticas

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

Luis Español González, Doctor
Universidad de la Rioja, España

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

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

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

Alf Onshuus, Ph. D.
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

Comité científico internacional

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asistencia y coordinación editorial
Carolina Acosta

Corrección de estilo y ortografía
Marta Renza

Diseño y diagramación
Johanna Morales

Reseñada en los siguientes índices nacionales e internacionales:

Actualidad Iberoamericana
Agris
Dialnet
EBSCO
Historia Mathematica

Index Kewensis
Latindex
Mathematical Reviews
MathSciNet (on line data base)
OCLC (Online Computer Library Center)

PERIODICA
Publindex, Colciencias
SciELO, Colombia
Zentralblatt für Mathematik
Zoological Record

Publindex, Colciencias (convocatoria 768 de 2016), categoría B

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

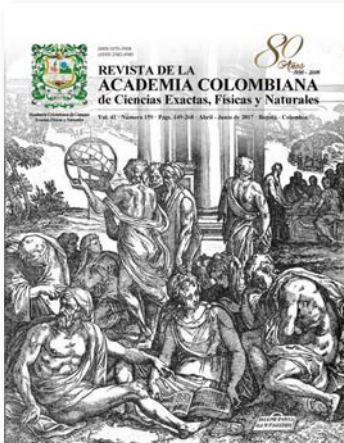
Esta publicación se ha financiado mediante la transferencia de recursos del Gobierno Nacional a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

La Academia no es responsable de las opiniones aquí expresadas.

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

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

Impreso en Colombia



Portada

Reproducción de la portada del volumen 1, número 1, de la Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, publicada en diciembre de 1936.

Giardino di Pensieri, El jardín del pensamiento. Fecha: 1540

Grabado en madera diseñado por Giuseppe Salviati (Giuseppe Porta, *Il Salviati*) (Castelnuovo di Garfagnana ca. 1520–Venecia, Italia ca. 1575)

Original de Marco Dente (Rávena, Italia 1490-Roma, Italia 1527)

Dimensiones: 23,9 x 19,3 cm

Colección del Museo Metropolitano de Arte, Nueva York, Estados Unidos (The MET)

Autorizada su reproducción el 19 de diciembre de 2016

Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Cra. 28 A no. 39A - 63 Bogotá D.C., Colombia, CP 111311 • PBX: +57(1)555-0470
Sitio web: www.raccefy.org.co • Correo electrónico: revista@accefy.org.co



Academia Colombiana de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales

ISSN 0370-3908
eISSN 2382-4980

80
Años
1936 - 2016

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

Vol. 41 • Número 161 • Págs. 413-554 • Octubre-Diciembre de 2017 • Bogotá - Colombia

Contenido - Contents

Ciencias
Biomédicas
Biomedical Sciences

Caracterización genética de los primeros pobladores de los Andes nororientales en Colombia **AP**
Genetic characterization of the first settlers of the North-Eastern Andes in Colombia
Alberto Gómez-Gutiérrez 418

Prevalencia y periodicidad del virus sincitial respiratorio en Colombia **AR**
Prevalence and periodicity of respiratory syncytial virus in Colombia
Juliana Barbosa, Beatriz Parra, Liliana Alarcón, Flor Inés Quiñones, Eduardo López, Manuel Antonio Franco 435

Protocolo unificado de digestión y descalcificación de tres métodos de extracción de ADN de restos humanos **AO**
Unified digestion and decalcification protocol for three DNA extraction methods in human remains
Wilson Uriel Sierra, Hernando del Castillo-Sabogal, Tatiana Espitia-Ortiz 447

La respuesta inmunitaria adaptativa en la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*
Adaptive immune response in chronic infection by *Trypanosoma cruzi* **AP**
John M. González, Adriana Cuéllar, Concepción J. Puerta 456

¿Requiere la interferencia de la superposición de ondas como principio físico? **AP**
Does interference require the wave superposition as physical principle?
Román Castañeda 466

Ciencias
Físicas
Physical Sciences

Caracterización térmica, mecánica y morfológica de fibras naturales colombianas con potencial como refuerzo de biocompuestos **AO**
Thermal, mechanical, and morphological characterization of Colombian natural fibers as potential reinforcement for biocomposites
William Javier Mora-Espinosa, Bladimir Azdrúbal Ramón-Valencia 479

Evolución del riesgo de extinción y estado actual de conservación de las aves de Colombia AP	
Evolution of extinction risk and current conservation status of Colombian birds	
<i>Luis Miguel Renjifo, Ángela María Amaya-Villarreal</i>	490
Determinación de los factores de vulnerabilidad en lagunas de alta montaña: una aproximación AO	
An approach to identifying vulnerability factors in high mountain lagoons	
<i>Mónica Patricia Valencia-Rojas, Apolinar Figueroa-Casas</i>	511
Analysis and geometry on non-smooth domains IA	
Análisis y geometría en dominios irregulares	
<i>Tatiana Toro</i>	521
Introducción de la topología de vecindades en los trabajos de Fréchet y Hausdorff	
Introduction of the topology structure in Fréchet and Hausdorff works AP	
<i>Luis Carlos Arboleda</i>	528
Agradecimientos	
Acknowledgements	538
Índice autores	
Authors Index	539
Índice de artículos	
Article Index	540
Enfoque y alcance	
Focus and Scope	544

Caracterización genética de los primeros pobladores de los Andes nororientales en Colombia

Alberto Gómez-Gutiérrez

Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

Artículo de posesión para el ingreso como miembro correspondiente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 12 de julio de 2017

Resumen

A partir del hallazgo y el estudio de objetos minerales transformados por las comunidades que habitaron la cordillera Nororiental de los Andes en tiempos precolombinos, sus restos humanos pueden analizarse hoy con las herramientas de la genética molecular aplicadas al ADN extraído de huesos y dientes de cada individuo. El presente texto presenta una síntesis de los trabajos publicados en los últimos diez años por el Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá, con base en el análisis del ADN de indígenas contemporáneos y precolombinos, en un rango de tiempo que sobrepasa los 6.000 años. Estos estudios han aportado precisiones sobre las dinámicas de circulación de los pobladores de la esquina noroccidental de Suramérica en el espacio y en el tiempo. Los nuevos hallazgos genéticos, conjugados con los conceptos aportados por la antropología y la arqueología sobre estas mismas comunidades, permitirán precisar factores determinantes como la diversidad y la filiación biológica de los diferentes grupos humanos que se han establecido en el territorio colombiano. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: ADNmt; nativos americanos; Colombia; haplogrupos.

Genetic characterization of the first settlers of the North-Eastern Andes in Colombia

Abstract

Beyond the discovery and study of mineral objects transformed by the communities that inhabited the North-Eastern Andes in pre-Columbian times, human remains can be analyzed today with the tools of molecular genetics applied to DNA extracted from bones and teeth of each individual. The present text presents a synthesis of the works published in the past ten years by the Institute of Human Genetics at Pontificia Universidad Javeriana in Bogotá, based on the analysis of DNA of contemporary and pre-Columbian natives, in a time range of over 6,000 years. These studies have provided insights on the dynamics of circulation in space and over time of the settlers of the Northwest corner of South America. New genetic findings, coupled with concepts contributed by anthropology and archaeology on these same communities, will help to precise factors such as the diversity and biological affiliation of different human groups that have settled in the Colombian territory. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: mtDNA; Native Americans; Colombia; haplogroups.

Introducción

Las primeras evidencias de pobladores en el territorio que hoy comprende Colombia se han reportado en lugares tan distantes como la costa Caribe, el valle del río Magdalena, el altiplano cundiboyacense y el suroccidente del país (Correal, 1971, 1973; Friedemann & Arocha, 1985; Botiva, 1989; Langebaek, 1992; Rodríguez, 2007; López-Castaño & Cano-Echeverri, 2011; Delgado, 2012a; Delgado, 2012b; Aceituno, *et al.*, 2013; Rodríguez & Vargas, 2015; Delgado, 2017). La aparente escasez de restos humanos prehistóricos en las zonas costeras y en las zonas selváticas del Pacífico y de la Amazonía se debe, probablemente, a la exuberancia y mayor capacidad de descomposición orgánica de estos ecosistemas. Sin embargo, algunos vestigios

culturales, como las pinturas rupestres de Chiribiquete, permiten postular que los primeros pobladores prehistóricos transitaban también por los territorios orientales, incluida la Orinoquía, más de 19.000 años antes del presente (a. P.). (Castaño-Uribe & Van der Hammen, 1986).

En lo que tiene que ver con la sabana de Bogotá, investigaciones arqueológicas de contexto han permitido postular las primeras presencias humanas entre 10.000 y 12.000 años a. P. en los abrigos rocosos de Tequendama (Correal & Van der Hammen, 1977; Neves, Hubbe & Correal, 2007).

Correspondencia:

Alberto Gómez-Gutiérrez, agomez@javeriana.edu.co

Recibido: 12 de junio de 2017

Aceptado: 01 de noviembre de 2017

Estos primeros grupos de cazadores y recolectores habrían ingresado al altiplano de los Andes orientales desde el valle del río Magdalena tras los pasos de los grandes animales cuyos restos se han hallado en estos mismos abrigos rocosos. De todos estos remanentes, los restos propiamente humanos más antiguos datados directamente hasta la fecha no sobrepasan una edad aproximada de 10.090 ± 90 años a. P. (Correal, 1979), es decir, cuatro mil años antes del resto humano más antiguo del Tequendama, hallado en Sueva, Cundinamarca, y fechado en el *Groningen C14 Laboratorium* de Holanda. A este le siguen hoy los restos humanos hallados en la vereda de Guavio, en la cordillera Oriental, y en la vereda de Checua, cercana al pueblo de Nemocón, con fechas aproximadas de 9.000 y 8.000 años a. P., respectivamente (Groot, 1992; Rodríguez, 2011; Sandoval & Almanza, 2012; Delgado, 2012).

Estos restos humanos, evidencia primaria del poblamiento prehistórico, han sido estudiados con las herramientas clásicas de la antropología física, basadas esencialmente en la morfología de huesos y dientes que han resistido la degradación biológica a través del tiempo. Pero estas piezas macroscópicas no son las únicas evidencias orgánicas y antropológicas de que dispone la ciencia para estudiar las poblaciones prehistóricas. También el material biológico celular microscópico, así como el material molecular que este mismo contiene en su núcleo y en su citoplasma, pueden estudiarse hoy en el laboratorio para determinar el origen de cada resto (humano, animal o vegetal) asociado a estos hallazgos.

El ADN como recurso arqueológico

Una de las moléculas que se hallan contenidas en cada célula del organismo es el ácido desoxirribonucleico (ADN), polímero de nucleótidos encadenados cuya secuencia varía en los diferentes individuos y en las diferentes especies. El ADN se encuentra tanto en el núcleo (ADN nuclear), como en las mitocondrias del citoplasma (ADN mitocondrial), y se ha demostrado que resiste el impacto del ambiente a lo largo del tiempo siempre y cuando esté conservado en los intersticios óseos y dentales de los remanentes orgánicos (Pääbo, 2004). Esta molécula, que contiene las instrucciones fundamentales para la organización y reproducción de cada ser vivo, se puede extraer, amplificar y secuenciar en el laboratorio.

La correspondencia directa entre la identidad de cada resto humano y las secuencias de los nucleótidos del ADN extraído de sus huesos y dientes se ha revelado mediante rigurosos métodos *in vitro* y por simulación computacional, convirtiéndose en fundamento de una nueva ciencia, la antropología genética o molecular, complementaria de la antropología física. La información obtenida con base en la morfología de restos óseos y dentales puede contrastarse hoy con las secuencias genéticas que estos contienen en el ADN. Estas secuencias, en razón de su filiación molecular con el resto de la especie y, en particular, con su linaje familiar, permiten individualizar y afiliar cada hallazgo individual con su parentela más cercana y con la más distante. Ahora

bien, tres definiciones básicas de la genética de poblaciones son necesarias para la presente reflexión: el concepto de “clado”, que representa el parentesco taxonómico en el árbol filogenético de todas las especies vivas; el concepto de “haplogrupo”, que representa el parentesco intraespecífico (o familiar), y el concepto de “haplotipo”, que representa la identidad individual.

La posibilidad de definir individualidades y parentescos a partir de las secuencias genéticas obtenidas del material biológico proveniente de los restos en excavaciones arqueológicas será la base de la presente reflexión académica, en la que se pretende hacer una aproximación a la evidencia genética de los primeros pobladores del territorio colombiano y, en particular, de la sabana de Bogotá, con base en algunos resultados moleculares preliminares en las poblaciones estudiadas en el Instituto de Genética Humana de la Universidad Javeriana en colaboración con antropólogos, arqueólogos y genetistas de diferentes universidades.

Linajes genéticos en el ADN en América

Las sociedades tradicionales se han organizado de diferentes maneras, incluidas, generalmente, subestructuras familiares denominadas “linajes”, “clanes” o “tribus”. Estas subdivisiones poblacionales se relacionan con un ancestro común, el cual distingue a cada grupo del resto de la población. En el caso que nos ocupa, los hallazgos directos obtenidos a partir del ADN de restos humanos indígenas prehistóricos, se pueden confrontar con las tipificaciones del ADN de individuos contemporáneos con ancestro indígena para conformar una base de datos ampliada que permita entender el origen del hombre americano.

Linajes maternos. Los hallazgos experimentales en el ADN han mostrado que, entre los diferentes marcadores moleculares de filiación o descendencia, cada individuo dispone de un patrimonio genético exclusivamente materno que está asociado a las mitocondrias citoplasmáticas del óvulo que lo origina, en tanto que se ha podido comprobar que al ingresar al óvulo en el momento de la fecundación, el ADN mitocondrial del espermatozoide, es decir el ADN mitocondrial paterno, activa un proceso de degradación lisosomal y se diluye hasta su eventual desaparición en medio de cientos de mitocondrias de origen materno en el óvulo fecundado (Sato & Sato, 2013; Carelli, 2015). Así, las mitocondrias maternas pasan de generación en generación a través de las hijas de cada vínculo y, en consecuencia, el linaje uniparental materno o mitocondrial podría coincidir con los linajes culturales de las sociedades matrilineales.

Linajes paternos. Existe también un patrimonio molecular exclusivamente paterno que está asociado al ADN del cromosoma Y que, como se sabe, es exclusivo del sexo masculino, cuyos cromosomas sexuales son el cromosoma X y el cromosoma Y, mientras que los del sexo femenino son dos cromosomas X. En este sentido, por definición, el patrimonio genético del cromosoma Y solo se hereda a los hijos varones y debería coincidir con los linajes culturales de las sociedades patrilineales.

La exposición sobre la eventual correspondencia de los marcadores genéticos con referentes tan complejos como las subdivisiones culturales de todos y cada uno de los grupos humanos requiere, en este punto, ampliar la definición de dos de los tres elementos conceptuales de la genética de poblaciones que han permitido proponer una estructura taxonómica molecular en la especie humana: los “haplogrupos” y los “haplotipos” genéticos.

Haplogrupos genéticos. En diversos estudios genéticos poblacionales con marcadores uniparentales (el ADN mitocondrial, ADNmt, o el ADN del cromosoma Y, ADNcrY), se ha encontrado que determinados grupos genéticos compartían ciertos polimorfismos específicos y presentaban un origen común. Estos grupos genéticos se denominaron “haplogrupos”, puesto que se referían a una parte del genoma que es haploide, pues no tiene contraparte parental (Torroni, et al., 1992), y se clasificaron con un código alfanumérico.

Una vez concertada la nomenclatura de este sistema de referencia molecular, se encontró que los haplogrupos mitocondriales humanos tenían un origen común y estaban distribuidos en el planeta con un patrón geográfico específico: los haplogrupos E, L1, L2, L3, M y N principalmente en África y Medio Oriente; los haplogrupos H, I, J, K, T, U, V y W en Europa y Medio Oriente; los haplogrupos P, Q, R y Z en Medio Oriente; los haplogrupos F, G, O, S e Y en Asia, Australia y Oceanía; los haplogrupos A, B, C, y D en Asia y en nativos americanos, y el haplogrupo X en Europa, Medio Oriente y en un pequeño número de nativos norteamericanos (Van Oven & Kayser, 2008) (Figuras 1 y 2).

Otro tanto sucedió con los marcadores uniparentales paternos del cromosoma Y, para los cuales también se dispone de un mapa con el origen de cada haplogrupo y con las rutas de migración global de cada uno de ellos en el planeta (Figura 3).

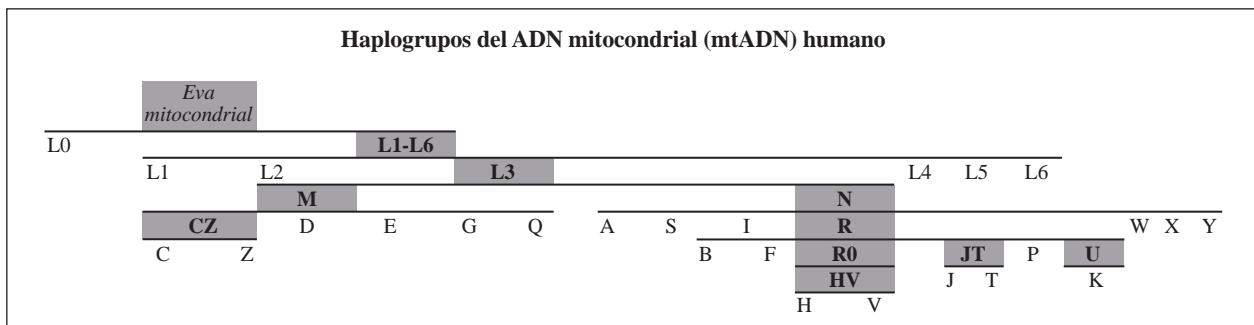


Figura 1. Relación ancestral de los haplogrupos en el ADN mitocondrial humano

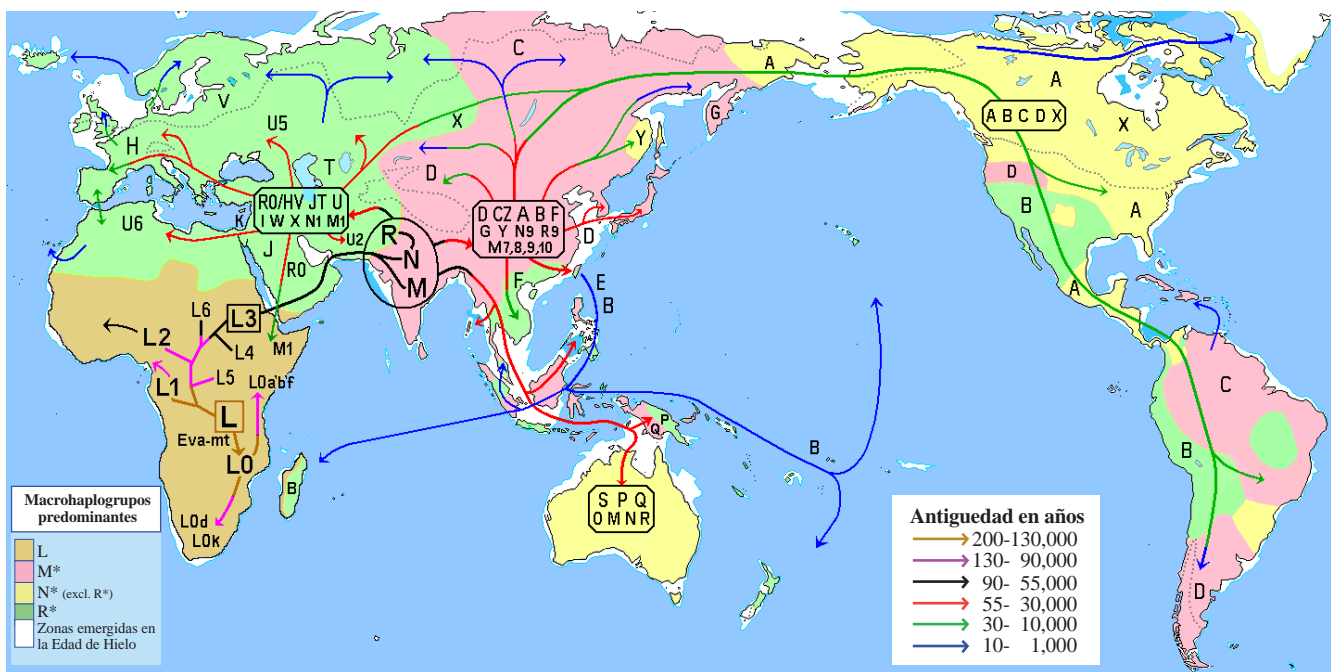


Figura 2. Migración de las poblaciones humanas según los marcadores o haplogrupos del ADN mitocondrial. Tomado de: Wikimedia Commons, <http://es.wikipedia.org>

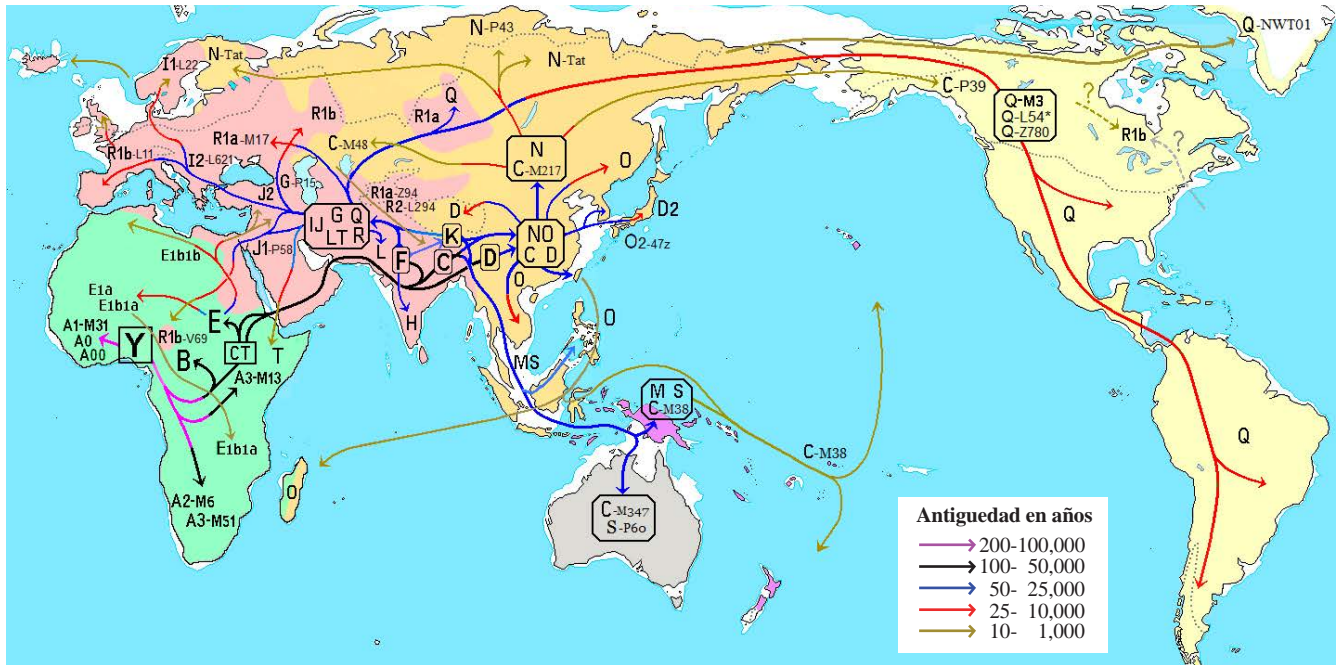


Figura 3. Migración de las poblaciones humanas según los marcadores o haplogrupos del cromosoma Y. Tomado de: Wikimedia Commons, <http://es.wikipedia.org>

Con base en estos patrones de distribución, se concluyó que los haplogrupos mitocondriales y los haplogrupos del cromosoma Y exhiben una filiación que fue específica de continente y, en consecuencia, se han convertido en una herramienta útil para los estudios de poblamiento y de los procesos de microevolución que han resultado de las migraciones humanas a través de los diferentes ecosistemas del planeta. En este orden de ideas, se ha propuesto para todos los linajes indígenas americanos contemporáneos al menos un ancestro común paterno mayoritario en el cromosoma Y del ADN nuclear (Pena, *et al.*, 1995; Battaglia, *et al.*, 2013), así como cinco ancestros comunes maternos principales en las regiones hipervariables del ADN mitocondrial (Torroni, *et al.*, 1993; Shurr, *et al.*, 1990; Achilli, *et al.*, 2008). Se ha podido calcular que estos hipotéticos ancestros comunes habitaban en el territorio siberiano hace más de 22.000 años, y se postula que un grupo de sus descendientes habría pasado al continente americano en los tiempos de la última edad de hielo (o glaciación de Würm/Wisconsin), cuyo periodo máximo se ha datado aproximadamente entre 16.000 y 20.000 años a. P. (Goebel, *et al.*, 2008; Dulik, *et al.*, 2012; Santos, *et al.*, 2012).

Debe resaltarse que otras aproximaciones científicas han postulado también ancestrías indígenas comunes a partir de, por ejemplo, el estudio de las lenguas americanas contemporáneas (Greenberg, 1986). Es significativo y útil saber que la aproximación lingüística se asemeja en forma y fondo a la aproximación genética, por cuanto ambas se basan en la comparación y proyección de secuencias combinatorias de letras (en el caso de los nucleótidos del ADN: 4 letras

diferentes, A, T, G y C, correspondientes a los nucleótidos adenina, timina, guanina y citosina). En ambos casos, los cambios puntuales o en bloque, cuya coalescencia (o coincidencia ancestral) ha sido demostrada, refieren a un origen siberiano para los primeros pobladores del nuevo continente.

Haplotipos genéticos. Cada haplogrupo genético, tanto mitocondrial como cromosómico, se caracteriza por una serie de mutaciones principales, o mutaciones consenso, que lo hacen diferente de los demás pero, a su vez, contiene un número indefinido de mutaciones específicas de un mismo haplogrupo que pueden servir para caracterizar a cada sublinaje en cada población estudiada. La suma individual de estas mutaciones subespecíficas recibe el nombre de “haplotipo” genético, el cual puede llegar a identificar linajes familiares individuales en el seno de cada comunidad.

Así, al presentar estudios moleculares poblacionales, se deberán considerar al menos dos niveles de resolución: un nivel macro de haplogrupos, que reúne a todo el clan, y un nivel micro que reúne cada linaje o cada familia. En síntesis, los miembros de un haplogrupo determinado pueden o no pertenecer a la misma familia o linaje, a la manera de los clanes escoceses o, en nuestro medio, de los individuos que comparten un apellido con ancestro común debidamente documentado o probado.

Proyección ancestral de los estudios moleculares en indígenas contemporáneos

Ya se mencionó en la introducción que el ADN podía conservarse a través de los siglos en los intersticios de huesos y dientes. Sin embargo, debe considerarse que el ADN de cada

ser humano también se conserva con muy pocas mutaciones, de manera íntegra y funcional, en los descendientes de cada individuo gracias a los mecanismos de duplicación celular que prolongan las especies vivas generación tras generación, con una particularidad: en términos generales (con la única excepción de una pequeña región terminal del cromosoma Y), ni el ADN mitocondrial (ADNmt) ni el ADN del cromosoma Y (ADNcrY) recombinan los genes que contienen, como sí sucede con el ADN nuclear en los 22 pares de cromosomas restantes y en el cromosoma X. Esta característica, es decir, la ausencia relativa de recombinación en el ADNmt y en el ADNcrY en cada generación, hace que se pueda proyectar confiablemente al pasado la información obtenida en este tipo de ADN en poblaciones actuales y, por lo tanto, que se puedan hacer predicciones suficientemente sólidas sobre la composición hipotética del ADN ancestral hasta los primeros pobladores de cada continente.

Por esta razón, las tipificaciones del ADN de individuos contemporáneos con ancestro indígena se han podido utilizar para conformar una base de datos que permite comprender el origen genético del hombre americano y, con base en trabajos deductivos, se han propuesto los ancestros comunes paternos y maternos de los linajes indígenas americanos contemporáneos estudiados con las herramientas de la genética molecular.

A finales del siglo pasado, como se dijo, los ADNmt de indígenas nativos americanos se reducían a cuatro haplogrupos principales de origen asiático compartidos por poblaciones de Norteamérica, Centroamérica y Suramérica (Tamm, 2007). Estos haplogrupos “panamericanos” fueron inicialmente denominados A, B, C y D, y hoy presentan un gran número de ‘sub-haplogrupos’ a partir de la primera división en la que se describieron como A2, B2/4, C1/4 y D2/4. A partir de ellos se han propuesto decenas de nuevos sublinajes o clados (véase el portal <http://www.phylotree.org>) en función de los hallazgos en individuos de las diferentes poblaciones indígenas estudiadas hasta la fecha, con lo cual se han configurado troncos poblacionales moleculares provisionales para la totalidad de los indígenas americanos prehistóricos y contemporáneos (Perego, *et al.*, 2010; Bisso-Machado, *et al.*, 2012). Se ha incluido, además, por lo menos un quinto linaje, el linaje X2a, que es minoritario en Norteamérica y se encuentra principalmente en las regiones de los Grandes Lagos, de las Grandes Planicies y en el Pacífico noroeste (Reidla, *et al.*, 2003). Recientemente, con base en la presencia de uno de los 22 sublinajes referidos, a los cuales se añadieron los macrolinajes A2, B2, D1 y M, se propuso la configuración de un panel de genotipificación específico para determinar la ancestría americana (Coutinho, *et al.*, 2014).

Por su parte, los linajes masculinos representados por los marcadores del cromosoma Y presentan en América una predominancia de lo que se ha denominado el macrohaplogrupo Q panamericano (Battaglia, *et al.*, 2013). Veamos un ejemplo de la utilidad de los haplogrupos y haplotipos

genéticos maternos o mitocondriales en el estudio del poblamiento americano y de su eventual origen. Al analizar en indígenas contemporáneos 69 genomas mitocondriales completos para dos de los sublinajes o haplogrupos menores particulares, el haplogrupo D4h3 y el haplogrupo X2a, se encontró que el sub-haplogrupo D4h3a, detectado con poca frecuencia en poblaciones modernas y antiguas de Norteamérica y Suramérica, aparecía geográficamente limitado a poblaciones que habitan la costa Pacífica, en tanto que el sub-haplogrupo D4h3b, emparentado estrechamente con el primero de estos haplogrupos, se ha localizado en la China (Perego, *et al.*, 2009), lo cual revela la conectividad transcontinental de esta familia genética.

Otro ejemplo significativo en el estudio molecular de poblaciones indígenas contemporáneas, es el que resulta de los metaanálisis de marcadores genéticos uniparentales reportados en amerindios colombianos (Mesa, *et al.*, 2000) o suramericanos (Bisso-Machado, *et al.*, 2012). En un extracto de la tabla publicada por estos últimos autores, en la que relacionaron los haplogrupos mitocondriales (es decir, los linajes maternos) de 6.697 individuos pertenecientes a 109 comunidades indígenas suramericanas, se puede constatar que casi la mitad de estas (3.266 individuos en 50 comunidades), hoy asentadas entre los 11 grados de latitud norte y los 4 grados de latitud sur (Bisso-Machado, *et al.*, 2012), presentan los siguientes porcentajes de cada uno de los haplogrupos nativos americanos: 28,4 % de los linajes maternos pertenecen al haplogrupo A; 24,6 %, al haplogrupo B; 28,5 %, al haplogrupo C, y 14,9 %, al haplogrupo D, para un total de 96,4 % perteneciente a haplogrupos maternos característicos de los amerindios en estas poblaciones. El 3,6% restante pertenece a otros haplogrupos, es decir a haplogrupos no americanos, lo cual es evidencia del mestizaje con otras poblaciones que migraron a América en tiempos poscolombinos. Estos mestizajes no son generales y se presentaron con mayor frecuencia (en 12 a 59 % de sus miembros) en los grupos Guahibo, Guayabero, Awa-Juriti, Piapoco y Sáliba (Tabla 1).

Por el contrario, los resultados correspondientes a los haplogrupos del cromosoma Y (es decir, a los linajes paternos) evaluados en 590 individuos pertenecientes a 29 comunidades diferentes, mostraron un porcentaje mayor de mestizaje con haplogrupos no amerindios. En efecto, para el mismo rango de latitudes (entre los 11°N y los 4° S), se reportó 50 % con el macrohaplogrupo Q, mayoritariamente amerindio, y 50 %, con haplogrupos no amerindios provenientes de mestizajes con inmigrantes masculinos poscolombinos, lo que está claramente relacionado con un aporte no amerindio de origen paterno.

Un tercer ejemplo de la proyección de los estudios genéticos contemporáneos como fundamento de la composición genética y filiación de los primeros pobladores en Colombia, lo constituye nuestro trabajo colaborativo con el Departamento de Antropología de la Universidad de Kansas sobre la relación biológica entre las poblaciones de

Tabla 1. Haplogrupos mitocondriales en indígenas modernos del norte de Suramérica

Población	n	Haplogrupo (%)				
		A	B	C	D	Otros
Wayuu	89	26	28	45	0	1
Kogi	153	67	0	33	0	0
Arsario (Wiwa)	76	63	0	37	0	0
Chimila	35	88	0	3	6	3
Arhuaco (Ijka)	134	87	1	12	0	0
Yukpa	88	0	100	0	0	0
Zenú	107	19	38	36	5	2
Embera	43	53	35	2	5	5
Tule (Cuna)	30	50	27	20	0	3
[Guane]	33	12	64	0	24	0
Cubeo	22	27	18	50	5	0
Makiritare	10	20	0	70	10	0
Kali'na (Galibi)	29	7	41	38	7	7
Guahibo	99	52	3	33	0	12
Waunana	161	21	49	16	14	0
Palikur	64	1	47	4	47	1
Makushi	10	10	20	30	40	0
Páez	51	59	12	27	2	0
Piaroa	28	36	11	21	32	0
Wapishana	12	0	25	8	67	0
Emerillon	30	30	70	0	0	0
Guambioano	23	4	4	79	13	0
Yanomami	491	2	25	50	19	4
Guayabero	30	50	17	13	0	20
Curripaco	22	41	36	23	0	0
Tiriyó	32	9	19	22	47	3
Nukak	20	0	20	80	0	0
Apalai	120	37	1	30	32	0
Cayapa	120	29	40	9	22	0
Wayampi	99	62	11	8	19	0
Siona	12	75	17	8	0	0
Pasto	9	67	33	0	0	0
Yagua	12	25	0	67	8	0
Ingano	111	18	38	42	0	2
Tucano	17	0	18	47	35	0
Coreguaje	69	4	20	66	6	4
Awa-Juriti	18	0	72	11	0	17
Muinane	19	11	21	37	26	5
Poturujara	23	44	0	26	30	0
Katuena	23	26	9	35	30	0
Wai-wai	26	15	15	43	27	0
Urubu-Kaapor	42	21	31	14	29	5

Huitoto	35	23	3	25	46	3
Arará	70	54	20	26	0	0
Awa-Guajá	53	13	87	0	0	0
Asurini	24	4	54	17	21	4
Piapoco	39	18	3	15	5	59
Puinave	19	5	16	58	16	5
Sáliba	13	15	0	55	15	15
Ticuna	371	20	11	35	33	1
Total	3.266	28,4	24,6	28,5	14,9	3,6

Nota. Tabla modificada a partir de **Bisso-Machado, et al., 2012**. No se incluyen las comunidades con menos de nueve individuos.

Centroamérica y Suramérica con base en su composición genética mitocondrial (**Melton, et al., 2007**). En este trabajo se analizaron muestras de ADN de 188 indígenas contemporáneos pertenecientes a tres comunidades de lengua chibcha (Kogui, Arsario, Ijka) y una comunidad de lengua arawak (wayuu) en el extremo norte de Colombia, y se determinó su relación biológica con otras comunidades de lengua chibcha.

Con los resultados de esta investigación molecular, se pudo demostrar una estructura genética compartida por los grupos de la Sierra Nevada de Santa Marta y las poblaciones maya centroamericanas, lo cual sugiere una temprana expansión de norte a sur de poblaciones centroamericanas de lengua chibcha, eventualmente asociada a estrategias de subsistencia frente a cambios en las condiciones ecológicas en esa región durante la transición entre el Pleistoceno y el Holoceno, que habrían tenido lugar 10.000 a 14.000 años a. P. Este hallazgo fue posteriormente confirmado por una de las estudiantes doctorales del Instituto de Genética Humana mediante un nuevo análisis del ADN mitocondrial en 700 individuos contemporáneos de 20 poblaciones nativas de Colombia (**Noguera-Santamaría, et al., 2015**). En cambio los indígenas wayuu, a pesar de su cercanía geográfica con los indígenas de la Sierra Nevada, resultaron muy distantes genéticamente de estas comunidades de lengua chibcha y muy cercanos en su ADN mitocondrial a comunidades amazónicas como los Yanomamo, lo que revela, asimismo, un posible patrón de poblamiento diferente para este macrogrupo.

Por último, en una aproximación al poblamiento de Colombia con base en marcadores moleculares, el programa “Expedición Humana” del Instituto reportó las frecuencias de los haplogrupos A, B, C y D en 25 comunidades indígenas diferentes (**Keyeux, et al., 2002**). La distribución actual de estos haplogrupos mitocondriales es la base de la propuesta sobre dos rutas diferentes de poblamiento en Suramérica, por cuanto el haplogrupo D es relativamente escaso en poblaciones mesoamericanas y está bien representado en comunidades indígenas que habitan al oriente del territorio. Así, habría habido una primera ruta de poblamiento a lo largo de la costa Pacífica, y una ruta alterna posterior de

poblamiento a través del collar de islas del Caribe, ruta esta que podría haber sido bidireccional en diferentes momentos de la historia (Keyeux & Usaquén, 2006).

Troncos fundadores de los indígenas contemporáneos en el ADN moderno y antiguo

La mayoría de los estudios citados hasta este punto se han llevado a cabo en muestras de individuos contemporáneos denominados “indígenas”, o que así se autodenominan por tradición cultural o familiar, todos ellos de finales del siglo XX o comienzos del siglo XXI. Con base en su ADN se han proyectado las secuencias obtenidas a los troncos fundadores de los haplogrupos referidos. El ADNmt de estos 22 sub-haplogrupos identifica hoy de manera aparentemente completa el ancestro materno amerindio de todos los indígenas americanos; los 22 sub-haplogrupos presentan subdivisiones propiamente familiares e individuales denominadas haplotipos. Cada uno de los miembros de un haplogrupo puede pertenecer o no a la misma subfamilia o clan, con subdivisiones que, como ya se mencionó, recuerdan los clanes paternos escoceses.

En consecuencia, la mayoría de hipótesis alternativas acerca del poblamiento americano se han basado en predicciones más o menos fundamentadas sobre el pasado, así como en la coalescencia de los linajes estudiados y de los haplogrupos y haplotipos identificados en individuos denominados, en términos operativos, como individuos indígenas modernos (Tamm, *et al.*, 2007; Reich, *et al.*, 2012; Achilli, *et al.*, 2013).

En el estudio de las primeras poblaciones del continente americano es posible hacer deducciones moleculares y proyecciones al pasado con base en el ADN conservado *in vivo* en sus descendientes, y, además, tipificar directamente el ADN extraído de restos óseos antiguos de los indígenas precolombinos. Ello ha permitido desarrollar un panorama, ya no indirecto sino directo, de la identidad y de la filiación hipotética de los primeros pobladores americanos. En las siguientes secciones se tratan específicamente los hallazgos de tipificación molecular de muestras precolombinas en el contexto americano, y se presentan los hallazgos reportados en Colombia por nuestro grupo de investigación.

Estudios moleculares en restos óseos de indígenas precolombinos en Colombia

Para comenzar, es importante recordar que los haplotipos genéticos que identifican a cada individuo en la comunidad varían entre sí, esencialmente en razón de las mutaciones que se acumulan en el genoma a través del tiempo. Estas mutaciones permiten afiliar a su portador a linajes familiares de mayor o menor antigüedad en función del momento de aparición de la mutación correspondiente. En consecuencia, la identificación molecular de un haplotipo determinado en restos humanos precolombinos permite confirmar de manera cierta y directa su presencia en una región específica del continente americano, así como fundamentar la eventual

continuidad de su linaje a través del tiempo mediante la comparación con haplogrupos y haplotipos modernos que se hayan reportado en la misma zona o en otras diferentes y, en ocasiones, muy distantes.

Restos óseos paleoamericanos. El universo disponible de restos humanos precolombinos en América es relativamente reducido, y mucho más escaso el conjunto de restos óseos paleoamericanos comparado con el universo disponible en los genomas contemporáneos de los eventuales descendientes de los primeros pobladores, cuya composición se comentó en la sección anterior. La Tabla 2 presenta los principales referentes arqueológicos paleoamericanos que han sido reportados en Suramérica, entre ellos el trabajo de Marcela Díaz-Matallana, estudiante doctoral de nuestro equipo (Díaz-Matallana, *et al.*, 2014, 2016), en los restos humanos de la cultura checuca, cuya excavación arqueológica fue coordinada en 1991 por Ana María Groot en Nemocón, departamento de Cundinamarca, y que correspondía al asentamiento de cazadores y recolectores en una secuencia cultural entre 8.500 y 3.000 años a. P. (Groot, 1992).

La datación directa de restos óseos pertenecientes a este hallazgo, así como la datación estratigráfica de los elementos de contexto, permite postular al menos dos niveles de ocupación humana que corresponden a la zona I, CHI (8.200 ± 110 años a. P.), y a la zona II, CHII (7.800 ± 160 años a. P.).

La exitosa extracción, amplificación y tipificación molecular del ADN mitocondrial de siete individuos de la zona I y de cuatro de la zona II (véase el electroferograma de la Figura 4 como evidencia de la calidad de las tipificaciones logradas a partir del ADN antiguo de este hallazgo), evidenció una gran diversidad humana en este asentamiento, pues en la zona más antigua (CHI) se inhumaron individuos pertenecientes a cuatro linajes maternos diferentes: A2, B2, C1 y D4, y en la zona más reciente (CHII), individuos pertenecientes a los linajes A2 y B2, representados por un total de siete haplotipos o líneas familiares diferentes, lo cual contradice la idea tradicional de que se trataba de grupos aislados muy poco diversos (Tabla 3).

La diversidad de los haplogrupos encontrados en este pequeño asentamiento paleoamericano en la sabana de Bogotá podría implicar que el número de sus pobladores era mayor del previsto y, por otra parte, muestra bien la continuidad en el tiempo de algunos haplotipos, es decir de algunas líneas familiares, puesto que se hallaron individuos con haplotipos idénticos en las dos zonas estratigráficas en un rango de tiempo de cerca de 700 años, entre 8.310 y 7.640 años a. P.

Al comparar estos haplogrupos paleoindios con los haplogrupos modernos en la población mestiza del departamento de Cundinamarca, se evidenció, asimismo, una continuidad genética global en los haplogrupos A2, B2 y C1, y una aparente desaparición del haplogrupo D4, en particular del subclado D4h3a, en esta región. Este último subclado, hallado en uno de los restos óseos de los checuca, se

Tabla 2. Restos óseos paleoamericanos en Suramérica

Lugar y hallazgo arqueológico	Rango cronológico (a. P.)
Cundinamarca, Colombia • Tocaima	12.000
Cundinamarca, Colombia • Sueva 1	10.090 ± 90 ³
Gachalá-Cundinamarca, Colombia • Guavio 1	9.360 ± 45 ³
Cundinamarca, Colombia • Tequendama 1 y 2	9.740 ± 135 ³
Nemocón-Cundinamarca, Colombia • Checua	8.500 – 3.000 ^{2a}
Cundinamarca, Colombia • Chía III	5.040 ± 100
Soacha-Cundinamarca, Colombia • Aguazuque	5.030 ± 40 ³
Mosquera-Cundinamarca, Colombia • Vistahermosa	3.410 ± 35 a 3.135 ± 35
Boyacá, Colombia • Floresta	7.950 ± 40 ³ (7.040 a 6.680 cal.)
Lagoa Santa, Brasil • Lapa Vermelha IV: “Luzia”	10.030 ± 60 ³
Lagoa Santa, Brasil • Cerca Grande 2, 5, y 6	8.500 – 8.000
Brasil • Región Amazónica	4.000 – 500
Valle Chacama, Perú • Huaca Prieta	14.200 – 13.300 ³
Argentina noroccidental (Puna) • Antofagasta de la Sierra	9.500 – 3.500
Pampas argentinas • Arroyo Seco 2, Chocorí y La Tigra	~8.000
Norte de Chile • LLuta, Azapa y Camarones	6.000 – 500
Monte Verde, Chile • Pre-Clovis	14.600
Chile • Tierra del Fuego	4.500 – 500

¹ Edad AMS exacta. ² Edad estratigráfica. ^{2a} Checua, datado inicialmente mediante estratigrafía; posteriormente, algunos individuos, gasterópodos y carbón se han datado mediante ¹⁴C (Minelli, *et al.*, 2012; Neves, *et al.*, 2007), y resonancia paramagnética electrónica (EPR) (Sandoval & Almanza, 2012). ³ Datación mediante ¹⁴C. Tabla modificada a partir de Díaz-Matallana, *et al.*, 2016

considera un marcador raro por cuanto solo ha sido reportado en algunos individuos paleoamericanos (Kemp, *et al.*, 2007; Cui, *et al.*, 2013; Rasmussen, *et al.*, 2014; Bolnick, *et al.*, 2014; Díaz-Matallana, 2014; Díaz-Matallana, *et al.*, 2016), en individuos precolombinos de Tierra del Fuego (García-Bour, *et al.*, 2004), en nativos americanos modernos en Argentina y Chile (De Saint-Pierre, *et al.*, 2012) y, en un solo individuo mestizo de Bogotá (Bryc, *et al.*, 2010).

Restos óseos precolombinos recientes. Una vez descritos los hallazgos moleculares en restos óseos de la cultura checua de la sabana de Bogotá, se presentan los sucesivos

resultados moleculares obtenidos en los hallazgos de comunidades precolombinas más recientes: a) en el periodo Formativo temprano, cerca de 2.000 años a. P., en las inmediaciones de la laguna de la Herrera al suroccidente de la sabana de Bogotá (Silva, *et al.*, 2008); b) en el periodo Muisca temprano (Jara, *et al.*, 2010), cerca de 800 años a. P., al suroriente de la sabana de Bogotá; c) en el periodo Muisca tardío, entre 500 y 8.000 años a. P., en los territorios de la cultura guane al nororiente de Colombia (Casas-Vargas, *et al.*, 2011). Se presentan, asimismo, los resultados preliminares de dos trabajos suplementarios aún en curso en restos óseos de los entierros muisca de la zona del Templo del Sol en Sogamoso, Boyacá (Figura 5) (Casas-Vargas, *et al.*, 2017).

a) Período Formativo temprano. Se analizaron 11 individuos pertenecientes al yacimiento arqueológico Madrid 2-41, de una edad aproximada de 2.000 años, mediante la amplificación y secuenciación de un fragmento de ADNmt de 192 pares de bases (pb) o nucleótidos en el segmento hipervariable I, siguiendo criterios estrictos de autenticidad del ADN arcaico. Las secuencias se compararon con secuencias existentes en bases de datos de Norteamérica y Europa mediante herramientas bioinformáticas. Las 11 secuencias resultaron idénticas y fueron clasificadas como pertenecientes al haplogrupo B, lo cual puede relacionarse con el tipo de entierro ritual practicado en Madrid 2-41, es decir que los individuos analizados probablemente hicieran parte de una familia jerárquicamente importante en esta antigua sociedad y estaban vinculados por filiación materna. La búsqueda de secuencias homólogas en las bases de datos estadounidense y europea no arrojó coincidencias exactas, aunque existe el reporte de un individuo amazónico de cerca de 4.000 años de antigüedad reportado en Brasil cuya secuencia coincide con la hallada en Madrid 2-41. En conclusión, los individuos del yacimiento arqueológico Madrid 2-41, referido generalmente como perteneciente a la cultura Herrera en razón de su localización en torno a la laguna del mismo nombre, estaban estrechamente emparentados entre sí por línea materna y presentaron una secuencia aparentemente ausente en poblaciones actuales en el resto de América (Silva, *et al.*, 2007).

b) Período Muisca temprano. Se tipificó el ADNmt de un total de 24 muestras óseas provenientes del rescate arqueológico de la Avenida Villavicencio en el barrio Candelaria La Nueva al suroriente de Bogotá, y en una primera aproximación global se encontró que todas ellas compartían el haplogrupo A (Jara, *et al.*, 2010). Posteriormente, estas mismas muestras se analizaron con mayor detalle para definir sus haplotipos (Sánchez, 2007), y se encontró que todas las muestras menos una presentaban un haplotipo común en el haplogrupo A2. El individuo diferente en este mismo haplogrupo presentaba una mutación privada (adenina por guanina) en la posición 16213 del ADN mitocondrial, mutación que se puede utilizar como referencia para identificar su linaje familiar y que es relativamente frecuente en los actuales habitantes del altiplano cundiboyacense (Roa, 2005).

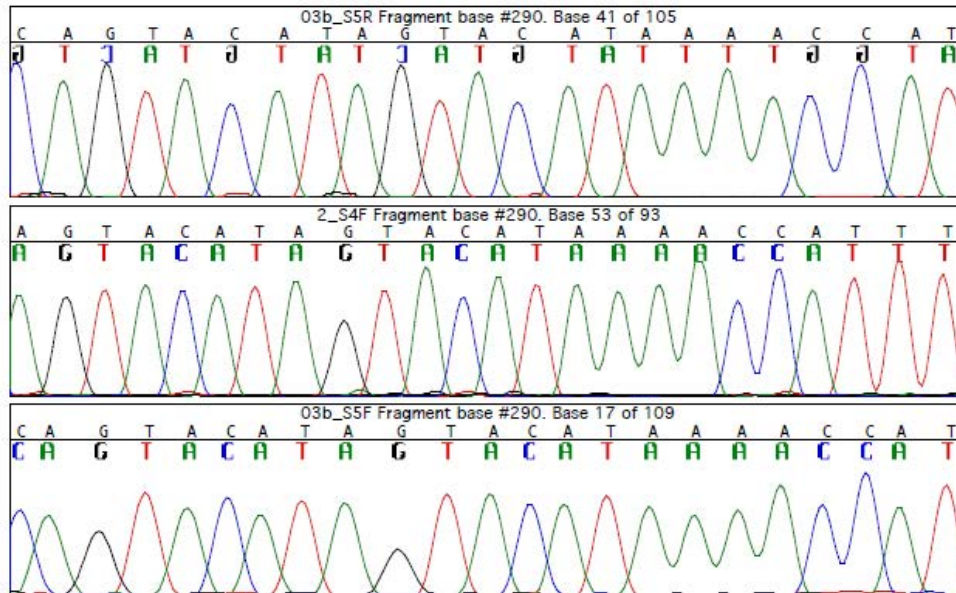


Figura 4. Electroferograma del ADNmt extraído de los restos de un individuo checu. Tomado de: Díaz-Matallana (2014)

Tabla 3. Haplogrupos (HG) y haplotipos del ADNmt en 12 restos óseos de la cultura checu.

Muestra	Antigüedad*	Haplotipo	HG
CHI-03a	ND	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2
CHI-03b	ND	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2
CHI-11	ND	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2
CHI-13	8.200 - 7.200 a. P.	16111T 16115T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2
CHII-03	ND	16111T 16290T 16319A 16362C	A2
CHII-04	ND	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2
CHII-05	ND	16111T 16223T 16290T 16319A 16362C	A2
CHI-07	7.800 - 6.800 a. P.	16183C 16189C 16217C 16244A 16274A	B2
CHII-06	ND	16183C 16189C 16217C	B2
CHI-01	ND	16183C 16189C 16217C	B2
CHI-08	7.800 - 6.800 a. P.	16223T 16298C 16325C 16327T	C1
CHI-02	ND	16223T 16241G 16301T 16342C 16362C	D4h3a

Tabla modificada a partir de Díaz-Matallana, *et al.*, 2016. *Datación mediante ¹⁴C convencional según Neves, *et al.*, 2007

c) Periodo Muisca tardío. En el marco de una colaboración en curso con la Universidad de los Andes, se recuperó ADN antiguo de 18 individuos pertenecientes a la sociedad muisca del periodo tardío (1200-1600 d.C.) en Tibanica (Soacha), Bogotá, Colombia. Se amplificó la región hipervariable (HVSI) del ADNmt de segmentos de restos óseos antiguos. Las secuencias resultantes están siendo analizadas en este momento. El análisis de haplogrupos y haplotipos se complementó en esta población con la determinación del sexo de cada resto funerario, gracias a la estandarización de la amplificación de los genes *SRY*, *Amelogenina-X* y *Amelogenina-Y*. Gracias a este análisis se pudo determinar,

por ejemplo, que una de las muestras correspondía a una mujer según la ausencia de las bandas características del cromosoma Y (genes *SRY* y *Amelogenina-Y*). El sexo en esta muestra había sido clasificado por los antropólogos del equipo como “indeterminado” con base en las variables clásicas de la antropología física; en consecuencia, este hallazgo molecular permitió evidenciar una vez más las ventajas de la aproximación genética como complemento de la aproximación tradicional de la antropología física.

Además, se encuentra en estudio la relación de parentesco entre los individuos de esta comunidad precolombina que presentan ajuares en sus sepulturas, bajo la premisa de que



Figura 5. Hallazgos arqueológicos estudiados en el Instituto de Genética Humana. Modificado a partir de: Instituto Geográfico Agustín Codazzi (<http://geoportal.igac.gov.co/ssig12.0/visor/galeria.req?mapaId=22>)

las altas jerarquías se transmitían en los muisca de este periodo a través del linaje materno. De ser así, se deberán encontrar linajes mitocondriales semejantes o idénticos en los restos óseos de lo que los antropólogos han denominado “la élite”.

d) Guanes. La datación de contexto del hallazgo correspondiente a estos restos óseos se fijó en el año 1.090 ± 70 d.C., es decir cerca de 400 años antes de la conquista española. En ese sentido, sería más preciso hablar de la cultura “protoguane”, puesto que los guanes fueron denominados como tales por los cronistas conquistadores. Al tipificar el ADN mitocondrial de 17 individuos exhumados de un abrigo rocoso en el distrito de La Purnia, se encontró que 35 % de ellos presentaba el haplo-grupo A, 41 %, el haplo-grupo B y 24 %, el haplogrupo D, con ausencia aparente del haplogrupo C.

Un total de nueve haplotipos diferentes caracterizaron a este grupo humano, lo cual significa que estaba compuesto por un mínimo de nueve familias diferentes desde el punto de vista materno. Entre éstos, tres haplotipos no habían sido reportados en ningún individuo americano, ni moderno ni precolombino. Los dos primeros se habían reportado en individuos asiáticos, lo que respalda, una vez más, la

filiación remota compartida de América y Asia, y el tercero se ha considerado como un haplotipo privado hasta que se pruebe lo contrario, es decir, exclusivo de esta población precolombina mientras no aparezca reportado en otra comunidad asiática o americana.

En conclusión, los “protoguanes” parecen haber sido una comunidad particularmente diversa desde el punto de vista molecular, con evidentes parentescos con los muisca y sus descendientes contemporáneos, a pesar de la aparente homogeneidad craneana reportada por los antropólogos físicos como característica de esta comunidad. Con base en esta particularidad, se puede postular una población relativamente numerosa por cuanto no se halló evidencia de un entrecruzamiento intrafamiliar que condujera a la homogeneidad genética, lo cual puede ser resultado de las condiciones ambientales en la región central de los Andes orientales de Colombia, favorables a una mayor extensión territorial y una mayor densidad demográfica comparadas con otras poblaciones prehispánicas (Casas-Vargas, *et al.*, 2011).

e) Muisca del Templo del Sol. El análisis arqueológico y genético-poblacional en curso de restos óseos precolombinos de la sociedad muisca asociada al Templo del Sol en Sozamoso (Casas-Vargas, *et al.*, 2017), permitirá confirmar

o refutar la tradicional hipótesis de orígenes ancestrales diferentes para los muisca del norte (liderados por el Zaque) y los muisca del sur (liderados por el Zipa) en la sabana de Bogotá (Rodríguez, 2011). Asimismo, se podrán dar luces sobre la continuidad genética de los pobladores de este territorio a través de los tiempos de ocupación.

Por el momento, en el marco del trabajo colaborativo de Andrea Casas-Vargas, estudiante doctoral de nuestro equipo, con el antropólogo José Vicente Rodríguez de la Universidad Nacional de Colombia, se ha podido registrar ya la presencia de los haplogrupos A2, B2 y C1, hallados también en los individuos paleoamericanos de la cultura checa (Díaz-Matallana, *et al.*, 2016). En 13 individuos analizados hasta el momento en los restos de la zona circundante del Templo del Sol, se encontraron tres haplogrupos diferentes, nueve correspondientes al haplogrupo A2, tres al haplogrupo B2 y uno al haplogrupo C1, revelando, una vez más, una alta diversidad en una muestra poblacional relativamente pequeña. A estos restos óseos se les pudo practicar, adicionalmente, un análisis de género molecular mediante la amplificación del gen de la amelogenina, cuyas características alélicas son diferentes en el cromosoma Y y en el cromosoma X, lo que permitió confirmar en 12 de los 13 individuos el sexo reportado por el análisis preliminar antropológico de los restos óseos y, en un solo caso, corregir el sexo previamente determinado, por cuanto el individuo SM68 se había clasificado como femenino y presentó evidencia molecular de corresponder a un individuo masculino XY (Tabla 4) (Casas-Vargas, *et al.*, 2017).

Según los datos provisionales producto de nuestras investigaciones moleculares cuidadosamente controladas, y que cubren un espectro relativamente amplio de tiempos y zonas de poblamiento diferentes en la región central de los Andes orientales, la filiación de los pobladores precolombinos de la cordillera oriental de Colombia analizados se mantiene en los cuatro haplogrupos característicos de todos los indígenas americanos, y presenta haplotipos privados y públicos. La coincidencia de algunos de estos haplogrupos y sub-haplogrupos en diferentes comunidades a lo largo de Norteamérica y Suramérica permite sustentar diversas hipótesis sobre la migración progresiva en sentido principal de norte a sur, la cual determinó el acceso a diferentes regiones del continente en los últimos 20.000 años.

Modelos de las oleadas migratorias hacia Suramérica

En los estudios de antropología física y molecular en poblaciones modernas y ancestrales, se han sustentado diferentes modelos de inmigración de los primeros pobladores de América. Mientras en algunos reportes se apoya una única migración (Moraga, *et al.*, 2000; Wang, *et al.*, 2007; Fagundes, *et al.*, 2008), otros investigadores sugieren al menos dos (Keyeux, *et al.*, 2002; Rothhammer & Dillehay, 2009) o tres oleadas (Reich, *et al.*, 2012), con uno o varios componentes sucesivos presentes en los sistemas montañosos de los Andes.

A partir de muestras indígenas del extremo sur de Suramérica, se han sugerido tres modelos de inmigración para este subcontinente (Bodner, 2012). Estos autores consideran que el más probable de los tres corresponde al de la migración costera de norte a sur, con colonización transandina del interior subcontinental, seguida por extensas migraciones transandinas con flujo génico bidireccional de este a oeste. La Patagonia habría sido poblada hace aproximadamente 15.000 años por migrantes que siguieron la ruta costera del Pacífico. Una vez llegaron a la zona de Monte Verde, no pudieron avanzar más a lo largo de la costa debido a la extensión de los glaciares que cubrían la mayor parte de la Patagonia, y entonces habrían cruzado los Andes y continuado su avance hacia el sur y hacia el interior por el costado oriental de la cordillera.

Recientemente se reportó la existencia contemporánea del linaje D4h3a5 en Patagonia y Tierra del Fuego, con lo cual se refuerza la hipótesis de la continuidad de las poblaciones patagónicas actuales con respecto a los grupos fundadores (De Saint-Pierre, 2012).

Además del hallazgo de este particular sublinaje mitocondrial de origen asiático, restringido a la región más austral del Cono Sur de Suramérica, las dataciones más antiguas asociadas a otros linajes moleculares típicamente americanos, como el D1 y el B2, permiten sustentar la hipótesis de que los primeros asentamientos de América datan de 18.000 a 20.000 años a. P. En consecuencia, los primeros pobladores del extremo sur suramericano habrían tomado de 3.000 a 5.000 años para llegar desde el estrecho de Bering hasta la Patagonia. Los resultados moleculares indican que las poblaciones nativas actuales del sur de Chile y de Argentina tuvieron un origen común, y que el proceso de colonización temprana no solo consistió de una expansión de norte a sur por la costa del Pacífico, sino también de movimientos poblacionales a través de los Andes que explicarían el poblamiento temprano y relativamente disperso del territorio colombiano. En función de los hallazgos presentados en el presente documento, se puede tomar específicamente el sub-clado D4h3a como un buen marcador de inmigración americana. La presencia de este marcador en restos óseos hallados en la sabana de Bogotá, con una antigüedad aproximada de 5.000 años a. P., provee evidencia genética de la dispersión y el arribo a este territorio de individuos paleoamericanos por la ruta de la costa Pacífica, con una sucesiva migración transandina que llevó este linaje al menos hasta el altiplano cundiboyacense.

Un reciente hallazgo molecular en el ADN del cromosoma Y de más de 1.000 indígenas nativos americanos actuales concuerda con la tesis de un poblamiento inicial de Suramérica en los tiempos inmediatamente posteriores a la glaciación de Würm/Wisconsin, seguido de largos períodos de aislamiento en pequeños grupos tribales y, eventualmente, de nuevas oleadas de pobladores provenientes de Asia (Roewer, *et al.*, 2013). Además, en este mismo trabajo se pudo identificar un nodo fundador de linajes paternos,

Tabla 4. Análisis de sexo de los 13 individuos asociados al Templo del Sol.

Individuo	Cementerio arqueológico	Edad antropológica	Sexo antropológico	Biotipo	Cronología
SM27	MAS	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM30	MAS	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM31	MAS	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM39	MAS	Adulto (30-40 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM43	MAS	Desconocido	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM44	MAS	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM47	MAS	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM50	MAS	Adulto (40-50 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM61	MAS	Desconocido	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM67	MAS	Adulto (30-40 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM68	MAS	Adulto (50-60 años)	Femenino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM104	MAS	Desconocido	Masculino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.
SM109	MAS	Adulto (40-50 años)	Masculino	Braquicéfalo	siglos IX-XVI d.C.

Individuo	SM27	SM31	SM39	SM43	SM44	SM47	SM68	SM104	SM109
D3S1358	16/18	14/15	15/18	15/16	16	16	15	15	15/16
VWA	14/16	16/17	_a	_a	16/19	15	16	_a	16
D16S539	10/12	12	_a	5	11/12	_a	_a	_a	11/12
D2S1338	17	22/23	_a	_a	22	_a	_a	_a	18
Amelogenina	X	X	X	X	X	X	X/Y	X/Y	X/Y
D8S1179	14	12/13	13	_a	11/14	13	13/14	12/13	13
SE33	19/28.2	19/29.2	_a	_a	_a	_a	_a	_a	14/17
D19S433	13/15	13.2/14	_a	_a	13/15	14/14.2	13.2/14	14/15	13/15
TH01	7/9	7	_a	_a	6/7	7/9	7	_a	6/7
FGA	22/27	19/25	_a	_a	24/26	_a	_a	_a	23/24
D21S11	31/31.2	30.2/32.2	_a	_a	28/33.2	30	30	_a	28/32.2
D18S51	_a	13/14	_a	_a	_a	_a	_a	_a	14/16

MAS: Museo Arqueológico de Sogamoso; _a: ausencia preliminar de resultado en la amplificación genética correspondiente.

el haplogrupo C-M217 (C3*), el cual se halla restringido al territorio de Ecuador en el noroeste suramericano. Este mismo haplogrupo se encuentra con mucha frecuencia en el centro, este y noreste asiáticos, pero hoy está virtualmente ausente en Norteamérica y Centroamérica, con la excepción de Alaska. Esta distribución geográfica, unida a los estudios de coalescencia molecular que permiten determinar el momento cronológico del ancestro común más reciente en linajes semejantes, sustentan la hipótesis de la llegada de este haplogrupo al Ecuador por la vía costera o por la vía transpacífica cerca de 6.000 años a. P.

Los diversos estudios en un número importante de restos óseos disponibles hoy en museos y otras colecciones, además de los estudios a partir de muestras de indígenas contemporáneos en el siglo XXI, permitirán precisar las rutas de poblamiento americano y llegar a conclusiones sobre el grado de filiación de las comunidades humanas que han habitado el territorio de Colombia a lo largo de su historia.

La evidencia genética de los primeros pobladores desde el punto de vista médico

Una vez definidos los referentes moleculares en el ADNmt y el ADNcrY, que han arrojado luz sobre las rutas preliminares y la filiación de los primeros pobladores, se considerarán en esta sección algunos aspectos relacionados con la evidencia médica que permite un diagnóstico del estado de salud de las poblaciones precolombinas. Este diagnóstico puede basarse tanto en las observaciones contenidas en los textos de los cronistas de Indias, como en el estudio de los restos orgánicos de los hallazgos arqueológicos y las representaciones culturales de los grupos indígenas ancestrales americanos.

Una de las principales evidencias genéticas de los primeros pobladores americanos proviene del análisis de la cerámica prehispánica, particularmente aquella elaborada por el grupo humano asentado en la frontera con el actual Ecuador conocido como Tumaco-La Tolita. Este grupo, del que se perdió la traza hace más de 2.000 años, dejó cientos de

figuras de cerámica que registran su vida cotidiana, su entorno y sus mitos. Entre ellas se encuentran varias que representan con la más exquisita finura una serie de enfermedades y permiten vislumbrar características de su estructura genética y testimoniar casos de síndrome de Down, acondroplasia, mucopolisacaridosis, tumores faciales y enfermedades infecciosas (Gómez, Briceño & Bernal, 2007).

Como en el caso de los marcadores del ADN, las proyecciones ancestrales son posibles mediante el estudio de las enfermedades presentes hoy en las comunidades indígenas contemporáneas y de aquellas detectadas directamente en los restos óseos y dentales de las poblaciones precolombinas o, eventualmente, en restos momificados, como lo hicieron los académicos Gonzalo Correal (Correal & Flórez, 1992; Burgos, Correal & Arregocés, 1994; Correal, 2004) y José Vicente Rodríguez (Rodríguez, 1992, 1999, 2006) en varios estudios pioneros en Colombia, y como lo viene haciendo, por ejemplo, el antropólogo Carl Henrik Langebaek (Langebaek, 1988; Langebaek, *et al.*, 2011). En este punto debe señalarse que se dispone de una reciente revisión de la paleopatología en América Latina publicada en 2007 por el Convenio Andrés Bello y la Asociación Latinoamericana de Academias Nacionales de Medicina (ALANAM) (Sotomayor & Cuéllar, 2007).

Estudios moleculares en individuos con evidencia de trepanación craneana

Uno de los hallazgos arqueológicos que se han asociado a la medicina precolombina es la existencia de restos óseos con trepanaciones craneanas. Un número significativo de estas trepanaciones permite suponer la supervivencia del individuo correspondiente, en la medida en que se ha hallado evidencia de regeneración tisular en los bordes del orificio trepanado. Los cráneos de los individuos sometidos a tales cirugías se encuentran en diferentes culturas, y se han descrito también en Colombia (Gómez-González & Correal, 1973; Correal, 2004). A partir de muestras aisladas de estos hallazgos particulares, nuestro grupo de investigación ha extraído, amplificado y secuenciado el ADN mitocondrial de tres individuos prehispánicos hallados en los años 70 del siglo XX por Gonzalo Correal Urrego y Jaime Gómez González en territorio muisca en Colombia (Díaz-Matallana, *et al.*, 2012a), y de un individuo hallado en los años 60 del siglo pasado por Jorge Reynolds Pombo en territorio de la cultura precolombina de los paraca en el Perú (Díaz-Matallana, *et al.*, 2012b).

Uno de los cráneos hallados en territorio muisca fue datado en 350 ± 50 años d.C. (cerca de 1.700 años a. P.) (Gómez-González & Correal, 1973). Al tipificar su ADN, se encontró que dos de los tres cráneos muiscas (provenientes de Belén, Boyacá, y Nemocón, Cundinamarca) pertenecían al haplogrupo A2. El tercer cráneo, proveniente de una excavación en Sopó, Cundinamarca, pertenecía al haplogrupo B2 y presentaba el mismo cambio nucleotídico en la posición 16221 que el hallado en los restos óseos de

la cultura Herrera del periodo Formativo temprano (Silva, *et al.*, 2007), pero también un nucleótido diferente en la posición 16217, lo cual lo relaciona con este individuo precursor en el altiplano de manera un poco más distante (Díaz-Matallana, *et al.*, 2012a).

Conclusión

En síntesis, las evidencias genéticas clínicas y moleculares de los primeros pobladores corresponden a áreas de estudio cada vez más precisas. Con base en ellas puede entenderse que los primeros pobladores americanos eran grupos humanos migrantes que venían de lejos, desde el centro de África, y que, una vez salidos de ese continente les tomó alrededor de 40.000 años llegar hasta el estrecho de Bering y, a partir de su ingreso en América hace cerca de 20.000 años, 4.000 años más para llegar hasta la Patagonia. Una vez instalados en cada uno de los ecosistemas seleccionados en el continente americano, estos grupos humanos se reprodujeron y diversificaron con base en los factores ambientales y genéticos determinantes que consolidaron los grupos étnicos encontrados por los conquistadores europeos en los últimos años del siglo XV, así como otros eventuales viajeros trasatlánticos o transpacíficos que dejaron, infortunadamente, una muy precaria documentación de sus viajes.

Los hallazgos y reportes de la genética molecular, así como los reportes basados en aproximaciones complementarias, que permitan entender la estructura biológica de estos pobladores, serán esenciales para tipificar convenientemente las primeras sociedades que poblaron el territorio colombiano como lo han sido para tipificar y definir identidades en las generaciones del presente.

Agradecimientos

El presente texto es resultado de conversaciones sostenidas y de trabajos colectivos liderados conjuntamente con Ignacio Briceño Balcázar y Jaime Bernal Villegas en el Instituto de Genética Humana. Producto de estas interacciones fue la ponencia inaugural conjunta presentada en noviembre de 2014 en el seminario “La economía prehispánica en Colombia” organizado por el Banco de la República y la Universidad de los Andes en las instalaciones de la Biblioteca Luis Ángel Arango de Bogotá. Posteriormente, el autor presentó versiones individuales y actualizadas de esta reflexión en la Cátedra Europa realizada en la Universidad del Norte en Barranquilla en marzo de 2015 y en el XIII Congreso de Investigación de la Pontificia Universidad Javeriana, en septiembre de 2015. El autor agradece a los estudiantes de pregrado y posgrado que han participado en la línea de investigación “Diversidad humana en Colombia” del Instituto de Genética Humana en la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana, al grupo de Antropología Molecular dirigido por Deborah A. Bolnick en la Universidad de Texas en Austin, al grupo de Arqueología y Antropología dirigido por Carl H. Langebaek y al grupo del Laboratorio de Genética

Humana dirigido por Helena Groot en la Universidad de los Andes, así como al grupo del Laboratorio de Antropología Física de la Universidad Nacional de Colombia liderado por José Vicente Rodríguez. Mención especial merecen las estudiantes doctorales Andrea Casas-Vargas, Marcela Díaz-Matallana y María Claudia Noguera-Santamaría, quienes han logrado obtener resultados moleculares confiables y bien controlados, de acuerdo con estrictas condiciones de experimentación en los laboratorios de ADN antiguo de la Pontificia Universidad Javeriana, de la Universidad de los Andes y de la Universidad Nacional. Los análisis moleculares de restos óseos y dentales precolombinos han sido formalmente autorizados por el Instituto Colombiano de Antropología e Historia (ICANH), a cuyo equipo presentamos nuestro reconocimiento institucional por su amabilidad y diligencia. Finalmente, debo agradecer personalmente al profesor Gonzalo Correal por las muy generosas e interesantes conversaciones que he compartido con él en diferentes escenarios, públicos y privados, en relación con sus hallazgos precursores en este dominio de la ciencia en Colombia.

Conflicto de intereses

El autor declara que no tiene conflictos de intereses con respecto al contenido del artículo.

Referencias

- Aceituno, F. J., Loaiza, N., Delgado-Burbano, M. E., Barrientos, G. (2013). The initial human settlement of Northwest South America during the Pleistocene/Holocene transition: Synthesis and perspectives. *Quaternary International*. **301**: 23-33.
- Achilli, A., Perego, U. A., Bravi, C. M., Coble, M. D., Kong, Q. P., Woodward, S. R., Salas, A., Torroni, A. & Bandelt, H. J. (2008). The phylogeny of the four pan-American mtDNA haplogroups: Implications for evolutionary and disease studies. *PLoS One*. **3** (3): e1764.
- Achilli, A., Perego, U. A., Lancioni, H., Olivieri, A., Gandini, F., Hooshiar Kashani, B., Battaglia, V., Grugni, V., Angerhofer, N., Rogers, M. P., Herrera, R. J., Woodward, S. R., Labuda, D., Smith, D. G., Cybulski, J. S., Semino, O., Malhi, R. S. & Torroni, A. (2013). Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **110** (35): 14308-14313.
- Battaglia, V., Grugni, V., Perego, U. A., Angerhofer, N., Gómez-Palmieri, J. E., Woodward, S. R., Achilli, A., Myres, N., Torroni, A. & Semino, O. (2013). The first peopling of South America: New evidence from Y-chromosome haplogroup Q. *PLoS One*. **8** (8): e71390.
- Bisso-Machado, R., Bortolini, M. C. & Salzano, F. M. (2012). Uniparental genetic markers in South Amerindians. *Genetics and Molecular Biology*. **35** (2): 365-387.
- Bodner, M., Perego, U. A., Huber, G., Fendt, L., Röck, A. W., Zimmermann, B., Olivieri, A., Gómez-Carballa, A., Lancioni, H., Angerhofer, N., Bobillo, M. C., Corach, D., Woodward, S. R., Salas, A., Achilli, A., Torroni, A., Bandelt, H. J., Parson, W. (2012). Rapid coastal spread of first Americans: Novel insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. *Genome Research*. **22**: 811-820.
- Bolnick, D. A., Díaz-Matallana, M., Mata-Míguez, J., Pintar, E. & Martínez, J. G. (2014). Ancient DNA from Early to Mid-Holocene Burials in Northwestern Argentina: Implications for Understanding the Colonization and Early Population History of South America. *American Journal of Physical Anthropology*. **153** (S58): 81-81.
- Botiva Contreras, A., Groot de Mahecha, A. M., Herrera, L. & Mora, S. (1989). Colombia prehispánica. Regiones arqueológicas. Bogotá: Colcultura – Instituto Colombiano de Antropología.
- Bryc, K., Auton, A., Nelson, M. R., Oksenberg, J. R., Hauser, S. L., Williams, S., Froment, A., Bodo, J. M., Wambebe, C., Tishkoff, S. A., Bustamante, C. D. (2010). Genome-wide patterns of population structure and admixture among Hispanic/Latino populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **107** (2): 8954-8961.
- Burgos, J. D., Correal-Urrego, G. & Arregocés, C. (1994). Treponematosi en restos óseos precerámicos de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **19** (73): 237-241.
- Carelli, V. (2015). Keeping in shape the dogma of mitochondrial DNA maternal Inheritance. *PLoS Genetics*. **11** (5): e1005179.
- Casas-Vargas, A., Gómez, A., Briceño, I., Díaz-Matallana, M., Bernal, J. E. & Rodríguez, J. V. (2011). High genetic diversity on a sample of pre-Columbian bone remains from Guane territories in Northwestern Colombia. *American Journal of Physical Anthropology*. **146**: 637-649.
- Casas-Vargas, A., Romero, L. M., Usaquén, W., Zea, S., Silva, M., Briceño, I., Gómez, A. & Rodríguez, J. V. (2017). Diversidad del ADN mitocondrial en restos óseos prehispánicos asociados al Templo del Sol en los Andes orientales colombianos. *Biomédica*. **37** (4): publicación anticipada, 2017.
- Castañón Uribe, C. & Van der Hammen, T. (1986). Parque Nacional Natural Chiribiquete. La peregrinación de los jaguares. Bogotá: Ministerio del Medio Ambiente.
- Correal Urrego, G. (1971). Hacia los orígenes y antigüedad del hombre en Colombia. Bogotá: Contraloría General de la República.
- Correal Urrego, G. (1973). Los hallazgos arqueológicos paleo-indígenas y la antigüedad del hombre en Colombia. Bogotá: ICAN.
- Correal Urrego, G. (1979). Investigaciones arqueológicas en abrigos rocosos de Nemocón y Sueva. Bogotá: Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Correal Urrego, G. (2004). Enfermedades en la población guane: fenotipo y craneoplastias. *Boletín de Historia y Antigüedades*. **824**: 55-71.
- Correal Urrego, G. & Van der Hammen, T. (1977). Investigaciones arqueológicas en los abrigos rocosos del Tequendama. Bogotá: Banco Popular.
- Correal, G. & Flórez, I. (1992). Estudio de momias guanés en la Mesa de los Santos. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **18** (70): 283-289.
- Coutinho, A., Valverde, G., Fehren-Schmitz, L., Cooper, A., Barreto Romero, M. I., Flores Espinoza, I., Llamas, B. & Haak, W. (2014). AmericaPlex26: A SNaPshot multiplex system for genotyping the main human mitochondrial founder lineages of the Americas. *PLoS One*. **9** (3): e93292.

- Cui, Y., Lindo, J., Hughes, C. E., Johnson, J. W., Hernández, A. G., Kemp, B. M., Ma, J., Cunningham, R., Petzelt, B., Mitchell, J., Archer, D., Cybulski, J. S. & Malhi, R. S.** (2013). Ancient DNA Analysis of Mid-Holocene Individuals from the Northwest Coast of North America Reveals Different Evolutionary Paths for Mitogenomes. *PLoS One*. **8** (7): e66948.
- De Saint-Pierre, M., Bravi, C. M., Motti, J. M., Fuku, N., Tanaka, M., Llop, E., Bonatto, S. L. & Moraga, M.** (2012). An Alternative Model for the Early Peopling of Southern South America Revealed by Analyses of Three Mitochondrial DNA Haplogroups. *PLoS One*. **7** (9): e43486.
- Delgado, M. E.** (2012a). Diversificación morfológica y poblamiento temprano del noroccidente de Suramérica: un estudio de la variación craneofacial. *Revista Colombiana de Antropología*. **48** (1): 189-232.
- Delgado, M. E.** (2012b). Mid and Late Holocene population changes at the Sabana de Bogotá (Northern South America) inferred from skeletal morphology and radiocarbon chronology. *Quaternary International*. **256**: 2-11.
- Delgado, M. E.** (2017). Sinopsis de la arqueología y la bioantropología del poblamiento temprano del noroccidente de Sudamérica. *Revista Colombiana de Antropología*. **53** (1): 213-239.
- Díaz-Matallana, M.** (2014). Caracterización genética de la cultura Checua del período Paleolítico proveniente de Nemocón-Cundinamarca, Colombia. Implicaciones para el Poblamiento Temprano de Suramérica. Tesis Doctoral. Bogotá: Facultad de Ciencias - Pontificia Universidad Javeriana.
- Díaz-Matallana, M., Briceño-Balcázar, I., Reynolds-Pombo, J. & Gómez-Gutiérrez, A.** (2012b). Tipificación de ADN mitocondrial precolombino a partir de restos dentales de un individuo con cráneo trepanado perteneciente a la cultura de los paracas (Perú). *Medicina*. **34** (1): 17-24.
- Díaz-Matallana, M., Gómez, A., Briceño, I. & Correal, G.** (2012a). Análisis de ADN ancestral en restos óseos de tres individuos trepanados encontrados en territorio muisca. Simposio de Antropología Genética - VI Congreso Internacional de Genética Humana, Santa Marta, Colombia.
- Díaz-Matallana, M., Gómez, I., Briceño, I., Bernal, J. E. & Rodríguez, J. V.** (2016). Genetic analysis of Paleo-Colombians from Nemocón, Cundinamarca, provides insights on the early peopling of northwestern South America. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **40** (156): 461-483.
- Dulik, M. C., Zhadanov, S. I., Osipova, L. P., Askapuli, A., Gau, L., Gokcumen, O., Rubinstein, S., Schurr, T. G.** (2012). Mitochondrial DNA and Y Chromosome variation provides evidence for a recent common ancestry between native Americans and indigenous Altaians. *American Journal of Human Genetics*. **90**: 229-246.
- Fagundes, N. J. R., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, A. C., Bogo, M. R., Salzano, F. M., Smith, D. G., Silva, W. A. Jr, Zago, M. A., Ribeiro-dos-Santos, A. K., Santos, S. E., Petzl-Erler, M. L. & Bonatto, S. L.** (2008). Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. *American Journal of Human Genetics*. **82**: 583-592.
- Fehren-Schmitz, L., Reindel, M., Cagigao, E. T., Hummel, S., Herrmann, B.** (2010). Pre-Columbian population dynamics in coastal Southern Peru: A diachronic investigation of mtDNA. Patterns in the Palpa region by ancient DNA analysis. *American Journal of Physical Anthropology*. **141**: 208-221.
- García-Bour, J., Pérez-Pérez, A., Alvarez, S., Fernández, E., López-Parra, A. M., Arroyo-Pardo, E. & Turbón, D.** (2004). Early population differentiation in extinct aborigines from Tierra del Fuego-Patagonia: Ancient mtDNA sequences and Y-chromosome STR characterization. *American Journal of Physical Anthropology*. **123**: 361-370.
- Goebel, T., Waters, M. R. & O'Rourke, D. H.** (2008). The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science*. **319** (5869): 1497-1502.
- Gómez-Gutiérrez, A., Briceño-Balcázar, I., Bernal-Villegas J. E.** (2007). Hereditas, diversitas et variatio. Aproximación a la historia de la genética humana en Colombia. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana - Academia Nacional de Medicina.
- Gómez-González, J. & Correal-Urrego, G.** (1973). Evidencias de cirugía craneana prehistórica en Colombia. *Revista Colombiana de Antropología*. **16**: 492-505.
- Greenberg, J., Turner II, C. G. & Zegura, S. L.** (1986). The settlement of the Americas: A comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Current Anthropology*. **27**: 477-497.
- Groot, A. M.** (1992). Checua: una secuencia cultural entre 8.500 y 3.000 años antes del presente. Bogotá: Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales.
- Jara, N. P., Díaz M., Villegas, V., López de Mesa, C., Torres, D., Bernal, J., Gómez, A. & Briceño, I.** (2010). Application of authenticity criteria in mitochondrial studies on archaic bone remains from a prehispanic muisca population. *Colombia Médica*. **41** (4): 306-314.
- Kemp, B. M., Malhi, R. S., McDonough, J., Bolnick, D. A., Eshleman, J. A., Rickards, O., Martínez-Labarga, C., Johnson, J. R., Lorenz, J. G., Dixon, E. J., Fifield, T. E., Heaton, T. H., Worl, R. & Smith, D. G.** (2007). Genetic Analysis of Early Holocene Skeletal Remains From Alaska and its Implications for the Settlement of the Americas. *American Journal of Physical Anthropology*. **132**: 605-621.
- Keyeux, G., Rodas, C., Gélvez, N. & Carter, D.** (2002). Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations. *Human Biology*. **74** (2): 211-233.
- Keyeux, G. & Usaquén, W.** (2006). Rutas migratorias hacia Suramérica y el poblamiento de las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco deducidas a partir de estudios genéticos moleculares. En: Morcote, G., Mora, S., Franky, C. (editores.). *Pueblos y paisajes antiguos de la selva amazónica*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, p. 49-62.
- Langebaek, C. H.** (1988). Patologías en la población muisca y la hipótesis de la economía autosuficiente. *Revista de Antropología y Arqueología*. **6** (1): 143-157.
- Langebaek, C. H.** (1992). Noticias de caciques muy mayores. Origen y desarrollo de sociedades complejas en el Nororiente de Colombia y Norte de Venezuela. Bogotá: Ediciones Uniandes.
- Langebaek, C. H., Bernal, M., Aristizábal, L., Corcione, M. A., Rojas, C. & Santa, T.** (2011). Condiciones de vida y jerarquías sociales en el Norte de Suramérica: el caso de la población muisca en Tibanica, Soacha. *Indiana*. **28**: 15-34.

- López-Castaño, C. E. & Cano-Echeverri, M. C. (2011). En torno a los primeros poblamientos en el Noroccidente de Sudamérica: acercamientos desde el valle interandino del Magdalena, Colombia. *Boletín de Arqueología PUCP*. **15**: 43-79.
- Melton, P. E., Briceño, I., Gómez, A., Devor, E. J., Bernal, J. E. & Crawford, M. H. (2007). Biological relationship between Central and South American Chibchan speaking populations: Evidence from mtDNA. *American Journal of Physical Anthropology*. **133**: 753-770.
- Mesa, N. R., Mondragón, M. C., Soto, I. D., Parra, M. V., Duque, C., Ortiz-Barrientos, D., García, L. F., Vélez, I. D., Bravo, M. L., Múnera, J. G., Bedoya, G., Bortolini, M. C. & Ruiz-Linares, A. (2000). Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America. *American Journal of Human Genetics*. **67**: 1277-1286.
- Moraga, M. L., Rocco, P., Miquel, J. F., Nervi, F., Llop, E., Chakraborty, R., Rothhammer, F. & Carvallo, P. (2000). Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: Implications for the peopling of the southern cone of the continent. *American Journal of Physical Anthropology*. **113** (1): 19-29.
- Neves, W. A., Hubbe, M. & Correal, G. (2007). Human skeletal remains from Sabana de Bogotá, Colombia: A case of paleoamerican morphology late survival in South America? *American Journal of Physical Anthropology*. **133**: 1080-1098.
- Noguera-Santamaría, M. C., Anderson, C. E., Uricoechea, D., Durán, C., Briceño-Balcázar, I., Bernal-Villegas, J. (2015). Mitochondrial DNA analysis suggests a Chibchan migration into Colombia. *Universitas Scientiarum*. **20** (2): 261-278.
- Pääbo, S., Poinar, H., Serre, S., Jaenicke-Després, J. H., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L. & Hofreiter, M. (2004). Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Review of Genetics*. **38**: 645-679.
- Peña, S. D., Santos, F. R., Bianchi, N. O., Bravi, C. M., Carnese, F. R., Rothhammer, F., Gerelsaikhan, T., Munkhtuja, B., Oyunsuren, T. (1995). A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. *Nature Genetics*. **11**: 15-16.
- Perego, U. A., Achilli, A., Angerhofer, N., Accetturo, M., Pala, M., Olivieri, A., Hooshiar Kashani, B., Ritchie, K. H., Scozzari, R., Kong, Q. P., Myres, N. M., Salas, A., Semino, O., Bandelt, H. J., Woodward, S. R., Torroni, A. (2009). Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA Haplogroups. *Current Biology*. **19** (1): 1-8.
- Perego, U. A., Angerhofer, N., Pala, M., Olivieri, A., Lancioni, H., Hooshiar Kashani, B., Carossa, V., Ekins, J. E., Gómez-Carballa, A., Huber, G., Zimmermann, B., Corach, D., Babudri, N., Panara, F., Myres, N. M., Parson, W., Semino, O., Salas, A., Woodward, S. R., Achilli, A., Torroni, A. (2010). The initial peopling of the Americas: A growing number of founding mitochondrial genomes from Beringia. *Genome Research*. **20**: 1174-1179.
- PhyloTree mt. en: www.phylotree.org
- Rasmussen, M., Anzick, S. L., Waters, M. R., Skoglund, P., DeGiorgio, M., Stafford, T. W. Jr, Rasmussen, S., Moltke, I., Albrechtsen, A., Doyle, S. M., Poznik, G. D., Gudmundsdottir, V., Yadav, R., Malaspina, A. S., White, S. S. 5th, Allentoft, M. E., Cornejo, O. E., Tambets, K., Eriksson, A., Heintzman, P. D., Karmin, M., Korneliussen, T. S., Meltzer, D. J., Pierre, A. T. L., Stenderup, J., Saag, L., Warmuth, V. M., Lopes, M. C., Malhi, R. S., Brunak, S., Sichert-Ponten, T., Barnes, I., Collins, M., Orlando, L., Balloux, F., Manica, A., Gupta, R., Metspalu, M., Bustamante, C. D., Jakobsson, M., Nielsen, R., Willerslev, E. (2014). The genome of a late Pleistocene human from a Clovis burial site in Western Montana. *Nature*. **506**: 225-229.
- Reich, D., Patterson, N., Campbell, D., Tandon, A., Mazieres, S., Ray, N., Parra, M. V., Rojas, W., Duque, C., Mesa, N., García, L. F., Triana, O., Blair, S., Maestre, A., Dib, J. C., Bravi, C. M., Bailliet, G., Corach, D., Hünemeier, T., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Petzl-Erler, M. L., Acuña-Alonzo, V., Aguilar-Salinas, C., Canizales-Quinteros, S., Tusié-Luna, T., Riba, L., Rodríguez-Cruz, M., López-Alarcón, M., Coral-Vázquez, R., Cantó-Cetina, T., Silva-Zolezzi, I., Fernández-López, J. C., Contreras, A.V., Jiménez-Sánchez, G., Gómez-Vázquez, M. J., Molina, J., Carracedo, A., Salas, A., Gallo, C., Poletti, G., Witonsky, D. B., Alkorta-Aranburu, G., Sukernik, R. I., Osipova, L., Fedorova, S. A., Vásquez, R., Villena, M., Moreau, C., Barrantes, R., Pauls, D., Excoffier, L., Bedoya, G., Rothhammer, F., Dugoujon, J. M., Larrouy, G., Klitz, W., Labuda, D., Kidd, J., Kidd, K., Di Rienzo, A., Freimer, N. B., Price, A. L., Ruiz-Linares, A. (2012). Reconstructing Native American population history. *Nature*. **488**: 370-374.
- Reidla, M., Kivisild, T., Metspalu, E., Kaldma, K., Tambets, K., Tolk, H. V., Parik, J., Loogväli, E. L., Derenko, M., Malyarchuk, B., Bermisheva, M., Zhadanov, S., Pennarun, E., Gubina, M., Golubenko, M., Damba, L., Fedorova, S., Gusar, V., Grechanina, E., Mikerezi, I., Moisan, J. P., Chaventré, A., Khusnutdinova, E., Osipova, L., Stepanov, V., Voevoda, M., Achilli, A., Rengo, C., Rickards, O., De Stefano, G. F., Papiha, S., Beckman, L., Janicijevic, B., Rudan, P., Anagnou, N., Michalodimitrakis, E., Koziel, S., Usanga, E., Geberhiwot, T., Herrnsstadt, C., Howell, N., Torroni, A., Villems, R. (2003). Origin and diffusion of mtDNA Haplogroup X. *American Journal of Human Genetics*. **73** (5): 1178-1190.
- Roa, M. (2005). Polimorfismos de la región control del ADN mitocondrial humano en una muestra de población mestiza del altiplano cundiboyacense colombiano. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Rodríguez, J. V. (1992). Características físicas de la población prehispánica de la cordillera oriental. Implicaciones etnogenéticas. *Maguaré*. **8**: 7-45.
- Rodríguez, J. V. (1999). Los Chibchas: pobladores antiguos de los andes orientales. Adaptaciones bioculturales. Bogotá: Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.
- Rodríguez, J. V. (2006). Las enfermedades en las condiciones de vida prehispánica de Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2006.
- Rodríguez, J. V. (2007). La diversidad poblacional de Colombia en el tiempo y el espacio: estudio craneométrico. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. **31** (120): 321-346.

- Rodríguez-Cuenca, J. V.** (2011). Los Chibchas: hijos del sol, la luna y los Andes. Orígenes de su diversidad. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Rodríguez, J. V. & Vargas, C.** (2015). Variación métrica y morfológica de la población prehispánica de Colombia. Implicaciones para la problemática del poblamiento temprano de América. *Revista Colombiana de Antropología*. **51** (2): 65-87.
- Roewer, L., Nothnagel, M., Gusmão, L., Gomes, V., González, M., Corach, D., Sala, A., Alechine, E., Palha, T., Santos, N., Ribeiro-Dos-Santos, A., Geppert, M., Willuweit, S., Nagy, M., Zweynert, S., Baeta, M., Núñez, C., Martínez-Jarreta, B., González-Andrade, F., Fagundes de Carvalho, E., Da Silva, D. A., Builes, J. J., Turbón, D., López Parra, A. M., Arroyo-Pardo, E., Toscanini, U., Borjas, L., Barletta, C., Ewart, E., Santos, S., Krawczak, M.** (2013). Continent-wide decoupling of Y-chromosomal genetic variation from language and geography in native South Americans. *PLoS Genetics*. **9** (4): e10003460.
- Rothhammer, F. & Dillehay, T. D.** (2009). The Late Pleistocene colonization of South America: An interdisciplinary perspective. *Annals of Human Genetics*. 2009. **73**: 540-549.
- S. de Friedemann, N. & Arocha, J.** (1985). Herederos del jaguar y la anaconda. Bogotá: Carlos Valencia Editores.
- Sánchez, M. C.** (2007). Secuenciación de la región control del ADN mitocondrial a partir de fragmentos óseos prehispánicos hallados en el sector de Candelaria La Nueva en Bogotá. Tesis de Maestría. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Sandoval, J. A. & Almanza, O.** (2012). Datación de esmalte dental prehispánico proveniente del sitio arqueológico Checua (Cundinamarca) por resonancia paramagnética electrónica (EPR). *Revista Colombiana de Física*. **44** (3): 248-252.
- Santos, F. R., Santos, F. R., Pandya, A., Tyler-Smith, C., Peña, S. D. J., Schanfield, M., Leonard, W. R., Osipova, L., Crawford, M. H., Mitchell, R. J.** (2012). The central Siberian origin of native American Y chromosomes. *American Journal of Human Genetics*. 2012; **64**: 619-628.
- Sato, M. & Sato, K.** (2013). Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*. **1833** (8): 1979-1984.
- Shurr, T. G., Ballinger, S. W., Gan, Y. Y., Hodge, J. A., Merriwether, D. A., Lawrence, D. N., Knowler, W. C., Weiss, K. M., Wallace, D. C.** (1990). Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *American Journal of Human Genetics*. **46**: 613-623.
- Silva, A., Briceño, I., Burgos, J., Torres, D., Villegas, V., Gómez, A., Bernal, J. E., Rodríguez, J. V.** (2008). Análisis de ADN mitocondrial en una muestra de restos óseos arcaicos del período Herrera de la Sabana de Bogotá. *Biomédica*. **28**: 569-577.
- Sotomayor-Tribín, H. A. & Cuéllar-Montoya, Z.** (2007). Aproximaciones a la paleopatología en América Latina. Bogotá: Convenio Andrés Bello – Academia Nacional de Medicina de Colombia.
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Smith, D. G., Mulligan, C. J., Bravi, C. M., Rickards, O., Martínez-Labarga, C., Khusnutdinova, E. K., Fedorova, S. A., Golubenko, M. V., Stepanov, V. A., Gubina, M. A., Zhadanov, S. I., Ossipova, L. P., Damba, L., Voevoda, M. I., Dipierri, J. E., Villems, R., Malhi, R. A.** (2007). Beringian standstill and spread of native American founders. *PLoS One*. **2** (9): e829.
- Torroni, A., Shurr, T. G., Yang, C. C., Szathmary, E. J. Williams, R. C., Schanfield, M. S., Troup, G. A. Knowler, W. C., Lawrence, D. N., Weiss, K. M.** (1992). Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene population were founded by two independent migrations. *Genetics*. **130**: 153-162.
- Torroni, A., Shurr, T. G., Cabell, M. F., Brown, M. D., Neel, J. V., Larsen, M., Smith, D. G., Vullo, C. M., Wallace, D. C.** (1993). Asian affinities and Continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *American Journal of Human Genetics*. **53**: 563-590.
- Van Oven, M. & Kayser, M.** (2008). Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Human Mutation*. **30** (2): E386-E394.
- Wang, S., Lewis Jr., C. M., Jakobsson, M., Ramachandran, S., Ray, N., Bedoya, G., Rojas, W., Parra, M. V., Molina, J. A., Gallo, C., Mazzotti, G., Poletti, G., Hill, K., Hurtado, A. M., Labuda, D., Klitz, W., Barrantes, R., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Petzl-Erler, M. L., Tsuneto, M. L., Llop, E., Rothhammer, F., Excoffier, L., Feldman, M. W., Rosenberg, N. A., Ruiz-Linares, A.** (2008). The phylogeny of the four pan-American mtDNA haplogroups: Implications for evolutionary and disease studies. *PLoS Genetics*. **3** (11): e185.

Prevalencia y periodicidad del virus sincitial respiratorio en Colombia

Juliana Barbosa¹, Beatriz Parra², Liliana Alarcón³, Flor Inés Quiñones⁴, Eduardo López^{2,5}, Manuel Antonio Franco^{6,*}

¹ Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Programa Ampliado de Inmunizaciones de la Secretaría de Salud de Cali, Colombia

⁴ Secretaría de Salud Pública de Cali, Colombia

⁵ Centro de Estudios en Infectología Pediátrica, Cali, Colombia

⁶ Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Resumen

El virus sincitial respiratorio es uno de los principales agentes causantes de hospitalizaciones en niños menores de 5 años en todo el mundo y es responsable de una significativa mortalidad en los países en vías de desarrollo. Los resultados de estudios recientes sobre la inmunidad antiviral han generado un ambiente de optimismo sobre la posibilidad de lograr una vacuna antiviral segura y eficaz en un futuro cercano. En este contexto, uno de los objetivos del seminario taller sobre integración intersectorial de la investigación en salud, organizado por el Cideim, fue detectar las necesidades de investigación para facilitar la introducción de las vacunas contra el virus sincitial respiratorio en Colombia y, en particular, hacer un análisis de la carga de la enfermedad producida por este agente en Colombia. Como contribución a este último objetivo, en el presente trabajo se hizo la revisión de 36 estudios epidemiológicos y clínicos sobre el virus sincitial respiratorio realizados en el país en los últimos 40 años, con el fin de evaluar históricamente la prevalencia de la enfermedad por este patógeno y la periodicidad reportada en las diferentes ciudades de Colombia. Aunque en varias ciudades existe un pico en la presentación del virus entre marzo y abril, particularmente en Bogotá, la ciudad del país con el mayor número de estudios, en otras ciudades, como Cali, este no parece ser el caso. A pesar de que existe heterogeneidad en la prevalencia de las infecciones por el virus sincitial respiratorio (rango de 7 a 41 %) dependiendo, sobre todo, del tipo de estudio, en los últimos 40 años este ha sido el principal agente responsable de la infección respiratoria baja en niños menores de 5 años en Colombia. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras claves: Virus sincitial respiratorio; Periodicidad; Prevalencia; Colombia; Infecciones respiratorias; Niño.

Prevalence and periodicity of respiratory syncytial virus in Colombia

Abstract

Respiratory syncytial virus is one of the main agents responsible for hospitalizations in children under 5 years of age worldwide and is responsible for significant mortality in developing countries. Recent studies on antiviral immunity have created an atmosphere of optimism about the possibility of achieving a safe and effective antiviral vaccine in the near future. In this context, during the course of the Seminar/Workshop: "Intersectoral integration in health research" organized by CIDEIM, one of the objectives was to identify research needs to facilitate the introduction of respiratory syncytial virus vaccines in Colombia and particularly to estimate the disease burden by this agent in the country. In this context, the present work revised the information reported by epidemiological and clinical studies on respiratory syncytial virus conducted in the country within the past 40 years to describe the disease prevalence and the temporal distribution of this respiratory pathogen in different cities of Colombia. Although in several cities there is a peak in the presentation of the virus between March and April, especially in Bogotá, the city with the greatest number of studies, this does not seem to be the case in other cities, for example, Cali. Despite the fact that there is heterogeneity in the prevalence of infection by respiratory syncytial virus (range: 7% - 41%) depending on the type of study, for the last 40 years the virus has been the main agent responsible for lower respiratory tract infections in children under 5 years in Colombia. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Respiratory Syncytial Virus; Periodicity; Prevalence; Colombia; Respiratory infections; Children.

*Correspondencia:

Manuel Antonio Franco Cortés, mafranco@javeriana.edu.co; **Recibido:** 09 de agosto de 2017; **Aceptado:** 03 de noviembre de 2017

El virus sincitial respiratorio (VSR) es uno de los principales agentes causantes de hospitalizaciones en niños menores de 5 años en todo el mundo y es responsable de tasas significativas de mortalidad en los países en vías de desarrollo (Graham, 2016). El desarrollo de una vacuna contra este agente se ha visto afectado por el hecho de que los niños a quienes se les administró la primera vacuna en los años 60 presentaron una infección más grave que los no vacunados (Higgins, *et al.*, 2016; Modjarrad, *et al.*, 2015). Sin embargo, los estudios recientes sobre la inmunidad antiviral han generado un ambiente de optimismo sobre la posibilidad de lograr una vacuna contra el VSR segura y eficaz en un futuro cercano (Graham, 2016). Además, dado que la inmunidad materna puede proteger a los neonatos (Chu, *et al.*, 2014), que constituyen una de las poblaciones más vulnerables, se ha planeado administrar la vacuna a las madres durante el embarazo y disminuir indirectamente el riesgo de enfermedad grave por VSR de los niños durante sus primeros meses de vida. Se espera, entonces, que las primeras vacunas que se autoricen se apliquen en mujeres embarazadas y en personas de la tercera edad, otra población particularmente sensible al virus (Giersing, *et al.*, 2016). En este sentido, hoy están en desarrollo 60 vacunas dirigidas precisamente a estos dos grupos de población (Giersing, *et al.*, 2016; Graham, 2016; Higgins, *et al.*, 2016), y aunque la mayoría están en una fase preclínica, 16 de ellas ya están en la fase clínica. Novavax tiene ocho vacunas entre las fases uno y tres, Medimmune tiene cuatro entre las fases uno y dos b y GSK, cuatro en las fases uno y dos (Giersing, *et al.*, 2016; Higgins, *et al.*, 2016). Se espera que las primeras vacunas se aprueben aproximadamente dentro de cuatro años (Giersing, *et al.*, 2016; Higgins, *et al.*, 2016).

En este contexto, durante el seminario-taller sobre “Integración intersectorial en la investigación para la salud” organizado por el CIDEIM del 23 al 24 de junio de 2016 en Cali, uno de los objetivos fue establecer las necesidades de investigación para facilitar la introducción de las vacunas contra el VSR en Colombia. El primer aspecto que se discutió fue la necesidad de hacer un análisis de la morbilidad y la mortalidad en casos de infección respiratoria producida por el VSR en Colombia, pues esto permitiría tener una estimación histórica de la carga de enfermedad por el VSR con una caracterización de su periodicidad a nivel nacional, así como determinar los predictores de su gravedad. El presente trabajo pretende contribuir a este objetivo mediante la revisión de los estudios sobre el VSR realizados en el país, con el fin de estimar la prevalencia de la enfermedad por este patógeno y la periodicidad reportada en las ciudades del país. Se consultaron las bases de datos Medline, Embase, SciELO y Google Scholar, así como a expertos. Solo se tuvieron en cuenta los documentos con acceso a su texto completo. Aunque nuestro propósito era documentar todos los trabajos epidemiológicos y clínicos sobre VSR en el país, somos conscientes de que podría haber otros trabajos que no se detectaron.

La información se organizó y se presenta en dos apartes: 1) los trabajos gubernamentales sobre el tema, con especial énfasis en la vigilancia de VSR que realiza el Instituto Nacional de Salud (INS), y 2) los estudios hechos en el país agrupados según la ciudad en que fueron publicados.

Esfuerzos gubernamentales para el seguimiento y el manejo del VSR en Colombia

Desde 1997 el INS lleva a cabo la vigilancia centinela de los virus respiratorios causantes de la infección respiratoria aguda (IRA) (Barbosa, *et al.*, 2014), la cual se ajusta a los protocolos definidos, el primero de ellos de 2010, modificado en el 2013 y actualizado por última vez en el 2016.

Las estrategias empleadas en la vigilancia son las siguientes: 1) vigilancia centinela de enfermedades similares a la influenza (ESI) y de la infección respiratoria aguda grave (IRAG); 2) vigilancia de la morbilidad por IRA hospitalaria y ambulatoria; 3) vigilancia de IRAG inusitada, y 4) vigilancia de la mortalidad por IRA en menores de cinco años.

Uno de los objetivos de la primera de estas estrategias es “Determinar la carga de la infección respiratoria aguda en la prestación de servicios de salud en donde se efectúa vigilancia centinela de ESI – IRAG”. A partir del 2006 el INS descentralizó el diagnóstico de los virus respiratorios mediante inmunofluorescencia y lo transfirió a 12 laboratorios de salud pública del país con 40 sitios centinelas (Barbosa, *et al.*, 2014). A partir del 2013 se hace en el INS y en otros laboratorios de apoyo el diagnóstico de varios virus respiratorios (incluido el VSR) mediante PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real (Barbosa, *et al.*, 2014). Y desde el 2007, (año en que se comenzó la vigilancia de ESI, el VSR ha sido el principal agente detectado en menores de 5 años con diagnóstico de ESI (Barbosa, *et al.*, 2014). Los datos de esta vigilancia se publican en los boletines epidemiológicos del INS (<http://www.ins.gov.co>) y, además, en informes anuales en los que se consolidan los datos de todos los eventos de interés en salud pública, incluidas las enfermedades respiratorias. En ellos se ha reportado anualmente (desde el 2009 hasta el 2016) la circulación del VSR en Colombia. Para los años 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 y 2016 se detectó el VSR en 45, 50, 45,3, 59, 36, 38,9, 51,9 y 41,0 % de las muestras, respectivamente. Además, estos resultados se reportan a la Organización Panamericana de la Salud (OPS), que los tiene disponibles en su sitio de Internet (http://ais.paho.org/phis/viz/ed_flu.asp; fecha de consulta: 30 octubre de 2016). Es de anotar que los datos de Colombia en el sitio de la OPS provienen del INS, por lo que solo representan un subgrupo de los del Sivigila. Con los datos del INS se han publicado documentos sobre el tema (Barbosa, *et al.*, 2014) y un artículo exhaustivo (14.870 muestras de pacientes con IRA) sobre la vigilancia del VSR en toda Colombia del 2000 al 2011 (Barbosa-Ramírez, *et al.*, 2014). El subtipo A del VSR fue dominante con intervalos de dos años y el subtipo B con intervalos de un año. El 85,3 % de las infecciones

con VSR se presentó en niños menores de 5 años. A nivel nacional los picos de prevalencia del VSR coincidieron con el primer periodo de lluvia del país (abril-mayo) y un segundo pico más leve, entre octubre y noviembre (**Barbosa, et al.**, 2014). Otro de los esfuerzos gubernamentales encaminados a combatir el VSR y que permiten dar una idea de los costos que este origina, son los estudios sobre el palivizumab, anticuerpo monoclonal neutralizante que ha demostrado tener un efecto antiviral (**Higgins, et al.**, 2016), pero que es muy costoso (COP \$18.343.493,126 al año para el 2008). Por ello el Ministerio de Salud contrató un estudio de costo-efectividad de la profilaxis con palivizumab contra el VSR en niños prematuros a cargo de un equipo de la Pontificia Universidad Javeriana (**Rueda, et al.**, 2013). Se determinó que el uso rutinario del anticuerpo no era una medida costo-efectiva en estos niños debido a su alto costo y la poca eficacia comprobada para reducir la mortalidad o para la prevención primaria de la infección. Una de las limitaciones de este estudio fue que las estimaciones de la carga enfermedad se basaron en un estudio que no se había hecho en Colombia (**Rueda, et al.**, 2013), lo cual confirma la necesidad de estimar este indicador con los datos del país. Utilizando en parte los resultados de este estudio, el Ministerio de Salud emitió un documento con recomendaciones sobre el uso del palivizumab (**Ministerio de Salud**, 2014) en prematuros con mayor riesgo de enfermedad grave por VSR. En dicho documento se incluye un algoritmo para orientar la administración de este medicamento en niños menores de 32 semanas de edad de gestación, o en los menores de 35 semanas con displasia broncopulmonar o que dependan de la administración de oxígeno.

Estudios sobre la prevalencia y la incidencia del VSR en Colombia

La epidemiología y las características clínicas de la infección por VSR en Colombia son similares a las de otros países en vías de desarrollo de América Latina y el mundo (**Bardach, et al.**, 2014; **Weber, et al.**, 1998). Sin embargo, en todos los países de América con estaciones, los picos epidémicos del VSR son bien marcados y se asocian con el invierno, en tanto que en los países de la América tropical la infección ocurre a lo largo de todo el año con algunos picos en épocas de lluvia (**Bardach, et al.**, 2014; **Weber, et al.**, 1998). Esto puede comprobarse con los datos que reporta la OPS sobre infección por VSR en las Américas, en los cuales se observan diferencias notables en la presentación epidemiológica entre los países del Caribe, los de Centroamérica, los de la región Andina y los del Cono Sur (http://ais.paho.org/phil/viz/ed_flu.asp; fecha de consulta: 30 de octubre 2016).

En Colombia se vienen publicando estudios que evalúan la presencia del VSR en el país desde las décadas de 1970 y 1980 (**Berman, et al.**, 1983; **Escobar, et al.**, 1976; **Núñez, et al.**, 1988). Con excepción del artículo del INS ya mencionado, en el que se reportan los resultados de la vigilancia del VSR a nivel nacional, la gran mayoría de

estudios registra los resultados de ciudades específicas, y no hay estudios regionales o multicéntricos. La excepción es un estudio con un número relativamente escaso de participantes (717 en total y entre 47 y 296 por cada una de las seis ciudades incluidas: Barranquilla, Bogotá, Bucaramanga, Cali, Medellín y Pereira), en el cual se evaluaron los agentes etiológicos de la infección respiratoria baja en niños hospitalizados menores de un año. El VSR fue responsable de una de cada tres hospitalizaciones por infección respiratoria baja, con una periodicidad variable según la ciudad difícil de precisar por el escaso número de pacientes en algunas de ellas (**Piñeros, et al.**, 2013).

Estudios en Cali

En el primer estudio que pudimos documentar sobre la prevalencia del VSR en Colombia (realizado en 1976 en Cali), se encontró una baja prevalencia del virus, probablemente debido a la metodología usada (seroconversión de anticuerpos mediante fijación de complemento) (**Escobar, et al.**, 1976). Posteriormente, se reportaron dos estudios que estimaron la incidencia de la infección respiratoria aguda en servicios de atención ambulatoria, principalmente en niños menores de 5 años pertenecientes a estratos socioeconómicos bajos, en los cuales se identificaron los agentes etiológicos más frecuentemente asociados y se estableció la periodicidad. En el estudio titulado “Enfermedad respiratoria aguda del tracto respiratorio inferior”, se analizaron 1.229 pacientes durante 25 meses entre el 1 febrero de 1977 y el 28 febrero de 1979 y se diagnosticó la infección viral en 20 % de ellos. El VSR se asoció a 9 % de los casos y fue el patógeno respiratorio más frecuentemente identificado. La mayoría de las infecciones por VSR se diagnosticó en niños menores de 2 años de edad con bronquiolitis o neumonía, y más de 40 % de los casos de infección con VSR ocurrió en infantes antes del primer año de vida (**Berman, et al.**, 1983). El promedio de días de enfermedad por VSR fue de 18 días y en los casos de IRA baja (bronquiolitis y neumonías), la mayor morbilidad se asoció con desnutrición grave. En el estudio se evaluaron las tasas de infección del virus de la influenza, la parainfluenza, el adenovirus y el VSR y su relación con los periodos de lluvia y los meses del año. La circulación del VSR fue mayor durante los meses de diciembre, enero y febrero en los dos años del estudio y no siempre coincidió con los periodos de más lluvia en Cali. El adenovirus fue el segundo virus más frecuente y circuló durante todo el año.

En otro estudio prospectivo hecho entre 1986 y 1988, se evaluaron los episodios de IRA en una cohorte de 340 niños desde el nacimiento hasta la edad de 17 meses (**Borrero, et al.**, 1990). La incidencia de episodios de IRA por niño y año fue de 6,6, lo que sugería la presencia de reinfecciones múltiples. El VSR fue el agente viral más frecuentemente aislado de los cultivos de aspirados nasofaríngeos en niños con episodios de IRA baja, y se lo detectó casi tres veces más que los otros virus. El VSR constituyó el principal agente viral en los niños durante sus primeros 17 meses de

vida. Un hallazgo interesante para el diagnóstico diferencial de IRA viral en niños fue que las retracciones y la frecuencia respiratoria de más de 50 por minuto fueron signos clínicos distintivos de los casos de IRA baja.

Un reciente estudio internacional sobre VSR, que en Colombia se hizo para la ciudad de Cali, merece especial mención, pues permite comparar la incidencia y la prevalencia del virus en Colombia con las de otros países del mundo. En el marco de un ensayo de una vacuna contra la influenza pandémica, se estudiaron niños sanos de 6 meses a <10 años de edad en el momento de la vacunación en Australia, Brasil, Colombia, Costa Rica, México, Filipinas, Singapur y Tailandia entre febrero del 2010 y agosto del 2011. En el estudio se hizo vigilancia activa prospectiva del VSR en niños con episodios de ESI hospitalizados o no, lo cual permitió evaluar la incidencia y la prevalencia de la enfermedad leve y grave (Nolan, *et al.*, 2015). La prevalencia promedio del VSR en casos de ESI en Colombia (Cali) fue similar a la de otros países (9,7 %). En Colombia, el 0, 4,6, 8,6,10,6, 28,3 y 47,9 % de los participantes con ESI de <6, 6 a 11, 12 a 23, 24 a 35, 36 a 59 y >60 meses de edad, respectivamente, tenían el VSR. La incidencia para Colombia fue relativamente baja y similar a la de Costa Rica, México y Tailandia (13 a 15 por 100 años por persona). La periodicidad varió según el país y en Colombia no fue clara.

En resumen, el VSR fue el principal agente etiológico causante de bronquiolitis y neumonías en menores de 2 años en Cali; otro hallazgo común de los estudios fue un mayor riesgo de IRA en varones que en niñas, lo cual no se estimó para el VSR, pero coincide con lo reportado a nivel mundial para este virus.

Estudios en Medellín y Manizales

Uno de los primeros estudios que se realizaron en el país usando pruebas rápidas de inmunofluorescencia para identificar virus respiratorios se hizo en Manizales, Caldas, entre el 1 de octubre de 1985 y el 22 de julio de 1986 (Núñez, *et al.*, 1988). Se evaluó la etiología viral en secreciones traqueales de 60 niños de 1 a 60 meses de edad hospitalizados con IRA baja. En 33 % (20/60) de ellos se identificaron virus, y en 3,3 %, *Chlamydia trachomatis* (2/60). El principal agente etiológico de IRA baja fue el VSR, identificado en 25 % (15/60) de los niños menores de 5 años. Sin embargo, en 42 % del total se encontraron bacterias como único agente etiológico. Es importante resaltar que 50 % de las IRA virales correspondieron a coinfecciones con bacterias.

En un estudio descriptivo realizado en Medellín se evaluó la frecuencia de VSR en niños hospitalizados con IRA baja entre abril de 1994 y abril de 1995. De los 103 pacientes menores de un año incluidos en el estudio, 43 (41,7 %) tenían infección por VSR. El mayor número de ingresos tanto por IRA como por la infección por VSR se dio en los meses lluviosos, y el pico de incidencia fue entre noviembre, diciembre y enero (Bedoya, *et al.*, 1996).

En un estudio descriptivo realizado en el Hospital Pablo Tobón Uribe de Medellín entre el 2007 y el 2012, se evaluó la frecuencia de aislamiento de virus respiratorios en 2.039 niños (1.364 eran menores de 5 años) con enfermedad similar a la influenza, de los cuales solo el 16 % requirió hospitalización. Del total de participantes, 737 (36 %) fueron positivos para virus respiratorios. Es de anotar que el diagnóstico de influenza se hizo mediante aislamiento en cultivo celular y RT-PCR, mientras que los otros virus solo se identificaron en cultivo celular. En la mayoría de los casos en los que se identificó un virus, este fue el de influenza (57,8 %) seguido del adenovirus (19,1 %), el de parainfluenza (14,9 %) y tan solo en 18 (2,4 %) casos se aisló el VSR (Arango, *et al.*, 2015). La baja positividad para el VSR, comparada con el estudio anterior en Medellín y lo esperado en este grupo de edad, se atribuyó al uso de una línea celular *Madin-Darby canine kidney* (MDCK), en la que crece particularmente bien el virus de la influenza pero no el VSR, así como al hecho de que las muestras fueron congeladas para su posterior procesamiento en Perú.

Estudios en Bogotá

La Fundación Santafé realizó en Bogotá un estudio retrospectivo piloto en el cual se analizaron 3.193 consultas en el servicio de urgencias de su clínica entre 1990 y 1994. Se encontró que las afecciones respiratorias más comunes aparecían entre abril y mayo y los autores concluyeron que este patrón no coincidía con la circulación viral en el hemisferio norte ni en el hemisferio sur, como tampoco con lo descrito en otras zonas ecuatoriales del mundo. De 94 pacientes diagnosticados con bronquiolitis entre diciembre de 1993 y julio de 1994, se tomaron pruebas para VSR en 46; en el primer semestre fue positivo el 79 % (27/34) y en el segundo semestre, el 42 % (5/12), y el mayor diagnóstico viral se asoció con el pico de bronquiolitis en mayo (Ucrós, *et al.*, 1997).

En otro estudio del 2001 en esta misma institución se encontró que el VSR tenía una prevalencia similar a la de otros países en menores de 24 meses de edad con síntomas sugestivos de enfermedad por VSR (Vásquez & Reyes, 2001).

En el estudio de casos y controles prospectivo denominado “Factores de riesgo para infección respiratoria aguda baja grave en Bogotá, 2001”, realizado por el INS en colaboración con la Universidad de La Sabana entre noviembre de 2000 y agosto de 2001 en una población de 638 niños entre los 2 meses y los 5 años que cumplían con los criterios de la OMS para la definición de IRA, se recolectó muestra nasofaríngea en 114 de ellos y 85,9 % (98/114) de ellas resultaron positivas; en 41,8 % de estas se aisló el VSR. Entre los factores más importantes relacionados con la detección del virus se señaló “el compartir la cama” y la presencia de fumadores en la vivienda (Jaimés, *et al.*, 2003).

En el Hospital Militar Central de Bogotá se llevó a cabo otro estudio en niños que consultaban con IRA, con el fin de determinar la frecuencia de los virus respiratorios causantes

de la enfermedad. En este estudio transversal realizado entre marzo de 2000 y octubre de 2001. Se tomaron muestras de 139 niños, de las cuales 125 fueron aptas para el análisis virológico, y de estas 40 % (50/125) resultó positivo para algún tipo de virus, siendo el VSR el más frecuente, con 30,4 % (38 pacientes); además, se encontró que el VSR era el causante de 34,5 % (20 casos) de las neumonías y que la infección se presentaba principalmente entre los meses de abril y junio (**Herrera-Rodríguez, et al., 2007**).

En el 2008, el Laboratorio de Salud Pública de la ciudad, conjuntamente con la Universidad de los Andes, desarrolló un protocolo de RT-PCR anidada para la detección y tipificación del VSR en 30 muestras de menores de 5 años; estas muestras se obtuvieron entre julio de 2005 y enero de 2006 y procedían de diferentes hospitales de Bogotá. El uso de la técnica estandarizada en el protocolo permitió establecer que de las 25 muestras positivas para VSR 16 correspondían a VSR tipo B, dos a VSR A y en siete se detectaron ambos subtipos del VSR (**Mojica, et al., 2008**).

El INS y el Ministerio de la Protección Social hicieron un estudio de los agentes asociados con casos de IRA a partir de los datos de la vigilancia clínica y de laboratorio en el país. En él se encontró que entre septiembre y diciembre del 2003 se reportaron 64 casos de IRA, de los cuales 21 (33 %) fueron fatales. De 25 pacientes cuyas muestras se analizaron, la mayoría tenía influenza y tres, VSR. El pico ocurrió con el cambio en la circulación de la cepa de la influenza predominante (**Herrera, et al., 2008**).

Un grupo de investigadores de la Universidad Javeriana hizo un estudio para determinar la presencia del VSR y otros virus respiratorios en menores de 15 años que acudieron durante el 2008 al servicio de urgencias pediátricas del Hospital San Ignacio. En los 451 pacientes evaluados, el VSR fue el virus causante de la mayor proporción (65,8 %) de IRA (297). El 93,3 % de los pacientes era menor de 1 año y el pico de infección por VSR fue en abril (28 % de 257 pacientes analizados) (**Bastidas, 2009**).

En otro estudio descriptivo retrospectivo de la Universidad Militar se describió el comportamiento clínico de pacientes pediátricos ingresados en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Universitario Clínica San Rafael de Bogotá con infección por VSR durante el primer semestre de 2010 y 2011. Del total de 387 pacientes hospitalizados (182 en 2010 y 205 en 2011) en 91 se observó infección por VRS, es decir, 18 % y 27 % de todas las hospitalizaciones en la unidad de cuidados intensivos pediátricos durante 2010 y 2011, respectivamente (**Castro, 2012**).

El Laboratorio de Salud Pública de Bogotá propuso un modelo matemático epidemiológico con periodicidad forzada que fue comparado con los datos de la presencia del VSR en niños menores de 5 años en la ciudad entre 2005 y 2010. El modelo matemático explicó en forma razonable el comportamiento cíclico de los casos de niños infectados con el VSR, estableciéndose que la mayoría ocurría alrededor del mes de mayo, sin embargo, evidenció un comportamiento atípico del VSR en el 2007 (**Aranda-Lozano, et al., 2013**).

El trabajo denominado “Identificación de la presencia de dos paramixovirus humanos (VSR y metapneumovirus humano) en muestras de secreciones respiratorias recolectadas durante la vigilancia centinela en Colombia del 2000 al 2009”, es un estudio de tipo descriptivo retrospectivo en el cual se analizó un grupo de muestras recolectadas en Bogotá en el marco del programa de vigilancia centinela de virus respiratorios en Colombia del INS entre el 2000 y el 2009. El estudio estimó una proporción de 45,7 % de infección por VSR, con predominio del subtipo A, seguido por el subtipo B y 20,9 % de coinfecciones con ambos subtipos. Además, los dos subtipos de VSR presentaron un comportamiento alternante en los años del estudio (**Avila, 2014**).

En un estudio descriptivo retrospectivo de la Universidad del Rosario para caracterizar la población con diagnóstico de bronquiolitis en la clínica infantil de Colsubsidio, se evaluaron 1.230 historias clínicas en el estudio, de las cuales 906 cumplían con los criterios de inclusión y en 36 % (327) el diagnóstico se había establecido mediante panel viral; la edad promedio de los participantes fue de 5,5 meses y el principal agente aislado fue el VSR, en una proporción de 41 % (**Arraut & Lesmes, 2014**).

En otro estudio descriptivo de corte transversal de la Universidad Javeriana, se analizaron retrospectivamente las historias clínicas de menores de 2 años que asistieron con diagnóstico de IRA a la Unidad Pediátrica de los Andes entre 2011 y 2012 y a los que les solicitó examen de laboratorio para VSR o adenovirus. El porcentaje de muestras positivas para VSR fue de 42,6 % (388/911). Se encontró, además, que en los meses de marzo, abril y mayo la frecuencia de casos de IRA por VSR era mayor y se hicieron evidentes pequeños picos durante los meses de septiembre a octubre y, en especial, en el mes de diciembre (**Páez, 2013**).

La Universidad Militar y la Universidad Nacional llevaron a cabo cinco estudios estrechamente relacionados en una misma cohorte de niños menores de tres años hospitalizados por IRA baja en la Fundación Hospital de La Misericordia, hospital universitario de atención terciaria ubicado en Bogotá (**Gamba-Sánchez, et al., 2016; Rodríguez, et al., 2013; Rodríguez, et al., 2015; Rodríguez, et al., 2014; Rodríguez-Martínez, et al., 2015**). Se hizo un muestreo por conveniencia entre todos los niños menores de 3 años hospitalizados, a quienes se les recolectaron aspirados nasofaríngeos para la detección de VSR y adenovirus durante un período de dos años entre mayo de 2009 y mayo de 2013. En las historias clínicas de los pacientes positivos para VSR o adenovirus se obtuvieron los datos correspondientes a la fecha de ingreso, la fecha de la toma del aspirado nasofaríngeo, la edad, las comorbilidades, los requerimientos de oxígeno, el ingreso a la unidad de cuidados intensivos pediátricos y la mortalidad, entre otras; las variables predictoras incluidas en los estudios fueron edad, comorbilidades, mes del año en que se tomó la muestra de aspirados nasofaríngeos y tipo de infección viral (VSR, adenovirus o infección mixta con VSR y

adenovirus) (**Gamba-Sánchez, et al., 2016; Rodríguez, et al., 2013; Rodríguez, et al., 2015; Rodríguez, et al., 2014; Rodríguez-Martínez, et al., 2015**).

En el primer estudio de tipo analítico y retrospectivo que se hizo se analizaron 3.137 historias de niños hospitalizados por IRA baja, de las cuales 1.338 (42,7 %) eran de pacientes positivos para VSR y ADV. Durante los períodos de 2009 a 2010 y de 2010 a 2011 se detectaron 438 (32,7 %) y 900 (67,3 %) casos de IRA baja por VSR o adenovirus, respectivamente. Los pacientes positivos para VSR tenían una edad significativamente menor que aquellos negativos para VSR (8,0: 3,0-15,0 Vs. 12,0: 6,0-20,25, $p < 0,001$). Por el contrario, los pacientes positivos para adenovirus tenían una edad significativamente mayor que aquellos con resultado negativo; 1.100 infecciones fueron causadas únicamente por el VSR, y de ellas 797 (72,5 %) se presentaron en marzo, abril y mayo, y 303 (27,5 %) en los otros meses (**Rodríguez, et al., 2013**).

En el segundo estudio se seleccionaron 2.147 historias de niños con resultado positivo para VSR y encontró una tasa de mortalidad por infección con VSR de 1,1 %; además, el aumento en las infecciones por VSR fue similar al estudio anterior, es decir, durante un periodo de tres meses (marzo a mayo). En el análisis multivariado se estableció el cáncer como comorbilidad y como factor predictor independiente de mortalidad en niños con infección por VSR; se determinaron, asimismo, otros factores de riesgo como la edad temprana, la prematuridad, las condiciones respiratorias y las cardiopatías congénitas preexistentes, factores que se asociaron con la gravedad de la infección por VSR en los niños (**Rodríguez, et al., 2014**).

Es el tercer estudio se correlacionó la actividad mensual del VSR con las variables meteorológicas (temperatura, humedad relativa, lluvia, velocidad del viento y radiación solar) mediante un análisis bivariado y un o multivariado. En el análisis bivariado se encontró una correlación entre el número de infecciones mensuales por VSR y las variables de temperatura y precipitación (Spearman: $p = 0,730$, $p < 0,01$) durante el periodo de tres meses (marzo a mayo), primera época de lluvias del año en Bogotá, y evidenció un aumento en los casos positivos de VSR durante el periodo de estudio (2009 a 2011). Las otras variables no tuvieron correlación alguna con las infecciones por VSR (**Rodríguez, et al., 2015**).

En el cuarto estudio se incluyeron 2.267 casos de niños con infección respiratoria aguda, de los cuales 1.991 (87,8 %) eran infecciones causadas únicamente por VSR, 205 (9,0 %), infecciones por adenovirus exclusivamente, y 71 (3,1 %), infecciones mixtas de VSR y adenovirus. Durante los meses de marzo a mayo se presentaron 1.266 (63,6 %) infecciones por VSR y el resto, 725 (36,4 %), ocurrieron en los restantes nueve meses del año. Con respecto a la gravedad de la enfermedad respiratoria, 488 (21,5 %) niños fueron ingresados en la unidad de cuidados intensivos pediátricos. Del total de 2.267 pacientes incluidos en el estudio, 2.110 (93,1 %) necesitaron administración de oxígeno suplementario, 106 (4,7 %), intubación endotraqueal, 596 (26,3 %), antibióticos,

y 1.008 (44,5 %), oxígeno domiciliaria; a tasa mortalidad observada fue de 1,3 % durante el periodo de estudio (**Rodríguez-Martínez, et al., 2015**).

Por último, el quinto trabajo consistió en un estudio analítico transversal durante un período de cinco años (2009 a 2013), en el cual se evaluaron la asociación entre los parámetros meteorológicos y la actividad del VSR en esa población de niños hospitalizados en el Hospital de la Misericordia. Se analizaron 13.488 muestras, de las cuales 4.559 (33,8 %) fueron positivas para VSR. Se encontró que la circulación del VSR fue continua a lo largo del período de cinco años, alcanzando un pico cada año durante un período de tres meses, entre marzo y mayo, el cual corresponde a la época de lluvias en la ciudad; también se evidencio una relación directa entre el aumento de la temperatura y la lluvia y el número de casos de VSR. Las variables de humedad relativa, radiación y velocidad del viento no presentaron una correlación estadísticamente significativa con el número de casos positivos de VSR (**Gamba-Sánchez, et al., 2016**)2016.

En el Hospital Universitario Clínica San Rafael se realizó un estudio prospectivo de cohorte entre enero del 2014 y enero del 2015, con el fin de determinar factores predictores de la gravedad en menores de 5 años hospitalizados con diagnóstico de IRA baja a quienes se les tomaron muestras de aspirado nasofaríngeo para detectar virus respiratorios mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Se analizaron 1.180 pacientes con diagnóstico de IRA baja, de los cuales 416 (35,3 %) se seleccionaron por ser positivos para algún tipo de virus respiratorio. De estos 416 pacientes, 352 (84,6 %) tenían infecciones únicamente por VSR, 39 (9,4 %), infecciones exclusivamente con parainfluenza, 12 (2,9 %), infecciones solo con adenovirus, siete (1,7) eran infecciones únicamente por influenza, y los seis restantes (1,4 %) tenían infecciones respiratorias mixtas; estas infecciones respiratorias virales, especialmente las producidas por VSR, con 74,1 %, ocurrieron durante un período de tres meses entre marzo y mayo, época de lluvia en el país. Con respecto a la gravedad de la enfermedad respiratoria, se encontró que 86 (20,7 %) pacientes fueron ingresados en la unidad de cuidados intensivos pediátricos, y 67 (16,1 %) necesitaron intubación endotraqueal. Ninguno de los pacientes incluidos falleció debido a la infección respiratoria. De los 416 pacientes incluidos en el estudio, 165 (39,7 %) tuvieron una hospitalización media de más de siete días, 163 (39,2 %) recibieron antibióticos y 24 (5,8 %) requirieron soporte inotrópico o vasopresor. Además, se demostró que los antecedentes de sibilancias recurrentes, de hipertensión pulmonar y desnutrición como comorbilidad eran predictores de infecciones respiratorias agudas virales (**Pedraza-Bernal, et al., 2016**).

La Secretaría de Salud de Bogotá hizo uno de los pocos estudios encontrados en adultos con infecciones respiratorias agudas graves, en el cual se encontró, que como era de esperarse, el VSR no fue el principal agente en esta población (**Remolina, et al., 2015**).

En otro estudio en el Hospital Militar de Bogotá se buscó caracterizar a los pacientes de alto riesgo (prematuros menores de 35 semanas con enfermedad pulmonar crónica y aquellos con cardiopatías congénitas hemodinámicamente significativas) hospitalizados con infección por VSR en dicho hospital luego de haber recibido profilaxis con palivizumab o no. En este estudio observacional descriptivo prospectivo se analizaron 240 pacientes de los cuales el 44,58 % fue positivo para el VSR (Acuña, *et al.*, 2015). En el 2013 la prevalencia de hospitalización durante el año fue mayor en los meses de marzo a junio, con un pequeño pico al final del año.

La Universidad El Bosque de Bogotá llevó a cabo un estudio para predecir las semanas de inicio de los brotes de infección por el VSR en la ciudad entre 2005 y 2010 con base en variables climáticas (humedad, temperatura, sensación térmica, entre otras), las cuales se seleccionaron empleando el método bayesiano ingenuo. Los resultados de este trabajo muestran la relación de la humedad con el inicio del brote de VSR en Bogotá, que se produjo principalmente en el primer semestre de los años de estudio (González-Parra, *et al.*, 2016).

Estudios en Tunja, Bucaramanga y Cartagena

En Bucaramanga se realizó un estudio para estimar la incidencia del VSR asociado a IRA en una población pediátrica. El estudio se hizo en el marco del programa de vigilancia centinela (Sivigila) de circulación de virus respiratorios en Colombia, e incluyó a pacientes atendidos en el servicio de urgencias del Hospital Universitario Ramón González Valencia con cuadro clínico compatible con IRA. Se recolectaron 70 muestras en las cuales se identificó un agente viral en 21,42 % (IC_{95%}: 12,9-33,2); el VSR se detectó en 10 % (IC_{95%}: 4,5-20,1) (Sarmiento, 2007) de la población estudiada durante dos años (2004 y 2005). El número de casos (7 casos) hace difícil hablar de periodicidad, pero al parecer se presentó en enero (la mayoría de los casos).

En Tunja se hizo un estudio descriptivo para la caracterización epidemiológica de la IRAG (código 345 del Sivigila) entre julio de 2012 y julio de 2013. Se incluyeron pacientes de cualquier edad con infección respiratoria aguda grave internados en el Hospital San Rafael y en la Clínica Saludcoop de Tunja, a quienes se había tomado muestra de hisopado o aspirado nasofaríngeo. Se utilizaron los datos del Sivigila correspondientes a 530 muestras de hisopado nasofaríngeo procesadas mediante inmunofluorescencia directa. Se identificaron virus en 6,8 % de los casos, 75 % de los cuales fueron VSR (García, 2014). Los picos de detección fueron en mayo y junio.

En el estudio retrospectivo en Cartagena se evaluó la frecuencia de infección por VRS a partir de la revisión de 170 historias clínicas de pacientes pediátricos con sintomatología respiratoria y “sospecha de infección viral”, la mayoría de ellos (95,9 %) hospitalizados. El VSR fue el virus más frecuentemente encontrado, con 40,53 % de los casos (Díaz-Martínez & Gaviria-Díaz, 2014).

En la Tabla 1 se resume la prevalencia del VSR en población pediátrica en Colombia estimada con base en los principales estudios revisados, con énfasis en los datos reportados en menores de 5 años, principal población en riesgo de enfermedad grave por VSR. No se incluyeron los estudios con información duplicada sobre la prevalencia de VSR.

En la tabla 2 se presentan los estudios que han evaluado la periodicidad durante periodos de más de un año de la infección por VSR en diferentes ciudades de Colombia.

Discusión y conclusiones

Un hallazgo común en la mayoría de estudios es que el VSR fue el virus más frecuentemente detectado en IRA baja en menores de 5 años, seguido por el de influenza A y adenovirus (Tabla 1). Las coinfecciones de VSR y otros virus respiratorios reportadas en algunos de los estudios fueron menos de 10 %. Sin embargo, resulta llamativa la alta frecuencia de la coinfección con *Streptococcus aureus* y con *C. trachomatis*, el principal diagnóstico diferencial del VSR en la neumonías en menores de seis meses, la cual se estimó en un solo estudio (Núñez, *et al.*, 1988). Por otra parte, las prevalencias más bajas de VSR, diferentes del resto del país (7-13 %), se registraron en Tunja, Bucaramanga y Cali. En Tunja y Bucaramanga resulta difícil corroborar este resultado, pues solo se encontró un estudio por ciudad. Las diferencias en el diseño y el propósito de los estudios o los métodos de confirmación del VSR de las investigaciones en Cali podrían explicar las diferencias en la frecuencia del VSR con respecto a otros estudios en Colombia. Dos de las investigaciones en Cali correspondieron a seguimientos prospectivos de cohortes con vigilancia activa de los episodios de IRA en niños sanos (Borrero, *et al.*, 1990; Nolan, *et al.*, 2015), en tanto que el resto de estudios en Colombia han sido de corte transversal en población de menores hospitalizados. Aunque los otros dos estudios de Cali con prevalencias de VSR de 4 y 9 %, también se hicieron en pacientes de IRA baja hospitalizados, la confirmación de la infección por VSR se hizo mediante la detección de anticuerpos fijadores del complemento (Berman, *et al.*, 1983), comparada con la detección por IFI o RT-PCR utilizada en los demás estudios colombianos. Por el contrario, cuando se compararon estudios similares de vigilancia pasiva de IRA en menores hospitalizados y la detección por inmunofluorescencia, la prevalencia en Cali (Piñeros, *et al.*, 2013) fue más alta (30 %) y comparable a la reportada en Bogotá (30 - 52 %), Medellín (42 %), Manizales (25 %) y Cartagena (41 %) o a la estimación con base en todos los estudios (22 %).

Con respecto a la periodicidad de la transmisión del VSR en Colombia, los resultados consignados en la Tabla 2 mostraron un aumento en la frecuencia de los casos por VSR a partir del mes de marzo, con picos durante los meses de abril a junio, y una disminución posterior durante los meses de agosto a septiembre. Esta situación ocurre principalmente en ciudades como Bogotá, Tunja y Manizales (Barbosa-

Tabla 1. Prevalencia del VSR en Colombia en población pediátrica con IRA

Lugar y tipo de estudio/ Periodo de estudio (mm/aa)	N	Edad (años)	Frecuencia de IRA viral n (%) (virus)	Positividad para VSR			Tasa promedio VSR (rango)	Referencia
				Prevalencia n (%)	IRA Viral (%)	Método de detección		
Colombia								
Vigilancia INS/2000-2011	7.939	<5	1994 (25) [Flu,PI, AdV,VSR]	1137 (14)	57	IFA	22 (14-30)	(Barbosa- Ramírez, <i>et al.</i> , 2014)
Transversal/ 04/05-04/06	717	<1	ND	216 (30)	ND	IFA/ELISA		(Piñeros, <i>et al.</i> , 2013)
Manizales								
Transversal/ 10/85-07/86	60	<5	20 (33) [VSR, Flu, AdV, PI]	15 (25)	75%	IFA	25	(Núñez, <i>et al.</i> , 1988)
Cali								
Transversal/ 01/72-04/73	155 ⁺	<14	66 (42) [Flu, dV, VSR, PI]	6 (4)	9%	Serología FC	9 (4-13)	(Escobar, <i>et al.</i> , 1976)
Transversal/ 02/77-12/79	1.229 ⁺⁺	<14	250 (20) [Flu,PI, VSR, AdV]	106 (9)	42%	Cultivo, Serología FC		(Berman, <i>et al.</i> , 1983)
Prospectivo/ 10/86-07/87	506 ^{&}	<2	108 (21) [VSR, Flu, PI, AdV, EV]	67 (13)	62%	IFA, cultivo, serología FC		(Borrero, <i>et al.</i> , 1990)
Prospectivo/ 02/10-08/11	927	<5	584 ^{**}	49 (8)	ND	RT-PCR múltiple		(Nolan, <i>et al.</i> , 2015)
Medellín								
Transversal/ 04/94-04/ 95	103	<1	ND	43 (42)	ND	IFA (directa), cultivo	42	(Bedoya, <i>et al.</i> , 1996)
Bogotá								
Casos y control/ 11/00-08/01	638	≤5	98 (86) [VSR, FluA y FluB]	41 (36)	42%	IFA		(Jaimes, <i>et al.</i> , 2003)
Transversal 03/00-10/01	139 [*]	<10	56 (40) [Flu, VSR, AdV]	38 (27)	68%	IFA		(Herrera-Rodríguez, <i>et al.</i> , 2007)
Transversal/ 01/08-12/08	449	<5	297 (66) [FluA, PI, AdV, VSR]	257 (57)	87%	IFA		(Bastidas, 2009)
Retrospectivo /1/10-6/10	96	<5	36 (38)	34 (35)	94%	IFA		(Castro, 2012)
Retrospectivo/ 1/11-6/11	109	<5	75(33)	57 (52)	76%	IFA		(Castro, 2012)
Retrospectivo /01/13-12/13	906	<2	142(44) [VSR, FluB, AdV]	135 (41)	95%	IFA	40 (27-57)	(Arraut & Lesmes, 2014)
Retrospectivo /01/12-12/12	911	<2	554 (61) [VSR, AdV]	388 (43)	70%	Prueba rápida		(Paez, 2013)
Prospectivo / 01/14-01/15	1180	<5	416(35) [Flu, PI, AdV]	352 (30)	85%	IFA		(Pedraza-Bernal, <i>et al.</i> , 2016)
Transversal/ 04/13-06/14	240	<1	ND	107 (45)	ND	Prueba rápida		(Acuña, <i>et al.</i> , 2015)
Retrospectivo /01/09-12/13	1.3488	<3	ND	4559 (34)	ND	Prueba rápida		(Gamba-Sánchez, <i>et al.</i> , 2016)
Bucaramanga								
Transversal/ 01/04-11/05	70	<3	15(21) [FluA, PI3]	7 (10)	47%	IFA	10	(Sarmiento, 2007)
Tunja								
Transversal / 07/12-07/13	393 ^{***}	<5	27 (7) [VSR, FluA, AdV]	26 (7)	96%	IFA	7	(García, 2014)
Cartagena								
Retrospectivo/ 01/14-06/14	170	<15	ND	69 (41)	ND	Prueba rápida	41	(Díaz Martínez & Gaviria-Díaz, 2014)

* 85 % era menor de tres años (118/139); ** Episodios de IRA baja; *** 60 % era menor de un año (234/393). ⁺ 91 % era menores de 5 años (141/155) ++ 66 % era menor de 2 años (811/1229); [&]Episodios de IRA baja en 304 niños; ND: no determinado o sin dato; IFA: ensayo de Inmunofluorescencia; Flu: virus de la Influenza; FluA: virus de la Influenza tipo A; FluB: virus de la Influenza tipo B; AdV: adenovirus; PI: parainfluenza; PI3: parainfluenza tipo 3; EV: enterovirus

Tabla 2. Principales estudios que han evaluado la periodicidad del VSR en Colombia

Lugar (ciudad)	Tipo de estudio	Edad (años)	+ VSR / Total analizados (%)	Periodo de estudio	Método	Frecuencia (Picos)	Referencia
Nacional	Descriptivo - retrospectivo	0 - >65	1358/2799 (48,5)	2000 a 2011	IFA	Abril a junio Septiembre a Noviembre	(Barbosa Ramirez, <i>et al.</i> , 2014)
Bogotá D.C. Barranquilla, Atlántico Medellín, (Antioquia) Bucaramanga (Santander) Pereira (Armenia)	Descriptivo	<1	216/717 (30,0)	Abr, 2005 a Abr, 2006	- ELISA - IFA	Abril a junio (Bogotá, Medellín) Todo el año (Cali, Barranquilla, Bucaramanga)	(Piñeros, <i>et al.</i> , 2013)
Bogotá D.C.	Descriptivo, longitudinal y prospectivo	<16	32/46 (69,5)	1990 a 1994	ELISA	Abril a junio	(Ucrós, <i>et al.</i> , 1997)
	Transversal	<2	38/139 (27,3)	Mar 2000 a Oct 2001	Cultivo / IFA	Abril a junio	(Herrera-Rodríguez, <i>et al.</i> , 2007)
	Observacional retrospectivo de cohorte transversal	<15	257/451 (57,0)	2008	IFA	Marzo a mayo	(Bastidas, 2009)
	Modelo matematico	<5	-----	Mar 2005 a 2010	IFI	Mayo	(Aranda-Lozano, <i>et al.</i> , 2013)
	Descriptivo de cohorte transversal	<2	388/911 (42,7)	2012	Prueba Rapida	Marzo a mayo Septiembre a diciembre	(Paez, 2013)
	Descriptivo	>18	5/91 (5,4)	2012	Microrray	Abril a mayo	(Remolina, <i>et al.</i> , 2015)
	Prospectivo	<5	352/416 (84,6)	Ene 2014 a Ene 2015	IFA	Marzo a mayo	(Pedraza-Bernal, <i>et al.</i> , 2016)
	Observacional, descriptivo Prospectivo	<1	107/240 (44,6)	Abr, 2013 a Jun, 2014	Prueba Rapida	Marzo a junio	(Acuña, <i>et al.</i> , 2015)
Analítico	<3	4559/13488 (33,8)	2009 a 2013	Prueba Rapida	Marzo a mayo	(Gamba-Sanchez, <i>et al.</i> , 2016)	
Medellin, Antioquia	Descriptivo	<1	43/103 (41,7)	Abr 1994 a 1995	IFA, Cultivo	Nov a Ene	(Bedoya, <i>et al.</i> , 1996)
Cali, Valle	Transversal	<2	106/1229 (9,0)	Feb 1977 a Feb 1979	Cultivo, Serologia, FC	Dic a Feb	(Berman, <i>et al.</i> , 1983)
Tunja, Boyacá	Descriptivo retrospectivo	<5	27/530 (75,0)	Jul 2012 a Jul 2013	IFA	Mar a Jul	(García, 2014)
Bucaramanga, Santander	Transversal	<3	7/70 (10,0)	Ene, 2004 a Nov, 2005	IFA	Ene a Feb May a Ago	(Sarmiento, 2007)
Manizales, Caldas	Transversal	≤ 1 – 60	15/60 (25,0)	Oct, 1985 a Jul, 1986	IFA	Ene a Jul	(Núñez, <i>et al.</i> , 1988)

En esta tabla se incluyen los estudios que han evaluado la prevalencia de VSR por lo menos durante un año y que no tienen informacion redundante. ----- Sin dato; IFA: ensayo de inmunofluorescencia

Ramírez, *et al.*, 2014; Gamba-Sánchez, *et al.*, 2016; García, 2014; Núñez, *et al.*, 1988). En otras ciudades del país como Cali, Medellín y, quizás, Bucaramanga la frecuencia de los picos de presencia del VSR se concentró principalmente durante los meses de diciembre a febrero (Bedoya, *et al.*, 1996; Berman, *et al.*, 1983; Sarmiento, 2007), lo cual indica que la periodicidad del VSR en Colombia se da a lo largo del año, con picos que varían ligeramente según la ciudad.

Aunque no es completamente clara la asociación entre la frecuencia de los casos por VSR y los factores meteorológicos como la temperatura, la humedad o la lluvia, las temporadas de lluvias y las temperaturas cálidas favorecen la replicación, la estabilidad y la transmisión del virus todo el año (Rodríguez, *et al.*, 2015). En los estudios realizados en el país tanto de cohorte como descriptivos el aumento en la frecuencia de casos por VSR coincidió con el inicio de las

lluvias en la región andina, en la cual la primera temporada de lluvias ocurre entre marzo y mayo y la segunda entre septiembre y noviembre (**Barbosa-Ramírez, et al.**, 2014; **Gamba-Sánchez, et al.**, 2016).

La presente revisión permite concluir que hay un importante número de trabajos que han evaluado la prevalencia del VSR en Colombia y que pueden ser útiles para estimar la carga de la enfermedad por este patógeno en el país. Los estudios gubernamentales parecen ser la mejor fuente para estimar la prevalencia de VSR en la población pediátrica con IRA baja en Colombia. Entre los otros estudios, resalta el único estudio prospectivo que logramos detectar, en el cual se estimó la incidencia de la enfermedad por VSR (**Nolan, et al.**, 2015). En futuros estudios que pretendan estimar la carga de la enfermedad y la prevalencia del VSR en Colombia, se deberá tener en cuenta la heterogeneidad y la periodicidad de la presentación del VSR en las diferentes regiones del país. Asimismo, es importante hacer estudios para determinar la carga de la enfermedad en el país que tengan en cuenta los estudios previos sobre el palivizumab (**Rueda, et al.**, 2013) y los efectos a largo plazo del VSR, tales como el incremento de asma (**Lambert, et al.**, 2014).

Se desconocen aún muchos aspectos (poblacionales, estacionales, efectos del medio ambiente, factores de riesgo, etc.), sobre el VSR, necesarios para mejorar el manejo de la enfermedad producida por este virus. La información sobre cuándo inicia y termina la temporada del VSR en el país o la región, así como sobre la carga de la enfermedad en la población general y en especial en los grupos de riesgo (menores de un año), permitiría optimizar el tratamiento y las medidas profilácticas (vacuna o inmunoprofilaxis) contra el VSR. Teniendo en cuenta las limitaciones del país en cuanto a la calidad de la información epidemiológica y virológica sobre el VSR, las autoridades de salud son conscientes de la necesidad de asumir el reto de mejorarla introduciendo cambios en la vigilancia, la representatividad de la muestra, la consolidación y la generación de fuentes de información y deconsultadas (**Barbosa, et al.**, 2014). Debe enfatizarse la necesidad de conocer más a fondo la epidemiología de las infecciones respiratorias agudas en nuestra población, incluidos datos precisos sobre su incidencia, a través de estudios multicéntricos con definiciones de caso homogéneas que permitan entender mejor la prevalencia del VSR en Colombia.

Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a los participantes del seminario - taller sobre "Integración intersectorial en la investigación para la salud" organizado por el CIDEIM con el apoyo del Programa Especial TDR de la OMS, el Banco Mundial, la UNDO y la UNICEF), y en particular a las personas que trabajaron en el tema: "Colombia en la preparación para la introducción de la vacuna contra el Virus Sincitial Respiratorio", por sus aportes y enriquecedoras discusiones.

Contribución de los autores

JB realizó la revisión de los trabajos del Instituto Nacional de Salud y de los artículos de estudios provenientes de Bogotá. BP hizo la revisión primaria de los artículos de otras regiones del país. LA y FIQ se encargaron del análisis preliminar de un subgrupo de las referencias. EL realizó el análisis general de todas las referencias. MAF hizo la búsqueda de la mayoría de los artículos sujetos a revisión y estructuró el cuerpo del artículo. Todos los autores revisaron la versión final del manuscrito y aprobaron su contenido.

Conflicto de intereses y financiación

Declaramos no tener ningún conflicto de intereses. Este trabajo fue financiado parcialmente por la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá, y por el Programa Especial TDR de la OMS, el Banco Mundial, la UNDO y la UNICEF (contrato 2015/583947-0).

Referencias

- Acuña, R.H., Colmenares, A., Arismiendi, M.** 2015. Impacto de la profilaxis con Palivizumab en la hospitalización de recién nacidos de alto riesgo para infección por virus sincitial respiratorio en el Hospital Militar Central, Pediatría. Universidad Militar Nueva Granada. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://repository.unimilitar.edu.co/handle/10654/6222>.
- Aranda-Lozano, D.F., González-Parra, G.C., Querales, J.** 2013. Modelling respiratory syncytial virus (RSV) transmission children aged less than five years-old. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. **15**: 689-700.
- Arango, A.E., Jaramillo, S., Pérez, J., Ampuero, J.S., Espinal, D., Donado, J., Felices, V., García, J., Laguna-Torres, A.** 2015. Influenza-like illness sentinel surveillance in one hospital in Medellín, Colombia. 2007-2012. *Influenza and other respiratory viruses*. **9**: 1-13.
- Arraut, P.B., Lesmes, A.C.** 2014. Caracterización de la población con bronquiolitis en la Clínica Infantil Colsubsidio en el año 2013, Pediatría. Universidad del Rosario, Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/10515/53106146-2015.pdf?sequence=1>.
- Ávila, L.V.** 2014. Identificación de la presencia de dos paramixovirus humanos (virus sincitial respiratorio humano y metanuevomovirus humano) en muestras de secreciones respiratorias recolectadas durante la vigilancia centinela en Colombia del 2000 al 2009. Universidad Nacional de Colombia. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/46137/1/1032374854.2014.pdf>
- Barbosa, J., Daza, J., Malo, D.** 2014. Vigilancia epidemiológica y virológica de influenza y otros virus respiratorios en Colombia. 2000 - 2014. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.
- Barbosa-Ramírez, J., Pulido-Domínguez, P., Rey-Benito, G., Méndez-Rico, J., Castellanos, J., Páez-Martínez, A.** 2014. Human respiratory syncytial virus and metapneumovirus in patients with acute respiratory infection in Colombia, 2000 - 2011. *Rev Panam Salud Pública*. **36**: 101-109.
- Bardach, A., Rey-Ares, L., Cafferata, M.L., Cormick, G., Romano, M., Ruvinsky, S., Savy, V.** 2014. Systematic review and meta-analysis of respiratory syncytial virus infection epidemiology in Latin America. *Rev Med Virol*. **24**: 76-89.

- Bastidas, M.L.** 2009. Frecuencia de virus causantes de infección respiratoria aguda baja en pacientes pediátricos del Hospital Universitario San Ignacio durante el año 2008, Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis335.pdf>
- Bedoya, V.I., Abad, V., Trujillo, H.** 1996. Frequency of respiratory syncytial virus in hospitalized infants with lower acute respiratory tract infection in Colombia. *Pediatric Infectious Disease Journal*. **15**: 1123-1124.
- Berman, S., Dueñas, A., Bedoya, A.** 1983. Acute lower respiratory tract illnesses in Cali, Colombia: A two-year ambulatory study. *Pediatrics*. **71**: 210-218.
- Borrero, I.H., Fajardo, L.P., Bedoya, A.M., Zea, A., Carmona, F., De Borrero, M.F.** 1990. Acute respiratory tract infections among a birth cohort of children from Cali, Colombia, who were studied through 17 months of age. *Reviews of Infectious Diseases*. **12**: S950-S956.
- Castro, J.P.** 2012. Caracterización del virus sincitial respiratorio en la unidad de cuidados intensivos pediátricos del Hospital Universitario Clínica San Rafael de Bogotá en el periodo de enero 1 a junio 30 de los años 2010 y 2011. *Pediatría*. Universidad Militar Nueva Granada. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/10654/10041/2/CastroEspitiaJohanPaul2012.pdf>
- Chu, H.Y., Steinhoff, M.C., Magaret, A., Zaman, K., Roy, E., Langdon, G., Formica, M.A., Walsh, E.E., Englund, J.A.** 2014. Respiratory Syncytial Virus Transplacental Antibody Transfer and Kinetics in Mother-Infant Pairs in Bangladesh. *Journal of Infectious Diseases*. **210**: 1582-1589.
- Díaz-Martínez, I., Gaviria-Díaz, A.** 2014. Frecuencia de infección por virus sincitial respiratorio y virus influenza y su relación con características clínico-radiológicas y sociodemográficas asociadas. Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Bacteriología. Universidad San Buenaventura. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://bibliotecadigital.usbcali.edu.co/jspui/handle/10819/2578>
- Escobar, J.A., Dover, A.S., Dueñas, A., Leal, E., Medina, P., Argüello, A., de Gaiter, M., Greer, D.L., Spillman, R., Reyes, M.A.** 1976. Etiology of respiratory tract infections in children in Cali, Colombia. *Pediatrics*. **57**: 123-130.
- Gamba-Sánchez, N., Rodríguez-Martínez, C.E., Sossa-Briceño, M.P.** 2016. Epidemic activity of respiratory syncytial virus is related to temperature and rainfall in equatorial tropical countries. *Epidemiol Infect.* **144** (10): 2057-63.
- García, C.M.** 2014. Caracterización epidemiológica de la infección respiratoria aguda grave y circulación viral en Boyacá, julio de 2012 a julio de 2013, Departamento Salud Pública, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/43123/>
- Giersing, B., Modjarad, K., Kaslow, D., Moorthy, V.** 2016. Report from the World Health Organization's Product Development for Vaccines Advisory Committee (PDVAC) meeting, Geneva, 7-9th Sep 2015. *Vaccine*. **34**: 2865-2869.
- González-Parra, G., Querales, J.F., Aranda, D.** 2016. Predicción de la epidemia del virus respiratorio sincitial en Bogotá D.C. utilizando variables climatológicas. *Biomédica*. **36** (3): 378-389.
- Graham, B.S.** 2016. Vaccines against respiratory syncytial virus: The time has finally come. *Vaccine*. **34**: 3535-3541.
- Herrera, D., de la Hoz, F., Velandia, M.** 2008. Severe respiratory disease and its relationship with respiratory viruses in Colombia. *International Journal of Infectious Diseases*. **12**: 139-142.
- Herrera-Rodríguez, D.H., De La Hoz, F., Marino, C., Ramírez, E.** 2007. Respiratory virus in children aged less than 10 years old suffering from respiratory infection in the Hospital Militar Central in Bogotá from 2000-2001. *Rev Salud Pública (Bogota)*. **9**: 576-586.
- Higgins, D., Trujillo, C., Keech, C.** 2016. Advances in RSV vaccine research and development - A global agenda. *Vaccine*. **34** (26): 2870-2875.
- Jaimés, M.B., Cáceres, D.C., de la Hoz, F., Gutiérrez, C., Herrera, D., Pinilla, J., Porras, A., Rodríguez, F., Velandia, M.** 2003. Factores de riesgo para infección respiratoria aguda grave en Bogotá, 2001. *Biomédica*. **23**: 283-292.
- Lambert, L., Sagfors, A.M., Openshaw, P.J., Culley, F.J.** 2014. Immunity to RSV in Early-Life. *Front Immunol*. **5**: 466.
- Ministerios de Salud.** 2014. Actualización de la recomendación sobre el uso de Palivizumab, 2013-2014. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: http://fundacioncanguro.co/files/Actualizacin_2013_2014_GPC_Premat.pdf
- Modjarad, K., Giersing, B., Kaslow, D.C., Smith, P.G., Moorthy, V.S.** 2015. WHO consultation on Respiratory Syncytial Virus Vaccine Development Report from a World Health Organization Meeting held on 23-24 March 2015. *Vaccine*. **34**: 190-197.
- Mojica, M.F., Escobar, M.F., Escalante, M.P., Jaramillo, C.A., Delgado, M.** 2008. Detección y tipificación del virus sincitial respiratorio mediante la técnica RT-PCR anidada en pacientes con infección respiratoria aguda. *Revista Instituto Nacional Enfermedades Respiratorias de México*. **21**: 92-98.
- Nolan, T., Borja-Tabora, C., López, P., Weckx, L., Ulloa-Gutiérrez, R., Lazcano-Ponce, E., Kerdpanich, A., Weber, M.A., Mascareñas de Los Santos, A., Tinoco, J.C., Safadi, M.A., Seng, L.F., Hernández-de Mezerville, M., Faingezicht, I., Cruz-Valdéz, A., Feng, Y., Li, P., Durviaux, S., Haars, G., Roy-Ghanta, S., Vaughn, D.W., Taylor, S.** 2015. Prevalence and Incidence of Respiratory Syncytial Virus and Other Respiratory Viral Infections in Children Aged 6 Months to 10 Years With Influenza-like Illness Enrolled in a Randomized Trial. *Clin Infect Dis*. **60**: e80-89.
- Núñez, R.M., Dugue, J., Henríquez, C.W., Villegas, A.L., Niño, J.U., De Gonzáles, B.** 1988. Viral and chlamydial etiology of acute infections of the lower respiratory tract in Colombian children. *The Pediatric infectious disease journal*. **7**: 69-70.
- Páez, L.D.** 2013. Prevalencia de virus sincitial respiratorio y adenovirus en un grupo de niños menores de dos años de la Unidad Pediátrica De Los Andes, Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/13293/PaezCardozoLeiderDorey2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Pedraza-Bernal, A.M., Rodríguez-Martínez, C.E., Acuña-Cordero, R.** 2016. Predictors of severe disease in a hospitalized population of children with acute viral lower respiratory tract infections. *Journal of Medical Virology*. **88**: 754-759.
- Piñeros, J.G., Baquero, H., Bastidas, J., García, J., Ovalle, O., Patiño, C.M., Restrepo, J.C.** 2013. Respiratory syncytial virus infection as a cause of hospitalization in population under 1 year in Colombia. *J Pediatr (Rio J)*. **89**: 544-548.
- Remolina, Y.A., Ulloa, M.M., Vargas, H., Díaz, L., Gómez, S.L., Saavedra, A., Sánchez, E., Cortés, J.A.** 2015. Viral Infection in Adults with Severe Acute Respiratory Infection in Colombia. *PLoS One*. **10**: e0143152.
- Rodríguez, C., Rodríguez, D.A., Cárdenas, A., Quilaguy, I.E., Mayorga, L.Y., Falla, L.M., Sossa, M.** 2013. Infección por virus sincitial respiratorio y por adenovirus en una población de niños colombianos menores de 3 años hospitalizados por infección respiratoria aguda baja. *Revista Médica Sanitas*. **16**: 16-24.
- Rodríguez-Martínez C.E., Sossa-Briceño M.P., Acuña-Cordero R.** 2015. Relationship between meteorological conditions and respiratory syncytial virus in a tropical country. *Epidemiol Infect.* **143** (12): 2679-86.
- Rodríguez, D.A., Rodríguez-Martínez, C.E., Cárdenas, A.C., Quilaguy, I.E., Mayorga, L.Y., Falla, L.M., Niño, G.** 2014. Predictors of severity and mortality in children hospitalized with respiratory syncytial virus infection in a tropical region. *Pediatr Pulmonol*. **49**: 269-276.
- Rodríguez-Martínez, C.E., Rodríguez, D.A., Niño, G.** 2015. Respiratory syncytial virus, adenoviruses, and mixed acute lower respiratory infections in children in a developing country. *J Med Virol*. **87**: 774-781.
- Rueda, J.D., Rosselli, D., Ruiz-Peláez, J.G.** 2013. Cost-Effectiveness of Respiratory Syncytial Virus Infection (RSV) Prophylaxis with Palivizumab in Preterm Infants in Colombia. *Coyuntura Económica: Investigación Económica y Social*. **43**: 137-151.
- Sarmiento, I.C.** 2007. Estimación de la Incidencia del VSR asociado a infección respiratoria aguda en una población pediátrica del Hospital Universitario Ramón González Valencia, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina. Universidad Industrial de Santander. Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/10202/2/124014.pdf>
- Ucrós, S., Dueñas, E., Gutiérrez, M.** 1997. Calendario y variación estacional de las afecciones respiratorias en Santa Fe de Bogotá. *Revista Colombiana de Neumología*. **9**: 124-132.
- Vásquez, C., Reyes, M.** 2001. Prevalencia de virus sincitial respiratorio (VSR) en pacientes de alto riesgo, menores de 24 meses de edad con síntomas sugestivos de enfermedad por VSR y evaluación de costos. *Actualizaciones Pediátricas*. **11**: 3-11.
- Weber, M.W., Mulholland, E.K., Greenwood, B.M.** 1998. Respiratory syncytial virus infection in tropical and developing countries. *Trop Med Int Health*. **3**: 268-280.

Protocolo unificado de digestión y descalcificación de tres métodos de extracción de ADN de restos humanos

Wilson Uriel Sierra, Hernando del Castillo-Sabogal*, Tatiana Espitia-Ortiz

Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Villavicencio, Colombia

Resumen

La identificación de restos humanos esqueletizados con base en el ADN es un procedimiento muy utilizado en los laboratorios forenses del mundo. Existen al menos tres métodos para la obtención del ADN a partir de este tipo de tejido: mediante solventes orgánicos (fenol-cloroformo), columnas de sílice (QIAquick de QIAGEN) y perlas magnéticas recubiertas de polímero (PrepFiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction Kit). Cada uno de ellos involucra un procedimiento distinto para la digestión y descalcificación del tejido óseo, así como la aplicación de diferentes principios fisicoquímicos para la purificación y la elución del ADN y el uso de diferentes cantidades iniciales de material pulverizado. Aunque los tres métodos han demostrado ser efectivos dependiendo de la calidad de la muestra, en el Laboratorio de Investigación Genética de Restos Humanos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses se estandarizó un protocolo unificado para la digestión y descalcificación, independientemente del método de purificación. Con este fin, se evaluaron variables como la cantidad de material pulverizado, el uso y la concentración de detergentes, la concentración de proteinasa K, el uso de dispositivos concentradores y de los reactivos del estuche PrepFiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction y EDTA. El efecto de las variables se evaluó en muestras de tejido calcificado provenientes de los casos forenses del Laboratorio y en el ADN de líneas celulares conocidas analizando la cantidad de ADN recuperado y la calidad del perfil genético. El protocolo unificado de digestión y descalcificación permite una digestión completa del material pulverizado y, por ende, una mejor recuperación de ADN, independientemente del método de purificación usado. En las muestras analizadas el método tuvo un porcentaje de éxito cercano a 80 %. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Restos óseos; Digestión-decalcificación; Extracción de ADN; PrepFiler Express™; Sílice; Fenol-cloroformo.

Abstract

Unified digestion and decalcification protocol for three DNA extraction methods in human remains

The identification of human remains using DNA from bones and teeth is a current procedure in forensic laboratories worldwide. At least three methods are used in DNA extraction from mineralized tissue: Organic (phenol-chloroform), silica (QIAquick, QIAGEN) and magnetic particles (PrepFiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction Kit); each one has its own procedure for decalcification, digestion, DNA purification, and elution, as well as for obtaining the initial amount of material. Although the three methods are equally efficient, we standardized a decalcification-digestion protocol to use it with any of the three DNA purification methods. We evaluated the quantity of powder, detergent and protease concentration, device concentrators and buffer for demineralization in bones and teeth from forensic cases of the Laboratory and DNA of common cellular lines by assessing the amount of recovered DNA and the quality of the genetic profile. The unified protocol for digestion and decalcification allowed a full degradation of bone powder, and good quality DNA recovery, independently of the purification method used in the subsequent step. Success percentage with this protocol was nearly 80 %. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Human remains; Digestion-decalcification; DNA extraction; PrepFiler Express™; Silica; Phenol-chloroform.

Introducción

La identificación de restos humanos mediante el ADN es una de las herramientas más poderosas en la investigación forense. La tipificación de los marcadores nucleares y del ADN mitocondrial permite obtener información genética de los restos, incluso después de largos períodos, o cuando

su estado se ha visto afectado debido a las condiciones ambientales a las que estuvieron expuestos (Gill, *et al.*, 1994), (Uzair, *et al.*, 2017).

*Correspondencia:

Hernando del Castillo Sabogal, hdelcastillo@medicinalegal.gov.co

Recibido: 28 de septiembre de 2017

Aceptado: 16 de noviembre de 2017

El paso inicial para la obtención de ADN es la digestión o lisis del tejido, lo cual precisa de la acción de alguna proteasa y de detergentes que ayudan a liberar los contenidos celulares; aunque el ADN se puede obtener de diferentes tipos de tejidos, en los procesos de identificación lo usual es recurrir al material esqueletizado, es decir, tejido calcificado, huesos y dientes (**Higgins & Austin**, 2013).

Los huesos están constituidos por tejido conectivo formado por una matriz proteica, principalmente colágeno de tipo I y osteocalcina, por sales minerales y por células. Se distinguen tres tipos de células en el hueso: el osteoclasto, el osteocito y el osteoblasto. El primero proviene de la circulación, tiene origen hematopoyético y está involucrado en el remodelado del hueso, en tanto que el osteoblasto es responsable de la generación de la matriz, lo que incluye la segregación de proteínas y su mineralización; por su parte el osteocito es el principal componente celular del hueso y corresponde a la diferenciación final del osteoblasto, parece una célula aislada dentro de la matriz, pero desarrolla prolongaciones citoplasmáticas que permiten la conexión con otras células (**Montecinos & Zeni**, 2009; **Bonewald**, 2011).

La obtención de ADN a partir de tejido calcificado es un proceso dispendioso que puede resultar poco efectivo por cuenta del deterioro de las moléculas y los efectos adversos del entorno ambiental; la extracción de la molécula a partir de este tipo de tejido precisa una desmineralización previa con agentes quelantes de iones divalentes, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (**Edson, et al.**, 2004; **Frias, et al.**, 2012).

En los restos óseos una buena parte del ADN se encuentra asociado a la matriz mineralizada, específicamente a la hidroxiapatita, por fuera de las estructuras celulares remanentes (**Collins, et al.**, 2002; **Żołądziewska, et al.**, 2002). Por ello, si se efectúa un proceso de desmineralización y se descarta el agente desmineralizante, se corre el riesgo de perder una buena parte del ADN. Es por eso que se han propuesto métodos de desmineralización y digestión simultáneos, con el fin de reducir la pérdida de ADN durante el proceso (**Loreille, et al.**, 2007). Sin embargo, estas metodologías generalmente están ligadas a un solo método de purificación, que es el proceso siguiente e implica la separación de la molécula de interés del resto del material digerido.

Tradicionalmente, se ha utilizado la extracción orgánica con fenol-cloroformo como principal método de purificación; no obstante, dado el alto grado de toxicidad de los reactivos y el tiempo que se toma el procedimiento, se han desarrollado métodos alternativos, como la extracción con sílice o con perlas magnéticas recubiertas de polímero, los cuales permiten trabajar con volúmenes pequeños y menor cantidad inicial de tejido calcificado, además de favorecer la automatización (**Barrio-Caballero**, 2013).

El método de extracción con perlas magnéticas se ofrece en un estuche para extracción de ADN (PrepFiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction Kit) y su plataforma semi-automatizada (Automate Express™, Applied Biosystems®).

Este estuche usa perlas recubiertas de polímero, y los fabricantes sugieren usar entre 50 y 80 mg de polvo de hueso en un volumen máximo de digestión de 300 µL, con un tiempo de incubación a 56 °C durante 2 a 18 horas, seguido de la purificación (**Life Technologies Corporation**, 2010).

Aunque resulta atractivo pensar en utilizar estas cantidades mínimas de material inicial para obtener el ADN necesario para el estudio genético, en muchas ocasiones el estado de los restos no lo permite debido a la escasa cantidad y la gran degradación del material genético en estos tejidos; además, se ha demostrado que a partir de restos humanos esqueletizados recuperados en zonas cercanas al Ecuador, especialmente aquellas con altas temperaturas y humedad, normalmente se obtiene menos ADN por unidad de masa de polvo de hueso que en restos recuperados en las regiones de los trópicos (**Campos, et al.**, 2012), por lo cual es posible que no sea útil partir de cantidades como las sugeridas en el estuche mencionado.

La comparación de los métodos de purificación y digestión de ADN ha permitido determinar cuál es el más eficiente (**Uzair, et al.**, 2017; **Rothe & Nagy**, 2016); sin embargo, cada uno contempla protocolos diferentes de digestión o descalcificación. En el presente trabajo se propone un protocolo unificado para la digestión y descalcificación que permita usar cualquier metodología de purificación de ADN disponible en el laboratorio: la orgánica (fenol-cloroformo), con sílice o con perlas magnéticas, y que, además, facilite aumentar la cantidad del material pulverizado inicial sin alterar la calidad del ADN.

Materiales y métodos

Muestras. Se analizaron 675 muestras de material pulverizado provenientes de tejido calcificado de las que se procesan de manera rutinaria en el Laboratorio a partir de huesos compactos o esponjosos, fémur, porción petrosa del temporal y, en algunos casos, dientes. Se empleó el ADN de dos líneas celulares: 9947A y 2800M.

Estudios preliminares. Se realizó un estudio preliminar que evaluó siete ensayos (experimentos) con cuatro muestras por duplicado de casos llegados al Laboratorio, con el fin de probar la efectividad del PrepFiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction Kit. En la Tabla 1 se presentan los ensayos y las condiciones en las que cada uno variaba. Las muestras fueron cuantificadas y tipificadas con los estuches rutinariamente empleados en el Laboratorio.

Digestión y descalcificación de tejido óseo. Con base en los experimentos previos en el Laboratorio, así como en reportes de la literatura (**Loreille, et al.**, 2007; **Amory, et al.**, 2012), se partió de 1 g de material pulverizado para evaluar la eficiencia de la digestión, se utilizó un volumen de 15 ml de solución tampón para digestión compuesto de EDTA (JT Baker), lauril sarcosinato de sodio (LSS) (Sigma-Aldrich) y 10mg/ml de proteinasa K (pK) (AG Scientific).

Se procesaron 42 muestras de material pulverizado provenientes de tejido calcificado: se tomó 1 g del material y se lo colocó en tubos de tipo Falcon; estos se pesaron

antes y después de añadir la solución tampón de digestión y, posteriormente, se incubaron a 56 °C con agitación por inversión total durante toda la noche. Finalizado este tiempo, se pesó el tubo con el producto digerido, y luego se centrifugó a 2.700 g durante 5 minutos a 20 °C; el sobrenadante se reservó y el remanente del material pulverizado se secó a 56 °C durante toda la noche; por último, se determinó el peso del remanente seco. El procedimiento anterior se aplicó en ocho tratamientos diferentes (Tabla 2). Los productos de digestión se concentraron usando la unidad de ultrafiltración Amicon de 100 KDa por poro de exclusión (Millipore).

Para evaluar la cantidad de ADN que podría “perderse” cuando la digestión no fuera completa, se tomó el remanente seco de seis muestras y se realizó un proceso de digestión (segunda digestión) con el tratamiento 5; posteriormente, se determinó la cantidad de ADN recuperado de esta segunda digestión, y se comparó con los datos de la cantidad de ADN de la primera digestión.

Efecto de la solución tampón y del tiempo de digestión.

Para valorar el efecto de la solución tampón y el tiempo de digestión sobre el ADN, se utilizó como control ADN de buena calidad con una concentración entre 3 y 4 ng/μL proveniente de las líneas celulares 9947A y 2800M, y

de ADN previamente extraído de una muestra de fémur; estas muestras se dejaron en contacto con el tratamiento 5 (EDTA 0,5 M; pH 8,0; LSS al 0,5 %, y 300 μL de pK) en tres periodos diferentes: seis horas, toda la noche (12 a 15 horas), y 24 horas, al cabo de los cuales se purificó el ADN usando el método con sílice (QIAquick de QIAgen) y se evaluó la cantidad de ADN recuperado y la integridad en cada período. Las muestras se tipificaron para marcadores del tipo de microsatélites (STR) utilizando el Identifiler® Plus (Applied Biosystems®) según las recomendaciones del fabricante; la electroforesis capilar se realizó en el equipo 3500 XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems®), y con el programa Software Data Collection, Versión 3, en tanto que la asignación alélica se hizo con el programa GeneMapper ID-X, Versión 1.4.

Métodos de purificación del ADN. Las muestras del experimento anterior se sometieron a tres métodos de purificación o extracción de ADN: 1) extracción orgánica: la muestra se extrajo con un volumen de fenol saturado (Ambion), se centrifugó primero a 2.700 g y 20 °C durante 5 minutos, un volumen de fenol-cloroformo de 1:1, seguida de una segunda centrifugación a 2.700 g y 20 °C durante 5 minutos y, por último, un volumen de cloroformo (Merck),

Tabla 1. Análisis preliminares para la modificación del protocolo de extracción de ADN con el estuche PrepFiler™ BTA

Condiciones	Estudios preliminares						
	Experimentos						
	1	2	3	4	5	6	7
Polvo de hueso (mg)	50	150	600	500	500	500	500
Uso de columnas Microcon			X	X			
Solución tampón BTA (μL)	220	220	440	2200			
Proteinasas K (20 mg/ml) (μL)	7	7	14	70			
Ditiotreitol (μL)	3	3	6	30			
Uso de columnas Amicon de 100 KDa (50 ml)					X	X	X
EDTA 0.5 M pH 8.0 (ml)					14	14	14
Proteinasas K (10 mg/ml) (μL)					1000	1000	1000
Tween 20						X	
Dodecil sulfato de sodio (%)						1	
Lauril sarcosinato de sodio (%)					1		

Tabla 2. Tratamientos aplicados para evaluar las diferentes condiciones de digestión y descalcificación simultáneas

Condiciones	Tratamientos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
EDTA 0,5 M pH 8,0	X	X	X	X	X	X	X	X
Lauril sarcosinato de sodio al 1 %	X	X	X					X
Lauril sarcosinato de sodio al 0,5 %				X	X	X	X	
Proteinasas K (10mg/ml)	250 μL	300 μL	500 μL	250 μL	300 μL	500 μL		

y otra centrifugación a 2.700 g y 20 °C durante 5 minutos. Las muestras se concentraron y se lavaron en dispositivos de ultrafiltración de 100 KDa (Millipore); 2) extracción con columnas de sílice: se utilizó el QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) siguiendo las recomendaciones del fabricante, y 3) extracción con perlas magnéticas: se utilizó el Prepfiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction Kit y la unidad robótica Automate Express™ (Applied Biosystems®), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Teniendo en cuenta que se conocía la cantidad de ADN presente en la solución inicial, se lo cuantificó después del proceso de purificación con cada uno de los métodos mencionados, y el valor obtenido se dividió por la cantidad inicial y se multiplicó por 100.

Modificación del método PrepFiler™. Se hizo la digestión de 20 muestras de polvo de hueso con el método del Prepfiler Express™ BTA Forensic DNA Extraction Kit siguiendo las recomendaciones del fabricante (50 mg de material pulverizado); simultáneamente las muestras se digirieron usando el tratamiento 5 (0,5 M de EDTA; pH 8,0; LSS al 0,5 %, y 300 µL de pK), 1 g de material pulverizado y 15 ml de solución tampón para digestión. Dado que la purificación se llevó a cabo en la plataforma Automate Express™, fue necesario reducir el volumen de digestión a 250 µl (requerido por el sistema), con unidades de ultrafiltración Amicon de 100 KDa. Se cuantificó la cantidad de ADN con el estuche Quantifiler® Duo (Applied Biosystems®) y se evaluó el incremento en la cantidad de ADN dividiendo la concentración obtenida de 1 g de material pulverizado por la concentración obtenida de 50 mg; para los valores del ciclo umbral (CT) y del indeterminado (ND) se asignó un valor de 0,001 ng/µL, el cual estaba en el orden de magnitud de la sensibilidad del estuche.

Aplicación del protocolo unificado en muestras de casos analizados en el Laboratorio. Se analizaron los resultados de 605 muestras provenientes de los casos forenses del Laboratorio de los años 2015 y 2016. Estas muestras fueron tratadas siguiendo el protocolo unificado de digestión y descalcificación (0,5 M de EDTA de pH 8,0; 10 mg/ml de pK; 300 µL de LSS al 0,5 %), se les adicionaron 15 ml de solución tampón por cada gramo de polvo de hueso; se purificaron mediante el método de sílice (QIAquick), y se cuantificaron y tipificaron con los estuches usados de rutina en el Laboratorio; asimismo, se valoró la concentración del ADN recuperado y el número de marcadores genéticos reproducibles. Los resultados se agruparon según el número de sistemas amplificados con éxito: positivo (mayor de 16), parcial (menor de 16) y negativo (sin perfil).

Para evaluar las mejoras en la recuperación de ADN con el protocolo unificado, se tomaron tres de las 605 muestras de los casos del Laboratorio, y se hizo un ensayo comparativo con cada muestra por duplicado: a) con el protocolo normal de purificación usando el estuche QIAquick (QIAGEN), el ADN se eluyó con la solución tampón (volumen final de 40 µl); b) la elución se realizó pasando tres veces la misma

solución tampón por la misma columna (volumen final de 40 µl), y c) se hizo la elución tres veces con solución tampón nueva en cada ocasión, pero sobre la misma columna (volumen final de 120 µl).

Cuantificación. La cuantificación del ADN obtenido de los experimentos se llevó a cabo con los estuches Quantifiler® Duo y Quantifiler® Trío de la casa comercial Applied Biosystems, o con el Plexor® HY System de Promega. Se siguieron las recomendaciones del fabricante, y se utilizó el equipo 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems®) y los programas de análisis HID Real-Time PCR Versión 1.2 y Plexor Forensics Versión 2. La concentración de ADN se expresó en ng/µl.

Tipificación. Las muestras se tipificaron para marcadores del tipo STR utilizando el estuche Identifiler Plus® (Applied Biosystems®) según las recomendaciones del fabricante; la electroforesis capilar se realizó en el 3500 XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems®), con el programa Data Collection Versión 3 y la asignación alélica se hizo con el programa GeneMapper™ ID-X Versión 1.4. En las muestras provenientes de los casos del laboratorio se utilizaron otros estuches para marcadores STR como el PowerPlex® 16 HS System, el PowerPlex® ESX17 System, el PowerPlex® ES17 System, y el PowerPlex® Fusion System de Promega Corporation, y el NGM Select de Applied Biosystems®.

Análisis estadístico. Los resultados se analizaron utilizando el programa Statistix 8.0. Se hizo un análisis de varianza de los tratamientos de digestión, los tiempos de digestión (pruebas de comparación de Kruskal Wallis, *Kruskal-Wallis-All-Pairwise Comparisons Tests*) y las alturas de los picos expresadas en unidades relativas de fluorescencia (RFU) de cada uno de los sistemas contra diferentes tiempos de digestión. Por último, se usó Excel 2010 para el análisis estadístico de las muestras de los casos forenses.

Resultados y discusión

Estudios preliminares. Los estudios preliminares se hicieron con el método de PrepFiler™ dado que planteaba ciertas ventajas frente a las otras dos metodologías de purificación de ADN, como la automatización, el menor tiempo del procedimiento, el manejo simultáneo de un número considerable de muestras, una menor cantidad de material pulverizado y, por lo tanto, un menor consumo de reactivos (**Applied Biosystems by Life Technologies**, 2012).

Sin embargo, el método mostró poca eficiencia en la recuperación de ADN en el tipo de muestras provenientes de los casos del Laboratorio. Las cantidades de ADN obtenidas mostraron fluctuaciones grandes, entre 0,02 y 0,007 ng/µl (no se muestran los datos), pero por lo general inferiores a la cantidad necesaria para alcanzar el umbral analítico validado en el Laboratorio, lo que repercutió en perfiles con pérdidas o ganancias alélicas y desequilibrios en heterocigotos. Las modificaciones propuestas del protocolo original, es decir, el aumento de la cantidad de material pulverizado y el empleo de dispositivos concentradores

antes y después de la digestión, resultaron en un aumento en la cantidad de ADN recuperado, corroborando así lo sugerido en estudios anteriores (Barrio-Caballero, 2013; Jakubowska, *et al.*, 2012; Davoren, *et al.*, 2007). Además, se encontró que cerca de 50 % del polvo de hueso quedaba sin digerir, probablemente por no haberse usado la cantidad de solución tampón necesaria. Es claro que la capacidad de esta para digerir totalmente el material pulverizado se vio reflejada en un aumento significativo de la cantidad de ADN recuperado. El cambio en la cantidad de la solución tampón de digestión permitió una lisis total del material pulverizado, lo que repercutió en una mayor recuperación del ADN (no se muestran los datos).

El cambio del detergente dificultó la concentración del ADN debido a la formación de grumos en la membrana del dispositivo Amicon de 100 KDa, posiblemente por efecto de la temperatura sobre el detergente en el momento de centrifugar las muestras. Sin el detergente se observaron resultados similares a los que se obtuvieron usando el LSS; sin embargo, en estudios posteriores se constató que en algunas muestras óseas, especialmente las de tipo esponjoso, se formaban componentes grasos que dificultaban la concentración en las columnas de Amicon de 100 KDa, y que desaparecían al usar el LSS, lo cual resultó en una mayor efectividad en la concentración y en el método en general.

Eficiencia de la digestión. A partir de los pesos determinados para evaluar la digestión (Tabla 1S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/download/SuppFile/527/2404>) se calculó el porcentaje de digestión restando el peso del remanente del peso inicial. Los resultados del análisis de varianza indicaron que, aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos probados para digerir el tejido calcificado, el tratamiento 5 mostró un porcentaje mayor de digestión y una menor dispersión de los datos (Figura 1). El uso de esta mezcla representa un ahorro de 50 % en el consumo del detergente y de 70 % en el consumo de proteinasa K, comparada con el protocolo de la desmineralización completa (Loreille, *et al.*, 2007).

Asimismo, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con pK (4 y 5) y los que no la incluyeron (7 y 8), con un valor crítico de comparación de 21.518 y un valor de significancia de 0,05.

Con los tratamientos 7 y 8 se observó una disminución del material pulverizado mayor de 40 %. Este resultado es interesante, dado que todos los protocolos de degradación de tejidos incluyen tanto proteasas como detergentes que digieren y solubilizan estructuras celulares y matrices de proteína (Edson, *et al.*, 2004; Sambrook, *et al.*, 1989), aunque es probable que en los restos humanos calcificados, las estructuras y moléculas orgánicas estén alteradas o disminuidas significativamente y, por esta razón, el ADN, o parte de él, se encuentre asociado a la hidroxiapatita por fuera de los remanentes celulares (Rohland & Hofreiter, 2007; Jakubowska, *et al.*, 2012), lo cual demostraría la importancia de los protocolos de desmineralización y digestión simultáneas.

A partir de la cantidad de ADN recuperada en la digestión inicial de 1 g de material pulverizado, se extrapoló la cantidad esperada de ADN al digerir el remanente seco (Tabla3) Cuando se determinó la cantidad de ADN del remanente no digerido, se encontró que solamente 30 % de la cantidad esperada pudo recuperarse con la repetición del proceso (segunda digestión). Por lo anterior, resulta poco útil hacer una segunda digestión sobre un remanente cuando se tiene material suficiente para realizar una nueva digestión a partir de 1g de material pulverizado, sobre todo cuando el consumo de reactivos es el mismo.

Efecto de la solución tampón y del tiempo de digestión sobre el ADN. En la Figura 2 se muestra la cantidad de ADN recuperado después de someterlo a la acción de la solución tampón para la digestión durante tres períodos: seis horas, toda la noche y 24 horas. Aunque no se determinó la diferencia entre la cantidad de ADN inicial y la recuperada después de la digestión y la purificación, sí se comparó la cantidad recuperada con los tres tratamientos y se encontró que no había diferencias estadísticamente significativas

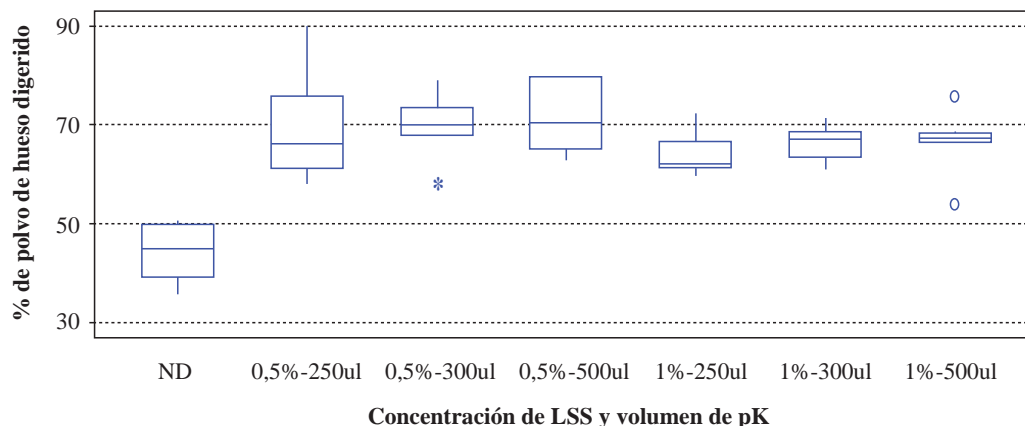
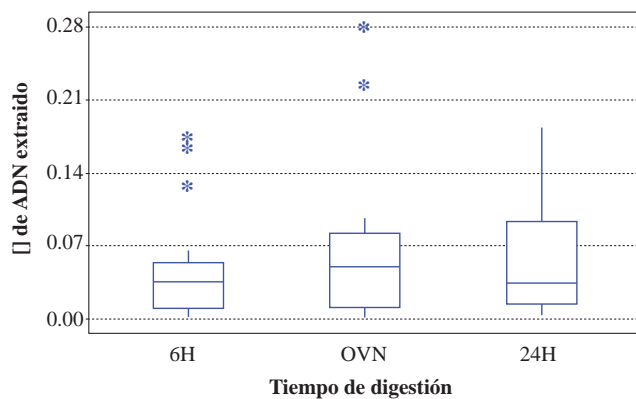


Figura 1. Eficiencia de la digestión. Tratamientos con lauril sarcosinato de sodio (LSS) y proteinasa K (pK). ND: LSS 0,5 %. LSS 0,5 % y 1 %; pK (10 mg/ml) 250, 300 y 500 μ L.

Tabla 3. Evaluación de pérdidas de ADN debido a material no digerido

Muestras	Concentración de ADN en ng/μL (digestión 1 gr)	Peso de remanente seco en gramos	Concentración de ADN (ng/μL) esperada del remanente seco	Recuperación observada (%)
R1	53,60	0,231	12,38	29,88
R2	65,44	0,414	27,09	19,12
R3	45,18	0,387	17,48	37,75
R4	62,31	0,194	12,09	30,47
R5	65,16	0,363	23,65	26,43
R6	76,17	0,324	24,68	26,81

**Figura 2.** Extracción de ADN después de la digestión con el protocolo unificado
Concentración de ADN (línea celular 9947A) obtenida después de la purificación para cada periodo de tiempo; OVN: overnight

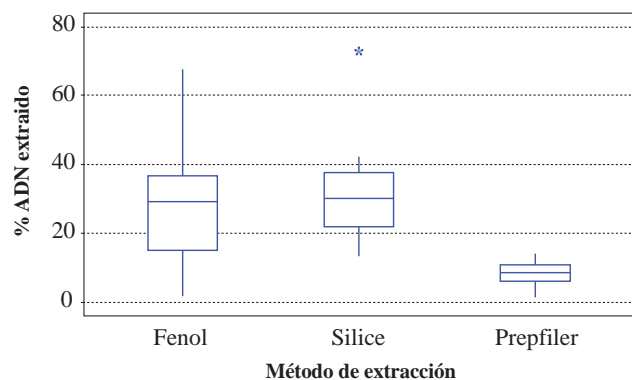
entre ellos ($p=0,7463$). Es evidente la baja recuperación de ADN con los tres tratamientos, lo cual sería atribuible a pérdidas durante la purificación con las membranas de sílice.

En la figura 1S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2398>, la figura 2S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2399> y en la figura 3S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2400>, se observa una variación en los niveles de fluorescencia entre tratamientos, principalmente en la muestra de fémur; este efecto puede deberse a la cantidad de ADN inicial tomada para la PCR de cada tratamiento, ya que los datos de cuantificación no se normalizaron. Asimismo, hay pérdida alélica en dos marcadores de la misma muestra, lo cual no puede atribuirse al tratamiento, ya que en las muestras de referencia (líneas celulares) estas pérdidas no se observaron.

Los resultados indican que la molécula conservó sus propiedades incluso después de 24 horas en la solución tampón de digestión, es decir que la composición de dicha solución, la temperatura de 56 °C y el tiempo, posibilitaron una digestión eficiente sin sacrificar la integridad del ADN y, además, se obtuvieron cantidades suficientes para lograr un perfil genético sin ganancia (*drop-in*) ni pérdida (*drop-out*) de alelos (Liu, *et al.*, 2012; Kitayama, *et al.*, 2010).

Métodos de purificación del ADN. En la Figura 3 se muestra la comparación de la cantidad de ADN recuperado usando tres métodos de purificación diferentes: el orgánico (fenol), el de sílice y el de perlas magnéticas (PrepFiler™); el resultado evidenció una mejor recuperación con el método de sílice (45,7 %), seguido de la extracción orgánica (39 %), lo cual concuerda con reportes previos (Loreille, *et al.*, 2007; Amory, *et al.*, 2012; Gamba, *et al.*, 2016; Uzair, *et al.*, 2017); se destaca que, aunque la recuperación de ADN fue menor usando el Automate Express™ BTA (16.3%), exhibió una menor dispersión de los datos, lo que sugiere que el método semiautomatizado es más homogéneo.

Modificación del método PrepFiler Express™ BTA. En la Tabla 2S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2405>, se muestra la cantidad de ADN recuperada después de la extracción de 0,05 y 1 g de material pulverizado. Los resultados al aumentar la cantidad de material pulverizado a 1 g con el método de perlas magnéticas (PrepFiler™) y, en general para todos los métodos, fue similar al obtenido en los estudios preliminares, es decir, cuanto mayor la cantidad de material pulverizado mayor la del ADN recuperado, lo cual concuerda con otros reportes (Kitayama, *et al.*, 2010). Lo más valioso de este resultado radica en que el uso de un sistema de digestión diferente al sugerido por el PrepFiler Express™ BTA Kit del sistema Automate Express™, resultó igualmente funcional para la extracción de ADN y, además, hubo una digestión

**Figura 3.** Porcentaje de recuperación de ADN mediante tres métodos de extracción

completa en la mayoría de los casos, a diferencia del protocolo original, con el cual la digestión fue parcial en todos los casos.

Un micrométodo para la obtención de ADN como el PrepFiler Express™ BTA y la plataforma Automate Express™ es atractivo, pues las cantidades y volúmenes pequeños favorecen la manipulación, posibilitan la automatización y reducen la posibilidad de contaminación cruzada, como se ha propuesto para las extracciones de ADN con métodos basados en columnas de sílice y en perlas magnéticas (Life Technologies Corporation, 2010; Amory, *et al.*, 2012; Brevnov, *et al.*, 2009). Por esto, para muestras óseas en buen estado o para casos en que ha transcurrido poco tiempo desde el momento de la muerte, una poca cantidad de polvo de hueso permite obtener cantidades suficientes de ADN para la tipificación genética, pero cuando la muestra no está en buen estado se debe recurrir a mayores cantidades iniciales de material pulverizado.

Aplicación del protocolo unificado en muestras de los casos del Laboratorio. De las 605 muestras analizadas provenientes de los casos forenses del Laboratorio, 479 tuvieron resultado positivo; nueve, resultado parcial, y 117, negativo (Tabla 3S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2406>). El porcentaje de éxito total fue de 79 %; las piezas con mayor porcentaje de éxito fueron los huesos de manos y pies, como el metacarpo, el metatarso y las falanges, agrupadas en extremidades (EXT), con un 94,4 %, seguidas de las muestras de fémur (F), con 88 %, de tibia (T), con 86,6 %, de vértebras (V), con 84,4 % y, por último, las muestras de dientes (DD), con 46,9 % (Figura 4S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2401>).

Los resultados confirmaron que el uso del protocolo unificado para digestión y descalcificación de tejido permitió obtener ADN de calidad en cantidades suficientes para tipificar con éxito un gran número de muestras. A pesar de que el fémur aparece como una de las piezas más exitosas para la tipificación (Miloš, *et al.*, 2007), es importante resaltar que las condiciones en las que llegan las piezas son muy disímiles y puede ocurrir que otro tipo de piezas, por ejemplo los dientes o la porción petrosa del temporal, se prefieran al fémur (Kulstein, *et al.*, 2017). También se resalta que la solución tampón usada en el protocolo unificado fue

efectiva con huesos compactos, porosos e, incluso, con otro tipo de tejidos como el cartílago (este tipo de muestra no se incluyó en los experimentos, pero se ha venido empleando en los análisis preliminares de casos forenses debido a su alto contenido celular y, por ende, de ADN).

Por otra parte, al evaluar el protocolo unificado en cuanto al paso final de elución del ADN, se logró un aumento en la recuperación de ADN entre 23,85 y 36,14 % con el primer procedimiento y entre 29,92 y 35,58 % con el segundo, comparados con el método sugerido en el kit (Tabla 4). Esto indica que en la matriz de sílice quedó retenida una cantidad importante de ADN, la cual se perdería si se sigue el procedimiento recomendado. Aunque el empleo de la misma solución tampón para la elución permite obtener un ADN más concentrado, es más conveniente usar una nueva aumentando el volumen final y, eventualmente, diluyendo un poco el ADN para evitar que la molécula vuelva a unirse a la matriz de sílice. Para los casos del Laboratorio, esto constituye una herramienta útil para la recuperación de un ADN que ya de por sí es escaso.

Conclusiones

La plataforma Automate Express™ y el PrepFiler Express™ BTA Kit conforman un sistema funcional, práctico y eficiente para extraer ADN a partir de muestras óseas de buena calidad, especialmente por la semiautomatización; sin embargo, para los casos del Laboratorio, dado que la cantidad de ADN es escasa en la mayoría de las muestras, resulta más eficiente el método del sílice.

La solución tampón de digestión y las condiciones utilizadas resultaron funcionales para cualquiera de los tres métodos de extracción y purificación de ADN aplicados. En cualquier caso, la eficiencia en la digestión es primordial, y la cantidad de ADN que pueda recuperarse es directamente proporcional a la cantidad inicial de material que se digiere. Es preferible garantizar una digestión completa antes de usar el remanente en un nuevo proceso, por ejemplo, aumentando la cantidad de solución tampón para digestión hasta 20 ml por gramo de pulverizado.

La obtención de información genética a partir de restos humanos es un reto constante en el ámbito forense, ya que las muestras siempre están comprometidas; en un contexto como el de Colombia, en donde el número de víctimas es

Tabla 4. Concentración del ADN recuperado con modificaciones durante la elución del ADN extraído por el método de sílice (QIAquick Kit. Qiagen)

Muestras	Ensayo a	Ensayo b	Ensayo c	Porcentaje de recuperación en el ensayo b	Porcentaje de recuperación en el ensayo c
1	42,92	56,36	61,25	23,85	29,92
2	44,86	62,31	61,67	28,01	27,26
3	39,99	62,62	62,08	36,14	35,58

a) Concentración promedio de ADN (ng/μL) en condiciones de uso normal del estuche; b) Concentración promedio en (ng/μL) eluyendo tres veces el ADN con la misma solución tampón (volumen final de la solución tampón, 40 μL); c) Concentración promedio de ADN (ng/μL) eluyendo tres veces con la solución tampón (volumen final de 120 μL)

tan elevado, el tiempo transcurrido desde el momento de la muerte aumenta y la condición ambiental es tan adversa en la mayoría de las regiones, que es necesario contar con metodologías de trabajo que permitan optimizar la obtención de ADN; así mismo, su mejoría, por ejemplo, evaluando el pH del producto digerido y eventualmente modificándolo, permitiría incrementar la cantidad del ADN recuperado con los métodos de sílice y de perlas magnéticas (Dukes, *et al.*, 2012); por otra parte, el hecho de poder evaluar los efectos de la temperatura, el pH de los suelos de inhumación y el tiempo de exposición de los restos óseos, permitirá a los laboratorios tomar decisiones sobre qué metodologías usar dependiendo de las condiciones de las muestras.

Información suplementaria

Tabla 1S. Evaluación de la eficiencia de la digestión (lisis) del tejido calcificado, protocolo unificado. Vea la tabla 1S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2404>

Figura 1S. Amplificación ADN de la línea celular 9947A. Unidades relativas de fluorescencia (RFU) por marcador genético del ADN de la línea celular 9947A para cada periodo de digestión. Vea la figura 1S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2398>

Figura 2S. Amplificación del ADN de la línea celular 2800M. Unidades relativas de fluorescencia (RFU) por marcador genético del ADN de la línea celular 2800M para cada periodo de digestión. Vea la figura 2S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2399>

Figura 3S. Amplificación de ADN de la muestra de fémur. Unidades relativas de fluorescencia (RFU) por marcador genético del ADN de la muestra de fémur para cada periodo de digestión. Vea la figura 3S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2400>

Tabla 2S. ADN recuperado a partir de dos cantidades de material pulverizado de hueso digerido con el protocolo unificado. Vea la tabla 2S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2405>

Tabla 3S. Evaluación de resultados en muestras de los casos del Laboratorio con la aplicación del protocolo unificado. Vea la tabla 3S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2406>

Figura 4S. Porcentaje de éxito del protocolo unificado. Porcentaje de muestras con perfiles completos, parciales y negativos luego de su extracción con el protocolo unificado y posterior amplificación con los estuches comerciales disponibles en el laboratorio. Vea la figura 4S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/527/2401>

Agradecimientos

Agradecemos a los peritos forenses Wilmer Arturo Cárdenas, por su aporte en el análisis estadístico y su participación en la etapa experimental, Constanza Forero Torres y Lady Espinosa Aroca, por su colaboración en el desarrollo experimental, y a los asistentes forenses Israel Moreno Pinzón y

Xiomara Puentes, por su participación en la fase preliminar de laboratorio; al doctor Manuel Hernando Paredes, por el aporte al diseño experimental, y a la doctora. Claudia Marcela Vargas, por la lectura crítica del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en torno al desarrollo de la investigación y que los reactivos y equipos usados son parte de los adquiridos por el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses para uso en los casos del Laboratorio de Investigación Genética de Restos Humanos de la Seccional Villavicencio.

Referencias

- Amory, S., Huel, R., Bilic, A., Loreille, O., Parsons, T. (2012). Automatable full demineralization DNA extraction procedure from degraded skeletal remains. *Forensic Science International Genetics*. **6**: 398-406.
- Applied Biosystems by Life Technologies. (2012). AutoMate Express™ Instrument.
- Barrio-Caballero, P. (2013). Revisión de métodos de extracción de ADN a partir de restos óseos en el laboratorio forense. *Revista Española de Medicina Legal*. **39** (2): 54-62.
- Bonewald, L. (2011). The Amazing Osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research*. **26**: 229-238.
- Brevnov, M., Pawar, H., Mundt, J., Calandro, L., Furtado, M., Shewale, J. (2009). Developmental Validation of the PrepFiler Forensic DNA Extraction Kit for Extraction of Genomic DNA from Biological Samples. *Forensic Science*. **54**: 3.
- Campos, P., Craig, O., Turner-Walker, G., Peacock, E., Gilbert, M. (2012). DNA in Ancient Bone – Where is it located and how should we extract it? *Annals of Anatomy*. **194**: 7-16.
- Collins, M., Nielsen-Marsh, C., Hiller, J., Smith, C., Roberts, J. (2002). The Survival of Organic Matter in Bone: A Review. *Archeometry*. **44**: 383-394.
- Davoren, J., Vanek, D., Crews, J., Huffine, E., Parsons, T. (2007). Highly Effective DNA Extraction Method for Nuclear Short Tandem Repeat Testing of Skeletal Remains from Mass Graves. *Croat Med J*. **48**: 478-485.
- Dukes, M., Williams, A., Massey, C., Wojtkiewicz, P. (2012). Technical Note: Bone DNA Extraction and Purification Using Silica-Coated Paramagnetic Beads. *American Journal of Physical Anthropology*. **148** (3): 473-482.
- Edson, S., Ross, J., Coble, M., Parsons, T., Barritt, S. (2004). Naming the Dead Confronting the Realities of Rapid Identification of Degraded Skeletal Remains. *Forensic Science*. **16**: 64-88.
- Frias, I., López-Soto, M., Prieto, V., Torres, Y. (2012). Identificación de ADN en Huesos y Piezas Dentales. Capítulo 2.2. Zaragoza.
- Gamba, C., Hanghøj, K., Gaunitz, C., Alfharan, A., Alquraishi, S., Bradley, D., Orlando, L. (2016). Comparing the performance of three ancient DNA extraction methods for high-throughput sequencing. *Molecular Ecology Resources*. **16**: 459-69.
- Gill, P., Ivanov, P., Kimpton, C., Piercy, R., Benson, N. (1994). Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nature Genetics*. **6**: 130-136.

- Higgins, D. & Austin, J.** (2013). Teeth as a source of DNA for forensic identification of human remains: A Review. *Science and Justice*. **53**: 433-441.
- Jakubowska, J., Maciejewska, A., Pawłowski, R.** (2012). Comparison of three methods of DNA extraction from human bones with different degrees of degradation. *International Journal of Legal Medicine*. **126**: 173-178.
- Kitayama, T., Ogawa, Y., Fijii, K., Nakahara, H., Mizuno, N., Sekiguchi, K., Fukushima, H.** (2010). Evaluation of a new experimental kit for the extraction of DNA from bones and teeth using a non-powder method. *Legal Medicine*. **12**: 84-89.
- Kulstein, G., Hadrys, T., Wiegand, P.** (2017). As solid as a rock-comparison of CE- and MPS-based analyses of the petrosal bone as a source of DNA for forensic identification of challenging cranial bones. *International Journal Of Legal Medicine*. doi.org/10.1007/s00414-017-1653-z
- Life Technologies Corporation.** (2010). PrepFiler Express and PrepFiler Express BTA Forensic DNA Extraction Kits. User Guide.
- Liu, J., Zhong, C., Holt, A., Lagace, R., Harrold, M., Dixon, A., Hennessy, L.** (2012). AutoMate Express™ forensic DNA extraction system for the extraction of genomic DNA from biological samples. *Journal of Forensic Science*. **57**: 1022-30.
- Loreille, O., Diegoli, T., Irwin, J., Coble, M., Parsons, T.** (2007). High Efficiency DNA Extraction from Bone by Total Demineralization. *Forensic Science International Genetics*. **1**: 191-195.
- Miloš, A., Selmanović, A., Smajlović, L., Huel, R., Katzmarzyk, C., Rizvić, A., Parsons, T.** (2007). Success Rates of Nuclear Short Tandem Repeat Typing from Different Skeletal Elements. *Croat Medicine Journal*. **48**: 486-93.
- Montecinos, B. & Zeni, S.** (2009). Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo. Utilidad clínica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. **43** (2): 177-193.
- Rohland, N. & Hofreiter, M.** (2007). Comparison and optimization of ancient DNA extraction. *BioTechniques*. **42**: 343-352.
- Rothe, J. & Nagy, M.** (2016). Comparison of two silica-based extraction methods for DNA isolation from bones. *Legal Medicine*: **22**: 36-41.
- Sambrook, J., Fritsch, E., Maniatis, T.** (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (Vol. 3). NY.
- Uzair, A., Rasool, N., Wasim, M.** (2017). Evaluation of different methods for DNA extraction from human burnt bones and the generation of genetic profiles for identification. *Medicine Science and the Law*. **57** (4): 159-166.
- Żółędziewska, M., Gronkiewics, S., Dobosz, T.** (2002). Comparison of Various Decalcifiers in Preparation of DNA From Human Rib Bones *Przegląd Antropologiczny. Anthropological Review*. **75**: 75-80.

La respuesta inmunitaria adaptativa en la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*

John M. González^{1*}, Adriana Cuéllar², Concepción J. Puerta³

¹ Grupo de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

² Grupo de Inmunobiología y Biología Celular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

³ Laboratorio de Parasitología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Artículo de posesión para el ingreso como miembro correspondiente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 27 de septiembre de 2017

Resumen

La infección por *Trypanosoma cruzi* causa la enfermedad de Chagas, la cual presenta una fase aguda en la que la activación del sistema inmunitario ayuda a controlar el parásito. No obstante, el parásito puede persistir en bajos niveles y producir una fase crónica en la cual el 70 % de los individuos infectados permanece asintomático, en tanto que los demás presentan compromiso tisular, principalmente en el corazón, y pueden desarrollar una miocardiopatía inflamatoria crónica. Durante el proceso de infección la respuesta inmunitaria tiene un papel importante en la protección, pero también se ha asociado con la patogenia, especialmente en la fase crónica. Los estudios del grupo de investigación sobre la enfermedad de Chagas conformado por investigadores de la Universidad de los Andes y la Pontificia Universidad Javeriana en Colombia, se han centrado en analizar la respuesta inmunitaria adaptativa inducida frente a *T. cruzi*. En este artículo, se resumen y analizan los resultados de la evaluación de la respuesta inmunitaria humoral contra la proteína KMP-11 del parásito, así como de la respuesta inmunitaria celular en sangre periférica de pacientes con cardiopatía chagásica crónica. La funcionalidad de los anticuerpos específicos y el porcentaje de linfocitos T específicos de antígeno en sangre periférica y sus marcadores de funcionalidad se evaluaron usando un péptido de nueve aminoácidos de la proteína KMP-11 denominado TcTLE. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Linfocitos T; Anticuerpos.

Adaptive immune response in chronic infection by *Trypanosoma cruzi*

Abstract

Trypanosoma cruzi infection causes Chagas disease, which presents an acute phase where the activation of the immune system can help to control the parasite. However, the parasite persists at a low level leading to a chronic phase where 70% of the infected individuals remain asymptomatic, and the others have tissue involvement, mainly a chronic inflammatory cardiomyopathy. During the infection process, the immune response plays an important role in protection, but it has also been associated with pathogenesis, especially during the chronic phase. The studies carried out by the Chagas disease research group from *Universidad de los Andes* and the *Pontificia Universidad Javeriana* in Colombia, have been focused on dissecting the adaptive immune response induced against *T. cruzi*. Here we summarize and analyze the results of the evaluation of the humoral immune response against the KMP-11 protein from the parasite. We also describe the cellular immune response against *T. cruzi* in peripheral blood of patients with chronic Chagas heart disease. We evaluated the possible role of peptide-specific antibodies and the percentage of peripheral blood antigen-specific lymphocytes and their surface markers using a nine amino acids peptide from the KMP-11 protein termed TcTLE. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Chagas disease; *Trypanosoma cruzi*; T lymphocytes; Antibodies.

Generalidades de la enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas es causada por la infección con el parásito flagelado *Trypanosoma cruzi*. Esta es una de las enfermedades desatendidas que más retos plantea debido a su gran impacto socioeconómico (Castillo, *et al.*, 2008), y a su compleja historia natural en la que aparecen diversas

formas de transmisión, cuadros clínicos, y genotipos del parásito (unidades discretas de tipificación, o *Discrete Typing Units*, DTU), así como la participación de diferentes

*Correspondencia:

John M. González, johgonza@uniandes.edu.co

Recibido: 09 de julio de 2017

Aceptado: 19 de diciembre de 2017

mecanismos de daño tisular durante la fase crónica. La infección puede ocurrir por transmisión vectorial o por consumo de líquidos que contengan la forma infectiva del parásito, el tripomastigote metacíclico, pero también por infección congénita, trasplante, reactivación en personas inmunosuprimidas, transfusión sanguínea o accidente de laboratorio (Bern, 2015). Durante el periodo agudo de la enfermedad, que puede durar entre seis y ocho semanas, la mayoría de los casos son asintomáticos, en tanto que los individuos sintomáticos presentan síntomas constitutivos como fiebre, malestar general y cefalea. En ocasiones, se pueden presentar signos característicos de la enfermedad, como el signo de Romaña (edema palpebral unilateral) y el chagoma (nódulo inflamatorio en la piel), causados por la inflamación y que indican la vía de entrada del parásito. En la fase aguda se pueden detectar parásitos en sangre periférica. Aunque el parásito puede ser controlado por el sistema inmunitario, suele persistir en bajos niveles en las personas infectadas crónicamente. Así, los individuos entran en una fase crónica asintomática (indeterminada) en la que el diagnóstico se hace principalmente mediante pruebas serológicas que determinan la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en sangre periférica (Bern, 2015; Rosas, et al., 2012). Las personas inmunosuprimidas (por ejemplo, con HIV/SIDA) que presentan la infección por *T. cruzi*, pueden presentar reactivación de la infección, lo que demuestra el papel de los linfocitos T CD4+ en el control del parásito (de Freitas, et al., 2011). La fase asintomática puede extenderse por años o décadas, sin embargo, cerca del 30 % de los individuos puede entrar en la fase crónica sintomática (determinada) en la cual el parásito presenta tropismo hacia ciertos tejidos (Sabino, et al., 2013). En individuos con infección crónica sintomática, se estima que el compromiso cardíaco ocurre en cerca del 90 %, casos en que el parásito se replica en los cardiomiocitos, y el digestivo (megacolon o megaesófago) en el 10 %, casos en los que el parásito se replica en las células de sistema nervioso periférico (Bern, 2015).

La patogenia de la enfermedad crónica no se conoce de forma precisa, pero se ha determinado que la persistencia del parásito, su genotipo o DTU, y la disfunción del sistema inmunitario pueden ser parte del proceso de daño tisular (Bern, 2015; Klahr, et al., 2016; Rosas, et al., 2012). Si bien existe un tratamiento antiparasitario con dos medicamentos, el benznidazol y el nifurtimox, ambos se recomiendan para pacientes en fase aguda de la infección, incluidas las mujeres en gestación, las personas con infección oral y cuando hay reactivación, pero no en aquellas con infección crónica (Bern, et al., 2007). En un estudio clínico, el tratamiento con benznidazol en pacientes con cardiopatía establecida demostró que, a pesar de la disminución o control de la parasitemia, no había mejoría clínica en los pacientes (Morillo, et al., 2015). Estos resultados evidencian la necesidad de encontrar alternativas de tratamiento y de estudiar nuevos

mecanismos inductores de la enfermedad, como los inmunitarios, los cuales operarían durante la infección crónica con compromiso tisular (Rassi, et al., 2017).

Algunos aspectos del ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi* en los humanos

Los tripomastigotes son formas del parásito que no se dividen, por lo tanto, deben invadir o circular para encontrar una célula donde adherirse y continuar el ciclo. Una vez dentro de la célula, se desarrollan los amastigotes, los cuales se multiplican por división binaria (Brener, 1973; Campo, et al., 2016). En el sitio de inoculación, los tripomastigotes usualmente invaden células fagocíticas, como los macrófagos, y células no fagocíticas, como los fibroblastos (de Souza, et al., 2010; Rosestolato, et al., 2002). Aunque se han identificado algunos ligandos que el parásito utiliza para unirse a las células huéspedes, son múltiples las moléculas que participan en esta interacción (Magdesian, et al., 2001). Después de la unión a la membrana celular, se presenta la formación de la vacuola parasitofora, donde operan diferentes mecanismos de endocitosis (Barrias, et al., 2013). Una vez dentro de la célula, empieza la formación de los amastigotes, los cuales pasan de la vacuola al citoplasma y entran en contacto directo con los organelos de las células huéspedes (Ley, et al., 1990; de Souza, et al., 2010). Ya que una de las formas del parásito es extracelular, los anticuerpos contra antígenos de superficie son uno de los mecanismos de defensa del huésped para lisar los tripomastigotes o evitar la invasión de las células (Krettli & Brener, 1976). Asimismo, las proteínas derivadas de los amastigotes libres en el citoplasma entran en la vía de procesamiento de antígenos de clase I y pueden ser presentadas a los linfocitos T CD8+, lo cual es importante para el control de la infección (Tarleton, 2015).

La respuesta inmunitaria frente al parásito durante la infección aguda controla la parasitemia, aunque no la elimina completamente (Sosa-Estani, et al., 1998). En la fase crónica especialmente, la respuesta inmunitaria adaptativa parece tener un papel dual al controlar parcialmente la infección en individuos asintomáticos y participar en la patogenia del daño tisular en individuos sintomáticos. En este artículo se presentan los resultados obtenidos en el estudio de la respuesta inmunitaria adquirida, tanto la humoral contra la proteína KMP-11 y su péptido TcTLE, como la celular mediada por linfocitos T contra dicho péptido y el antígeno completo del parásito durante la infección crónica por *T. cruzi*. En la respuesta humoral contra un antígeno específico se ha observado que los anticuerpos pueden unirse a los tripomastigotes y disminuir la infección de células *in vitro*. En la respuesta celular inmunitaria se describen los cambios en los marcadores de superficie y en los funcionales de los linfocitos T en sangre periférica, los cuales presentaron características de agotamiento celular, asociado probablemente con la persistencia del antígeno en la enfermedad de Chagas crónica.

La respuesta inmunitaria durante la infección por *Trypanosoma cruzi*

Aunque la respuesta inmunitaria se ha estudiado en las fases aguda y crónica de la enfermedad, la mayoría de estudios en humanos se han hecho en la fase crónica, especialmente porque la infección aguda por transmisión vectorial se presenta en niños de áreas endémicas y en un alto porcentaje de ellos puede cursar de forma asintomática (Rassi, *et al.*, 2010). No obstante, en los casos de transmisión oral hay un alto porcentaje de sintomáticos (Noya, *et al.*, 2015). Asimismo, debe considerarse la diversidad del parásito, con siete DTUs y al menos 12,000 potenciales proteínas en su genoma, lo que dificulta el estudio de la respuesta inmunitaria específica contra un antígeno (Acevedo, *et al.*, 2017). Dado lo prolongado del tiempo en el que puede aparecer el compromiso tisular en individuos con infección y asintomáticos, el cual puede ser de años o décadas, es difícil hacer el seguimiento de un individuo durante todo el curso de la enfermedad. Por lo tanto, una de las estrategias es obtener y comparar muestras (anticuerpos o células) de individuos con infección crónica en las fases asintomática y sintomática, especialmente con compromiso cardiaco. En estos trabajos, los pacientes se clasificaron en las cuatro categorías (A-D) establecidas por la American Heart Association (AHA) (Bern, *et al.*, 2007). Para fines prácticos, y con el objetivo de comparar los resultados, los individuos en los grupos A y B de dicha clasificación se consideraron asintomáticos (indeterminados), y los de los grupos C y D, como sintomáticos (determinados) (Giraldo, *et al.*, 2011). La mayoría de los estudios sobre inmunidad celular en estos individuos se hacen en sangre periférica y en tejido cardiaco, y los resultados se obtienen sobre todo mediante citometría de flujo e inmunohistoquímica, respectivamente. No obstante, en algunos estudios se han analizado linfocitos derivados de corazón utilizando citometría de flujo (Giraldo, *et al.*, 2013).

La respuesta inmunitaria innata en fase crónica

Se conoce poco del papel de los leucocitos polimorfonucleares en fase crónica, sin embargo, los eosinófilos se han asociado con el daño tisular en la respuesta crónica y se los ha detectado en el infiltrado de leucocitos en tejido cardiaco de pacientes con miocardiopatía. Se ha postulado que los productos solubles tóxicos de los eosinófilos inducen la muerte de los miocardiocitos (Molina & Kierszenbaum, 1987). En pacientes con infección crónica por *T. cruzi* también se ha descrito un aumento de las metaloproteinasas 2 (MMP2) y 9 (MMP9) en neutrófilos y monocitos, comparadas con las de individuos no infectados, aunque sin diferencias significativas entre asintomáticos y sintomáticos. Estas enzimas, que participan en el remodelamiento tisular, podrían estar asociadas al daño cardiaco (Medeiros, *et al.*, 2017)

En niños en fase asintomática temprana se ha determinado que el número de células NK y de monocitos inflamatorios (CD14+ CD16+ HLA-DR++) en sangre periférica aumenta

en comparación con individuos no infectados. En estas poblaciones, cuyos valores pueden volver a niveles basales en sangre periférica en la infección crónica, se han asociado al mantenimiento de la fase asintomática (Vitelli-Avelar, *et al.*, 2006). Sin embargo, en individuos en fase crónica sintomática se encuentran alteraciones funcionales de las poblaciones de monocitos y células dendríticas, ambas presentadoras de antígenos profesionales. El parásito puede influenciar o alterar el comportamiento de estas células a través de la infección directa (Cuellar, *et al.*, 2009; Magalhães, *et al.*, 2015) o mediante la activación de receptores de reconocimiento de patrones (*pattern recognition receptor*, PRR) y de receptores de tipo *toll* (*toll-like receptor*, TLR), o los receptores intracelulares de tipo *nod* (*nod-like receptor*, NRL) (Dey, *et al.*, 2014; Dos-Santos, *et al.*, 2016). La activación de estas células presentadoras de antígeno, como los monocitos y macrófagos, tiene que ver con la producción de moléculas efectoras como el óxido nítrico (NO), los productos reactivos del oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS) y las citocinas inflamatorias, las cuales tienen un papel fundamental en la presentación antigénica, así como en la activación subsecuente de la respuesta mediada por linfocitos T. El parásito suele disminuir dicha respuesta alterando la actividad de la enzima NADPH oxidasa, la cual regula la producción de ROS (Dey, *et al.*, 2014). Asimismo, los antígenos derivados del parásito alteran el patrón de citocinas producidas, por ejemplo, las células dendríticas de pacientes con enfermedad de Chagas crónica producen más interleucina 10 (IL-10) que interleucina 12 (IL-12) en presencia de la proteína de choque térmico de *T. cruzi*. La IL-12 fomenta la diferenciación de linfocitos T, en tanto que la IL-10 inhibe una presentación antigénica efectiva (Cuellar, *et al.*, 2008). Como muchas otras enfermedades infecciosas crónicas, la calidad de la respuesta inmunitaria inducida inicialmente es fundamental para el desarrollo de una respuesta adaptativa, tanto de anticuerpos como de linfocitos T efectoras y de memoria. Como se ha descrito, en algunos de los elementos de la respuesta inmunitaria innata en la infección por *T. cruzi* el parásito parece manipularla y alterarla a favor de su supervivencia.

La respuesta inmunitaria adaptativa

Los anticuerpos específicos antipéptido en la infección por *Trypanosoma cruzi*. Dada la diversidad de proteínas presentes en los estadios del parásito, solo algunos antígenos se han estudiado en detalle. Además, se conoce poco acerca de la especificidad y funcionalidad de los anticuerpos que se generan durante la infección. En general, los anticuerpos cumplen diversas funciones: activan el sistema del complemento, mejoran la actividad de los fagocitos frente al parásito, inducen la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos e inhiben la infección de las células huéspedes (Lages-Silva, *et al.*, 1987; Lima-Martins, *et al.*, 1985; Wirth & Kierszenbaum, 1987). Es así como en modelos murinos de infección aguda, se ha determinado que los

anticuerpos contra las transalidasas (TS) parasitarias reducen la parasitemia y la mortalidad mediante el uso de anticuerpos policlonales (Krettli & Brener, 1976), así como de un anticuerpo monoclonal anti-TS (Franchin, *et al.*, 1997).

En nuestros estudios se ha empleado como antígeno una proteína de membrana del cinetoplasto con un peso molecular de 11 kDa, la KMP-11, la cual está muy conservada en parásitos como los tripanosomas y las leishmanias (Thomas, *et al.*, 2000). Aunque la función de esta proteína no se conoce, su ausencia en el parásito impide la división, como en el caso de *T. brucei* (Li & Wang, 2008). En *T. cruzi*, la proteína KMP-11 está asociada a proteínas del citoesqueleto, por lo cual se ha postulado que puede estar involucrada en la motilidad del parásito en su estado flagelar (Thomas, *et al.*, 2000). La proteína KMP-11 se expresa en todas las formas del ciclo de vida del parásito y es reconocida en sueros de pacientes en fase aguda y crónica, aunque con algunas diferencias: en los pacientes con infección aguda presenta niveles de anticuerpos más bajos, con predominio de los isotipos IgG3 e IgG4, en tanto que en pacientes con infección crónica se presenta en niveles más elevados y es reconocida principalmente por los isotipos IgG1 e IgG3, los cuales presentan mayor unión a receptores FC para IgG (FC γ R) (Flechas, *et al.*, 2009), mejorando así las funciones efectoras de los fagocitos. En estudios de mapeo de epítopes B se ha demostrado que los anticuerpos de pacientes infectados reconocían más la región N-terminal de la proteína (Thomas, *et al.*, 2001), sin embargo, es importante señalar que en ratones transgénicos que expresan la molécula HLA* A-0201 se detectó la presencia de un epítipo restringido a esta molécula de clase I humana, reconocido por linfocitos T CD8+ (Marañón, *et al.*, 2001). Este epítipo de nueve aminoácidos (TLEEFSAKL), localizado en la región N-terminal, posición 4-12, se denominó inicialmente como K1, pero posteriormente se lo denominó como TcTLE (Finkelsztejn, *et al.*, 2015). Aunque los péptidos cortos toman una estructura al azar en soluciones, el TcTLE adquiere una estructura de hélice alfa, lo que permitiría su reconocimiento por parte de los anticuerpos (Figura 1). Este péptido es reconocido en mayor porcentaje (56 %) en los sueros de individuos sintomáticos con enfermedad de Chagas que en aquellos de personas asintomáticas (28 %), con un predominio del isotipo IgG1 (Diez, *et al.*, 2007). Dado que no se conoce la función de estos anticuerpos anti-péptido, el siguiente paso se centró en el estudio experimental *in vitro* de anticuerpos anti-TcTLE. En suero policlonal de conejos inmunizados con el péptido en adyuvante de Freund, se obtuvo un bajo título de anticuerpos, sin embargo, estos anticuerpos fueron capaces de reconocer la proteína recombinante KMP-11 y la proteína nativa presente en las formas flageladas (epimastigotes y tripomastigotes) del parásito (Diaz-Soto, *et al.*, 2012). En un segundo ensayo de inmunización, la producción de anticuerpos anti-TcTLE aumentó al inmunizar conjuntamente con un péptido inmunomodulador no derivado del parásito. Los anticuerpos policlonales generados

reconocieron igualmente los amastigotes intracelulares. En los dos sueros policlonales obtenidos se demostró la habilidad de inhibir la infección de células *in vitro*, tanto en un cultivo de células Vero (Diaz-Soto, *et al.*, 2012) como en un modelo de astrocitoma humano infectado con *T. cruzi* (Vargas-Zambrano, *et al.*, 2013). En este último, se observó que los anticuerpos alteraban la motilidad de los tripomastigotes afectando su capacidad de invasión e infección (Finkelsztejn, *et al.*, 2015).

En resumen, al péptido TcTLE se unen anticuerpos de sueros de pacientes con enfermedad de Chagas, lo cual implica que se trata de un epítipo B reconocido de forma natural durante la infección. En modelos de infección *in vitro* se pudo demostrar que los anticuerpos anti-péptidos son capaces de reconocer la proteína nativa en las formas parasitarias e inhibir la entrada de tripomastigotes a los cultivos celulares. Parte de esta inhibición se atribuye a la alteración del movimiento flagelar de los tripomastigotes.

La inmunidad celular adquirida en respuesta a la infección crónica por *Trypanosoma cruzi*. Existen dos subpoblaciones principales de linfocitos T según sus marcadores y su funcionalidad, la de linfocitos T CD4+, o ayudadores, y la de CD8+, o citotóxicos, ambas implicadas en el control de la infección por *T. cruzi*. En un modelo de infección aguda en ratones, la eliminación de los linfocitos T CD8+ incrementó la parasitemia y la mortalidad comparado con los ratones control (Tarleton, 1980), en tanto que en los humanos, la disminución de los linfocitos CD4+, como ocurre en la infección por HIV, permite la reactivación del parásito (de Freitas, *et al.*, 2011), lo cual indica que los linfocitos T son cruciales en el control de la infección. Los linfocitos T circulan por el sistema linfoide como linfocitos vírgenes cuyo objetivo es encontrar un antígeno en los

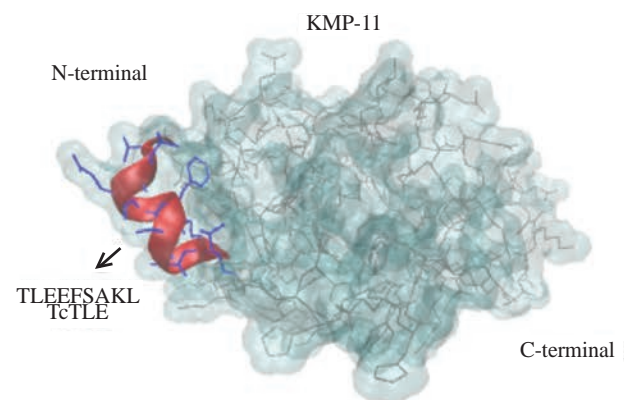


Figura 1. Modelo bioinformático del péptido TcTLE en la proteína KMP-11. Los aminoácidos 4 a 12 que representan el péptido se muestran como cinta (en rojo), con sus respectivas cadenas laterales (en azul). El resto de los aminoácidos en la proteína se muestran en gris. Imagen generada con el programa Visual Molecular Dynamics (VMD) <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/> y elaborada con la colaboración del profesor Manu Forero-Shelton, Ph.D., Grupo de Biofísica, Universidad de los Andes, Bogotá

órganos linfoides secundarios. Si los linfocitos vírgenes reconocen un antígeno a través de su receptor TCR y se diferencian a linfocitos T efectores. Existen diversas poblaciones de linfocitos efectores que se localizan en los tejidos donde ejercen sus funciones, como la producción de las citocinas INF- γ o TNF- α , entre otras, así como la producción de moléculas citotóxicas como la perforina. Una vez eliminado el agente infeccioso, como en el caso de algunas infecciones agudas, los linfocitos T efectores mueren por apoptosis y una pequeña población se convierte en linfocitos T de memoria. Al ser activados nuevamente por el antígeno, estos tienen la capacidad de generar nuevos linfocitos T efectores (Manhke, *et al.*, 2013). Este patrón de diferenciación y función de los linfocitos T, en el caso de los T CD8+, se ve alterado en procesos como las infecciones crónicas. Tal es el caso de la infección por *T. cruzi*, ya que el parásito puede persistir en los individuos infectados. Debido a este fenómeno de alteración de la función de los linfocitos T, conocido como agotamiento celular, la persistencia del antígeno induce cambios funcionales como la suspensión de la secreción de citocinas, y si bien los linfocitos T son específicos de antígeno, no pueden ejercer sus funciones efectoras adecuadamente. Por ejemplo, se disminuye la secreción de citocinas como la IL-12 y, por ende, la capacidad de proliferación, y, además, se producen cambios en la expresión de las moléculas, los receptores inhibitorios y los factores de transcripción (Wherry & Kurachi, 2015). Se resumirá a continuación el trabajo en torno a la respuesta mediada por los linfocitos T, principalmente la de los CD8+ y, en menor proporción, los estudios con linfocitos T CD4+ y linfocitos T doblemente positivos (T CD4+/CD8+).

Respuesta de los linfocitos T CD4+ en pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Los linfocitos T CD4+ se caracterizan por tener diferentes tipos de subpoblaciones (Th) según el patrón de citocinas secretadas. Por ejemplo, los linfocitos Th1 secretan principalmente INF- γ y los linfocitos Th2 secretan IL-4, entre otras poblaciones, incluidas Th9, Th17, Th22, Tregs y ThF o foliculares. Las poblaciones de linfocitos Th se asocian a su función efectora, por ejemplo, los Th1 son importantes para el control de infecciones intracelulares, mientras que los Th2 lo son para el control de antígenos extracelulares y de helmintos (Schmitt & Ueno, 2015). En los linfocitos CD4+ de sangre periférica de pacientes con cardiopatía chagásica crónica se encontró que después de la estimulación con un antígeno policlonal los linfocitos recientemente activados, o CD69+, producían una cantidad significativamente menor de INF- γ que los linfocitos T de individuos de control sin infección, aunque sin diferencias entre pacientes asintomáticos y sintomáticos. Igualmente, los linfocitos T CD4+ de estos pacientes (5 de 13 evaluados) produjeron INF- γ y no IL-4 en presencia de la proteína recombinante KMP-11 de *T. cruzi* y no hubo diferencias de acuerdo al estadio clínico de la enfermedad (Cuellar, *et al.*, 2009). Los pacientes con enfermedad de Chagas crónica presentaron linfocitos T CD4+ con marcadores de

activación crónica, como CD38 y HLA-DR, y disminuyeron la expresión del coestimulador CD28, molécula asociada a la activación posterior a la presentación antigénica. Estos cambios fueron más significativos en los pacientes asintomáticos que en los sintomáticos, y se asociaron con una menor expresión de la cadena zeta (ζ) del CD3. Dicha cadena contiene tres residuos de fosforilación importantes para la cascada de señalización intracelular que conlleva a la activación del linfocito T mediada por la producción de IL-2 (Giraldo, *et al.*, 2013). La menor producción de citocinas ante el estímulo policlonal y la disminución de moléculas importantes en la señalización intracelular de los linfocitos, sugieren que la inmunidad celular se altera durante la infección crónica por *T. cruzi*. Asimismo, en otros estudios se ha demostrado que los linfocitos T CD4+ de pacientes con infección crónica producen menos INF- γ , lo cual se ha asociado con la gravedad de la cardiopatía y con predominio de células efectoras y expresión de marcadores de diferenciación temprana (CD27+CD28+) (Albareda, *et al.*, 2009); en tanto que la respuesta polifuncional, medida como la secreción de INF- γ , TNF- α y la expresión de CD154, es mayor en niños infectados que en adultos con infección crónica, quienes presentan una respuesta monofuncional (Albareda, *et al.*, 2013).

Linfocitos T CD8+ específicos de antígeno de Trypanosoma cruzi y del péptido TcTLE. Como ya se mencionó, el péptido TLEEFSAKL o TcTLE de la región N-terminal de la proteína KMP-11 ha sido descrito como un epítipo de unión a la molécula HLA-A*0201 (Marañón, *et al.*, 2001). Este péptido fue reconocido por linfocitos T CD8+ provenientes de pacientes con enfermedad de Chagas crónica mediante un ensayo ELISpot para INF- γ en cerca de 17 % de los individuos evaluados (Diez, *et al.*, 2006). Una vez se demostró que el péptido TcTLE era procesado y presentado naturalmente en las moléculas del HLA durante el curso de la infección por *T. cruzi*, el siguiente paso fue el uso de tetrámeros fluorescentes HLA-A*0201 cargados con el péptido para determinar la frecuencia de células específicas durante la infección crónica mediante citometría de flujo. En total, 15 de los 19 pacientes crónicos evaluados presentaron linfocitos T CD8+ específicos del tetrámero en frecuencias que variaron entre 0,09 y 0,34 %, sin diferencias por estadio de la enfermedad. Las células específicas presentaron un predominio del fenotipo de células efectoras (T_{EM}) CD62L-/CCR7- frente a las células de memoria (T_{CM}), CD62L+/CCR7+, y aunque en células de pacientes se detectaron la IL-2 y la INF- γ , respectivamente, los porcentajes de expresión de estas citocinas entre los linfocitos T CD8+ específicos del tetrámero fueron muy bajos (<6 %) (Lasso, *et al.*, 2010). Esta ausencia de secreción de citocinas por parte de las células específicas de antígeno puede ser el resultado de la disfunción celular en la enfermedad de Chagas y podría ser específica de la infección parasitaria o de otras respuestas celulares contra microorganismos dentro del mismo individuo. Por lo tanto, se evaluó la respuesta de los

linfocitos T CD8+ frente a un epítipo conocido del virus de la influenza igualmente restringido al HLA-A*0201. No se encontraron diferencias entre la frecuencia de las células del virus de influenza, el fenotipo y la secreción de citocinas entre pacientes infectados y no infectados por *T. cruzi* dentro del compartimento CD8+, lo que indica que la alteración se presenta en las células específicas de antígenos parasitarios (Lasso, et al., 2012). De igual forma, se observó que los linfocitos T CD8+ de pacientes con enfermedad de Chagas presentaron un aumento de la expresión de marcadores de activación, como CD38+ y HLA-DR, acompañado de una disminución de la expresión de membrana de CD28 y de la cadena CD3 ζ intracelular. Sin embargo, a pesar de expresar marcadores de activación, estas células proliferan menos en presencia de un mitógeno como la fitohemaglutinina (PHA). Usando un modelo *in vitro*, se demostró que los linfocitos T, tanto CD4+ como CD8+, provenientes de individuos no infectados disminuyeron drásticamente su proliferación en presencia de formas de tripomastigotes del parásito (Giraldo, et al., 2013). La poca respuesta de los linfocitos T en presencia del antígeno parasitario se ha asociado a una respuesta alterada a la IL-2 (Beltz & Kierszenbaum, 1988). Igualmente, en linfocitos T CD8+, la producción de IFN- γ en respuesta a los antígenos de *T. cruzi* se ve disminuida con la gravedad de la enfermedad (Lauella, et al., 2004).

Los linfocitos T doblemente positivos en la enfermedad de Chagas crónica. Los linfocitos doblemente positivos, que expresan tanto CD4 como CD8, constituyen una subpoblación celular que se encuentra en sangre periférica en personas sanas en un porcentaje inferior a 3 %. Esta población no parece representar una población de linfocitos

doblemente positivos escapados de la selección tímica, al parecer, se asocia a una activación de la transcripción de los genes correspondientes en sangre periférica. Estas células aumentan en diferentes enfermedades como las infecciones virales crónicas, los tumores e, inclusive, las alergias (Overgaard, et al., 2015). En el caso de los pacientes con enfermedad de Chagas crónica, esta subpoblación de linfocitos T está aumentada en sangre periférica comparada con la de individuos sanos y expresan marcadores de activación crónica como CD38 y HLA-DR. Los linfocitos T doblemente positivos en pacientes con enfermedad de Chagas crónica han presentado especificidad contra el péptido TcTLE, evaluada mediante tetrámeros fluorescentes HLA-A*0201 cargados con el péptido. Entre 3 y 5 % de las células doblemente positivas se unió al tetrámero en individuos asintomáticos y sintomáticos, respectivamente. Cerca de 10 % de ellas expresaron perforina intracelular, acompañada de marcadores de degranulación (CD107), así como un nivel muy bajo de secreción de IFN- γ (Giraldo, et al., 2011). Estos resultados indican que los linfocitos doblemente positivos presentaron especificidad antigénica y capacidad citotóxica frente a los antígenos parasitarios.

En la Tabla 1 se presenta un resumen de los principales hallazgos en los estudios realizados en torno a la respuesta inmunitaria específica contra *T. cruzi* tanto de anticuerpos específicos como de linfocitos T. Los linfocitos T CD4+ y CD8+ en sangre periférica presentaron marcadores que indican una sobre-activación, acompañados de una disminución de la expresión de la cadena CD3 ζ . Los linfocitos T con estas características, al igual que los linfocitos T doblemente positivos, se detectaron en el infiltrado de pacientes

Tabla 1. Resumen de los estudios en torno a la respuesta inmunitaria adaptativa en la infección por *Trypanosoma cruzi*

	Modelo	Medición	Principal hallazgo	Comentario
Anticuerpos	<i>Ex vivo</i>	Anti-KMP11	Reconocimiento por pacientes chagásicos Isotipo IgG1 e IgG3	Más en pacientes crónicos que en agudos
		Anti-TcTLE	Reconocimiento por pacientes crónicos Isotipo IgG1	Mayor en sintomáticos
	<i>In vitro</i>	Anti-TcTLE	Anticuerpos anti-péptidos que reconocen las formas parasitarias	Inhibición de motilidad e invasión
Linfocitos T	<i>Ex vivo</i>	CD4+	Producción de IFN- γ en respuesta al estímulo policlonal y ante antígeno parasitario	Menor producción que en no infectados Sin diferencias según el grado de enfermedad
		CD8+	Frecuencia de células específicas de TcTLE menor de 0,4 %	Baja producción de citocinas como IFN- γ e IL-2
		Doblemente positivos	Aumento en pacientes con enfermedad de Chagas crónica Detectados en corazón.	Con especificidad antigénica y capacidad citotóxica
		CD3+	Aumento de marcadores de activación Disminución de moléculas coestimuladoras Disminución de moléculas de señalización	CD38 y HLA-DR. CD28 CD3 ζ ^a
	<i>In vitro</i>	CD3+	Disminución de la proliferación en presencia del parásito	Baja proliferación frente a mitógenos (PHA) ^b

a. CD3 ζ : cadena zeta intracelular; b. PHA: fitohemaglutinina

con miocardiopatía chagásica, y no se observaron en tejidos cardiacos derivados del trasplante en pacientes con cardiopatía crónica no chagásica (Giraldo, *et al.*, 2011 & 2013). Dichos resultados sugieren que la alteración en la respuesta de los linfocitos T puede estar mediada por la persistencia del antígeno parasitario en los individuos infectados, lo cual altera la activación celular y contribuye a la patogenia en la enfermedad crónica (Figura 2).

Infiltrado celular en la miocardiopatía chagásica crónica

En los estudios histológicos de la cardiopatía chagásica crónica se encuentra miocitolisis, infiltrado celular, fibrosis intersticial y adelgazamiento de la membrana basal de los cardiomiocitos (Ferrans, *et al.*, 1988). Mediante histoquímica en corazones de pacientes con cardiopatía chagásica crónica se han detectado antígenos parasitarios en 68 % de los individuos (Belloti, *et al.*, 1996), y mediante pruebas de biología molecular, en 85 % (Jones, *et al.*, 1993). El infiltrado celular se aprecia usualmente en parches con predominio de linfocitos T (Milei, *et al.*, 1996), especialmente T CD8+ y CD4+ (Benvenuti, *et al.*, 2000). Los linfocitos T CD8+ pueden participar en la patogenia a través de la citotoxicidad directa o mediante la producción de citocinas como TNF- α (Rocha-Rodriguez, *et al.*, 2012; Silverio, *et al.*, 2012). En pacientes con mayor compromiso cardiaco se presentan altos niveles circulantes de TNF- α (Talvani, *et al.*, 2004), los cuales se asocian con la progresión de la cardiopatía chagásica (Sousa, *et al.*, 2014). Los linfocitos T infiltrantes en miocardiopatía crónica expresan receptores inhibitorios (CTLA-4 y PD-1) indicadores de agotamiento celular (Argüello, *et al.*, 2012). Vale la pena señalar que algunos de los cambios descritos son similares a los encontrados en linfocitos T de sangre periférica en pacientes con cardiopatía chagásica avanzada, los cuales también presentan características de agotamiento clonal, como la pérdida de la multifuncionalidad y la expresión de receptores inhibitorios (Giraldo, *et al.*, 2013; Lasso, *et al.*, 2015; Mateus, *et al.*, 2017). Algunas de estas alteraciones fenotípicas y funcionales en los linfocitos T pueden revertirse con el tratamiento anti-parasitario (Mateus, *et al.*, 2017).

El estudio de la respuesta inmunitaria contra *T. cruzi* sigue siendo un reto de la investigación actual, en parte por la compleja historia natural de la infección y las diferencias de la respuesta inmunitaria adaptativa en la fase aguda y la fase crónica de la infección, además de las variaciones genéticas del parásito. Sin embargo, el estudio de la respuesta ante antígenos específicos ha permitido dilucidar algunas de las funciones de los anticuerpos y de los linfocitos T durante la infección, lo cual ha facilitado, además de la patogénesis durante la enfermedad, la selección de posibles antígenos candidatos a vacunas.

Agradecimientos

A todos los coautores de los artículos citados en este manuscrito, a los pacientes y los individuos de control sanos que participaron en los estudios, así como a las agencias finan-

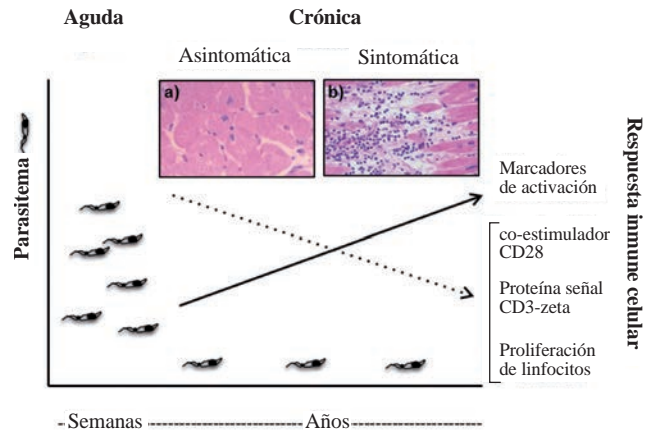


Figura 2. Esquema de los principales hallazgos en la respuesta inmunitaria celular. El eje de la Y muestra la evolución de la enfermedad en el tiempo. En los ejes X se muestran la parasitemia y el aumento (línea continua) o disminución (línea punteada) de los marcadores celulares evaluados. Las imágenes muestran biopsias cardiacas teñidas con hematoxilina y eosina de tejido sin infiltrado celular (a) y tejido con infiltrado de un paciente con enfermedad de Chagas crónica (b). Imágenes con 40x obtenidas con la colaboración de Ana María Uribe, MD-Patóloga, Departamento de Patología, Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá

ciadoras, principalmente Colciencias, y las Vicerrectorías de Investigaciones de la Universidad de los Andes y de la Pontificia Universidad Javeriana.

Contribución de los autores

Todos los autores participaron en la concepción, la escritura, la revisión y la corrección del manuscrito.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores no declaran ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Acevedo, G.R., Longhi, S.A., Bunying, A., Sabri, N., Atienza, A., Zago, M.P., Santos, R., Judkowski, V.A., Pinilla, C., Gómez, K.A. (2017). Methodological approach to the *ex vivo* expansion and detection of *T. cruzi*-specific T cells from chronic Chagas disease patients. *PLoS One*. **12**: e0178380. doi: 10.1371/journal.pone.0178380.
- Albareda, M.C., Olivera, G.C., Laucella, S.A., Álvarez, M.G., Fernández, E.R., Lococo, B., Viotti, R., Tarleton, R.L., Postan M. (2009) Chronic human infection with *Trypanosoma cruzi* drives CD4+ T cells to immune senescence. *J Immunol*. **183** (6): 4103-4108.
- Albareda, M.C., De, Rissio, A.M., Tomas, G., Serjan, A., Álvarez, M.G., Viotti, R., Fichera, L.E., Esteva, M.I., Potente, D., Armenti, A., Tarleton, R.L., Laucella, S.A. (2013). Polyfunctional T cell responses in children in early stages of chronic *Trypanosoma cruzi* infection contrast with monofunctional responses of long-term infected adults. *PLoS Negl Trop Dis*. **7** (12): e2575
- Argüello, R., Albareda, M., Álvarez, M., Bertocchi, G., Armenti, A., Vigliano, C., Meckert, P., Tarleton, R., Laucella, S. (2012). Inhibitory Receptors Are Expressed by

- Trypanosoma cruzi*-Specific Effector T Cells and in Hearts of Subjects with Chronic Chagas Disease. *PLoS ONE*. **7**: p.e35966
- Barrias, E.S., de Carvalho, T.M., De Souza, W.** (2013). *Trypanosoma cruzi*: Entry into Mammalian Host Cells and Parasitophorous Vacuole Formation. *Front Immunol*. **4**: 186. doi: 10.3389/fimmu.2013.00186. eCollection 2013.
- Bellotti, G., Bocchi, E.A., de Moraes, A.V., Higuchi, M.L., Barbero-Marcial, M., Sosa, E., Esteves-Filho, A., Kalil, R., Weiss, R., Jatene, A., Pileggi, F.** (1996) *In vivo* detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. *Am Heart J*. **131**: 301-307.
- Benvenuti, L.A., Higuchi, M.L., Reis, M.M.** (2000). Upregulation of adhesion molecules and class I HLA in the myocardium of chronic chagasic cardiomyopathy and heart allograft rejection, but not in dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Pathol*. **9**: 111-117.
- Bern, C., Montgomery, S.P., Herwaldt, B.L., Rassi, A. Jr., Marin-Neto, J.A., Dantas, R.O., Maguire, J.H., Acquatella, H., Morillo, C., Kirchhoff, L.V., Gilman, R.H., Reyes, P.A., Salvatella, R., Moore, A.C.** (2007). Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: A systematic review. *JAMA*. **298**: 2171-2181.
- Bern C.** (2015). Chagas' Disease. *N Engl J Med*. **373**: 456-466. doi: 10.1056/NEJMra1410150.
- Beltz, L.A., Kierszenbaum F.** (1987). Suppression of human lymphocyte responses by *Trypanosoma cruzi*. *Immunology*. **60** (2): 309-315.
- Brener, Z.** (1973). Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annu Rev Microbiol*. **27**: 347-382.
- Campo, V.L., Martins-Teixeira, M.B., Carvalho, I.** (2016). *Trypanosoma cruzi* Invasion into Host Cells: A Complex Molecular Targets Interplay. *Mini Rev Med Chem*. **16**: 1084-1097.
- Castillo-Riquelme, M., Guhl, F., Turriago, B., Pinto, N., Rosas, F., Martínez, M.F., Fox-Rushby, J., Davies, C., Campbell-Lendrum, D.** (2008). The costs of preventing and treating Chagas disease in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis*. **2**: e336. doi: 10.1371/journal.pntd.0000336.
- Cuellar, A., Santander, S.P., Thomas, M.C., Guzmán, F., Gómez, A., López, M.C., Puerta, C.J.** (2008). Monocyte-derived dendritic cells from chagasic patients vs healthy donors secrete differential levels of IL-10 and IL-12 when stimulated with a protein fragment of *Trypanosoma cruzi* heat-shock protein-70. *Immunol Cell Biol*. **86**: 255-260.
- Cuellar, A., Rojas, F., Bolaños, N., Díez, H., Thomas, M.C., Rosas, F., Velasco, V., López, M.C., González, J.M., Puerta, C.** (2009). Natural CD4(+) T-cell responses against *Trypanosoma cruzi* KMP-11 protein in chronic chagasic patients. *Immunol Cell Biol*. **87**: 149-153. doi: 10.1038/icb.2008.76. Erratum in: *Immunol Cell Biol*. 2009. **7**: 108.
- de Freitas, V.L., da Silva, S.C., Sartori, A.M., Bezerra, R.C., Westphalen, E.V., Molina, T.D., Teixeira, A.R., Ibrahim, K.Y., Shikanai-Yasuda, M.A.** (2011). Real-time PCR in HIV/*Trypanosoma cruzi* coinfection with and without Chagas disease reactivation: Association with HIV viral load and CD4 level. *PLoS Negl Trop Dis*. **5**: e1277. doi: 10.1371/journal.pntd.0001277
- de Souza, W., de Carvalho, T.M., Barrias, E.S.** (2010) Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *Int J Cell Biol*. **2010**. pii: 295394. doi: 10.1155/2010/295394
- Dey, N., Sinha, M., Gupta, S., González, M.N., Fang, R., Endsley, J.J., Luxon, B.A., Garg, N.J.** (2014). Caspase-1/ASC inflammasome-mediated activation of IL-1 β -ROS-NF- κ B pathway for control of *Trypanosoma cruzi* replication and survival is dispensable in NLRP3-/- macrophages. *PLoS One*. **9**: e111539.
- Díaz-Soto, J. C., Lasso, P., Guzmán, F., Forero-Shelton, M., Thomas, M.C., López, M.C., Guhl, F., Cuellar, A., Puerta, C.J., González, J.M.** (2012). Rabbit serum against K1 peptide, an immunogenic epitope of the *Trypanosoma cruzi* KMP-11, decreases parasite invasion to cells. *Acta Trop*. **123**: 224-229. doi: 10.1016/j.actatropica.2012.05.015.
- Díez, H., López, M.C., Thomas, M.C., Guzmán, F., Rosas, F., Velasco, V., González, J.M., Puerta, C.** (2006). Evaluation of IFN-gamma production by CD8 T lymphocytes in response to the K1 peptide from KMP-11 protein in patients infected with *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol*. **28**: 101-105.
- Díez, H., Guzmán, F., Alba, M.P., Cuellar, A., Thomas, M.C., López, M.C., Rosas, F., Velasco, V., González, J.M., Patarroyo, M.E., Puerta, C.J.** (2007). Immunological and structural characterization of an epitope from the *Trypanosoma cruzi* KMP-11 protein. *Peptides*. **28**: 1520-1526.
- Dos-Santos, A.L., Carvalho-Kelly, L.F., Dick, C.F., Meyer-Fernandes, J.R.** (2016). Innate immunomodulation to trypanosomatid parasite infections. *Exp Parasitol*. **167**: 67-75. doi: 10.1016/j.exppara.2016.05.005.
- Ferrans, V.J., Milei, J., Tomiata, Y., Storino, R.A.** (1988). Basement membrane thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas' disease. *Am J Cardiol*. **61**: 1137-1140.
- Finkelsztejn, E.J., Díaz-Soto, J.C., Vargas-Zambrano, J.C., Suesca, E., Guzmán, F., López, M.C., Thomas, M.C., Forero-Shelton, M., Cuellar, A., Puerta, C.J., González, J.M.** (2015). Altering the motility of *Trypanosoma cruzi* with rabbit polyclonal anti-peptide antibodies reduces infection to susceptible mammalian cells. *Exp Parasitol*. **150**: 36-43. doi: 10.1016/j.exppara.2015.01.007
- Flechas, I.D., Cuellar, A., Cucunubá, Z.M., Rosas, F., Velasco, V., Steindel, M., Thomas, M.C., López, M.C., González, J.M., Puerta C.J.** (2009). Characterising the KMP-11 and HSP-70 recombinant antigens' humoral immune response profile in chagasic patients. *BMC Infect Dis*. **25**: 186. doi: 10.1186/1471-2334
- Franchin, G., Pereira-Chioccola, V.L., Schenkman, S., Rodrigues, M.M.** (1997). Passive transfer of a monoclonal antibody specific for a sialic acid-dependent epitope on the surface of *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes reduces infection in mice. *Infect. Immun*. **65**: 2548-2554.
- Giraldo, N.A., Bolaños, N.I., Cuellar, A., Guzmán, F., Uribe, A.M., Bedoya, A., Olaya, N., Cucunubá, Z.M., Roa, N., Rosas, F., Velasco, V., Puerta, C.J., González, J.M.** (2011). Increased CD4+/CD8+ double-positive T cells in chronic Chagasic patients. *PLoS Negl Trop Dis*. **5**: e1294. doi: 10.1371/journal.pntd.0001294.
- Giraldo, N.A., Bolaños, N.I., Cuellar, A., Roa, N., Cucunubá, Z., Rosas, F., Velasco, V., Puerta, C.J., González, J.M.** (2013). T lymphocytes from chagasic patients are activated but lack proliferative capacity and down-regulate CD28 and CD3 ζ . *PLoS Negl Trop Dis*. **7**: e2038. doi: 10.1371/journal.pntd.0002038

- Klahr, J.I., Uribe, A.M., Roa, N., González, J.M.** (2016). Inmunidad celular en la patogénesis de la cardiopatía chagásica crónica. *Rev Col Cardiol.* **23**: 568-575. doi: 10.1016/j.rccar.2016.04.017
- Krettli, A.U., Brener, Z.** (1976). Protective effects of specific antibodies in *Trypanosoma cruzi* infections. *J. Immunol.* **116**: 755-760.
- Lages-Silva, E., Ramírez, L.E., Krettli, A.U., Brener, Z.** (1987). Effect of protective and non-protective antibodies in the phagocytosis rate of *Trypanosoma cruzi* blood forms by mouse peritoneal macrophages. *Parasite Immunol.* **9**: 21-30.
- Lasso, P., Mesa, D., Cuéllar, A., Guzmán, F., Bolaños, N., Rosas, F., Velasco, V., Thomas, M.C., López, M.C., González, J.M., Puerta, C.J.** (2010). Frequency of specific CD8+ T cells for a promiscuous epitope derived from *Trypanosoma cruzi* KMP-11 protein in chagasic patients. *Parasite Immunol.* **32**: 494-502. doi: 10.1111/j.1365-3024.2010.01206.x
- Lasso, P., Mesa, D., Bolaños, N., Cuéllar, A., Guzmán, F., Cucunubá, Z., Rosas, F., Velasco, V., Thomas, M.C., López, M.C., González, J.M., Puerta, C.J.** (2012). Chagasic patients are able to respond against a viral antigen from influenza virus. *BMC Infect Dis.* **12**: 198. doi: 10.1186/1471-2334-12-198
- Lasso, P., Mateus, J., Pavia, P., Rosas, F., Roa, N., Thomas, M.C., López, M.C., González, J.M., Puerta, C.J., Cuéllar, A.** (2015). Inhibitory Receptor Expression on CD8+ T Cells Is Linked to Functional Responses against *Trypanosoma cruzi* Antigens in Chronic Chagasic Patients. *J Immunol.* **195** (8): 3748-3758. doi: 10.4049/jimmunol.1500459
- Laucella, S.A., Postan, M., Martín, D., Hubby Fralish, Bm, Albareda, M, C., Álvarez, M.G., Lococo, B., Barbieri, G., Viotti, R.J., Tarleton, R.L.** (2004). Frequency of interferon-gamma -producing T cells specific for *Trypanosoma cruzi* inversely correlates with disease severity in chronic human Chagas disease. *J Infect Dis.* **189**: 909-918.
- Ley, V., Robbins, E.S., Nussenzweig, V., Andrews, N.W.** (1990). The exit of *Trypanosoma cruzi* from the phagosome is inhibited by raising the pH of acidic compartments. *J Exp Med.* **171**: 401-413.
- Li, Z., Wang, C.** (2008). KMP-11, a Basal Body and Flagellar Protein, Is Required for Cell Division in *Trypanosoma brucei*. *Eukaryotic Cell.* **7**: 1941-1950.
- Lima-Martins, M.V., Sánchez, G.A., Krettli, A.U., Brener, Z.** (1985). Antibody-dependent cell cytotoxicity against *Trypanosoma cruzi* is only mediated by protective antibodies. *Parasite Immunol.* **7**: 367-376.
- Magalhães, L.M., Viana, A., Chiari, E., Galvão, L.M., Gollob, K.J., Dutra W.O.** (2015). Differential Activation of Human Monocytes and Lymphocytes by Distinct Strains of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl Trop Dis.* **9**: e0003816. doi: 10.1371/journal.pntd.0003816
- Magdesian, M.H., Giordano, R., Ulrich, H., Juliano, M.A., Juliano, L., Schumacher, R.I., Colli, W., Alves M.J.** (2001). Infection by *Trypanosoma cruzi*. Identification of a parasite ligand and its host cell receptor. *J Biol Chem.* **276**: 19382-19389.
- Mahnke, Y.D., Brodie, T.M., Sallusto, F., Roederer, M., Lugli, E.** (2013). The who's who of T-cell differentiation: Human memory T-cell subsets. *Eur J Immunol.* **43**: 2797-2809. doi: 10.1002/eji.201343751
- Marañón, C., Thomas, M.C., Planelles, L., López, M.C.** (2001). The immunization of A2/K(b) transgenic mice with the KMP11-HSP70 fusion protein induces CTL response against human cells expressing the *T. cruzi* KMP11 antigen: Identification of A2-restricted epitopes. *Mol Immunol.* **38**: 279-287.
- Mateus, J., Pérez-Antón, E., Lasso, P., Egui, A., Roa, N., Carrilero, B., González, J.M., Thomas, M.C., Puerta, C.J., López, M.C., Cuéllar, A.** (2017). Antiparasitic Treatment Induces an Improved CD8+ T Cell Response in Chronic Chagasic Patients. *J Immunol.* **198**: 3170-3180. doi: 10.4049/jimmunol.1602095
- Medeiros, N.I., Fares, R.C., Franco, E.P., Sousa, G.R., Mattos, R.T., Chaves, A.T., Nunes, M.D., Dutra, W.O., Correa-Oliveira, R., Rocha, M.O., Gomes, J.A.** (2017). Differential Expression of Matrix Metalloproteinases 2, 9 and Cytokines by Neutrophils and Monocytes in the Clinical Forms of Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis.* **11**: e0005284. doi: 10.1371/journal.pntd.0005284
- Milei, J., Fernández, A., Vanzulli, G., Storino, S., Matturri, R., Rossi, L.** (1996). Myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic cardiomyopathy: Immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol.* **5**: 209-219.
- Molina, H.A., Kierszenbaum, F.** (1987). A study of human myocardial tissue in Chagas' disease: Distribution and frequency of inflammatory cell types. *Int J Parasitol.* **17**: 1297-1305
- Morillo, C.A., Marin-Neto, J.A., Avezum, A., Sosa-Estani, S., Rassi, A. Jr., Rosas, F., Villena, E., Quiroz, R., Bonilla, R., Britto, C., Guhl, F., Velázquez, E., Bonilla, L., Meeks, B., Rao-Melacini, P., Pogue, J., Mattos, A., Lazdins, J., Rassi, A., Connolly, S.J., Yusuf, S.; BENEFIT Investigators.** (2015). Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* **373**: 1295-306. doi: 10.1056/NEJMoa1507574
- Noya, B.A., Díaz-Bello, Z., Colmenares, C., Ruiz-Guevara, R., Mauriello, L., Muñoz-Calderón, A., Noya, O.** (2015). Update on oral Chagas disease outbreaks in Venezuela: Epidemiological, clinical and diagnostic approaches. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **110**: 377-386. doi: 10.1590/0074-02760140285
- Overgaard, N.H., Jung, J.W., Steptoe, R.J., Wells, J.W.** (2015). CD4+/CD8+ double-positive T cells: More than just a developmental stage? *J Leukoc Biol.* **97**: 31-38. doi: 10.1189/jlb.1RU0814-382.
- Rassi, A., Rezende, J.M., Luquetti, A.O., Rassi, Jr. A.** (2010). Clinical Phases and Forms of Chagas Disease. *American Trypanosomiasis Chagas Disease.* In: *One Hundred Years of Research.* p. 709-741. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384876-5.00027-7>
- Rassi, A. Jr., Marin-Neto, J.A., Rassi, A.** (2017). Chronic Chagas cardiomyopathy: A review of the main pathogenic mechanisms and the efficacy of aetiological treatment following the BENznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT) trial. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **112**: 224-235. doi: 10.1590/0074-02760160334
- Rocha-Rodrigues, D.B., dos Reis, M.A., Romano, A., Pereira, S.A., Teixeira, V.P., Tostes S. J.r, Rodrigues, V. Jr.** (2012). *In situ* expression of regulatory cytokines by heart inflammatory cells in Chagas' disease patients with heart failure. *Clin Dev Immunol.* **2012**: 361730. doi: 10.1155/2012/361730

- Rosas, F., Roa, N., Cucunubá, Z., Cuéllar, A., González, J.M., Puerta, C. (2012). Chagasic cardiomyopathy. In: Veselka J. *Cardiomyopathies - From Basic Research to Clinical Management*. Rijeka, Croatia: Editorial INTECH. p. 775-800.
- Rosestolato, C.T., Dutra, J. M., De Souza, W., de Carvalho, T.M. (2002) Participation of host cell actin filaments during interaction of trypomastigote forms of *Trypanosoma cruzi* with host cells. *Cell Struct Funct.* **27**: 91-98.
- Sabino, E.C., Ribeiro, A.L., Salemi, V.M., Di Lorenzo Oliveira, C., Antunes, A.P., Menezes, M.M., Lanni, B.M., Nastari, L., Fernandes, F., Patavino, G.M., Sachdev, V., Capuani, L., de Almeida-Neto, C., Carrick, D.M., Wright, D., Kavounis, K., Gonçalves, T.T., Carneiro-Proietti, A.B., Custer, B., Busch, M.P., Murphy, E.L. (2013). Ten-year incidence of Chagas cardiomyopathy among asymptomatic *Trypanosoma cruzi*-seropositive former blood donors. *Circulation.* **127**: 1105-1115. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.123612
- Schmitt, N., Ueno. H. (2015). Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol.* **34**: 130-136. doi: 10.1016/j.coi.2015.03.007
- Silverio, J.C., Pereira, I.R., Cipitelli, M.C., Vinagre, N.F., Rodrigues, M.M., Gazzinelli, R.T., Lannes-Vieira, J. (2012). CD8+ T-cells expressing interferon gamma or perforin play antagonistic roles in heart injury in experimental *Trypanosoma cruzi*-elicited cardiomyopathy. *PLoS Pathog.* **8**: e1002645. doi: 10.1371/journal.ppat.1002645
- Sousa, G.R., Gomes, J.A., Fares, R.C., Damásio, M.P., Chaves, A.T., Ferreira, K.S., Nunes, M.C., Medeiros, N.I., Valente, V.A., Corrêa-Oliveira, R., Rocha, M.O. (2014). Plasma cytokine expression is associated with cardiac morbidity in Chagas disease. *PLoS One.* **9**: e87082. doi: 10.1371/journal.pone.0087082
- Sosa-Estani, S., Segura, E.L., Ruiz, A.M., Velázquez, E., Porcel, B.M., Yampotis, C. (1998). Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* **59**: 526-529.
- Talvani, A., Rocha, M.O., Barcelos, L.S., Gomes, Y.M., Ribeiro, A.L., Teixeira, M.M. (2004). Elevated concentrations of CCL2 and tumor necrosis factor-alpha in chagasic cardiomyopathy. *Clin Infect Dis.* **38**: 943-950.
- Tarleton, R. (1980). Depletion of CD8+ T cells increases susceptibility and reverses vaccine-induced immunity in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol.* **144**: 717-724.
- Tarleton RL. (2015). CD8+ T cells in *Trypanosoma cruzi* infection. *Semin Immunopathol.* **37**: 233-238. doi: 10.1007/s00281-015-0481-9.
- Thomas, M.C., García-Pérez, J.L., Alonso, C., López, M.C. (2000). Molecular characterization of KMP11 from *Trypanosoma cruzi*: A cytoskeleton-associated protein regulated at the translational level. *DNA Cell Biol.* **19**: 47-57.
- Thomas, M.C., Longobardo, M.V., Carmelo, E., Marañón, C., Planelles, L., Patarroyo, M.E., Alonso, C., López, M.C. (2001). Mapping of the antigenic determinants of the *T. cruzi* kinetoplastid membrane protein-11. Identification of a linear epitope specifically recognized by human Chagasic sera. *Clin Exp Immunol.* **123**: 465-471.
- Vargas-Zambrano, J.C., Lasso, P., Cuéllar, A., Puerta, C.J., González, J.M. (2013). A human astrocytoma cell line is highly susceptible to infection with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **108**: 212-219.
- Vitelli-Avelar, D.M., Sathler-Avelar, R., Massara, R.L., Borges, J.D., Lage, P.S., Lana, M., Teixeira-Carvalho, A., Dias, J.C., Elói-Santos, S.M., Martins-Filho, O.A. (2006). Are increased frequency of macrophage-like and natural killer (NK) cells, together with high levels of NKT and CD4+CD25high T cells balancing activated CD8+ T cells, the key to control Chagas' disease morbidity. *Clin Exp Immunol.* **145**: 81-92.
- Wherry, E.J., Kurachi, M. (2015). Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* **15**: 486-499. doi: 10.1038/nri3862
- Wirth, J.J., Kierszenbaum, F. (1987). Inhibition of mammalian host cell infection by insect-derived, metacyclic forms of *Trypanosoma cruzi* in the presence of human or rabbit anti-*T. cruzi* antibodies. *Int. J. Parasitol.* **17**: 841-845.

¿Requiere la interferencia de la superposición de ondas como principio físico?

Román Castañeda

Escuela de Física, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Medellín, Colombia

Conferencia de posesión para el ingreso como miembro de Número de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 23 de noviembre de 2017

Resumen

La superposición de ondas es una de las ideas fundamentales más preciadas de la física. Durante cerca de dos siglos ha constituido el principio físico de la interferencia y la difracción de las ondas y, a lo largo de los últimos cien años se ha empleado como instrumento predictivo del comportamiento de sistemas cuánticos. Sin embargo, dicha superposición no puede explicar la interferencia de las ondas y de las partículas de manera generalizada debido, principalmente, a la diferente interpretación de la función de onda en cada contexto. Dado que los fenómenos del mismo tipo deben obedecer al mismo principio, o ser consecuencia de las mismas causas, esta limitación de la superposición de ondas es, por lo tanto, un problema actual en los fundamentos de la física. Como solución se propone un nuevo principio físico, el cual proporciona la misma explicación para la interferencia de las ondas y de las partículas sin detrimento de la precisión predictiva. Su validez se apoya en el análisis de resultados experimentales reportados por otros autores. Este principio es completamente novedoso y conduce a una formulación no estandarizada de la interferencia, que deberá abrir nuevos campos de discusión sobre este tema fundamental de la física. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Interferencia; Superposición de ondas; Correlación; Espectro de clases.

Does interference require the wave superposition as physical principle?

Abstract

The wave superposition is one of the most precious foundations of physics. It has been the physical principle of interference and diffraction of waves for nearly two centuries, and an accurate predictive instrument of the behavior of quantum systems over the past 100 years. However, it cannot explain the interference of waves and particles in a generalized way mainly due to the different interpretation of the wave function in each context. Given that phenomena of the same type should obey to the same principle or be the consequence of the same causes, this restriction of the wave superposition constitutes a current problem in the very foundations of physics. A new physical principle is introduced to address this problem. It provides the same explanation for wave and particle interference, but maintaining the predictive accuracy of the wave superposition. Its validity is based on the analysis of experimental results reported by other authors. This principle is completely new and leads to a non-standardized formulation of interference, which should open new avenues of discussion on this fundamental topic of physics. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Interference; Wave superposition; Two-point correlation; Spectrum of classes.

Introducción

La superposición de ondas es una de las nociones más arraigadas de la física. A inicios del siglo 19 fue introducida como principio físico de la interferencia de la luz por Thomas Young (**Born & Wolf**, 1993), y a partir de la interpretación probabilística de la función de onda cuántica, introducida por Max Born en la segunda década del siglo 20 (**Feynman, et al.**, 1965), se utiliza como herramienta matemática para predecir la formación de patrones de interferencia de las partículas. Así, a lo largo de los dos últimos siglos, esta

eficacia de la superposición de ondas ha logrado que su validez, relacionada con el fenómeno de interferencia, se acepte sin cuestionamientos.

Sin embargo, aunque la capacidad predictiva de una noción física es una condición necesaria para establecer su validez, no es una condición suficiente para erigirla como

Correspondencia:

Román Castañeda, rcastane@unal.edu.co

Recibido: 08 de agosto de 2017

Aceptado: 6 de diciembre de 2017

principio. Para ello se requiere también una probada capacidad explicativa de los fenómenos. En el caso de la superposición de ondas, existe un claro contraste entre su bien establecida capacidad predictiva y sus restricciones explicativas. En efecto, la superposición de ondas puede explicar fenomenológicamente y predecir matemáticamente la interferencia de ondas clásicas (**Born & Wolf**, 1993), pero solo puede predecir matemáticamente la interferencia de partículas masivas como electrones, átomos y moléculas. Por ello, Richard Feynman afirmó que la interferencia de Young con electrones individuales “... contiene el corazón de la mecánica cuántica. En realidad, encierra su único misterio” (**Feynman & Hibbs**, 1965).

Se han utilizado diferentes estrategias experimentales con el fin de registrar patrones de interferencia con partículas, y se han intentado varias descripciones orientadas a explicar los resultados fenomenológicamente (**Zeilinger, et al.**, 1988; **Arndt, et al.**, 1999; **Nairz, et al.**, 2003; **Juffmann, et al.**, 2009; **Frabboni, et al.**, 2012; **Juffmann, et al.**, 2012; **Matteucci, et al.**, 2013; **Bach, et al.**, 2013; **Castañeda, et al.**, 2016 a, b). Dichas descripciones se basan en la mecánica cuántica y algunas de ellas pueden incluir argumentos ‘semiclásicos’, pues se supone que la interferencia de partículas no puede explicarse enteramente a partir de la mecánica clásica. Por el contrario, en el caso de la interferencia de ondas clásicas, la superposición de ondas aporta una única y eficaz explicación fenomenológica, lo que le da el estatus de principio físico.

No se ha establecido, por lo tanto, un principio único y general que explique de igual manera la interferencia tanto de ondas clásicas como de partículas masivas. En este contexto, las reglas de la filosofía natural de Isaac Newton (**Newton**, 1686) delinean un reto epistemológico importante y actual, pues establecen que, (i) no se deben admitir otras causas que las necesarias para explicar los fenómenos, y (ii) los efectos del mismo género deben siempre ser atribuidos, en la medida en que sea posible, a la misma causa. En este artículo se establece cómo la teoría clásica de la correlación espacial (**Mandel & Wolf**, 1995) ofrece un marco idóneo para la formulación de un principio que cumple con los requerimientos del reto. Dicho principio explica la interferencia como el resultado de interacciones individuales entre “emisores puntuales reales”, que representan la perturbación de la onda o la partícula que atraviesa una abertura dada en la máscara de interferencia, y “emisores puntuales virtuales” determinados por la configuración del montaje experimental. Se muestra, así mismo, que la validez de este nuevo principio implica que la superposición de ondas no es una condición necesaria para describir y predecir la interferencia.

El ejercicio de sintetizar el principio requiere importantes modificaciones de la interpretación convencional del modelo matemático. En la sección 2 de esta presentación, la expansión modal de la correlación espacial se interpreta como una condición geométrica en el volumen delimitado por el montaje experimental. En la sección 3, se muestra que los emisores puntuales virtuales determinan un “potencial

geométrico” en el espacio donde se mueven las ondas o las partículas, y se introduce una nueva ley general de interferencia. El “espectro de clases de emisores puntuales” se presenta en la sección 4 como un instrumento que permite construir el mapa completo de las interacciones de un experimento de interferencia dado. También se discute la predicción exacta de las modulaciones de difracción y la influencia de la incertidumbre en la posición de los emisores puntuales reales en interferencia de partículas singulares (en este tipo de experimentos se emiten partículas individuales de tal manera que la emisión de una de ellas ocurre después de que la anterior ha sido registrada por el detector). La validez de este desarrollo se respalda en el análisis de patrones de interferencia experimentales con moléculas individuales reportado por otros autores (**Castañeda, et al.**, 2016 a, b). Ya que la teoría que se discute a continuación introduce nuevos términos y conceptos no estandarizados, se espera con ello abrir nuevos campos de discusión sobre este tema fundamental de la física.

Interpretaciones novedosas

Para describir formalmente un experimento de interferencia con ondas o con partículas es necesario considerar dos escenarios, a saber: (i) el modelo teórico y (ii) la configuración del arreglo experimental. El modelo teórico se basa en las partes temporalmente independientes de la ecuación de ondas de Maxwell, en el caso de ondas clásicas (**Born & Wolf**, 1993), y de la ecuación de Schrödinger, en el de las partículas masivas (**Feynman, et al.**, 1965). Para sintetizar el nuevo principio de interferencia es suficiente considerar que las ondas y las partículas se mueven en el espacio libre, con la única limitación de las condiciones de frontera impuestas por la configuración del montaje. Así, las partes temporalmente independientes de ambas ecuaciones tendrán la misma forma matemática dada por la ecuación de Helmholtz $\nabla^2\psi(\mathbf{r}) + k^2\psi(\mathbf{r}) = 0$, donde $\psi(\mathbf{r})$ y $-k^2$ son las funciones y los valores propios del operador laplaciano. El vínculo del valor propio con parámetros físicos de las ondas o de las partículas, según el caso, determina la especificidad de la ecuación de Helmholtz. Así, (i) $k = \omega/c$, si la ecuación de Helmholtz se refiere a ondas clásicas de frecuencia ω y velocidad c ; (ii) $k = E/\hbar c$, si se refiere a fotones de energía E , con $\hbar = h/2\pi$, siendo h la constante de Planck, y (iii) $k = p/\hbar$, si se refiere a partículas masivas de momento p .

No obstante, las funciones propias del operador laplaciano no son observables físicos en general, pues los detectores que se emplean en los experimentos de interferencia son de módulo cuadrático, es decir, dispositivos que registran la distribución de energía de la onda o de las partículas que inciden sobre el plano del detector. Para determinar este observable físico es necesario considerar la correlación de las funciones propias en parejas de puntos en el espacio, expresada como $W(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = \langle \psi(\mathbf{r}_1)\psi^*(\mathbf{r}_2) \rangle$, donde el símbolo $\langle \rangle$ representa el promedio de ensamble y el asterisco, el complejo conjugado (**Mandel & Wolf**,

1995). Dicha correlación es solución de dos ecuaciones de Helmholtz acopladas por su valor propio, expresadas como $\nabla^2 \psi(\mathbf{r}_j) + k^2 \psi(\mathbf{r}_j) = 0$, con $j = 1, 2$ (Mandel & Wolf, 1995). En efecto, el observable físico registrado por el detector es la componente de la correlación para $\mathbf{r}_1 = \mathbf{r}_2 = \mathbf{r}$, esto es $s(\mathbf{r}) = W(\mathbf{r}, \mathbf{r}) = \langle |\psi(\mathbf{r})|^2 \rangle$. Así, la descripción teórica de un experimento de interferencia con ondas o con partículas consiste en establecer las funciones de correlación asociadas a la configuración del arreglo experimental.

El segundo escenario, esto es la configuración del arreglo experimental, determina las condiciones de frontera requeridas. La Figura 1 indica que dicho arreglo está compuesto, en general, por dos etapas conectadas en cascada y denotadas respectivamente como SM (del plano de la fuente S, al plano de la máscara M, separados por una distancia z') y MD (del plano M al plano del detector D, separados por una distancia z). La etapa SM se denomina también “etapa de preparación” porque especifica las distribuciones de energía y correlación sobre el plano M, para que la interferencia se produzca en la “etapa de realización” MD, y la distribución de energía del patrón de interferencia pueda ser registrada por el detector. Por lo tanto, la descripción teórica completa del experimento se logra estableciendo la función de correlación de pares de puntos en el plano M y la distribución de energía en el plano D. En la sección A de la Información suplementaria se indica el procedimiento matemático que permite expresar, (i) la correlación en el plano M como una expansión modal en la etapa de preparación, cuyos coeficientes son los valores de la correlación en el plano S, y (ii) la distribución de energía en el plano D como una expansión modal en la etapa de realización, cuyos coeficientes son los valores de la correlación en el plano M.

Es útil expresar dichas expansiones modales en función de las coordenadas reducidas ($\mathbf{r}'_A, \mathbf{r}'_D$), (ξ_A, ξ_D) y ($\mathbf{r}_A, \mathbf{r}_D$) ilustradas en la Figura 1, las cuales determinan unívocamente parejas de puntos en los planos S, M y D, respectivamente, señalizados como $\mathbf{r}'_{\pm} = \mathbf{r}'_A \pm \mathbf{r}'_D/2$, $\xi_{\pm} = \xi_A \pm \xi_D/2$ y $\mathbf{r}_{\pm} = \mathbf{r}_A \pm \mathbf{r}_D/2$. Los subíndices A y D no tienen significados particulares; su función es diferenciar la coordenada que señala la posición del punto medio entre una pareja de puntos, designada con el subíndice A, de la coordenada que especifica el vector de separación de dicha pareja, designada con el subíndice D. La Figura 1 indica que las parejas de puntos de cada plano están contenidas en regiones centradas en la coordenada con subíndice A, representadas por los círculos sombreados, las cuales se denominan “soportes estructurados de coherencia espacial” (Castañeda, 2014). Dichos soportes estructurados se caracterizan porque, (i) los valores de la correlación por fuera de ellos son nulos o despreciables; (ii) cada soporte estructurado contiene máximo una pareja de puntos con vector de separación específico, y (iii) los puntos de cada pareja son equidistantes del centro del soporte estructurado.

La preparación del experimento se describe mediante la función de correlación en el plano M

$$W_M(\xi_+, \xi_-) = \int_S d^2 r'_A \mathbf{W}_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-), \quad (1a)$$

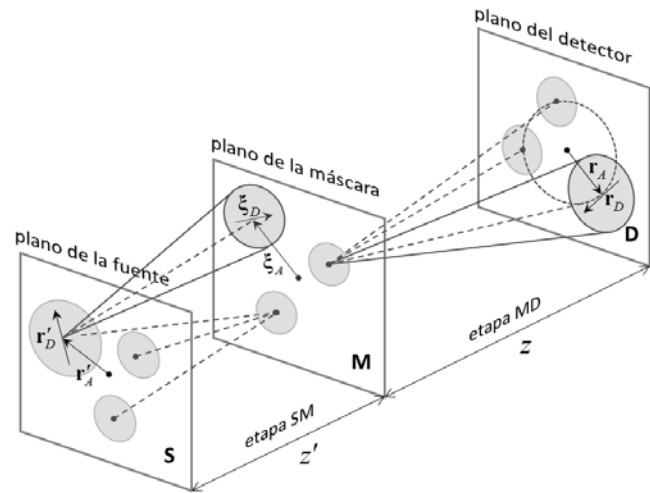


Figura 1. Diagrama conceptual de un montaje interferométrico experimental. Se incluyen las coordenadas reducidas de cada plano. Los círculos sombreados representan los soportes estructurados de coherencia espacial en el plano respectivo. Los conos de correlación están esquematizados en líneas sólidas.

cuyo integrando está dado por la expansión modal

$$\mathbf{W}_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-) = \int_S d^2 r'_D \mathbf{W}_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) \Phi_{SM}(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-; \xi_+, \xi_-; k, z'), \quad (1b)$$

con $W_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)$ como la correlación en el plano S y el kernel de la expansión dado por los modos no-paraxiales

$$\Phi_{SM}(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-; \xi_+, \xi_-; k, z') = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 t_S(\mathbf{r}'_+) t_S^*(\mathbf{r}'_-) \times \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_A - \mathbf{r}'_A + (\xi_D - \mathbf{r}'_D)/2|}{|\mathbf{z}' + \xi_A - \mathbf{r}'_A + (\xi_D - \mathbf{r}'_D)/2|^2}\right) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_A - \mathbf{r}'_A - (\xi_D - \mathbf{r}'_D)/2|}{|\mathbf{z}' + \xi_A - \mathbf{r}'_A - (\xi_D - \mathbf{r}'_D)/2|^2}\right), \quad (1c)$$

$\times \exp(ik|\mathbf{z}' + \xi_A - \mathbf{r}'_A + (\xi_D - \mathbf{r}'_D)/2| - ik|\mathbf{z}' + \xi_A - \mathbf{r}'_A - (\xi_D - \mathbf{r}'_D)/2|)$ los cuales son funciones geométricas, determinísticas y escalares, definidas en el volumen de la etapa de preparación por las condiciones de frontera impuestas por su configuración. La función compleja $t_S(\mathbf{r}'_{\pm}) = |t_S(\mathbf{r}'_{\pm})| \exp[i\phi_S(\mathbf{r}'_{\pm})]$ se conoce como “función de transmisión de la fuente efectiva” de ondas o de partículas, ubicada en el plano S, la cual delimita la región del plano S en la que se emiten las ondas o las partículas. Además, $k = 2\pi/\lambda$, con λ como la “métrica de escala espacial” (Castañeda, 2014), definida como la longitud a lo largo de la cual el propagador espacial del kernel evoluciona en 2π , en concordancia con las condiciones de frontera de la etapa. Por lo tanto, las expresiones $\lambda = 2\pi c/\omega$, $\lambda = hc/E$ y $\lambda = h/p$, que se obtienen vinculando las definiciones físicas de k anteriormente mencionadas con esta definición geométrica, deben entenderse como condiciones de acople de las ondas y las partículas al montaje experimental. Así, las ondas cuya frecuencia ω , los fotones cuya energía E y las partículas masivas cuyo momento p satisfagan tales condiciones de acople, se moverán en la etapa SM siguiendo la geometría de los modos con métrica de escala espacial λ . Es sorprendente cómo esta interpretación del parámetro λ , que difiere de su significado convencional de “longitud de

onda”, ayuda significativamente a remover el requerimiento de dualidad de la explicación del fenómeno de interferencia, como se discute más adelante. La ecuación (1a) formaliza la preparación del experimento en la etapa SM, describiendo, (i) la correlación de dos puntos en el plano M para $\xi_D \neq 0$, y (ii) la distribución de energía en el mismo plano, para $\xi_D = 0$, esto es $S_M(\xi_A) = W_M(\xi_A, \xi_A)$.

Por su parte, el observable físico registrado por el detector en el plano D está dado por

$$S_D(\mathbf{r}_A) = \int_M d^2\xi_A \mathbf{W}_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A) \quad (2a),$$

cuyo integrando está dado por la expansión modal

$$\mathbf{W}_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A) = \int_M d^2\xi_D W_M(\xi_+, \xi_-) \Phi_{MD}(\xi_+, \xi_-; \mathbf{r}_A; k, z), \quad (2b),$$

con el *kernel* de la expansión dado por las funciones geométricas, determinísticas y escalares que constituyen los modos no-paraxiales, definidos en el volumen de la etapa MD en concordancia con las condiciones de frontera de su configuración,

$$\Phi_{MD}(\xi_+, \xi_-; \mathbf{r}_A; k, z) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 t_M(\xi_+) t_M^*(\xi_-) \times \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A - \xi_D/2|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A - \xi_D/2|^2}\right) \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A + \xi_D/2|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A + \xi_D/2|^2}\right) \times \exp(ik|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A - \xi_D/2| - ik|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \xi_A + \xi_D/2|) \quad (2c).$$

En esta expresión, $t_M(\xi_{\pm}) = |t_M(\xi_{\pm})| \exp[i\phi_M(\xi_{\pm})]$ es la “función de transmisión (compleja) de la máscara” que actúa como dispositivo de interferencia ubicado en el plano M. Más adelante será útil considerar la simetría hermítica de estos modos, $\Phi_{MD}(\xi_+, \xi_-; \mathbf{r}_A; k, z) = \Phi_{MD}^*(\xi_-, \xi_+; \mathbf{r}_A; k, z)$.

Un aspecto importante de las expansiones modales en las ecuaciones (1b) y (2b) es que la geometría de los modos no-paraxiales es independiente de la forma explícita de sus coeficientes. De hecho, la geometría de los modos solo puede cambiarse modificando la configuración de la etapa correspondiente. Consideremos ahora el significado físico de esas expresiones. Las cantidades $\mathbf{W}_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-)$ y $\mathbf{W}_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A)$ tienen unidades de energía, conferidas respectivamente por las correlaciones $W_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)$ y $W_M(\xi_+, \xi_-)$, y están definidas en todo el volumen de la etapa del montaje experimental señalizada en su subíndice. De manera más específica, describen distribuciones de energía sobre la geometría determinada por el *kernel* de la respectiva etapa. Los argumentos de $\mathbf{W}_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-)$ indican que esta cantidad se distribuye sobre conos con vértices en cada punto \mathbf{r}'_A del plano S, y con bases sobre el soporte estructurado de coherencia espacial centrado en cada punto ξ_A del plano M. No obstante, el valor de la energía distribuida sobre dicha geometría se obtiene realizando la integral de la ecuación (1b) sobre el soporte estructurado centrado en el vértice del cono \mathbf{r}'_A . Este cono, representado en líneas sólidas en la Figura 1, se denomina “cono de correlación”, ya que contribuye a la correlación sobre cada soporte estructurado en el plano M.

De forma similar, los argumentos de $\mathbf{W}_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A)$ indican que ésta se distribuye sobre conos con vértices en cada punto ξ_A del plano M, y con bases sobre la región de puntos \mathbf{r}_A , correspondiente al área de detección en el plano D. El valor de la energía distribuida sobre dicha geometría se obtiene realizando la integral de la ecuación (2b) sobre el soporte estructurado centrado en el vértice del cono ξ_A . Este cono, representado en líneas punteadas en la Figura 1, se denomina “cono de energía”, ya que su sección transversal determina el patrón de interferencia detectado en el plano D. Por lo tanto, las ecuaciones (1a) y (2a) indican, respectivamente, que, (i) la correlación sobre el soporte estructurado con centro en el punto ξ_A del plano M es la sección transversal del cono resultante del solapamiento de los conos de correlación, con vértices en todos los puntos \mathbf{r}'_A del plano S y la misma base, correspondiente a dicho soporte estructurado; y (ii) la distribución de energía del patrón de interferencia en el plano D es la sección transversal del cono resultante del solapamiento de los conos de energía, con vértices en todos los puntos ξ_A del plano M y la misma base, correspondiente al área de detección en el plano D.

Grado de correlación y filtrado modal

Las correlaciones en los planos S y M son funciones complejas que satisfacen las desigualdades de Schwarz (Mandel & Wolf, 1995) $|W_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)|^2 \leq S_S(\mathbf{r}'_+) S_S(\mathbf{r}'_-)$ y $|W_M(\xi_+, \xi_-)|^2 \leq S_M(\xi_+) S_M(\xi_-)$. Estas desigualdades pueden escribirse como ecuaciones introduciendo, en sus miembros derechos, los factores $|\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)|^2$ y $|\mu_M(\xi_+, \xi_-)|^2$, los cuales deben cumplir los siguientes requisitos:

- $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = |\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)| \exp[i\alpha_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)]$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-) = |\mu_M(\xi_+, \xi_-)| \exp[i\alpha_M(\xi_+, \xi_-)]$, con $\alpha_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = \arg[W_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)]$ y $\alpha_M(\xi_+, \xi_-) = \arg[W_M(\xi_+, \xi_-)]$;
- $0 \leq |\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)| \leq 1$ y $0 \leq |\mu_M(\xi_+, \xi_-)| \leq 1$;
- $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_+) = 1$ y $\alpha_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_+) = 0$, y, de forma similar, $\mu_M(\xi_A, \xi_A) = 1$ y $\alpha_M(\xi_A, \xi_A) = 0$,
- $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = \mu_S^*(\mathbf{r}'_-, \mathbf{r}'_+)$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-) = \mu_M^*(\xi_-, \xi_+)$.

$\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-)$ se conocen como “grados complejos de correlación (o de coherencia) espacial”. Así, las correlaciones en los planos S y M pueden expresarse como $W_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = \mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) \sqrt{S_S(\mathbf{r}'_+)} \sqrt{S_S(\mathbf{r}'_-)}$ y $W_M(\xi_+, \xi_-) = \mu_M(\xi_+, \xi_-) \sqrt{S_M(\xi_+)} \sqrt{S_M(\xi_-)}$. Estas definiciones indican que, (i) el carácter estadístico de las correlaciones deviene de las fluctuaciones en las energías $S_S(\mathbf{r}'_{\pm})$ y $S_M(\xi_{\pm})$ de las ondas y de las partículas, y (ii) los soportes de $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-)$, con centros en los puntos \mathbf{r}'_A del plano S y ξ_A del plano M, respectivamente, son los soportes estructurados de coherencia espacial centrados en dichos puntos.

Luego de reemplazar las anteriores definiciones de las correlaciones en las ecuaciones (1b) y (2b), se observa que $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-)$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-)$ se comportan como filtros modales en las respectivas expansiones. En efecto, los grados de correlación suprimen los modos asociados a parejas de

puntos cuyas separaciones son mayores que el tamaño de sus soportes, y sopesan los modos de las parejas incluidas en sus soportes con valores en el intervalo [0, 1]. Teniendo en cuenta que dichas expansiones modales describen completamente los experimentos de interferencia, se concluye que la interferencia es consecuencia de la filtración realizada por el grado de correlación sobre los modos no-paraxiales definidos en el volumen de cada etapa del montaje experimental. Por lo tanto, el conjunto máximo de modos involucrados en la producción de patrones de interferencia, tanto de ondas como de partículas, es determinado por el montaje experimental bajo la condición $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = 1$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-) = 1$, en tanto que el conjunto mínimo se obtiene bajo la condición $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = 0$ para todo $\mathbf{r}'_D \neq 0$ y $\mu_M(\xi_+, \xi_-) = 0$ para todo $\xi_D \neq 0$.

Una reinterpretación del teorema de Van Cittert-Zernike

Los experimentos de interferencia en los que la emisión de ondas o de partículas por la fuente efectiva es no-correlacionada revisten especial interés. Esto ocurre, por ejemplo, cuando la fuente es térmica, como en el experimento original de Young realizado con luz solar (Born & Wolf, 1993), en los experimentos con electrones singulares producidos por termo-ionización (Frabboni, et al., 2012; Matteucci, et al., 2013), o en los que se emplean moléculas individuales por sublimación (Nairz, et al., 2003; Juffmann, et al., 2012). En estos experimentos se cumple que $\mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) = 0$ para todo $\mathbf{r}'_D \neq 0$, de manera que la ecuación (1b) conduce a

$$W_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-) = S_S(\mathbf{r}'_A) \Phi_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-; k, z'), \quad (3a)$$

y, por lo tanto, la correlación preparada en el plano M según la ecuación (1a) toma la forma

$$W_M(\xi_+, \xi_-) = \int_S d^2r'_A S_S(\mathbf{r}'_A) \Phi_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-; k, z'). \quad (3b)$$

La ecuación (3a) indica que la energía de cada emisión local de ondas o de partículas en el plano S, $S_S(\mathbf{r}'_A)$, contribuirá a la correlación sobre el soporte estructurado centrado en cada punto ξ_A del plano M, debido al cono de correlación determinado por el modo no-paraxial $\Phi_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-; k, z')$. Según la ecuación (3b), la sección transversal del cono resultante del solapamiento de todos los conos de correlación establecerá la correlación $W_M(\xi_+, \xi_-)$ sobre dicho soporte estructurado, a pesar de que las emisiones locales de la fuente efectiva sean no-correlacionadas. En otras palabras, la correlación en el plano M se debe a la geometría del kernel modal en la etapa SM del montaje experimental.

En óptica, la ecuación (3b) se conoce como teorema de Van Cittert-Zernike (no-paraxial) (Castañeda, 2014), y se interpreta como la predicción de que las ondas emitidas en procesos no-correlacionados ganan correlación espacial solo a causa de su propagación. Sin embargo, esta interpretación no es aplicable a la preparación de experimentos de interferencia con partículas singulares, puesto que, aunque la correlación de sus funciones de onda cuántica pueda calcularse, esta no tiene un significado físico preciso que pueda

respaldar la hipótesis de ganancia de correlación como atributo físico de las partículas individuales debido a su movimiento. En cambio la interpretación geométrica de la ecuación (3b) es independiente de tales atributos físicos asignados a las ondas o a las partículas, al tiempo que mantiene la precisión predictiva de los resultados experimentales, como se ilustrará más adelante.

Asimismo, la ecuación (1a) es congruente con esta interpretación, lo cual indica que los cambios geométricos de los conos de correlación se deben a la inclusión de más modos no-paraxiales en el kernel cuando las emisiones locales de ondas o de partículas son parcial o totalmente correlacionadas. En efecto, las variaciones de los conos de correlación debidas a esta causa se evidencian escribiendo la ecuación (1b) como sigue:

$$W_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-) = S_S(\mathbf{r}'_A) \Phi_{SM}(\mathbf{r}'_A; \xi_+, \xi_-; k, z') + \int_{\substack{S \\ r'_D \neq 0}} d^2r'_D \mu_S(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-) \sqrt{S_S(\mathbf{r}'_+)} \sqrt{S_S(\mathbf{r}'_-)} \Phi_{SM}(\mathbf{r}'_+, \mathbf{r}'_-; \xi_+, \xi_-; k, z'), \quad (4)$$

donde el primer término describe la contribución de las emisiones no-correlacionadas en el plano S a la correlación en el plano M, mientras que el segundo describe las contribuciones aportadas por las emisiones con un cierto grado de correlación.

Una nueva ley general de interferencia

La interferencia de ondas y de partículas se formaliza a través de una ley matemática que en óptica lleva el nombre de ley general de interferencia (Born & Wolf, 1993), la cual se refiere al experimento de Young, ya sea con ondas (Born & Wolf, 1993), o con partículas (Zeilinger, et al., 1988; Matteucci, et al., 2013), cuyo desarrollo se presenta en la sección B de la información suplementaria.

La preparación del experimento en la etapa SM consiste en determinar la correlación y la distribución de energía en el plano M, las cuales se obtienen a partir de las ecuaciones (1a) y (B2), así:

$$W_M(\xi_+, \xi_-) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 S_S(0) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_A + \xi_D/2|}{|\mathbf{z}' + \xi_A + \xi_D/2|^2} \right) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_A - \xi_D/2|}{|\mathbf{z}' + \xi_A - \xi_D/2|^2} \right), \quad (5a)$$

$$\times \exp(i k |\mathbf{z}' + \xi_A + \xi_D/2| - i k |\mathbf{z}' + \xi_A - \xi_D/2|)$$

$$y \quad S_M(\xi_A) = W_M(\xi_A, \xi_A) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 S_S(0) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \xi_A|}{|\mathbf{z}' + \xi_A|^2} \right)^2. \quad (5b)$$

Ahora bien, la máscara en el plano M tendrá solamente un par de agujeros circulares idénticos y de tamaño arbitrariamente pequeño. Estos agujeros, conocidos como *pinholes*, se ubican de manera que el punto medio entre ellos esté en $\xi_A = 0$ y su vector de separación sea $\xi_D = \mathbf{b}$. Así, la pareja de *pinholes* estará correlacionada solo en el caso en que quede inscrita en el soporte estructurado con diámetro $\sigma > b$ y centro en $\xi_A = 0$. De acuerdo con la ecuación (5a), su correlación es

$$W_M(\mathbf{b}) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 S_S(0) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' + \mathbf{b}/2|}{|\mathbf{z}' + \mathbf{b}/2|^2}\right) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' - \mathbf{b}/2|}{|\mathbf{z}' - \mathbf{b}/2|^2}\right) \exp(ik|\mathbf{z}' + \mathbf{b}/2| - ik|\mathbf{z}' - \mathbf{b}/2|) \quad (6a)$$

Por su parte, la energía de las ondas o las partículas que atraviesan los *pinholes* de la máscara M se obtiene evaluando la ecuación (5b) para $\xi_A = \pm \mathbf{b}/2$, esto es

$$S_M(\pm \mathbf{b}/2) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 S_S(0) \left(\frac{z' + |\mathbf{z}' \pm \mathbf{b}/2|}{|\mathbf{z}' \pm \mathbf{b}/2|^2}\right)^2 \quad (6b)$$

Así, las ondas o las partículas atravesarán los *pinholes* con la misma energía siempre que el área iluminada tenga un diámetro $\varepsilon > b$, incluso si los eventos de emisión son singulares. Además, como la fuente efectiva es también un *pinhole*, se tiene que $\sigma > \varepsilon > b$, es decir, las ondas o las partículas atravesarán *pinholes* correlacionados en el plano M, incluso cuando solo uno de ellos es atravesado por una partícula singular. En otras palabras, la correlación no será una característica no-local de las ondas o de las partículas que se mueven en el interferómetro, sino un atributo extendido de la configuración del montaje experimental. Las ecuaciones (6) representan, entonces, la preparación del experimento de interferencia de Young.

Consideremos ahora las ecuaciones (2a) y (5b), las cuales permiten expresar la distribución de energía del patrón de interferencia en el plano D como $S_D(\mathbf{r}_A) = S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) + S_D^{(-)}(\mathbf{r}_A)$, con

$$S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) = S_R^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) + S_V(\mathbf{r}_A) \quad (7)$$

como las distribuciones de energía sobre las secciones transversales de los conos $W_{MD}^{(\pm)}(\xi_A; \mathbf{r}_A)$, los cuales se muestran en la Figura 2, tanto en la región cercana al plano M como en el campo lejano. Los términos de la ecuación (7) son

$$S_R^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 S_M(\pm \mathbf{b}/2) \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A \pm \mathbf{b}/2|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A \pm \mathbf{b}/2|^2}\right)^2 \quad (8a)$$

y

$$S_V(\mathbf{r}_A) = \left(\frac{k}{4\pi}\right)^2 |\mu_M(\mathbf{b})| \sqrt{S_M(\mathbf{b}/2)} \sqrt{S_M(-\mathbf{b}/2)} \times \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \mathbf{b}/2|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \mathbf{b}/2|^2}\right) \left(\frac{z + |\mathbf{z} + \mathbf{r}_A + \mathbf{b}/2|}{|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A + \mathbf{b}/2|^2}\right) \cos(k|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A - \mathbf{b}/2| - k|\mathbf{z} + \mathbf{r}_A + \mathbf{b}/2| + \alpha_M(\mathbf{b})) \quad (8b)$$

La similitud geométrica de los conos correspondientes en la Figura 2 es notable, incluso considerando su marcada diferencia de escala. La condición $S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) \geq 0$ se cumple en todos los puntos de la región delimitada por líneas punteadas en los grafos (a1), (a3), (b1) y (b3), ya que en esta región la magnitud del valor negativo del término cosenoidal de la ecuación (7) en un punto dado no supera el valor positivo del primer término de dicha ecuación en el mismo punto. Tal condición se extiende a toda la sección transversal del cono a distancias de campo lejanas del plano M, como se ilustra en los grafos (a2), (a4), (b2) y (b4).

Es importante señalar que si se retira el cono modulador, la región en la que se cumple la condición $S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) \geq 0$

corresponderá al volumen del respectivo cono real. Se concluye, entonces, que $S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) \geq 0$ es una condición física para el movimiento de ondas y partículas en la etapa MD del montaje experimental. Tal condición implica que los puntos en los cuales $S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) < 0$ constituyen zonas prohibidas para dicho movimiento.

La imagen (c1) de la Figura 2 es el resultado del solapamiento de los conos en las imágenes (a1) y (b1). Similarmente, la imagen (c2) resulta de superponer (a2) y (b2), y el mismo procedimiento se aplica para las imágenes (c3) y (c4). Los perfiles de las secciones transversales de los grafos en la fila (c) de la Figura 2 describen los patrones de interferencia del experimento de Young, registrados por el detector en el plano D. Estos patrones cumplen la condición $S_D(\mathbf{r}_A) \geq 0$ en el volumen completo de la etapa MD.

Una descripción alternativa del fenómeno de interferencia

De acuerdo con la descripción anterior del experimento de Young, la interferencia, tanto de ondas como de partículas, puede explicarse de la siguiente manera.

(i) La fuente efectiva tiene eventos locales de emisión de ondas o partículas que se mueven hacia el plano M, donde está ubicada la máscara con dos *pinholes*. Las partículas singulares solo pueden cruzar uno de ellos, pero las ondas pueden establecer perturbaciones en ambos *pinholes* al tiempo. A pesar de esta simultaneidad, el hecho de que los conos de energía asociados a los *pinholes* no puedan modularse mutuamente caracteriza el cruce de la energía ondulatoria por ellos como dos eventos locales separados. El arribo de las ondas y de las partículas al plano D es registrado localmente por el detector en ese plano.

(ii) El carácter no-local o extendido del fenómeno de interferencia se debe a la geometría de los conos modulados, determinados por los modos no-paraxiales de los *kernels* de cada etapa del montaje experimental. Como en este modelo interpretativo la determinación del cono modulador es independiente de las ondas y las partículas que se mueven en el interferómetro, el principio de superposición de ondas no es aplicable.

(iii) Si ambos *pinholes* están inscritos dentro del mismo cono de correlación y permanecen abiertos durante el lapso entre un evento de emisión y su correspondiente evento de detección, la onda o la partícula emitidas (incluso individualmente) se moverán a través del cono modulado completo en la etapa SM. En consecuencia, un patrón de franjas de interferencia se producirá luego de un número suficientemente alto de eventos de detección.

(iv) Si ambos *pinholes* no pueden inscribirse en el mismo cono de correlación o uno de los *pinholes* es bloqueado, el cono modulador desaparece en el volumen de la etapa MD. Así, las perturbaciones ondulatorias o las partículas singulares que cruzan los *pinholes* se moverán dentro del cono real lorentziano resultante en dicha etapa y no producirán patrones de franjas de interferencia en el plano D.

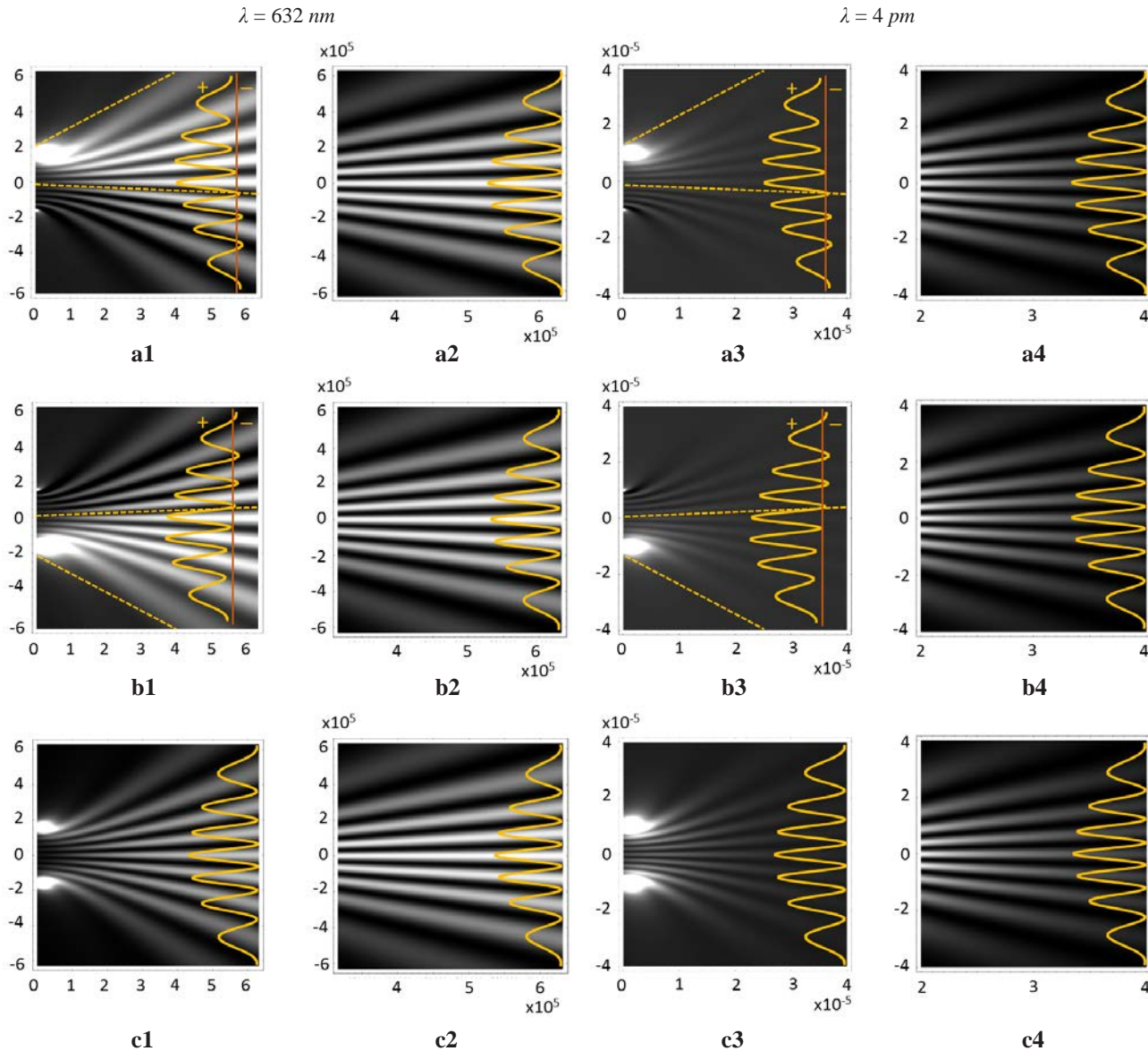


Figura 2. Conos $W_{MD}^{(+)}(\xi_A, \mathbf{r}_A)$ en la fila superior, $W_{MD}^{(-)}(\xi_A, \mathbf{r}_A)$ en la fila media y $W_{MD}(\xi_A, \mathbf{r}_A)$ en la fila inferior. Las imágenes en las columnas 1 y 3 muestran las porciones de los conos cerca al plano M, indicando que sus vértices se ubican en $\xi_A = \pm b/2$ y que los conos solo toman valores positivos en las regiones delimitadas por las líneas punteadas. Las imágenes de las columnas 2 y 4 muestran las porciones en campo lejano. Los grafos en las columnas 1 y 2 corresponden a interferencia de ondas, y fueron resaltados por motivos de presentación, en tanto que los de las columnas 3 y 4 corresponden a la interferencia de partículas singulares y muestran el decaimiento debido a la ley $1/z^2$, que también se cumple en la interferencia con ondas. Para ambos casos de interferencia se empleó $\mu(b) = 1$ y $b = 5\lambda$. Las unidades de los ejes en todos los grafos son μm . El eje horizontal es z y los ejes verticales son ξ_A para $z = 0$ y r_A para $z > 0$. Los perfiles verticales son las secciones transversales de los conos a lo largo del extremo derecho vertical de las imágenes. El aumento paulatino de la frecuencia espacial de las franjas hacia el centro del patrón se debe a la no linealidad del argumento del propagador espacial en el *kernel* modal (Castañeda, 2014).

(v) De acuerdo con (iii) y (iv), la noción de dualidad es innecesaria en este modelo interpretativo para explicar la construcción de patrones de interferencia por partículas singulares. Este aspecto invita a revisar el papel de ideas ampliamente aceptadas como el colapso de la función de onda, la deslocalización de partículas y la auto-interferencia.

(vi) La estadística del proceso de detección depende de la estadística del proceso de emisión y de la probabilidad

de que un evento de emisión en la fuente efectiva realice un evento de cruce de *pinhole* en la máscara del plano M. Por lo tanto, se requiere un gran número de eventos de emisión para llenar la geometría del cono modulado en la etapa MD y producir el patrón de franjas de interferencia en el plano D.

La explicación anterior sugiere que la ecuación (7) tiene carácter de ley natural en la región donde $S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A)$ es un observable físico, esto es, bajo la condición $S_D^{(\pm)}(\mathbf{r}_A) \geq 0$.

En efecto, ella predice con total precisión el movimiento de ondas y partículas en la etapa MD de cualquier interferómetro de Young. Esta afirmación se ve validada por:

(i) la detección de partículas, cuadro por cuadro, en experimentos de interferencia con partículas singulares (Nairz, *et al.*, 2003; Juffmann, *et al.*, 2009; Matteucci, *et al.*, 2013). Cada cuadro registra, como máximo, un único evento de detección de energía $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A)$, de manera que el patrón de interferencia se obtiene mediante la adición de dichos cuadros, esto es, $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) + S_D^{(-)}(\mathbf{r}_A)$, y por

(ii) la detección de patrones de interferencia de ondas con distribución de energía $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) + S_D^{(-)}(\mathbf{r}_A)$ en un único cuadro (Born & Wolf, 1993).

Por estas razones, la ecuación (7) constituye la ley general de interferencia en el contexto de la nueva interpretación, cuya aplicación opera para ondas clásicas y partículas de materia. Esta ley es más fundamental que la ley convencional de interferencia óptica (Born & Wolf, 1993; Mandel & Wolf, 1995), solo formalizada por la suma $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) + S_D^{(-)}(\mathbf{r}_A)$.

Potencial geométrico y principio de interferencia

Es claro que $|\mu_M(\mathbf{b})|$ disminuye si $b \rightarrow \sigma$, con lo cual el efecto del cono modulador sobre los conos reales en la etapa MD se debilita. En consecuencia, el contraste de las franjas se reduce en el cono modulado y, por consiguiente, en el patrón de interferencia en el plano D. Este comportamiento puede verificarse experimentalmente con solo aumentar el diámetro a de la fuente efectiva, sin cambiar sus propiedades físicas y estadísticas. Ello indica que los significados físicos de los dos términos de la ecuación (7), y por ende de los conos real y modulador, son muy diferentes.

El primer término, definido en la ecuación (8a), es una función real y definida positivamente, que determina el cono real, de sección transversal lorentziana, cuya geometría es independiente de la correlación en el plano M. Este término corresponde a la energía de la perturbación ondulatoria o de la partícula que cruza uno de los *pinholes*, la cual es un observable físico. El segundo término, definido en la ecuación (8b), es una función determinada esencialmente por la configuración de la etapa MD, y toma valores positivos y negativos, y, por lo tanto, no puede ser un observable físico, a pesar de sus unidades de energía. Este término especifica la geometría del cono modulador, y su peso relativo está dado principalmente por la correlación en el plano M, cuyo significado, también geométrico, está ligado a la configuración de la etapa de preparación SM. Por tal razón, denominamos dicho término como “potencial geométrico” (Castañeda, 2017 a), ya que la modulación que introduce sobre el cono real actúa sobre el movimiento de las ondas y las partículas en la etapa MD, dirigiéndolo hacia las franjas brillantes de los grafos de la Figura 2.

Debe enfatizarse que el potencial geométrico no está asociado a un agente físico representable mediante un término explícito en la ecuación de Helmholtz, como ocurre,

por ejemplo, con el potencial coulombiano de la ecuación de Schrödinger para el electrón orbital de un átomo. No obstante, el potencial geométrico está implícito en la expansión modal que determina la correlación en el fenómeno de interferencia, y que implica dos ecuaciones acopladas de Helmholtz.

El análisis anterior sugiere que la ecuación (7) representa la interacción entre la perturbación ondulatoria o la partícula individual que atraviesa uno de los *pinholes* y el arreglo experimental del interferómetro de Young. Para caracterizar apropiadamente esta interacción, se postula la existencia de (i) un “emisor puntual real”, ubicado en el vértice de cada cono real, el cual da cuenta de la energía de la perturbación ondulatoria o de la partícula en el *pinhole* en dicho vértice; y (ii) un “emisor puntual virtual”, ubicado en el punto medio entre los *pinholes*, el cual da cuenta de la energía del potencial geométrico en la etapa MD (ver Figura S1) (Castañeda, *et al.*, 2016 a; Castañeda, 2017 a). Así, la nueva ley general de interferencia, dada por la ecuación (7), establece la energía de la interacción no-local entre un emisor puntual real y un emisor puntual virtual, interacción que constituye el nuevo “principio generalizado de interferencia” para ondas y partículas (Castañeda, 2017 a). Sus aspectos más destacables son los siguientes.

(i) Las interacciones descritas por $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A)$ y $S_D^{(-)}(\mathbf{r}_A)$ ocurren de manera separada, incluso en el caso de perturbaciones ondulatorias que cruzan ambos *pinholes* al tiempo. El patrón de interferencia resultará, entonces, de la adición de todas las interacciones realizadas.

(ii) Para que una interacción ocurra, ambos *pinholes* tienen que estar abiertos durante el evento de cruce de la máscara en el plano M, incluso si el experimento se hace con partículas singulares. El bloqueo de uno de los *pinholes* anula el grado de correlación $\mu(\mathbf{b})$, eliminando al emisor puntual virtual, lo cual destruye el potencial geométrico. Esto confirma, una vez más, el estrecho vínculo causal entre el montaje experimental y el potencial geométrico.

(iii) La interacción entre emisores puntuales reales y virtuales es conservativa. Previamente se ha establecido que $\int d^2r_A \Phi_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A; k, z) = 1$ y $\int d^2r_A \Phi_{MD}(\xi_+, \xi_-; \mathbf{r}_A; k, z) = 0$ (Castañeda, 2014; Castañeda, 2017 a) y, por lo tanto, de las ecuaciones (2) se sigue que $\int_D d^2r_A S_D(\mathbf{r}_A) = \int_M d^2\xi_A \int_D d^2r_A \mathbf{W}_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A) = \int_M d^2\xi_A S_M(\xi_A)$.

Interferencia con fuentes extendidas y rejillas

Consideremos ahora los experimentos preparados con fuentes efectivas extendidas y realizados con rejillas de *pinholes* (arreglos lineales regularmente espaciados). Los conos de correlación producidos por fuentes efectivas extendidas en la etapa SM son de apertura angular más estrecha y de geometría diferente a la de los conos de correlación lorentzianos, producidos por un único *pinhole*. En consecuencia, las parejas de puntos en el plano M son, en general, parcialmente correlacionadas, y se necesitan varios conos de correlación para cubrir todas las parejas de puntos incluidas en la rejilla. Esto significa que, para caracterizar completamente este

tipo de experimentos, se requieren conjuntos discretos de emisores puntuales reales (un emisor por cada *pinhole* de la rejilla) y de emisores puntuales virtuales (un emisor por cada cono de correlación requerido) distribuidos en el plano M, así como sus correspondientes modos no-paraxiales en todo el volumen de la etapa MD.

Una novedosa herramienta, denominada “espectro de clases de emisores puntuales” (Castañeda & Muñoz, 2016), se ha diseñado específicamente para esta caracterización. El espectro de clases permite construir el mapa completo de las interacciones entre los emisores puntuales reales y virtuales que se presentan en un experimento específico. Dicho espectro se representa como un grafo de puntos distribuidos en un plano de ejes cartesianos (ξ_A, ξ_D) , donde la abscisa ξ_A especifica la posición del emisor puntual sobre el plano M, del cual el punto considerado es componente, mientras que la ordenada ξ_D determina el orden de la clase a la que dicho punto pertenece (Castañeda & Muñoz, 2016). El término “componente” se refiere al hecho de que los emisores puntuales virtuales se caracterizan por una expansión modal sobre las clases de pares de emisores, especificadas por su vector de separación. Además, a cada punto se le asigna el valor del coeficiente de la expansión modal de $S_D(\mathbf{r}_A)$, como se estipula en la siguiente definición matemática:

$$SC_M(\xi_A, \xi_D) = \{S_M(\xi_A), |\mu_M(\xi_+, \xi_-)| \sqrt{S_M(\xi_+)} \sqrt{S_M(\xi_-)}\} \quad (9a)$$

con

$$SC_M^{(R)}(\xi_A, 0) = \{S_M(\xi_A)\} \quad (9b)$$

como la clase de orden cero, que se corresponde con el subconjunto de emisores puntuales reales en los *pinholes* de la rejilla, y

$$SC_M^{(V)}(\xi_A, \xi_D^{(n)}) = \{|\mu_M(\xi_+, \xi_-^{(n)})| \sqrt{S_M(\xi_+)} \sqrt{S_M(\xi_-^{(n)})}, n = 1, 2, 3, \dots\} \quad (9c)$$

como la clase de orden n , compuesta por el subconjunto de parejas de *pinholes* con vectores de separación $\xi_D^{(n)}$, cuyos puntos medios están ubicados en las posiciones ξ_A . Las clases están ordenadas de manera que $|\xi_D^{(n)}| < |\xi_D^{(n+1)}|$. Si una pareja de una clase dada está inscrita en un cono de correlación preparado en la etapa SM, la pareja estará correlacionada y será componente del emisor puntual virtual asociado a dicho cono de correlación. Debe subrayarse que cada cono de correlación inscribe, como máximo, un elemento de cada clase correlacionada.

En la interferencia con ondas se ha establecido que la clase de orden cero es necesariamente discreta (Castañeda, 2017 b), y ese atributo es crucial para la caracterización adecuada de fuentes efectivas extendidas y rejillas. En efecto, se reportaron los siguientes criterios para un arreglo lineal regular, con período b , de N emisores puntuales reales correlacionados:

$b > \lambda$	interferencia
$\lambda/10 < b \leq \lambda < (N-1)b$	difracción
$\lambda/10 < b < (N-1)b \leq \lambda$	transición
$(N-1)b \leq \lambda/10$	emisor puntual real

El término “transición” en los anteriores criterios indica que ese rango se caracteriza por producir distribuciones de

energía de forma acampanada, diferentes tanto a los patrones de difracción convencionales, caracterizados por un máximo central y máximos secundarios laterales, como al patrón lorentziano característico de los emisores puntuales reales. Además, el último criterio, que caracteriza precisamente la producción de dicho patrón lorentziano, es independiente del número N de emisores puntuales reales y de su estado de correlación. Así, en la etapa de preparación SM el segundo criterio caracteriza los conos de correlación y de energía asociados a las fuentes efectivas extensas, en tanto que en la etapa de realización MD el primero caracteriza los conos de energía, en sus componentes real y modulador, asociados a rejillas ubicadas en el plano M.

La Figura 3 muestra el efecto del tamaño de la fuente efectiva uniforme en el plano S, especificado por su longitud $(N - 1) \lambda/2$, sobre la preparación del experimento en la etapa SM. Los perfiles en (a) confirman la reducción en el diámetro del soporte estructurado en el plano M en la medida en que la longitud de la fuente efectiva aumenta. No obstante, los perfiles en (b) muestran que la sección transversal del cono lorentziano de energía es invariante con respecto al aumento de longitud de la fuente efectiva. Esto se debe a que, (i) los emisores puntuales reales son no-correlacionados, y (ii) la longitud z' de la etapa SM es suficientemente larga para que los conos lorentzianos asociados a cada emisor puntual individual se solapen, produciendo un cono resultante con sección transversal lorentziana.

Analicemos ahora las interacciones entre los emisores puntuales reales y virtuales distribuidos en el plano M de un experimento de interferencia con rejilla, preparado bajo las condiciones ilustradas en la Figura 3. Con el fin de comprender los fundamentos de la construcción del mapa de interacciones con base en el espectro de clases, consideremos inicialmente la realización experimental más simple, que consiste en insertar una rejilla con tres *pinholes* colineales y equidistantes, de manera que

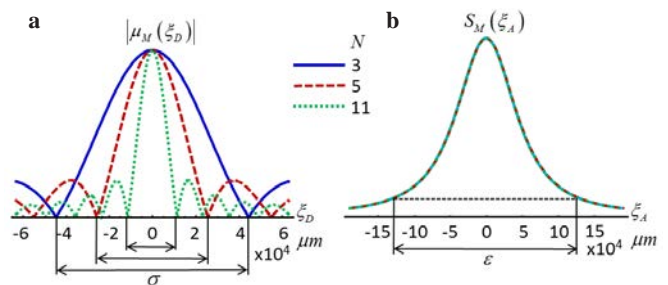


Figura 3. Perfiles de: (a) la magnitud de los grados de correlación en el plano M preparados en la etapa SM considerando como fuente efectiva un arreglo lineal de N emisores puntuales reales idénticos, no-correlacionados y regularmente espaciados con período $\lambda/2$ ($z' = 10^5 \lambda$, $\lambda = 632nm$). Independientemente de sus tamaños, todas las fuentes efectivas producen la misma distribución lorentziana de energía en el plano M, como muestran los perfiles en (b). Aunque el diámetro del soporte estructurado σ disminuye cuando el número de emisores puntuales reales aumenta, el diámetro ε del área iluminada en el plano M permanece prácticamente invariante.

$$t_M(\xi_+)t_M(\xi_-) = [\delta(\xi_A + \mathbf{b}) + \delta(\xi_A) + \delta(\xi_A - \mathbf{b})]\delta(\xi_D) + [\delta(\xi_A + \mathbf{b}/2) + \delta(\xi_A - \mathbf{b}/2)][\delta(\xi_D + \mathbf{b}) + \delta(\xi_D - \mathbf{b})] + [\delta(\xi_D + 2\mathbf{b}) + \delta(\xi_D - 2\mathbf{b})]\delta(\xi_A) \quad (10)$$

En la ecuación (10) es evidente que $t_M(\xi_+)t_M^*(\xi_-)$ introduce las clases de emisores puntuales en el modelo matemático presentado. En general, el producto $t_M(\xi_+)t_M^*(\xi_-)$ determina el máximo número de clases y su distribución en el plano M, el cual podrá ser filtrado por el grado de correlación preparado en la etapa SM. En el caso de una máscara con tres *pinholes* colineales, la ecuación (10) indica la existencia de un máximo de tres clases de emisores puntuales:

(i) la clase de orden cero (primera línea de la ecuación), conformada por los emisores puntuales reales en los *pinholes* de la máscara, ubicados en $\xi_A = 0, \pm \mathbf{b}$;

(ii) la clase de primer orden (segunda línea de la ecuación), caracterizada por el vector de separación $\xi_D = \pm \mathbf{b}$. Sus dos miembros determinan dos emisores puntuales virtuales ubicados en los puntos medios entre los *pinholes*, $\xi_A = \pm \mathbf{b}/2$, y

(iii) la clase de segundo orden (tercera línea de la ecuación), con un único miembro con vector de separación $\xi_D = \pm 2\mathbf{b}$, que determina al emisor puntual virtual ubicado en $\xi_A = 0$, posición compartida con un emisor puntual real.

Por lo tanto, según las ecuaciones (9), el espectro de clases de emisores puntuales para el experimento considerado estará dado por los conjuntos

$$\mathbf{SC}_M^{(R)}(\{\pm \mathbf{b}, 0\}, 0) = \{S_M(\mathbf{b}), S_M(0), S_M(-\mathbf{b})\} \quad (11a)$$

para la clase de orden cero,

$$\mathbf{SC}_M^{(V)}(\pm \mathbf{b}/2, \mathbf{b}) = \left\{ |\mu_M(\mathbf{b}, 0)| \sqrt{S_M(\mathbf{b})} \sqrt{S_M(0)}, |\mu_M(0, -\mathbf{b})| \sqrt{S_M(0)} \sqrt{S_M(-\mathbf{b})} \right\} \quad (11b)$$

para la clase de primer orden, y

$$\mathbf{SC}_M^{(V)}(0, 2\mathbf{b}) = \left\{ |\mu_M(\mathbf{b}, -\mathbf{b})| \sqrt{S_M(\mathbf{b})} \sqrt{S_M(-\mathbf{b})} \right\} \quad (11c)$$

para la clase de segundo orden. Este espectro de clases se ilustra en la Figura 4 para una correlación completa en (a1), una correlación parcial en (a2) y no-correlación en (a3). La simetría de los grafos respecto al eje $\xi_D = 0$ es redundante y representa solo los dos grados de libertad en orientación de los vectores de separación. Debido a la redundancia de esta simetría, basta con considerar el segmento de los espectros de $\xi_D \geq 0$ para construir el mapa completo de interacciones, representado por las flechas en la Figura 4. Estas indican que, en el caso completamente correlacionado, cada emisor puntual real tiene dos interacciones con emisores puntuales virtuales. Específicamente, el emisor puntual real en el *pinhole* central interactúa con los dos emisores puntuales virtuales de la clase de primer orden, mientras que los emisores puntuales reales en los *pinholes* de los extremos interactúan con el emisor puntual virtual de la clase de segundo orden y con uno de la clase de primer orden.

Los conos en la fila (1) presentan modulación de alto contraste debido a que todos los miembros de ambas clases (órdenes 1 y 2) contribuyen al potencial geométrico,

lo que produce una fuerte interacción; este contraste baja significativamente en los conos de la fila (2), puesto que la filtración de clases debilita los emisores puntuales virtuales y sus contribuciones al potencial geométrico, lo cual a su vez debilita las interacciones; por último, la fila (3) no incluye conos modulados porque todas las clases han sido filtradas, de manera que el potencial geométrico desaparece y no se producen interacciones. Debe anotarse que el cono $\mathbf{W}_{MD}^{(-)}(\xi_A; \mathbf{r}_A)$ no se incluye porque es el simétrico de $\mathbf{W}_{MD}^{(+)}(\xi_A; \mathbf{r}_A)$ (columna (b)) con respecto al eje $\xi_A = \mathbf{r}_A = 0$.

El cono modulado $\mathbf{W}_{MD}(\xi_A; \mathbf{r}_A) = \mathbf{W}_{MD}^{(+)}(\xi_A; \mathbf{r}_A) + \mathbf{W}_{MD}^{(0)}(\xi_A; \mathbf{r}_A) + \mathbf{W}_{MD}^{(-)}(\xi_A; \mathbf{r}_A)$, representado en los grafos de la columna (d), indica el resultado de un número significativo de realizaciones de las seis interacciones que se producen en este interferómetro. La distribución de energía del patrón de interferencia registrado por el detector corresponde a la sección transversal de este cono en el plano D, dada por $S_D(\mathbf{r}_A) = S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) + S_D^{(0)}(\mathbf{r}_A) + S_D^{(-)}(\mathbf{r}_A)$, como lo ejemplifica el perfil vertical para $z = 10\lambda$ en dichos grafos.

Como consecuencia de las interacciones, la energía de las ondas que se mueven en la etapa MD es dirigida hacia las franjas brillantes de los grafos de la Figura 4, las cuales satisfacen las condiciones $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) > 0$, $S_D^{(0)}(\mathbf{r}_A) > 0$ y, por lo tanto, $S_D(\mathbf{r}_A) > 0$. Los máximos de estas franjas brillantes caracterizan lo que denominamos “interferencia constructiva”. Las regiones en las que estas condiciones no se cumplen son regiones prohibidas para el movimiento de las ondas. En particular, las franjas para las que $S_D^{(+)}(\mathbf{r}_A) = 0$, $S_D^{(0)}(\mathbf{r}_A) = 0$ y, por lo tanto, $S_D(\mathbf{r}_A) = 0$, caracterizan lo que denominamos “interferencia destructiva”.

Las imágenes de la fila (1) de la Figura 4 ilustran la interferencia bajo correlación completa, mientras que las de la fila (2) muestran el efecto de la correlación parcial debida a la filtración de clases realizada por un grado de correlación de la forma $\mu_M(\xi_D) = \exp(-|\xi_D|^2/2\sigma^2)$, con $\sigma = 1.5\lambda$. En este caso, la clase de segundo orden es removida del espectro de clases de emisores puntuales y el potencial geométrico aportado por la clase de primer orden se debilita. En consecuencia, se producen apenas cuatro tipos de interacciones de menor energía que las de la correlación completa, de manera que la modulación de franjas de los conos pierde contraste y las franjas de los patrones de interferencia pierden visibilidad. Para la fila (3) se tiene que $\sigma = 0.3\lambda$, con lo cual el grado de correlación filtra en su totalidad las clases de primero y segundo órdenes. Así, tanto el potencial geométrico como las interacciones desaparecen y solo se mantienen los conos lorentzianos asociados a los emisores puntuales reales en los *pinholes* de la máscara en el plano M. Estos conos determinan la geometría para el movimiento de las ondas en la etapa MD, por lo cual el patrón registrado en el plano D no presenta franjas de interferencia.

El procedimiento anterior constituye el elemento algorítmico básico para explicar y predecir la interferencia tanto de ondas como de partículas masivas, con un número arbitrario de emisores puntuales reales en el plano M y en arreglos

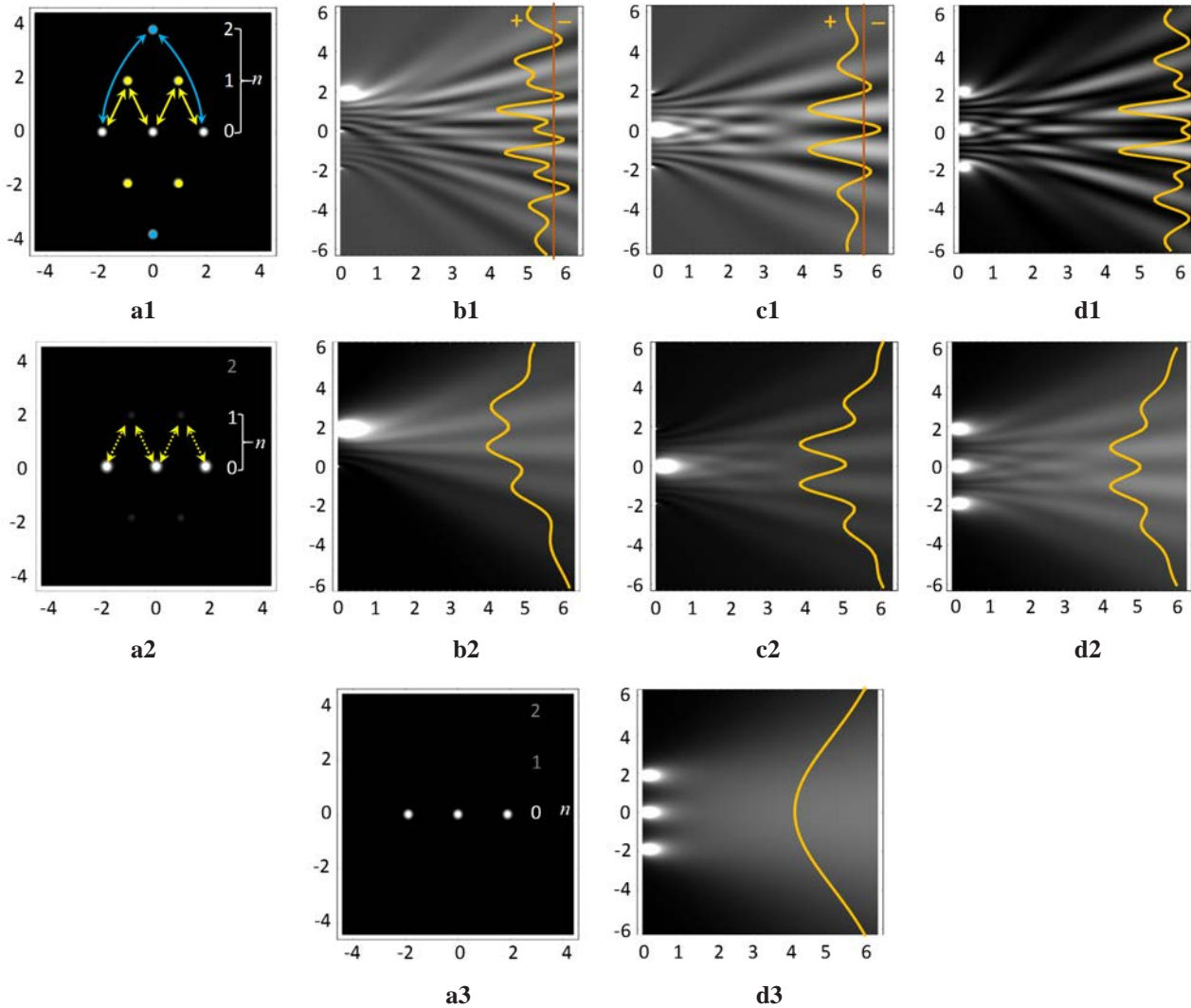


Figura 4. Potencial geométrico para la interferencia de ondas ($\lambda = 632 \text{ nm}$) en un interferómetro con máscara de tres *pinholes* colineales, con espaciamento uniforme de 3λ , bajo correlación completa en la fila (1), correlación parcial (grado de correlación gaussiano con desviación estándar de 1.5λ) en la fila (2) y no-correlación (grado de correlación gaussiano con desviación estándar de 0.3λ) en la fila (3). La columna (a) muestra los grafos de los espectros de clases de emisores puntuales, donde el índice n denota el orden de las clases y las flechas indican las interacciones entre cada emisor puntual real y los emisores puntuales virtuales. Sus ejes horizontal y vertical son ξ_A y ξ_D , y sus unidades son μm .

experimentales caracterizados por conjuntos arbitrarios de emisores puntuales virtuales. Esto se ilustra en la Figura 5 para la interferencia con ondas y partículas masivas, considerando un máximo de 11 clases ($0 \leq n \leq 10$), cada una con $11-n$ elementos. Las flechas signadas como interaction links directions (ILD) son clave para la construcción del mapa de interacciones en cada caso. En efecto, cada emisor puntual real interactúa solo con los elementos de las clases que son colineales con él a lo largo de las direcciones marcadas por las flechas ILD. Así, el mapa de interacciones se construye colocando la punta inferior de ambas flechas en cada elemento de la clase de orden cero para vincularlo con los puntos del espectro a lo largo de las flechas, como lo indican las rectas punteadas en (a1) y (a2). El vínculo

de un elemento de la clase de orden cero con un elemento dado de una clase de orden mayor que cero representa una interacción, descrita por la nueva ley general de interferencia. El mapa de interacciones completo queda construido una vez que este procedimiento se aplique a todos los elementos de la clase de orden cero.

El ejemplo de la fila (1) en la Figura 5 indica que cada emisor puntual real interactúa con componentes de 10 emisores puntuales virtuales, aunque el número de emisores puntuales en este caso es 19. Este número de interacciones se reduce en los ejemplos de las filas (2) y (3), y las interacciones se debilitan, a su vez, debido al debilitamiento del potencial geométrico causado por la filtración de clases, lo cual se consigue aumentando el tamaño de la fuente efectiva

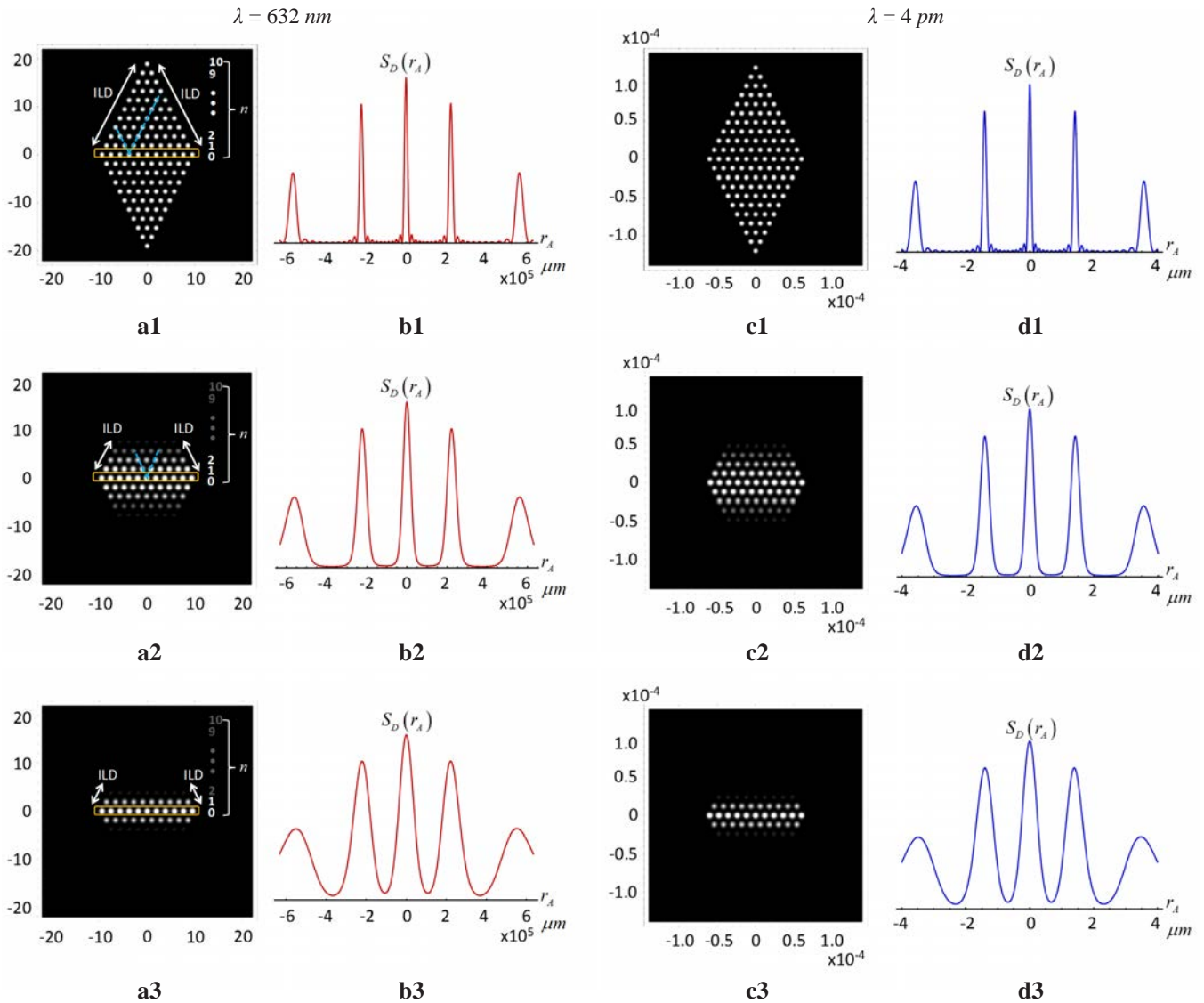


Figura 5. Espectros de clases de emisores puntuales y sus patrones de interferencia de campo lejano ($z = 10^6 \lambda$) para interferencia de ondas y partículas masivas con rejilla de 11 *pinholes*, espaciamento de 3λ , y bajo grado de correlación gaussiana. Los espectros de clases en la columna (a) muestran la clase de orden cero encerrada en recuadro. Sus emisores puntuales reales interactúan solo con las componentes de los emisores puntuales virtuales a lo largo de las flechas ILD, como se muestra con las líneas punteadas. El tamaño de los soportes estructurados es mayor que la longitud 30λ de la rejilla en la fila (1), indicando que el orden máximo de las clases es 10 en los espectros (a1) y (a3). Las interacciones producen los patrones (a2) y (a4), respectivamente, cuyos máximos principales son estrechos y de alto contraste, separados por máximos secundarios de baja energía. El tamaño de los soportes estructurados es menor que la longitud de la rejilla en las filas (2) y (3), por lo que las familias de orden superior son filtradas, lo que ensancha los máximos principales, elimina los secundarios y reduce el contraste de los patrones. Las posiciones de los máximos principales son invariantes. El eje horizontal ξ_A y el vertical ξ_D de los espectros de clases de emisores puntuales están en μm .

en el plano S. Específicamente, las clases para $n \geq 4$ en la fila (2) y para $n \geq 3$ en la fila (3) se suprimen. Esto ensancha los máximos principales, elimina los secundarios y reduce el contraste de los patrones correspondientes.

Resumen y conclusiones

El presente análisis da respuesta a la pregunta expresada en su título: la superposición de ondas no se requiere ni puede constituir el principio generalizado desde el que se

explique, de manera unificada, la interferencia de ondas clásicas y de partículas masivas. En el marco de la teoría clásica de la coherencia óptica, se sintetizó la interacción entre emisores puntuales reales y virtuales como principio unificado de interferencia, así como la nueva ley general de interferencia. Este principio es diferente e incompatible con la superposición de ondas y se apoya en una descripción geométrica novedosa de la configuración y la operación de cualquier experimento de interferencia con ondas o con

partículas singulares. Los aspectos más destacables de esta descripción son: (i) la interpretación geométrica de la correlación en la etapa de preparación del experimento, que explica, además, la fenomenología involucrada en el teorema de Van Cittert – Zernike, y (ii) la caracterización del experimento en términos de conjuntos de fuentes puntuales reales y virtuales, representando el primero las ondas o las partículas que se mueven en el interferómetro, mientras que el segundo caracteriza al interferómetro mismo, generando en la etapa de realización del experimento el potencial geométrico responsable de la redistribución de la energía de las ondas y las partículas en patrones con franjas.

Se demostró, asimismo, cómo el principio unificado de interferencia se aplica a cualquier experimento de interferencia mediante la herramienta “espectro de clases de emisores puntuales”, la cual proporciona el mapa completo de las interacciones que ocurren en un experimento específico. El modelo completo se ha validado mediante el análisis y predicción de patrones de interferencia en experimentos con ondas de luz (Castañeda, 2017 a), electrones singulares y moléculas de C_{60} , PcH_2 y $F_{24}PcH_2$ reportados por Nairz, *et al.*, 2003 y Juffmann, *et al.*, 2012, respectivamente, discutidos en detalle en Castañeda, *et al.*, 2016 a, b.

Aunque el impacto inmediato de las ideas expresadas en este trabajo atañe al diseño de experimentos de interferencia, particularmente en la escala de la microtecnología y la nanotecnología (Castañeda, *et al.*, 2016 a, b; Castañeda, 2014; Castañeda, 2017 a), su impacto más significativo y profundo está en el planteamiento de una concepción alternativa de los fundamentos mismos de un fenómeno básico para la física como es la interferencia. Esta concepción configura un escenario de convergencia de las descripciones clásica y cuántica del fenómeno, restableciendo lo estipulado en las reglas de la filosofía natural de Newton que aún rigen para la reflexión en física. Sin embargo, debido a lo novedoso de su terminología y al uso de conceptos no estandarizados, abrirá también nuevos campos de discusión sobre los fundamentos físicos de este fenómeno.

Referencias

- Arndt, M., Nairz, O., Vos-Andrae, J., Keller, C., van der Zouw, G., and Zeilinger, A. (1999). Wave-particle duality of C_{60} Molecules. *Nature*. **401**: 680-682.
- Bach, R., Pope, D., Liou, S.H., Batelaan, H. (2013). Controlled double-slit electron diffraction. *New J. Phys.* **15**: 033018 (7pp).
- Born, M., and Wolf, E. (1993). *Principles of Optics* (6th ed. Pergamon Press: Oxford). p. 836.
- Castañeda, R. (2014). Electromagnetic wave fields in the micro-diffraction domain. *Phys. Rev.* **89**: 013843 (14pp).
- Castañeda, R., Matteucci, G., Capelli, R. (2016). Quantum Interference without Wave-Particle Duality. *J. Mod. Phys.* **7**: 375-389.
- Castañeda, R., Matteucci, G., Capelli, R. (2016). *Interference of Light and of Material Particles: A Departure from the Superposition Principle*. Hawkes, P.H. editor, *Advances in Imaging and Electron Physics*, Vol. 197, Burlington: Academic Press, p. 1-43.
- Castañeda, R., Muñoz, H. (2016). Spectrum of classes of point emitters: New tool for nonparaxial optical field modeling. *J. Opt. Soc. Am.* **33**: 1421-1429.
- Castañeda, R. (2017). Interaction description of light propagation. *J. Opt. Soc. Am.* **34**: 1035-1044.
- Castañeda, R. (2017). Discreteness of the real point emitters as a physical condition for diffraction. *J. Opt. Soc. Am.* **34**: 184-192.
- Feynman, R. P., Leighton R.B., and Sands, M. (1965). *The Feynman Lectures on Physics* vol 3. Addison-Wesley: Menlo Park, CA.
- Feynman, R. P., Hibbs, A. R. (1965). *Quantum Mechanics and Path Integrals*. McGraw-Hill: New York. p. 365.
- Frabboni, S., Gabrielli, A., Gazzadi, G.C., Giorgi, F., Matteucci, G., Pozzi, G., Cesari, N.S., Villa, M., Zoccoli, A. (2012). The Young-Feynman two-slit experiment with single electrons: Build-up of the interference pattern and arrival-time distribution using a fast-readout pixel detector. *Ultramicroscopy*. **116**: 73-76.
- Gaskill, J. (1978). *Linear systems, Fourier transforms and Optics*. John Wiley & Sons: New York. p. 554.
- Juffmann, T., Truppe, S., Geyer, P., Major, A.G., Deachapunya, S., Ulbricht, H., Arndt, M. (2009). Wave and particle in molecular interference lithography. *Phys. Rev. Lett.* **103**: 263601-1 - 263601-4.
- Juffmann, T., Milic, A., Muellneritsch, M., Asenbaum, P., Tsukernik, A., Tuexen, J., Mayor, M., Cheshnovsky, O., Arndt, M. (2012). Real-time single-molecule imaging of quantum interference. *Nature Nanotech.* **7**: 297-300.
- Mandel, L., Wolf, E. (1995). *Optical Coherence and Quantum Optics*. Cambridge University Press: Cambridge. p. 1166.
- Matteucci, G., Pezzi, M., Pozzi, G., Alberghi, G., Giorgi, F., Gabrielli, A., Semprini, N., Villa, M., Zoccoli, A., Frabboni, S., Gazzadi, G. (2013). Build-up of interference patterns with single electrons. *Eur. J. of Phys.* **34**: 511-517.
- Nairz, O., Arndt, M., Zeilinger, A. (2003). Quantum interference experiments with large molecules. *Am. J. Phys.* **71**: 319-325.
- Newton, I. (1687). *Principios matemáticos de la Filosofía natural* [Philosophiae Naturalis Principia Mathematica]. Ediciones Altaya, S.A. *Grandes Obras del Pensamiento*, 21 (1993): Barcelona, p. 621.
- Zeilinger, A., Gehler, R., Shull, C.G., Treimer, W., Mampe, W. (1988). Single and double-slit diffraction of neutrons. *Rev. Mod. Phys.* **60**:1067-73.

Caracterización térmica, mecánica y morfológica de fibras naturales colombianas con potencial como refuerzo de biocompuestos

William Javier Mora-Espinosa*, Bladimir Azdrúbal Ramón-Valencia

Grupo de Investigación en Ingeniería Mecánica, Departamento de Mecánica, Mecatrónica e Industrial,
Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia

Resumen

Este estudio se enmarca en el campo de la ciencia e ingeniería de materiales enfocada al desarrollo de nuevos compuestos amigables con el medio ambiente. En este contexto, se evaluaron cinco fibras naturales colombianas: damagua (*Poulsenia armata*), guérregue, palma estera (*Astrocaryum malybo*), caña flecha (*Gynerium sagittatum*) e iraca (*Carludovica palmata*), con el fin de estudiar su viabilidad como refuerzo en materiales compuestos. Mediante diversas mediciones se determinaron las propiedades térmicas, mecánicas y morfológicas de las fibras naturales. El análisis térmico se hizo utilizando termogravimetría (TGA), y se demostró el carácter hidrofílico de las fibras y su estabilidad a elevadas temperaturas. Se ensayó la resistencia de las fibras a la tracción bajo condiciones de fuerzas axiales estáticas, y se encontraron variaciones en las propiedades mecánicas de cada uno de los especímenes. Las fibras de guérregue y caña flecha registraron valores de resistencia máxima competitivos muy similares a los reportados en otras investigaciones con fibras naturales, en tanto que las otras tres fibras tuvieron bajo desempeño. La microestructura de las fibras se examinó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), y las imágenes revelaron una morfología compuesta por el lumen y la pared celular con variación entre los tamaños, comportamiento éste asociado a las propiedades mecánicas de las fibras naturales estudiadas. En conclusión, dos fibras presentaron las mejores propiedades y cumplieron con las condiciones de estabilidad térmica y resistencia mecánica que las hace aptas como refuerzo en la fabricación de biocompuestos con matrices poliméricas. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Fibras naturales; Refuerzo; Propiedades mecánicas; Termogravimetría; Microscopía electrónica de barrido.

Thermal, mechanical, and morphological characterization of Colombian natural fibers as potential reinforcement for biocomposites

Abstract

This study was conducted in the field of materials science and engineering and focused on the development of new eco-friendly components. For this purpose, we evaluated five Colombian natural fibers: *damagua* (*Poulsenia armata*), *guérregue* (*Astrocaryum standleyanum*), *palm mat* (*Astrocaryum malybo*), *wild cane* (*Gynerium sagittatum*) and *iraca* (*Carludovica palmata*), to evaluate their viability as reinforcement in composite materials. We measured the thermal, mechanical and morphological properties of these natural fibers by using thermogravimetric analysis (TGA) for the thermal analysis, which showed their hydrophilic character and their stability at high temperatures. We also tested their resistance to traction under static axial forces and we found variations in their mechanical properties. We found that *guérregue* and *wild cane* fibers showed maximum competitive strength values, similar to those found in other studies with natural fibers, while the other three fibers had a poor performance. Scanning electron microscopy (SEM) was used to examine the microstructure of the fibers showing a morphology composed of lumen and cell wall with variations among sizes, a behavior which is linked to their mechanical properties. As a result, we found that two of the fibers complied with the conditions of thermal stability and tensile stress to be used as reinforcement in the manufacturing of biocomposites with polymeric matrices. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Natural fibers; Reinforcement; Mechanical properties; Thermogravimetric analysis; Scanning electron microscopy.

Introducción

Actualmente el uso de fibras naturales como refuerzo de materiales compuestos ha despertado un gran interés en la comunidad científica, dadas sus propiedades específicas frente a otras fibras de origen sintético (Fiore, *et al.*, 2011). Todas las fibras lignocelulósicas presentan microestructuras

crystalinas formadas por celulosa y microestructuras en espiral conectadas por lignina amorfa y hemicelulosa (Monteiro, *et al.*, 2012). Mediante microscopía electrónica

*Correspondencia:

William Javier Mora-Espinosa, wjme11@gmail.com

Recibido: 22 de septiembre de 2017

Aceptado: 14 de diciembre de 2017

de barrido (SEM) se ha determinado que cuanto menor sea el ángulo de las fibrillas de celulosa, la respuesta mecánica de la fibra aumenta (Saravanakumara, *et al.*, 2013).

Algunas fibras naturales han entrado al mercado como refuerzo en materiales compuestos para la fabricación de partes, principalmente en el sector automotriz y de empaques (Kommula, *et al.*, 2014). Los compuestos reforzados con fibras naturales presentan una alternativa más ecológica, y por ello han desplazado los materiales convencionales en algunas aplicaciones industriales, en especial los compuestos elaborados con fibras sintéticas de vidrio (Chandramohan & Marimuthu, 2011), pues constituyen alternativas como lo demuestran algunas investigaciones adelantadas con fibras naturales como *Prosopis juliflora* (Saravanakumara, *et al.*, 2013), lino-plátano (Srinivasan, *et al.*, 2014), curauá (Spinacé, *et al.*, 2009), *Cissus* (Indran, *et al.*, 2014), *Spartium junceum* (Kovacevic, *et al.*, 2015), *Arundo donax* (Fiore, *et al.*, 2014), cáñamo de Marruecos (Elkhaoulani, *et al.*, 2013) y palma de azúcar (*Arenga pinnata*) (Ishaka, *et al.*, 2013), entre otras, lo cual ha facilitado una amplia gama de fibras útiles como refuerzo.

Colombia tiene el 0,7 % de la superficie continental mundial y el 10 % de la biodiversidad del mundo, lo que representa entre 45.000 y 55.000 especies de plantas, cifras muy similares a las de Brasil, que cuenta con 55.000 (Romero, *et al.*, 2009); este potencial solo es aprovechado en la confección de artesanías por una población constituida en su mayoría de familias campesinas y grupos indígenas (Linares, *et al.*, 2008). Entre los principales usos de las fibras naturales colombianas está la confección de bolsos, sombreros, tapetes, canastos y costales que se utilizan como empaques de alimentos (Artesanías de Colombia, 2011).

En diversos estudios se han reportado fibras colombianas usadas como refuerzo. La fibra de plátano fue tratada en una matriz de resina de poliéster y se registró un aumento de la resistencia mecánica frente a la resina pura y una disminución de la absorción de agua (Rodríguez, *et al.*, 2014). Las fibras de cumare se utilizaron como refuerzo en una matriz de ácido láctico, y se registró poca adhesión entre la fibra y la resina, con efectos negativos en las propiedades mecánicas (Maranon & Páez, 2011). En otro estudio, se embebieron fibras de fique en una matriz de poliéster insaturado, y se evidenció un desprendimiento de las capas exteriores de los laminados después de ser ensayados bajo tracción (Contreras, *et al.*, 2009). Asimismo, se empleó la fibra de guadua como refuerzo de matrices poliméricas y con ello se incrementó la resistencia mecánica en los ensayos de compresión e impacto de muestras con 10 % de fibra modificada (Cuellar & Muñoz, 2010).

La propuesta de investigación del presente estudio consistía en el análisis de cinco fibras naturales autóctonas de Colombia para evaluar su posible uso como refuerzo en biocompuestos. Para tal fin, se caracterizó la estabilidad térmica de las fibras con un analizador termogravimétrico y se obtuvieron las curvas pérdida de peso (TG) y la primera

derivada de la pérdida de peso (DTG). El comportamiento mecánico de las fibras se evaluó mediante ensayos de tensión uniaxial ajustados a la normas de la *American Society for Testing and Materials* (ASTM). La morfología se observó con un microscopio electrónico de barrido (SEM), con el cual se obtuvieron imágenes de las microestructuras de cada una de las fibras naturales. A partir de los resultados obtenidos con cada una de las técnicas, se demostró que estas podrían ser una alternativa para el desarrollo de nuevos materiales de bajo costo y amigables con el medio ambiente.

Materiales y métodos

Las cinco fibras estudiadas fueron: *Poulsenia armata* (Miq.) Standley (1933), conocida como damagua, proveniente de un árbol que alcanza hasta 40 m de altura y más de 100 cm de diámetro (Castillo, 2010), la fibra se usa para billeteras, bolsos, flores y sombreros (Cardona, *et al.*, 2005); *Astrocaryum standleyanum* (Borgtoft, 1994) o palma guérregue, con un tallo espinoso de hasta 12 m de altura y 15 a 20 cm de diámetro, cuya fibra se usa para elaborar canastos, cántaros, platos, bandejas, bolsos, sombreros, pulseras, aretes y collares (Galeano, *et al.*, 2010); *Astrocaryum malybo* (Linares, *et al.*, 2008) o palma estera, cuyas hojas proporcionan la materia prima para la industria de las esteras o petates (Linares, *et al.*, 2008), (Calderón, *et al.*, 2005), así como individuales, portavasos y piedecamas (Bernal & Galeano, 2013); *Carludovica palmata* (Escobar, 2001) o palma iraca, planta que alcanza hasta los 5 m de alto y tiene hojas en forma de abanico de 50 por 80 cm (Artesanías de Colombia, 2011), de las cuales se extrae la fibra que, una vez procesada, sirve para tejer sombreros (Escobar, 2001), carrieles y alpargatas, pavas, individuales, sombrillas, bandejas, cinturones y bolsos (Artesanías de Colombia, 2011), y *Gynerium sagittatum* (Pohl, 1983) o caña flecha, con tallos de 5 o 6 m de altura y 2 o 3 cm de diámetro (Linares, *et al.*, 2008), de cuyas hojas se aprovecha la nervadura central para obtener la fibra usada para la trenza del sombrero, así como el bagazo, que se usa como forraje (Artesanías de Colombia, 2011). Una descripción más detallada de las plantas y fibras procesadas se muestra en la Tabla 1S, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/downloadSuppFile/525/2411>.

El proceso de extracción varía según la naturaleza de las fibras. En el caso de la palma guérregue, la palma estera y la palma de iraca, se cosechan las hojas jóvenes o cogollos, se separan manualmente en tiras más finas que se secan al sol (Artesanías de Colombia, 2011), (Ventas artesanías en Werregue, 2012), (Artesanías de Colombia, *et al.*, 2008). El trabajo con la damagua se inicia con el corte del árbol, luego se abre la corteza, se extrae la fibra en forma de tela, se lava y se seca al sol (Ramírez, *et al.*, 2011). En cuanto a la caña flecha, se seleccionan las hojas maduras y se recolectan, se separan en filamentos más delgados y se llevan a un proceso de cocción y secado (Linares, *et al.*, 2008). La extracción y la preparación de las fibras generalmente está a

cargo de las mujeres de los diversos grupos étnicos y de artesanos de tradición ancestral, actividad que se desarrolla en todo el territorio del país (Quiñones, 2000). En la Figura 1S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/articulo/download/SuppFile/525/2403>, se muestra el proceso de extracción de la fibra de palma guérregue.

Termogravimetría. La estabilidad térmica de las fibras naturales se evaluó mediante la técnica de termogravimetría (TGA) en un equipo modelo SDT Q600 de TA Instruments. Las muestras se trituraron y compactaron entre 5 y 10 mg y posteriormente se programaron rampas de calentamiento a partir de temperatura ambiente hasta alcanzar los 600 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Durante el barrido las muestras se controlaron en una atmósfera inerte de nitrógeno.

Ensayos de tracción. Las propiedades mecánicas se llevaron a cabo en la máquina universal Shimatzu con capacidad de 600 kNI, utilizando un juego de accesorios para pruebas de tensión en fibras. Los parámetros se ajustaron a la norma de la ASTM D3822/D3822M – 14 (*Standard Test Method for Tensile Properties of Single Textile Fibers*), en condiciones de temperatura ambiente, humedad relativa de 60 % y una velocidad de deformación de 1 mm/min para 20 especímenes por fibra.

Microscopía electrónica de barrido. La morfología estructural de las fibras estudiadas se analizó usando un microscopio electrónico de barrido de marca JEOL, modelo JSM 6490-LV, con una tensión de 30 kV y aislamiento por alto vacío. Previamente, las muestras se habían cubierto con una capa delgada de oro para mejorar la conductividad.

Análisis estadístico. El diseño de los experimentos para determinar el número adecuado de réplicas en los ensayos de tracción de las fibras se hizo mediante la ecuación 1 (Lozano, 2011), con un valor de confianza superior a 99 %. Las fibras se encontraban totalmente secas y se cortaron con la misma longitud.

$$n = \frac{W - W^2 * Z_{\beta} + 1,4 * Z_{\alpha}^2}{W^2} \quad (1),$$

donde n = número mínimo de muestras, observaciones o réplicas que deben efectuarse en el estudio; Z_{α} = valor correspondiente al nivel de confianza asignado (riesgo de cometer un error de tipo I); Z_{β} = valor correspondiente al poder estadístico o potencia asignada a la prueba (riesgo de cometer un error de tipo II); W = rendimiento mínimo esperado, eficiencia mínima esperada o diferencia mínima observable. Los valores Z_{α} y Z_{β} para diferentes niveles de confianza se obtuvieron de la Tabla 1.

Los valores de la tabla para un nivel de confianza de 99 % y un poder estadístico de 90 % se utilizaron en la ecuación y se obtuvo un número de 18 réplicas, cercano a los 20 especímenes que exige la norma ASTM D3822/D3822M – 14, con lo cual se validó esta cantidad de réplicas por fibra para determinar las propiedades mecánicas.

Se aplicaron análisis de estadística descriptiva a los resultados de los ensayos con las cinco fibras para determinar los promedios y la desviación estándar de las diversas propiedades.

Resultados

Análisis térmico. El comportamiento térmico de las fibras naturales ha evidenciado poca estabilidad, lo cual genera su degradación durante algunos procesos de fabricación de materiales compuestos (Mohanty, et al., 2000). Su carácter hidrófilo no permite la formación de uniones interfaciales fuertes con la matriz, lo cual resulta en una reducción de las propiedades mecánicas (Girisha & Srinivas, 2012). La técnica de TGA permite obtener información sobre la cantidad de humedad que puede retener una fibra natural, anticipando la compatibilidad con la matriz polimérica (Miranda, et al., 2013).

El comportamiento térmico de las fibras de damagua, guérregue, palma estera, caña flecha e iraca, se muestra a continuación mediante las curvas de pérdida de peso (TG) y la primera derivada de la pérdida de peso (DTG), ambas en función de la temperatura.

En la curva TG de la damagua (Figura 1a), se observa una primera pérdida de la masa atribuida a la evaporación de la humedad (Miranda, et al., 2013) en un rango de temperaturas de 25 a 125 °C, con una pérdida de peso de 11,65 %. Posteriormente, en la curva DTG se muestran cuatro etapas de descomposición térmica: un pico I de menor intensidad, no muy característico, alrededor de los 167 °C, reportado en algunos artículos como el inicio de la pirolisis de la lignina (Indran, et al., 2014); un pico II a 257 °C, con una pérdida de la masa de 10,86 %, asociada con la despolimerización de la hemicelulosa, las pectinas y el glucósido, cuya estructura es muy semejante a la celulosa (Mariana, et al., 2014); el pico III, relacionado con la descomposición de la α -celulosa (Fiore, et al., 2014), se presenta a 344 °C con una pérdida de 47,95 % de la masa, y, por último, se observa el pico IV a los

Tabla 1. Valores α , Z_{α} , β y Z_{β} para diversos niveles de confianza y poder estadístico

Valores		Nivel de confianza (1- α)	
α	(%)	z_{α}	
0,050	95,0	1,960	
0,025	97,5	2,240	
0,010	99,0	2,576	
Valores		Poder estadístico (1 - β)	
β	(%)	Z_{β}	
0,20	80,0	0,842	
0,15	85,0	1,036	
0,10	90,0	1,282	

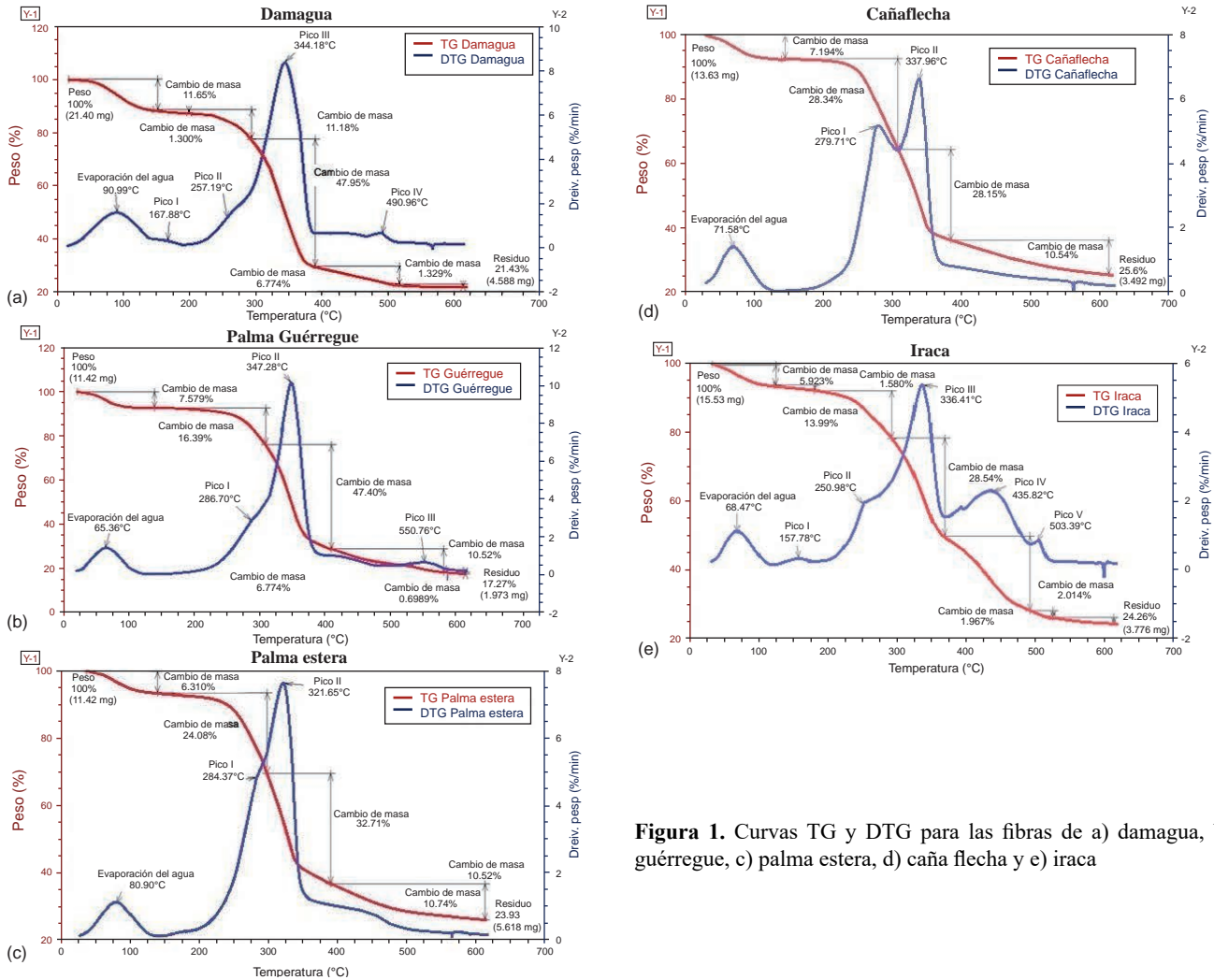


Figura 1. Curvas TG y DTG para las fibras de a) damagua, b) guérregue, c) palma estera, d) caña flecha y e) iraca

491 °C, con una pérdida de masa de 6,8 %, que corresponde a la degradación final de la lignina y la oxidación de residuos carbonizados de la fibra (Das, *et al.*, 2000).

En la fibra de guérregue (Figura 1b), la curva TG muestra una primera pérdida de la masa de 7,58 %, entre los 25 y los 125 °C, asociada con la evaporización del agua. En la curva DTG se observan solo tres picos: el pico I se atribuye a la despolimerización de la hemicelulosa, las pectinas y el glucósido (Moriana, *et al.*, 2014), a una temperatura alrededor de los 287 °C, con una pérdida de masa de 16,39 %; el pico II está relacionado con la descomposición de la α -celulosa en torno a los 347 °C y a un consumo de la masa total de 47,4 %, resultados similares a los reportados en el estudio térmico de la fibra natural de la okra (DeRosa, *et al.*, 2011); y, por último, se observa el pico III a los 551 °C, con 10,52 % de pérdida de masa, que representa la degradación final de la lignina, ya que debido a la compleja estructura de esta fase, esta se degrada en todo el rango de temperatura (Liu, *et al.*, 2004).

En cuanto a la palma estera (Figura 1c), la curva TG presentó un primer cambio en la masa de 6,31 %, por la humedad que se evaporó en la fibra. Los siguientes cambios

se produjeron en tres estadios: en el pico I, se degradaron la hemicelulosa, las pectinas y el glucósido en torno a los 284 °C, con una pérdida de masa de 24,08 %; en el pico II, se descompuso la α -celulosa a los 321 °C, con una pérdida de masa de 32,71 %, y el pico III correspondió a la fragmentación de la lignina, con 10,74 % de pérdida de masa.

Al igual que en las otras, en la fibra de caña flecha (Figura 1d) la curva TG reveló un primer descenso de la masa relacionado con la evaporación de la humedad en torno a una temperatura entre los 25 y los 125 °C, con una pérdida de peso de 7,04 %. En la curva DTG también se evidenciaron tres etapas de descomposición. En el pico I, a los 279 °C hubo una pérdida de masa de 27,37 % asociada con la relajación de las estructuras de hemicelulosa, pectinas y glucósido; el pico II correspondió a la desintegración de la fase cristalina de la α -celulosa a una temperatura de 338 °C, con una de pérdida de masa de 28,88 %, y, por último, entre los 375 y los 600 °C, la pérdida de masa fue de 10,86 %, rango correspondiente a la degradación de la lignina y la oxidación de residuos carbonizados (García-Pérez, *et al.*, 2001; D'Almeida, *et al.*, 2006; Yang, *et al.*, 2007; Spinance, *et al.*, 2009).

En cuanto a la iraca (Figura 1e), la evaporización de la humedad se apreció en la curva TG en un rango de 25 a 110 °C, con una pérdida de masa de 5,92 %. Después se presentó un comportamiento poco frecuente en las fibras naturales, con la presencia de cinco picos en la curva DTG durante el proceso de descomposición térmica, resultados similares a los reportados en el análisis térmico mediante TGA de la fibra del tallo de *Cissus quadrangularis* (Indran & Raj, 2015). El pico I se observó a los 158 °C, con una pérdida de masa de 1,58 %, relacionada con el inicio de la pirolisis de la lignina. A continuación, se observó el pico II, correspondiente a la degradación de la hemicelulosa y los enlaces glucosídicos, a 251 °C y con una pérdida de masa de 13,99 %. El pico III se produjo a los 336 °C, con una pérdida de masa de 28,54 %, lo que se atribuye a la descomposición de la α -celulosa (Azwa, et al., 2013). Posteriormente, se evidenciaron los picos IV y V a los 436 °C y 503 °C, y con 21,74 y 2,01 % de pérdida de masa, respectivamente, lo cual se asoció a la degradación final de la lignina y la oxidación de los residuos carbonizados de la fibra (Saravanakumara, et al., 2013).

Debido al carácter hidrofílico de las fibras, en todas se observó un porcentaje significativo de humedad retenida, sobre todo en la damagua, con una mayor adsorción de agua (11,65 %), en tanto que la iraca registró la menor (5,92 %) en un rango de 25 a 125 °C, comportamiento parecido al de las fibras de *Althaea* (25-125 °C) (Sarikanat, et al., 2014), *Areca* (30-100 °C) (Yusriah, et al., 2014), *Proporis* (25-110 °C) (Saravanakumara, et al., 2013), *caracua* (25-150 °C) (Dai, et al., 2010), okra (30-110 °C) (DeRosa, et al., 2011) y *Cortaderia selloana* (50-150 °C) (Jordá-Vilaplana, et al., 2017). Este fenómeno sugiere que las fibras deben pasar por un tratamiento químico o térmico para optimizar la adherencia al usarlas como refuerzo con matrices poliméricas.

La estabilidad térmica alcanzó a superar los 200 °C en las cinco fibras, es decir, iniciaron su proceso de descomposición por encima de este valor. En la fibra guérregue se inició a los 219,14 °C, valor cercano al obtenido en otras fibras como la de la alcachofa (230 °C), el bambú (214 °C), el bagazo (222 °C) (Fiore, et al., 2011), la okra (220 °C), el cáñamo (250 °C), la curauá (230 °C), el kenaf (219 °C), el yute (205 °C) (DeRosa, et al., 2011), *Juncus effusus L.* (220 °C) (Maache, et al., 2017) y el cactus de aloe vera del Sahara (238 °C) (Balaji & Nagarajan, 2017). Este factor determina las condiciones de temperatura para el proceso de transformación en materiales compuestos con matrices poliméricas, de manera que solo se podrán utilizar termoplásticos que no superen la temperatura de degradación de las fibras.

Propiedades mecánicas. Las pruebas mecánicas se ajustaron a la norma ASTM D3822M – 14, la cual define algunas condiciones para los ensayos, como la velocidad de deformación de 1mm/min y un número de 20 especímenes de ensayo por fibra, cantidad validada mediante la ecuación 1, descrita en el análisis estadístico (Lozano, 2011).

En la Figura 2 se presentan las curvas de tendencia del comportamiento promedio para el esfuerzo y la deformación de cada fibra.

En los diagramas se observa un comportamiento dúctil en las fibras de guérregue, caña flecha y palma estera, representado por una zona elástica (lineal) y una zona plástica (no lineal). La zona elástica se asoció con la deformación de la pared celular (microfibrillas de celulosa) y la plástica con la delaminación de la celulosa y la orientación de la fase amorfa (lignina, pectina y hemicelulosa) (Fiore, et al., 2014). Las fibras de iraca y damagua solo evidenciaron un estado elástico-lineal.

En la Tabla 2 se presentan los valores promedio del módulo elástico, la resistencia máxima y el porcentaje de deformación de las fibras estudiadas. Los valores se obtuvieron de los promedios registrados en los 20 ensayos, con su respectiva desviación estándar.

Con base en estos datos (Tabla 2), las fibras se clasificaron en orden descendente con respecto a los valores obtenidos en la resistencia máxima a la tracción, dada la importancia que representa este parámetro en el diseño, la selección y la aplicación de piezas obtenidas a partir de materiales compuestos. Los valores de la desviación estándar obtenidos para el esfuerzo fueron relativamente bajos comparados con los de otras fibras como el lino (1000 ± 500 MPa) (Hughes, 2012), okra (233,8 ± 126,4 MPa) (DeRosa, et al., 2011) y ramio (586,5 ± 351,5 MPa) (Sarikanat, et al., 2014), lo que permite validar los datos obtenidos a partir de las 20 réplicas ajustadas a la norma.

La evaluación de las propiedades mecánicas de las fibras naturales se hizo teniendo en cuenta los parámetros obtenidos en el diagrama de esfuerzo y deformación por separado.

El comportamiento del módulo de Young o módulo de elasticidad (Figura 3a) está asociado al ordenamiento de las microfibrillas de la pared celular en la misma dirección de la aplicación de la fuerza. Los valores obtenidos variaron entre fibras, con altos módulos de rigidez en el guérregue y la iraca, con 5,85GPa y 7,61GPa, respectivamente. Resultados similares se han reportado con las de fibras del algodón (5

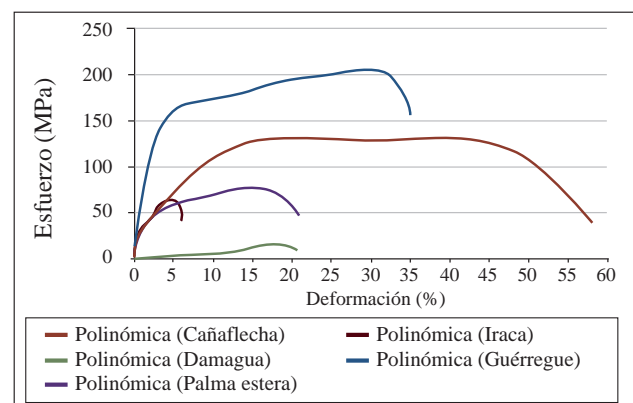
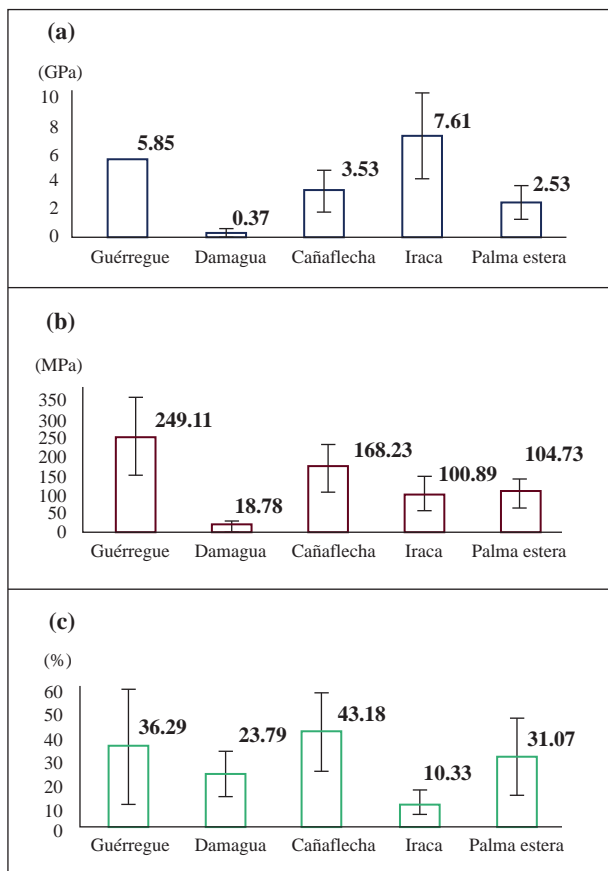


Figura 2. Diagrama de esfuerzo y deformación de cinco fibras colombianas

Tabla 2. Propiedades mecánicas de las fibras de guérregue, caña flecha, palma estera, iraca y damagua

Área transversal (mm ²)	Tipo de fibra	Longitud calibrada (mm)	Módulo elástico (GPa)	Esfuerzo máximo a tensión (MPa)	Deformación (%)
0,27 x 1,40	Guérregue	20	5,85 ± 2,50	249,11 ± 97,40	36,29 ± 26,70
0,16 x 2,00	Caña flecha	20	3,53 ± 1,60	168,23 ± 59,80	43,17 ± 17,70
0,27 x 2,00	Palma estera	20	2,53 ± 1,20	104,73 ± 44,90	31,07 ± 17,80
0,4 x 0,74	Iraca	20	7,61 ± 3,10	100,89 ± 39,30	10,33 ± 5,30
0,93 x 2,00	Damagua	20	0,37 ± 0,30	18,78 ± 7,30	23,78 ± 10,30

**Figura 3.** Propiedades mecánicas de las fibras naturales. a) Módulo de Young. b) Esfuerzo máximo. c) Porcentaje de deformación

-12 GPa), el coco (4 – 6 GPa) y *Sansevieria cylindrica* (6 - 8 GPa) (Indran & Raj, 2015). Las fibras de palma estera y caña flecha presentaron módulos de 2,53 GPa y 3,53 GPa, respectivamente. Por último, la fibra de damagua presentó el módulo más bajo debido a su estructura de fibras cortas y discontinuas con uniones débiles entre sí.

La resistencia máxima se calculó a partir del esfuerzo último que soporta la fibra cuando es sometida a una tensión axial en tracción. Esta conducta puede variar entre las fibras debido a su comportamiento mecánico, es decir, en aquellas que solo presentan una zona elástica lineal, la

resistencia máxima es igual al esfuerzo de rotura, como sucede con las fibras de iraca y damagua. Por otro lado, en las que presentan un comportamiento elástico-plástico, la resistencia máxima se determina cuando la fibra ha experimentado cierto grado de deformación, como sucedió con las fibras de guérregue, caña flecha y palma estera.

Se evidenciaron valores elevados de la resistencia máxima de las fibras (Figura 3b) de guérregue (249,11 MPa), seguida de la caña flecha (168,23 MPa). Estos valores son similares a los obtenidos en la fibra de ramio (220–938 MPa), de palma de aceite (248 MPa) y *Palmyrah* (180 -215MPa) (Indran, *et al.*, 2015). Las fibras de iraca y palma estera mostraron esfuerzos de 100,89 MPa y 168,23 MPa, respectivamente. Por último, la fibra de damagua fue la de menor resistencia a la tensión por las razones ya anotadas en los comentarios sobre el módulo de elasticidad.

El comportamiento de la deformación está influenciado principalmente por la orientación de las fases cristalina de la celulosa y las fases amorfas de la lignina y la hemicelulosa en la dirección de la aplicación de la tensión axial, dando como resultado un material de carácter anisotrópico. (Fiore, *et al.*, 2014).

Se encontraron diferencias en la deformación de las fibras analizadas (Figura 3c). La más elevada se registró en la fibra de la caña flecha, con 43,17 %, resultados similares a los reportados con las fibras de la hierba de mar (13 - 26,6 %) y la piasava (7,8 – 21,9 %) (Indran, *et al.*, 2014). Las fibras de guérregue y palma estera registraron porcentajes de 36,29 y 31,07 % en la deformación, respectivamente. Las fibras de damagua e iraca, con un comportamiento frágil, obtuvieron los menores porcentajes en la elongación, con 23,78 y 10,33 %, respectivamente.

Por último, de las cinco fibras analizadas, la de guérregue (249 MPa) presentó una resistencia a la tracción alta, lo cual evidenció un comportamiento cercano al de otras fibras naturales utilizadas como refuerzo en la elaboración de biocompuestos sometidos a cargas moderadas, entre ellas la de coco (220 MPa), la de cascarilla de arroz (225 MPa), de palma de aceite (248 MPa) y de caña de azúcar (290 MPa). También la de caña flecha (168,23 MPa) se aproximó a la de *Palmyrah* (180 MPa) y superó a las de coco verde (134,3 MPa), de ceiba pentandra (45 MPa) y de palma datilera (97 MPa), como se aprecia en la Figura 4.

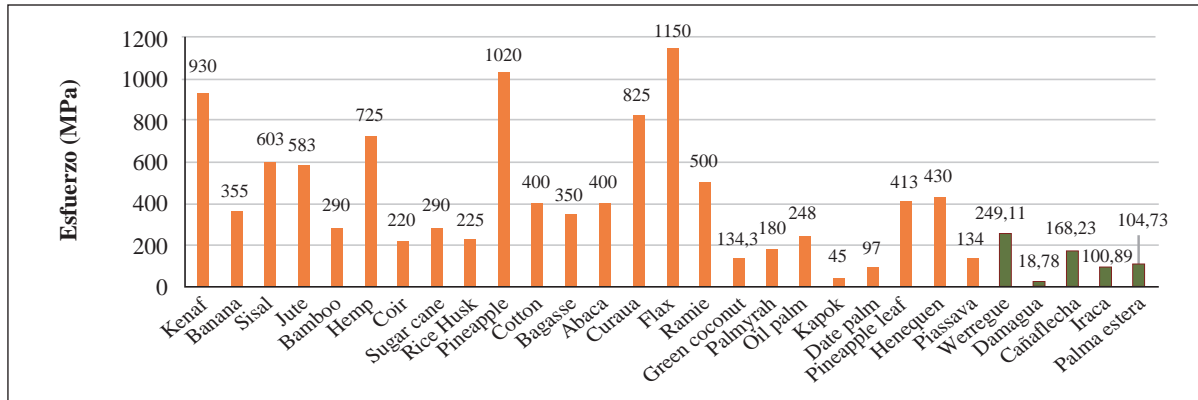


Figura 4. Esfuerzo máximo promedio de tracción en diversas fibras naturales (Arpitha & Yogesha, 2017; Müssig-Jörg, 2010) comparado con el de fibras colombianas

Estos resultados permiten proponer estas dos fibras como posibles candidatas para refuerzos naturales en la fabricación de materiales compuestos, tanto en matrices termoestables como termoplásticas. Las otras tres fibras poseen valores muy bajos de resistencia, lo cual limita sus posibles aplicaciones como refuerzo.

Análisis morfológico. El análisis estructural de las fibras naturales se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), con el fin de diferenciar la pared celular, el lumen y la laminilla media que conforman la estructura interna de la fibra. Las cadenas de celulosa están integradas por entre 30 y 100 moléculas con un ángulo microfibrilar de 0° a 2° de inclinación y son las encargadas de proporcionarle resistencia mecánica a la fibra (Dai & Fan, 2010; Rong, et al., 2001). Las paredes celulares primarias, secundarias y terciarias se definen por la concentración de los materiales constituyentes y el ángulo microfibrilar, y se unen por la laminilla media (LM) constituida por lignina y hemicelulosa (Dai, et al., 2010). Las diferencias entre fibras se dan en el número de células, el tamaño de las paredes celulares y el lumen o agujero responsable del transporte de humedad y nutrientes (Thygesen, 2006), así como del área de sección transversal, con diversas características y comportamientos mecánicos (Alves, et al., 2013).

El comportamiento mecánico está ligado al rango elástico (casi lineal), a la resistencia de las paredes celulares y la laminilla media, zona donde soportan la carga sin delaminarse; en el rango plástico ocurre la delaminación tanto de las paredes primaria y secundaria como de la unión entre ellas (LM) (Guo, et al., 2014). Esta unión entre células presenta un comportamiento elástico-plástico en todas las fibras naturales, el cual está relacionado con la resistencia mecánica de la fase amorfa compuesta por la lignina y la pectina, así como de la fase cristalina asociada con la celulosa (Fuentes, et al., 2017).

En la morfología de la sección transversal de la fibra de damagua (Figura 5a), se observaron agujeros de gran tamaño, de entre 10 y 25 μm, que corresponden al lumen, lo cual

permitió confirmar los resultados obtenidos en el TGA con respecto a su gran capacidad para retener agua. Por otro lado, la microestructura reveló espesores de 3 y 5 μm, lo cuales correspondían a la pared celular, lo cual permitió corroborar los bajos valores obtenidos en las propiedades mecánicas debido a la relación entre el espesor de la pared celular y el tamaño del lumen. Con respecto a la laminilla media, esta no se distinguió fácilmente entre las paredes celulares.

Para la morfología de la sección transversal de la fibra de palma guérregue (Figura 5b), con X 1,100 aumentos, en la SEM no se evidenciaron lúmenes, los cuales solo se lograron definir claramente con acercamientos incluso de X3000. La microestructura mostró una buena relación entre la pared celular y el lumen, lo que permitió obtener una mayor área para resistir las fuerzas axiales en tensión, debido a que sus componentes internos y microfibrillas distribuyeron mejor el esfuerzo.

La microestructura de la fibra de palma estera (Figura 5c) se analizó con varios aumentos. En las imágenes se distinguió fácilmente el lumen, con un tamaño aproximado de 4 a 6 μm, mientras que la pared celular osciló entre 1 y 3 μm, y la laminilla media entre células no fue muy visible. La fibra de palma estera presentó una resistencia similar a las fibras provenientes del tallo, lo cual se debe principalmente a que las microfibrillas de celulosa de las paredes celulares son más abundantes y el ángulo que poseen es bajo, y ello permitió que se alinearan en la dirección del esfuerzo (Pickering, et al., 2016).

En cuanto a la fibra de caña flecha (Figura 5d), las imágenes revelaron microconstituyentes que forman la estructura interna. Se observó una pared celular gruesa con espesores que oscilaban entre 4 y 6 μm, con variaciones en los diámetros del lumen de entre 1 y 3 μm, características que hacen que la fibra posea mayor área para soportar el esfuerzo al concentrar una mayor cantidad de microfibrillas de celulosa. Las imágenes de las micrografías de la palma estera confirmaron los buenos resultados en cuanto a las propiedades mecánicas. Por otro lado, fue una de las fibras

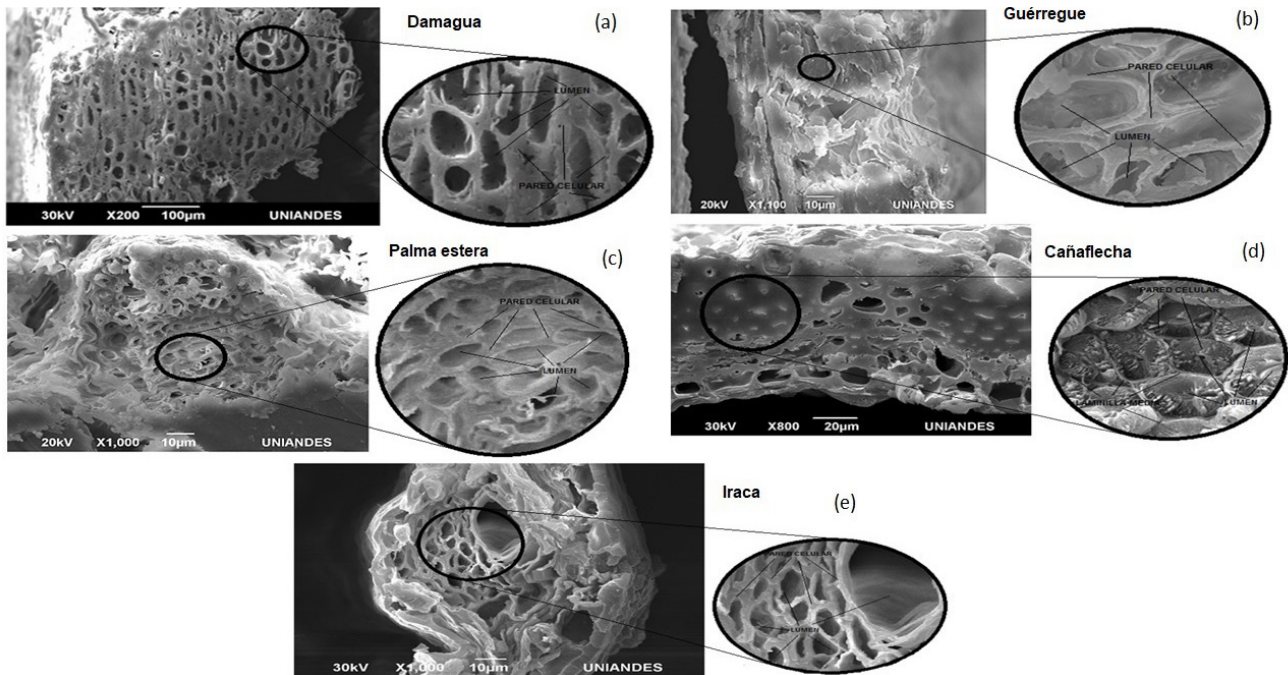


Figura 5. Morfología de la sección transversal de la fibra de: a) la damagua (X200), b) el guérregue (X1100), c) la palma estera (X1000), d) la caña flecha (X800) y e) la iraca (X1000)

con mayor porcentaje de deformación (43 %) debido a la gran pared celular y su laminilla media, lo que permite una delaminación más lenta entre los componentes estructurales, con un comportamiento elástico-plástico (Alves, *et al.*, 2013; Maache, *et al.*, 2017).

La morfología de la fibra de iraca (Figura 5e) mostró variaciones en los diámetros del lumen que oscilaron entre 8 y 30 μm . La pared celular evidenció tamaños más uniformes, entre 1 y 3 μm , lo que la convierte en una fibra muy porosa, con un área pequeña para soportar el esfuerzo. La gran diferencia entre en el espesor de la pared celular y el lumen afectó de manera negativa las propiedades mecánicas, y significó que ocupara el cuarto lugar con respecto a la resistencia máxima entre las fibras analizadas.

Las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) evidenciaron características morfológicas similares entre las fibras colombianas analizadas en el presente estudio y otras reportadas en la literatura, como las de yute, sisal, curauá, coco y piassava (Alves, *et al.*, 2013), okra (*Abelmoschus esculentus*) (DeRosa, *et al.*, 2011), melcocha (*Althaea officinalis* L.) (Sarikanat, *et al.*, 2014), fibras de cáscara de nuez de betel (*Areca catechu*) (Yusriah, *et al.*, 2014), fibra cabecinegro (*Manicaria saccifera*) (Porrás, *et al.*, 2016), de alcachofa (*Cynara cardunculus* L.) (Fiore *et al.*, 2011), *Juncus effusus* L. (Maache, *et al.*, 2017) y fibra de caña de azúcar (Hossain, *et al.*, 2014).

El análisis de la morfología, de las cinco fibras evidenció que la de guérregue y la de caña flecha presentaron paredes celulares más gruesas y lúmenes muy pequeños, lo cual incrementa el área de soporte para una óptima distribución

de la carga sobre las microfibrillas de celulosa en la pared secundaria, lo cual les permite un mejor comportamiento mecánico. El caso contrario fue el de las fibras de iraca, damagua y palma estera, cuyos lúmenes presentaron variaciones en el diámetro que afectaron el espesor de la pared celular con la consecuente disminución del área de aplicación y de la resistencia frente a las tensiones axiales en los ensayos de tracción.

Conclusiones

Se analizaron las propiedades térmicas, mecánicas y morfológicas de las fibras naturales colombianas de damagua, palma estera, caña flecha, iraca y guérregue con el propósito de evaluar su potencial como material de refuerzo en biocompuestos con matrices poliméricas.

El análisis térmico mediante termogravimetría evidenció el rango de temperaturas adecuado para el procesamiento del material compuesto y el uso de matrices poliméricas. El análisis también confirmó el carácter hidrofílico de las fibras naturales, por lo que se sugiere realizar tratamientos superficiales para mejorar la interface con la matriz polimérica.

Son muchos los factores que afectan las propiedades mecánicas de las fibras naturales, entre ellos, la especie de la fibra, el nivel de madurez de la planta y el contenido de celulosa, siendo estos los que definieron las variaciones en las propiedades mecánicas de las fibras evaluadas. Los resultados indicaron que dos de las fibras tienen potencial de alto rendimiento, las de guérregue y caña flecha, lo que las convierte en posibles candidatas para su uso como refuerzo en materiales compuestos.

La morfología de las fibras visualizada mediante SEM corroboró los valores obtenidos en las pruebas de tracción, en particular la relación entre las paredes celulares y el diámetro del lumen. Las fibras naturales con una pared celular de gran espesor y lúmenes pequeños registraron valores superiores en el comportamiento de sus propiedades mecánicas.

En general, la investigación demostró la importancia de la caracterización de las fibras naturales colombianas, con el fin de explorar alternativas de refuerzo para materiales compuestos con matrices poliméricas y potenciar su uso en aplicaciones industriales.

Agradecimientos

Al laboratorio de calorimetría y al laboratorio de materiales de la Universidad de Pamplona por toda la colaboración prestada en cada una de las etapas de la investigación.

Información suplementaria

Tabla 1S. Descripción de las fibras objeto de estudio. Vea la tabla 1S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SuppFile/525/2411>

Figura 1S. Proceso de extracción de la fibra de la palma guérregue. a) espinas, b) tallo, c) cogollo, d) medialuna de corte, e), f), g) separación de hojas, h) traslado, i) obtención de tiras, j, k) cocido y tinturado, l) secado, m) entorchado, n) y o) tejido. (**Artesanías de Colombia**, 2011; **Ventas artesanías en guérregue**, 2012). Vea la figura 1S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SuppFile/525/2403>

Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses de ninguna índole que afecte la publicación de los resultados de este trabajo de investigación.

Contribución de los autores

WJME adquirió las fibras naturales colombianas y realizó los ensayos y análisis de sus propiedades mecánicas aplicando conceptos de mecánica de materiales. BAR, tutor e investigador, realizó el análisis termogravimétrico y la microscopía electrónica de barrido de las diversas fibras naturales objeto de estudio. Ambos autores redactaron y aprobaron el manuscrito enviado.

Referencias

Alves, M.E., Castro, T.V., Martins, O.D.F., Silva, F., Toledo, R.D. (2013). The effect of fiber morphology on the tensile strength of natural fibers. *J Materials Research and Technology*. **2**: 149-157.

Arpitha, G.R., Yogesha, B. (2017). An overview on mechanical property evaluation of natural fiber reinforced polymers. *Materials today: Proceedings*. **4**: 2755-2760.

Artesanías de Colombia. Programa de atención a la población desplazada APD. Fecha de consulta: 14 de noviembre de

2014. Disponible en: http://www.artesaniasdecolombia.com.co/PortalAC/C_noticias/artesanias-de-colombia-realiza-capacitacion-a-indigenas-wounaan_1212.

Artesanías de Colombia, ICONTEC, FOMIPYME. (2008). Diagnóstico de la calidad Oficio Artesanal tejeduría. Proyecto de mejoramiento en la calidad y certificación de productos de artesanos en 13 comunidades ubicadas en diversos departamentos. Aguadas, Caldas. Artesanías de Colombia. 40 p.

Azwa, Z.N., Yousif, B.F., Manalo, A.C., Karunasena, W. (2013). A review on the degradability of polymeric composites based on natural fibres. *Materials and Design*. **47**: 424-442.

Balaji, A.N., Nagarajan, K.J. (2017). Characterization of alkali treated and untreated new cellulosic fiber from Saharan aloe vera cactus leaves. *Carbohydr Polym*. 2017, 174:200-208. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.06.065.

Bernal, G., Galeano, R. (2013). Cosechar sin destruir. Aprovechamiento sostenible de las palmas colombianas. Bogotá, D.C.: Universidad Nacional de Colombia- Colciencias. ISBN: 978-958-761-611-8. 244p.

Borgtoft Pedersen, H. (1994). Mocora palm fibers: Use and management of *Astrocaryum standleyanum* (Arecaceae) in Ecuador. *Economic Botany*. **3**: 310-325.

Calderón, E., Galeano, G., García, N. (2005). Libro rojo de las plantas de Colombia. Bogotá, D.C.: Instituto Alexander Von Humbolt-Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Vol 2. 441 p.

Cardona, V., Fuentes, A.F., Cayola, L. (2005). Las moraceas de la región Madidi, Bolivia. *Ecología en Bolivia*. **40**: 212-264.

Castillo, A. (2010). Manual dentrológico de las principales especies de interés comercial actual y potencial de la zona del Alto Huallaga. Lima Perú, Camara Nacional Forestal. 83 p.

Chandramohan, D., Marimuthu K.A. (2011). A Review on natural fibers. *IJRRAS*. **8**: 194-206.

Contreras, M.F., Hormaza, W.A., Marañón, A. (2009). Fractografía de la fibra natural extraída del fique y de un material compuesto reforzado con tejido de fibra de fique y matriz resina poliéster. Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. **S1** (1): 57-67.

Cuéllar, A., Muñoz, I. (2010). Fibra de guadua como refuerzo en matrices poliméricas. *DYNA*. **77**: 137-142.

D'Almeida, J.R.M., Aquino, R.C.M.P., Monteiro, SN. (2006). Tensile mechanical properties, morphological aspects and chemical characterization of piassava (*Attalea funifera*) fibres. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. **37**: 1473-1479.

Dai, D., Fan, M. (2010). Characteristic and performance of elementary hemp fibre. *Materials Sciences and Applications*. **1**: 336-342.

Das, S., Saha AK., Choudhury PK., Basak RK., Mitra BC., Todd T., Lang, S., Rowell, RM. (2000). Effect of steam pretreatment of jute fiber on dimensional stability of jute composite. *J Appl Polymer Science*. **76**: 1652-1661.

DeRosa, I., Kenny, JM., Maniruzzaman, M., Moniruzzaman, Md., Monti, M., Puglia, D. Santulli, C., Sarasini, F. (2011). Effect of chemical treatments on the mechanical and thermal behaviour of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres. *Composites Science and Technology*. **71**: 246-254.

Dransfield, J. H. (2015). Royal Botanic Gardens and Ho'maluhia Botanical Gardens. Fecha de consulta: 13 de noviembre de 2014. Disponible en: http://www.palmpedia.net/wiki/Astrocaryum_standleyanum

- Elkhaoulani, A., Arrakhiz, F.Z., Benmoussa, K., Bouhfid, R., Qaiss, A.** (2013). Mechanical and thermal properties of polymer composite based on natural fibers: Moroccan hemp fibers/polypropylene. *Materials and Design*. **49**: 203-208.
- Escobar, E.** (2001). Presentación de Yotoco, "Reserva Natural", Flora: plantas vasculares. Palmira. Valle: Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 277 p.
- Fiore, V., Valenza, A., Di Bella, G.** (2011). Artichoke (*Cynara cardunculus* L.) fibres as potential reinforcement of composite structures. *Composites Science and Technology*. **71**: 1138-1144.
- Fiore, V., Scalici T., Valenza, A.** (2014). Characterization of a new natural fiber from *Arundo donax* L. as potential reinforcement of polymer composites. *Carbohydrate Polymers*. **106**: 77-83.
- Fuentes, C.A., Willekens, P., Petit, J., Thouminot, C., Müssig J., Trindade L.M., et al.** (2017). Effect of the middle lamella biochemical composition on the non-linear behaviour of technical fibres of hemp under tensile loading using strain mapping. *Composites: Part A*. **101**: 529-542.
- Galeano, G., Bernal, R.** (2010). Palmas de Colombia, Guía de Campo. Bogotá, D.C. Universidad Nacional de Colombia. Ministerio de Ambiente y Desarrollo sostenible. 688 p.
- García-Pérez, M., Chaala, A., Yang, J., Roy, C.** (2001). Coprolysis of sugarcane bagasse with petroleum residue. Part I: Thermogravimetric analysis. *Fuel*. **80**: 1245-1258.
- Girisha, C.S., Srinivas, GR.** (2012). Sisal/coconut coir natural fibers-epoxy composites: Water absorption and mechanical properties. *International J Engineering Innovative Techn.* **2**: 166-170.
- Gobernación de Córdoba.** (2012). Mejoramiento de la cadena productiva de la cañaflera (*Gynerium sagittatum*). Montería, Córdoba: proyecto de investigación tecnológica. Gobernación de Córdoba. 35 p.
- Guo, M., Zhang, T.H., Chen, B.W., Cheng, L.** (2014). Tensile strength analysis of palm leaf sheath fiber with Weibull. *Composites: Part A*. **62**: 45-51.
- Hossain, MK., Karim, MR., Chowdhury, MR., Imam, MA., Hosur, M., Jeelani, S., et al.** (2014). Comparative mechanical and thermal study of chemically treated and untreated single sugarcane fiber bundle. *Industrial Crops and Products*. **58**: 78-90.
- Hughes, M.** (2012). Defects in natural fibres: Their origin, characteristics and implications for natural fibre-reinforced composites. *Journal of Materials Science*. **47**: 599-609.
- Indran, S., Raj, R.E.** (2015). Characterization of new natural cellulosic fiber from *Cissus quadrangularis* stem. *Carbohydrate Polymers*. **117**: 392-399.
- Indran, S., Raj, R.E., Sreenivasan, V.S.** (2014). Characterization of new natural cellulosic fiber from *Cissus quadrangularis* root. *Carbohydrate Polymers*. **110**: 423-429.
- Ishak, M.R., Sapuan, S.M., Leman, Z., Rahman, M.Z.A., Anwar, U.M.K., Siregar, J.P.** (2013). Sugar palm (*Arenca pinnata*): Its fibres, polymers and composites. *Carbohydrate Polymers*. **91**: 699-710.
- Kommula, V.P., Kanchireddy, O.R., Shukla, M., Marwala, T.** (2014). Effect of Acid Treatment on the Chemical, Structural, Thermal and Tensile Properties of Napier Grass Fibre Strands. *International Conference on Advances in Marine, Industrial and Mechanical Engineering (ICAMIME'2014)*. Johannesburg (South Africa): 45-51.
- Kovacevic, Z., Bischof, S., Fan, M.** (2015). The influence of *Spartium junceum* L. fibres modified with montmorillonite nanoclay on the thermal properties of PLA biocomposites. *Composites Part B*. **78**: 122-130.
- Linares, E., Galeano, G., García, N., Figueroa, Y.** (2008.). Fibras vegetales empleadas en Artesanías en Colombia. Bogotá: Artesanías de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. 328 p.
- Liu, W., Mohanty, A., Drzal, L.T., Misra, M.** (2004). Effects of alkali treatment on the structure, morphology and thermal properties of native grass fibers as reinforcements for polymer matrix composites. *J Mater Sci*. **39**: 1051-1054.
- Lozano, W.A.** (2011). Determinación del número mínimo de observaciones, obviando las estimaciones de la varianza de datos. *Investia y Didactica Ambiental*. **10**: 54-61.
- Maache, M., Bezazi, A., Amroune, S., Scarpa, F., Dufresned, A.** (2017). Characterization of a novel natural cellulosic fiber from *Juncus effusus* L. *Carbohydrate Polymers*. **171**: 163-172.
- Maranon, A., Páez, D.C.** (2011). Caracterización micromecánica interfacial de un compuesto de ácido láctico reforzado con fibras naturales de cumare. Bogotá: Tesis de Maestría, Facultad de Ingeniería Mecánica. Universidad de los Andes.
- Miranda, M.I.G., Bica, C.D.I., Nachtigall, S.M.B., Rehman, N., Rosa, S.M.L.** (2013). Kinetic thermal degradation study of maize straw and soybean hull celluloses by simultaneous DSC-TGA and MDSC techniques. *Thermochimica Acta*. **565**: 65-71.
- Mohanty, A.K., Misra, M., Hinrichsen, G.** (2000). Biofibers, biodegradable polymers and biocomposites: an overview. *Macromol Mat Eng*. **276/277**: 1-24
- Monteiro, SN., Calado, V., Rodríguez, RJS., Margem, FM.** (2012). Thermogravimetric behavior of natural fibers reinforced polymer composites—An overview. *Materials Science & Engineering A*. **557**: 17-28.
- Moriana, R., Vilaplana, F., Karlsson, S., Ribes, A.** (2014). Correlation of chemical, structural and thermal properties of natural fibres for their sustainable exploitation. *Carbohydrate Polymers*. **112**: 422-431.
- Müssig, J.** (2010). *Industrial Applications of Natural Fibres Structure, Properties and Technical Applications*. University of Applied Sciences, Bremen, Germany: John Wiley & Sons, Ltd. 538 p.
- Pickering, K.L., Aruan, M.G., Le, T.M.** (2016). A review of recent developments in natural fibre composites and their mechanical performance. *Composites: Part A*. **83**: 98-112.
- Pohl, RW.** (1983). *Gynerium sagittatum* (cañaflera cane). In: D.H. Janzen. *Costa Rican natural history*. University of Chicago Press. **1**: 248-249.
- Porras, A., Maranon, A., Ashcroft, I.A.** (2016). Characterization of a novel natural cellulose fabric from *Manicaria saccifera* palm as possible reinforcement of composite materials. *Composites Part B: Engineering*. **74**: 66-73.
- Quiñones, C.** (2000). El tejido de las tribus indígenas de Colombia. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, Biblioteca Luis Ángel Arango. Bogotá. Tomo I: 109-116
- Ramírez, G., Klinger, W., Guerra JM., Vargas, L., Valoyes, Z., Robledo, D., Murillo, W., Moreno, N., Cuesta, J., Cuesta, JJ., Quezada, Z., Carabali, F.** (2011). Plan de manejo del damagua para tres comunidades del Baudó. Quibdó, Chocó. IAP, Dama-guarate. 89p.

- Rodríguez, L.J., Orrego, C.E., Sarache, W.A.** (2014). Elaboración de un material biocompuesto a partir de la fibra de plátano. Manizales: Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Industrial, Manizales, Colombia.
- Romero, M.H., Maldonado, J., Bogotá, J.D., Usma, S., Umaña, A.M., Murillo, J., Restrepo, S., Álvarez, M., Palacios, M.T., Valbuena, M.S., Mejía, S.L., Aldana J.** (2009). Informe sobre el estado de la biodiversidad en Colombia 2007-2008: Piedemonte orinoquense, sabanas y bosques asociados al norte del río Guaviare Informe sobre el estado de la biodiversidad en Colombia 2007-2008. Bogotá. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 154 p
- Rong, M.Z., Zhang, M.Q., Liu, Y., Yang, G.C., Zeng, H.M.** (2001). The effect of fiber treatment on the mechanical properties of unidirectional sisal-reinforced epoxy composites. *Composites Science and Technology*. **6**: 1437-1447.
- Saravanakumar, S.S., Kumaravel, A., Nagarajan, T., Sudhakar, P., Baskaran, R.** (2013). Characterization of a novel natural cellulosic fiber from *Prosopis juliflora* bark. *Carbohydrate Polymers*. **92**: 1928-1933.
- Sarikanat, M., Seki, Y., Sever, K., Durmuskahya, C.** (2014). Determination of properties of *Althaea officinalis* L. (Marshmallow) fibres as a potential plant fibre in polymeric composite materials. *Composites: Part B*. **57**: 180-186.
- Spinacé, M.A.S., Lambert, C.S., Feroselli, K.K.G., DePaoli, M.A.** (2009). Characterization of lignocellulosic curaua fibres. *Carbohydrate Polymers*. **77**: 47-53.
- Srinivasan, V.S., Rajendra S., Sangeetha, D., Vijaya, R.** (2014). Evaluation of mechanical and thermal properties of banana-flax based natural fibre composite. *Materials and Design*. **60**: 620-627.
- Thygesen, A.** (2006). Properties of hemp fibre polymer composites- An optimisation of fibre properties using novel defibration methods and fibre characterisation. Denmark: Royal Veterinary and Agricultural University. N.11. 148 p.
- Ventas artesanías en guérregue.** Ventas artesanías en guerregue. Comunidad Woonan. Video promocional. Fecha de consulta: 16 septiembre 2014. Disponible en: www.youtube.com/EYoZ6OfNHgI.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.H., Zheng, C.** (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*. **86**: 1781-1788.
- Yusriah, L., Sapuan, S.M., Zainudin, E.S., Mariatti, M.** (2014). Characterization of physical, mechanical, thermal and morphological properties of agro-waste betel nut (*Areca catechu*) husk fibre. *Journal of Cleaner Production*. **72**: 174-180.

Evolución del riesgo de extinción y estado actual de conservación de las aves de Colombia

Luis Miguel Renjifo*, Ángela María Amaya-Villarreal

Departamento de Ecología y Territorio, Facultad de Estudios Ambientales y Rurales,
Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

Artículo de posesión para el ingreso como miembro correspondiente de la
Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 26 de abril de 2017

Resumen

La evaluación periódica del riesgo de extinción de las especies es indispensable para monitorear el progreso o retroceso de su estado de conservación. Se analiza aquí la evolución de las listas y libros rojos de aves en Colombia en cuanto al sistema de evaluación, los métodos y la composición de las especies. Las cinco evaluaciones realizadas a la fecha utilizaron el sistema de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (*International Union for Conservation of Nature*, UICN). Los métodos han progresado notablemente desde las evaluaciones que se basaban exclusivamente en el criterio experto hasta las actuales que utilizan herramientas analíticas sofisticadas sin dejar de usar el criterio experto. En total, 62, 81, 89, 112 y 140 especies estuvieron en alguna categoría de amenaza en los años 1986, 1998, 2001, 2002 y 2016, respectivamente. Al comparar las evaluaciones del 2002 y el 2016, la proporción de especies bajo alguna categoría de amenaza se ha reducido para el criterio A (rápido declive poblacional), es estable para el criterio B (distribución pequeña, fragmentada y en disminución), en tanto que ha aumentado para el criterio C (población pequeña y en disminución). La agricultura, la ganadería, la cacería y el tráfico ilegal, así como los cultivos ilícitos, son las amenazas directas más significativas actualmente (55, 44, 32 y 31 % de especies afectadas, respectivamente). Tomadas en su conjunto, estas amenazas sugieren que la principal causa de amenaza para las aves es la debilidad del control del Estado sobre el territorio. Las familias Psittacidae, Grallariidae y Cracidae son particularmente sensibles. La precisión de futuras evaluaciones se beneficiará con la información sobre las densidades poblacionales en diferentes tipos de hábitats y gradientes de idoneidad, así como con los registros de georreferenciación de alta calidad y la exploración de regiones con escasos niveles de información ornitológica. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Evaluación de riesgo de extinción; Especies amenazadas; Aves; Colombia.

Evolution of extinction risk and current conservation status of Colombian birds

Abstract

Periodic assessment of extinction risk is fundamental to monitor progress or regression on species conservation status. We analyzed changes through time in red lists and red data books in Colombia in terms of evaluation systems, methods, and species composition. All five assessments used the International Union for Conservation of Nature (IUCN) system. Methods have progressed notably, from assessments 100% based on expert knowledge to assessments that use sophisticated analytical tools together with expert knowledge. A total of 62, 81, 89, 112 and 140 species were threatened in the years 1986, 1998, 2001, 2002 and 2016, respectively. Comparing assessments conducted in 2002 and 2016, the proportion of species in a category of threat under criterion A (rapid population decline) has declined, it is stable under criterion B (small, fragmented, and declining distribution), and has increased under criterion C (small and declining population). Agriculture, livestock farming, hunting and illegal trade, as well as illicit crops, are the most significant direct threats currently affecting 55%, 44%, 32%, and 31% of the species, respectively. This set of threats taken together suggests that the main direct threat for birds is the weakness of State control in the country's territories. The families Psittacidae, Grallariidae, and Cracidae are particularly sensitive. Future assessments will benefit with new information on population densities in different habitat types, and suitability gradients, as well as high-quality georeferencing records, and exploration of regions with low levels of ornithological knowledge. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Extinction risk assessment; Threaten species; Birds; Colombia.

*Correspondencia:

Luis Miguel Renjifo, lmrenjifo@javeriana.edu.co; **Recibido:** 29 de marzo de 2017; **Aceptado:** 03 de noviembre de 2017

Introducción

El intenso y creciente uso de recursos naturales por parte de la humanidad afecta la biodiversidad al producir la degradación, la destrucción y la fragmentación de los hábitats, tanto como la emisión de contaminantes, la introducción de especies invasoras y la explotación excesiva de especies, lo que incluso ha llevado a la extinción de muchas de ellas (Pimm & Raven, 2000, Foley, *et al.*, 2005, Pereira, *et al.*, 2010, Rands, *et al.*, 2010, Dirzo, *et al.*, 2014, Haddad, *et al.*, 2015). La pérdida de especies disminuye la capacidad de los ecosistemas para mantener funciones tan importantes como la provisión de agua, de recursos forestales y de alimentos (Dirzo, *et al.*, 2014). La pérdida de especies también tiene consecuencias evolutivas y conduce a perturbaciones en cascada que se propagan a través de los ecosistemas con efectos sobre dinámicas ecológicas tales como la herbivoría, el ciclado de nutrientes, la erosión y la regulación de regímenes hídricos (Estes, *et al.*, 2013, Dirzo, *et al.*, 2014, Ripple, *et al.*, 2014).

La evaluación del riesgo de extinción de especies es fundamental para su conservación. El saber cuáles especies se encuentran en riesgo y las causas de amenaza permite orientar las acciones de conservación de manera apropiada y efectiva (Rodrigues, *et al.*, 2006). Estas evaluaciones de riesgo, publicadas en documentos llamados listas o libros rojos, sirven de soporte a la definición de prioridades de conservación, la declaración de áreas protegidas, la formulación de políticas, el diseño de planes de conservación, la asignación de recursos económicos, la orientación de procesos de educación y la generación de conciencia pública sobre la vulnerabilidad de la naturaleza (UICN, 2003, Rodrigues, *et al.*, 2006, Farrier, Whelan & Mooney, 2007). La evaluación periódica del riesgo de extinción de las especies es indispensable para determinar el progreso o el retroceso en el estado de las especies y, por lo tanto, la efectividad de las políticas de conservación (UICN, 2003, Farrier, *et al.*, 2007, Amaya-Espinell, *et al.*, 2011).

Los libros rojos proveen una amplia y útil información obtenida mediante la recopilación del conocimiento en el cual se basan las evaluaciones (Rodrigues, *et al.*, 2006). Su metodología se fundamenta en el sistema de categorías y criterios de la UICN, el cual es uno de los métodos más aceptados para evaluar el riesgo de extinción de las especies (Mace, *et al.*, 2008). Los criterios utilizados cuantifican si está ocurriendo una rápida reducción del tamaño poblacional (criterio A), si el área de distribución de una especie es pequeña y está severamente fragmentada, o en disminución, o si fluctúa (criterio B); si la población es pequeña y está en disminución (criterio C); si la población o la distribución es muy pequeña y hay una amenaza plausible (criterio D), y, cuando se cuenta con suficiente información, si el análisis de viabilidad poblacional indica una gran probabilidad de desaparición (criterio E). Las categorías en las cuales se clasifica a las especies una vez evaluadas son las siguientes: extinta (EX), extinta en vida silvestre (EW), en peligro crítico

(CR), en peligro (EN), vulnerable (VU), casi amenazada (NT), datos insuficientes (DD) y preocupación menor (LC). Las especies en las categorías CR, EN y VU se consideran amenazadas. Por último, hay muchas especies que no han sido evaluadas (NE) (IUCN, 2001, 2012).

Colombia ha sido un país muy activo en la evaluación del riesgo de extinción de sus especies de flora y fauna. Entre el 2002 y el 2007, se publicaron 15 libros de especies amenazadas de plantas y animales terrestres, marinos y dulceacuícolas (Ardila, *et al.*, 2002, Calderón, *et al.*, 2002; Castaño-Mora, 2002, Linares & Uribe-Meléndez, 2002, Mejía & Acero, 2002, Mojica, *et al.*, 2002, Renjifo, *et al.*, 2002, Rueda-Almonacid, *et al.*, 2004, Calderón, *et al.*, 2005, García & Galeano, 2006; Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 2006; Amat, *et al.*, 2007; Calderón-Sáenz, 2007; Cárdenas & Salinas, 2007; García, 2007). En la segunda década del siglo XXI se publicaron tres nuevos libros rojos: peces dulceacuícolas (Mojica, *et al.*, 2012), aves (Renjifo, *et al.*, 2014, 2016), y peces marinos (Chasqui, *et al.*, 2017), en los cuales se volvió a evaluar el riesgo de las especies de esos grupos taxonómicos. La lógica de evaluación del riesgo de las especies se ha orientado recientemente a la evaluación del riesgo de extinción de ecosistemas (Rodríguez, *et al.*, 2007, Keith, *et al.*, 2013), y Colombia es uno de los primeros países en donde esto se está haciendo (Etter, *et al.*, 2015).

Se han desarrollado diversas aproximaciones para monitorizar el estado de la biodiversidad global, especialmente después de la creación de la Convención sobre la Diversidad Biológica (*Convention on Biological Diversity*, CBD) en 1992. Por ejemplo, el indicador de “Planeta Vivo” (*Living Planet Index*, LPI), creado por el Fondo Mundial para la Naturaleza (*Wild Wildlife Fund*, WWF) en 1998, se utiliza para monitorizar las tendencias en la biodiversidad. Mide las tendencias poblacionales usando datos de series de tiempo para calcular tasas de cambio en las poblaciones de especies silvestres de vertebrados terrestres, marinos y dulceacuícolas (Loh & Wackernagel, 2004, Loh, *et al.*, 2005) y es considerado como uno de los conjuntos de datos más completos de observaciones sobre la abundancia de las poblaciones (Proença, *et al.*, 2017). Al igual que los libros rojos, el LPI transmite de una forma sencilla al público no experto (como los responsables de decisiones, los políticos, el público general), la información sobre las tendencias de la biodiversidad (Collen, *et al.*, 2009).

Las aves son un grupo muy diverso que incluye las 10.672 especies existentes (156 se han extinguido recientemente), pertenecientes a 40 órdenes y 238 familias (Gill & Donsker, 2017). Además, las aves son de gran importancia evolutiva y ecológica (Şekercioğlu, 2006, Wenny, *et al.*, 2011). La pérdida de las aves trae consigo un detrimento de los servicios ecosistémicos que proveen (como la polinización y la dispersión de semillas), con los cuales contribuyen a la regeneración de los ecosistemas; al control de poblaciones de invertebrados y microvertebrados plaga en sistemas productivos y en ecosistemas silvestres; al control de malezas

en sistemas agrícolas; a la disposición de cadáveres, basuras y ciclado de nutrientes; a la relocalización de nutrientes, y a la provisión de cavidades de anidación para otras especies (Şekercioğlu, 2006, Whelan, *et al.*, 2015). Las aves son también indicadores de la salud de los ecosistemas (Carson, 1962, Gregory & van Strien, 2010).

Colombia es coloquialmente conocido como el país de las aves porque es el de mayor riqueza de especies en el mundo (BirdLife International, 2017) y su tasa de descubrimiento de especies es de una nueva por año (Franco, *et al.*, 2009). Las aves han sido el grupo con más evaluaciones de riesgo de extinción en el país. El primer inventario de especies que podrían encontrarse en riesgo fue la lista azul de Hilty (1985), seguida por cinco evaluaciones de riesgo (Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 1986, Renjifo, 1998, Negret, 2001, Renjifo, *et al.*, 2002, Renjifo, *et al.*, 2014, Renjifo, *et al.*, 2016; los dos últimos corresponden a un mismo proceso de evaluación).

En este trabajo analizamos la evolución de las listas y libros rojos de aves en Colombia en cuanto a sistema de evaluación, métodos y composición. Así mismo, comparamos analíticamente los cambios en el estado de conservación de las aves entre el 2002 y el 2016. Para las especies amenazadas en el presente (Renjifo, *et al.*, 2014, Renjifo, *et al.*, 2016), analizamos la prevalencia de los tipos de amenazas directas, estimamos la proporción de especies amenazadas por cada familia y determinamos cuáles tienen mayor propensión a la extinción por selectividad taxonómica.

Métodos

Evolución en la evaluación de riesgo de extinción. Analizamos cada uno de los documentos publicados con evaluaciones de riesgo de las especies de aves en Colombia para determinar el sistema de evaluación y los métodos utilizados. Sistematizamos los listados de especies amenazadas de las cinco evaluaciones de riesgo: Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 1986, Renjifo, 1998, Negret, 2001, Renjifo, *et al.*, 2002, Renjifo, *et al.*, 2014 y Renjifo, *et al.*, 2016. Como los dos volúmenes del libro rojo más reciente (2014 y 2016) hacen parte de un mismo ciclo de evaluación para las especies de aves del país, nos referiremos a esta evaluación como una sola (Renjifo, *et al.*, 2016). Revisamos la taxonomía vigente siguiendo al Comité Suramericano de Clasificación (*South American Classification Committee*, SACC) de la Unión de Ornitólogos Americanos (versión 4, agosto 2016, Remsen, *et al.*, 2016), para detectar cambios taxonómicos entre los distintos periodos de tiempo y unificar los listados según las sinonimias.

Cambios en la composición de la avifauna amenazada entre 2002 y 2016. Revisamos los cambios de las categorías entre los listados de Renjifo, *et al.*, 2002 y Renjifo, *et al.*, 2016, y contabilizamos los cambios que corresponden a una mejoría en el estado (*downlist*), empeoramiento (*uplist*) o sin cambios. Comparamos los cambios en las proporciones de especies amenazadas bajo los criterios A, B, C y D entre

los años 2002 y 2016. Examinamos para cada periodo de tiempo cuántas especies resultaron amenazadas según cada criterio teniendo en cuenta todas las categorías de amenaza en las que se encuentra cada especie. Por ejemplo, el loro orejiamarillo, *Ognorhynchus icterotis*, se encuentra en peligro según el criterio C (C2a(i)) y es vulnerable según los criterios B y D (B2ab(v); D1), por lo tanto, se incluyó en el conjunto de especies amenazadas bajo los criterios B, C y D. Por último, determinamos la proporción de especies en 2002 y 2016 para las cuáles no había estimaciones del tamaño poblacional, y establecimos de cuáles había información que permitiera hacer dichas estimaciones después del 2002.

Proporción de especies amenazadas. Calculamos la proporción de especies amenazadas en el país y por familia de aves residentes permanente o estacionalmente en Colombia. Para esto añadimos al listado del SACC para Colombia las especies de San Andrés, según el listado de Pacheco-Garzón (2012), y las de Providencia, según la lista de chequeo de las aves del mundo *Avibase* (disponible en <http://avibase.bsceoc.org/checklist.jsp?lang=ES®ion=copr&list=ioc>). Luego excluimos del listado las especies transeúntes, accidentales y aquellas de las cuales se sabe que su población nacional es de menos del 2 % de la población global, dado que estos tipos de especies no deben ser evaluadas a escala nacional (UICN, 2003, 2012). Teniendo en cuenta que para las especies que se clasifican como DD, el riesgo de extinción es desconocido (podrían o no estar amenazadas), eliminamos la incertidumbre que introducen dichas especies, así: $Proporción_{amenaza} = \frac{CR + EN + VU}{N - DD}$, donde N es el total de especies evaluadas. Este método se ha utilizado en diversos estudios sobre riesgo de extinción (Schipper, *et al.*, 2008, Clausnitzer, *et al.*, 2009, Hoffmann, *et al.*, 2010, Böhm, *et al.*, 2013). Siguiendo a Böhm, *et al.* (2013), calculamos el rango superior de esta proporción asumiendo que las especies DD estaban amenazadas ($Proporción_{amenaza} = \frac{CR + EN + VU + DD}{N}$), y el rango inferior asumiendo que las especies DD no lo estaban ($Proporción_{amenaza} = \frac{CR + EN + VU}{N}$).

Con el fin de determinar si las especies amenazadas están aleatoriamente distribuidas entre las familias o no, es decir, si hay selectividad taxonómica en el riesgo de extinción, hicimos una prueba exacta de Fisher (Sokal & Rohlf, 1995) utilizando el programa R (R Core Team 2011) para las familias de aves con cinco o más especies en Colombia (n=50). Comparamos el número observado de especies amenazadas en cada familia con una distribución nula de frecuencias de 10.000 aleatorizaciones (valor esperado de proporción de especies amenazadas de 0,08 y de especies no amenazadas de 0,92). El análisis se hizo con un intervalo de confianza de 95 %. Las familias con valores de $p < 0,05$ se consideraron por encima del valor esperado de amenaza.

Amenazas. Para analizar la prevalencia de los tipos de amenazas directas en el presente, examinamos la información de la sección “Amenazas” de las fichas de síntesis de la información y de la sección “Situación de la especie” en

Renjifo, et al., (2014, 2016), y utilizamos la clasificación de amenazas directas (**IUCN-CMP, versión 1.1, Salafsky, et al.**, 2008) para cada una de ellas, así: 1) desarrollo residencial y comercial; 2) agricultura y acuicultura; 3) producción de energía y minería; 4) transporte y corredores de servicio; 5) uso de recursos biológicos; 6) intrusión y disturbios por humanos; 7) modificaciones de sistemas naturales; 8) especies invasoras y otras especies problemáticas; 9) contaminación; 10) eventos geológicos, y 11) cambio climático y clima severo. En la categoría de “Agricultura” añadimos los cultivos ilícitos como subcategoría, pues son una amenaza de gran relevancia en Colombia. Una especie suele estar amenazada por diversas amenazas directas, dado que éstas no son mutuamente excluyentes.

Resultados

Sistemas de evaluación y métodos. En cada una de las cinco evaluaciones (**Rodríguez-Mahecha, et al.**, 1986, **Renjifo**, 1998, **Negret**, 2001, **Renjifo, et al.**, 2002, y **Renjifo, et al.**, 2016), se utilizó de manera implícita o explícita el sistema de la UICN vigente en su momento. Tanto **Rodríguez-Mahecha, et al.** (1986) como **Negret** (2001) utilizaron un sistema de categorías, pero no de criterios, pues estos fueron desarrollados posteriormente. **Rodríguez-Mahecha, et al.** (1986) elaboraron la lista de especies y subespecies con base en el criterio experto sobre la percepción del grado de amenaza. No obstante, el criterio de inclusión de subespecies utilizado por estos autores no es explícito. Las categorías de este listado son “Extinta” y “En Vías de Extinción” (Tabla 1S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/461/2388>). La obra de Álvaro José Negret se escribió en los años ochenta y noventa y fue publicada póstumamente (**Negret**, 2001). En ella no se encuentra una descripción de métodos, lo cual indica que se hizo con base en el criterio experto. Las especies se categorizaron como “Extintas” (E-1), “Amenazadas” (E-2), “Vulnerables” (V-3), “Raras” (R-4) e “Indeterminadas” (I-5) (Tabla 2S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/461/2389>).

A partir de **Renjifo** (1998) se utilizó el sistema de categorías y criterios desarrollado y refinado progresivamente por la UICN entre 1991 y 2001 (**Mace & Lande**, 1991, **IUCN** 2001). Todas estas evaluaciones se hicieron a nivel de especie. En **Renjifo** (1998) las evaluaciones partieron de un listado de especies potencialmente amenazadas recopilado de fuentes publicadas e inéditas. Las evaluaciones se hicieron con base en el criterio experto a partir de la compilación de información sobre la distribución, la sensibilidad y la situación de cada especie a nivel global y nacional, y utilizando como referente la situación de los hábitats de las especies y la distribución de los ecosistemas terrestres del país (**Etter**, 1993). Tanto la recopilación de la información como la evaluación del riesgo fueron responsabilidad de un solo autor. A partir de **Renjifo, et al.** (2002) el compendio de información de las especies potencialmente amenazadas fue

ampliamente participativo, pues se convocaron investigadores nacionales e internacionales para elaborar las fichas de síntesis de la información sobre las especies con datos de la distribución, la ecología, las amenazas y las medidas de conservación tomadas. Además, se invitó a investigadores, conservacionistas y observadores de aves a aportar registros de distribución de las especies. Esta investigación estuvo a cargo de un equipo de cinco investigadores y se sirvió de las síntesis de información escritas por 47 colaboradores y los aportes de registros de información de 118 personas. En el estudio de **Renjifo, et al.** (2002) se hicieron por primera vez, en el país y en el mundo, estimaciones cuantitativas de las áreas de distribución y los tamaños poblacionales de las especies utilizando sistemas de información geográfica. Para estimar la distribución de las especies se usaron modelos simples de superposición de capas de modelos digitales de elevación, modelos de ecosistemas originales (**Etter, et al.**, sin publicar, versión 1999), de ecosistemas actuales (**Etter**, 1998, **Fundación Pro-Sierra Nevada de Santa Marta**, 1998), y la distribución conocida e inferida de las especies. El tamaño de las poblaciones se estimó utilizando estimaciones del área de hábitats remanentes por especie y densidades poblacionales conocidas. Las estimaciones de la velocidad de pérdida de hábitat y el cambio poblacional se basaron en el criterio experto.

La evaluación más reciente (**Renjifo, et al.**, 2014, **Renjifo, et al.**, 2016) estuvo a cargo de un equipo de siete investigadores, y se apoyó en las síntesis de información escritas por 155 colaboradores y los aportes de registros de información de 142 personas. Para esta evaluación se hicieron estimaciones cuantitativas de distribución de las especies basadas en modelos de distribución establecidos mediante el uso de variables climáticas y registros biológicos. Los modelos se refinaron mediante la consideración de la cobertura vegetal y el criterio experto. Para la obtención de capas de variables climáticas necesarias para los modelos de distribución, se interpolaron datos provenientes de la red de estaciones del IDEAM a lo largo de cuatro décadas. Con los modelos de distribución se estimó el tamaño del área de distribución de cada especie. Con la información multitemporal sobre la cobertura vegetal con relación a la distribución de cada especie, se estimaron la magnitud y la velocidad de cambio en la extensión de los hábitats y las poblaciones de las especies. Se calculó el tamaño poblacional de las especies con base en estimaciones del área de ocupación de cada una de ellas y las densidades poblacionales reportadas en la literatura. Cuando una especie es endémica su evaluación corresponde a una evaluación global, pero cuando no lo es, se requiere un ajuste de carácter regional porque la probabilidad de extinción puede no ser independiente de lo que ocurra en países vecinos; para esto se utilizaron los métodos publicados por la UICN (2003). Este ajuste no se aplicó a las evaluaciones en el estudio de **Renjifo, et al.** (2002), dado que los métodos no estaban disponibles en ese momento. Las subespecies se

incluyeron en el análisis si había evidencia que indicara que ese taxón podría ser tratado como especie válida que debería ser evaluada por precaución (ver **Laverde, 2014 en Renjifo, et al., 2014**).

Cambios en la composición de las listas. El número de especies incluidas en las listas rojas ha aumentado a través del tiempo (Tabla 1). Mientras en la primera evaluación de riesgo de extinción **Rodríguez-Mahecha, et al.** (1986) consideraron que 62 especies estaban “En Vías de Extinción” y que dos taxones estaban extintos (la especie *Podiceps andinus* y la subespecie *Anas georgica nicefori*) (Tabla 1S), en la evaluación de **Negret** (2001), 89 especies se consideraron en las categorías “Amenazada” y “Vulnerable” y tres taxones se consideraron “Extintos” (*P. andinus*, *Anas georgica nicefori* y *Sporophila insulata*) (Tabla 2S). Más adelante, en la primera evaluación de **Renjifo** (1998), se concluyó que 83 especies estaban amenazadas (CR, EN y VU). Este número aumentó a 112 (**Renjifo, 2002**) y actualmente es de 140 (años 2014 y 2016) (Tablas 1 y 2).

Cambios entre el 2002 y el 2016. De las 112 especies en alguna categoría de amenaza en el año 2002, 54 (48 %) permanecen en la misma categoría, 16 (14 %) subieron a una categoría (empeoraron) de mayor riesgo y 36 (33 %) bajaron de categoría (mejoraron) (Tabla 2). De las especies que bajaron de categoría, 11 (10 %) pasaron de estar en una categoría de amenaza a NT o LC. Una especie pasó de CR a DD (*Cypseloides lemosi*) y cinco no han sido evaluadas recientemente (**Renjifo, et al., 2014, Renjifo, et al., 2016**), tres de ellas debido a cambios en la taxonomía (los casos de sinonimización mencionados más adelante) y dos, porque se siguió el criterio de filtración de la UICN que indica que no se deben evaluar especies cuya población en el país sea menor de 2 % de la población global (**IUCN, 2012**).

Hasta este punto la tendencia de los cambios entre 2002 y 2016 podría parecer positiva. No obstante, 27 especies entraron por primera vez a alguna categoría de amenaza (CR, EN, VU) y siete pasaron de estar en la categoría de preocupación menor a casi amenazadas (Tabla 2). En conjunto, todos estos cambios muestran una tendencia claramente negativa. Los cambios de categoría de una especie pueden deberse a una mayor disponibilidad de información, a cambios en los métodos analíticos o a cambios genuinos en su estado de conservación. El análisis detallado para determinar el tipo de cambio que ha tenido cada una de las especies va más allá del objetivo de este trabajo y será publicado como un indicador de listas rojas de aves para Colombia. (Sobre los indicadores para la elaboración de listas rojas, véase a **Butchart, et al., 2007**).

Además, encontramos que de las especies descritas como nuevas para la ciencia después del 2002, ocho se encuentran amenazadas. Estas especies son *Henicorhina negreti* (**Salaman, et al., 2003**), *Scytalopus rodriguezi* (**Krabbe, et al., 2005a**), *Scytalopus stilesi* (**Cuervo, et al., 2005**), *Eriocnemis isabellae* (**Cortés-Diago, et al., 2007**), *Atlapetes blancae* (**Donegan, 2007**), *Grallaria urraoensis*

Tabla 1. Número y porcentaje de especies en cada categoría en los años 1986, 1998, 2002 y 2016.

Categoría	1986	1998	2002	2016
CR	N/A	13 (15,7)	19 (17,0)	17 (12,1)
EN	N/A	24 (28,9)	44 (39,3)	56 (40,0)
VU	N/A	46 (55,4)	49 (43,8)	67 (47,9)
Total amenazadas	62 (100)	83 (100)	112 (100)	140 (100)
EX	2	1	1	1
NT	N/A	75	40	28
DD	N/A	5	9	9
Total EX+NT+DD	2	81	50	38
Total especies	64	164	162	178

CR: en peligro crítico; EN: en peligro; VU: vulnerable; N/A: no aplica; EX: extinta, NT: casi amenazada; DD: datos insuficientes

(**Carantón & Certuche, 2010**), *Thryophilus sernai* (**Lara, et al., 2012**) y *Scytalopus perijanus* (**Avendaño, et al., 2015**).

Cambios taxonómicos. Los cambios en la taxonomía dificultan la comparación de los análisis de riesgo de extinción de algunos taxones a través del tiempo. Por ejemplo, la sinonimización, que ocurre cuando taxones antes considerados especies válidas son posteriormente considerados subespecies. Este es el caso de *Crypturellus columbianus* y *C. saltuarius*, antes tratados como especies plenas, pero que hoy se consideran subespecies de *C. erythropus* (**Remsen, et al., 2016**). Tal cambio taxonómico implica que el ámbito de distribución de *C. erythropus* es más amplio y se considera en bajo riesgo. El caso contrario lo representan las divisiones taxonómicas. Siete taxones (*Anthrocephala berlepschi*, *Clibanornis rufipectus*, *Oxygogon stubelii*, *O. cyanolaemus*, *Scytalopus sanctaemartae*, *S. canus* y *Troglodytes monticola*), fueron tratados como subespecies en el año 2002 y, posteriormente, elevados a nivel de especie. Al evaluarlas, calificaron como amenazadas (para más detalles ver el Apéndice 4 de **Renjifo, et al., 2016**).

Otro tipo de cambio se debe a la aclaración del estatus de algunas aves. *Sporophila insulata* se consideró como una especie válida, dada por extinta en la evaluación de **Negret** (2001), y como amenazada en la de **Renjifo** (1998) y **Renjifo, et al.** (2002), pero hoy se piensa que es un híbrido entre *S. telasco* y *S. minuta* (**De las Casas, et al., 2004**) o un morfo de color de *S. telasco* (**Stiles, 2004**). Lo opuesto ocurrió con *Coeligena orina*, cuyo estatus permaneció incierto por décadas. El hallazgo de poblaciones en la cordillera Occidental en el año 2004 permitió la confirmación de su validez como especie (**Krabbe, et al., 2005b**).

La inestabilidad taxonómica ocasionada por el avance en el conocimiento, la complejidad de la clasificación de los organismos y el desacuerdo entre las autoridades taxonómicas en cuanto a los criterios de aceptación de las especies como válidas, puede interferir con una comunicación efectiva, así como con los programas de conservación, los

Tabla 2. Especies y subespecies de aves de Colombia listadas como amenazadas o casi amenazadas en tres periodos de tiempo. No aplica (N/A) corresponden a taxones no válidos en el pasado o en el presente, nuevos registros de especies para Colombia o para la ciencia en un tiempo posterior a las evaluaciones en cada columna. NE = No evaluada. Las especies endémicas están marcadas con un asterisco. La taxonomía y los nombres científicos siguen SACC (2016).

Familia	Taxón	Renjifo 1998	Renjifo et al. 2002	Renjifo et al. 2016
Tinamidae	<i>Nothocercus bonapartei</i>	VU C2a	LC	LC
	<i>Tinamus tao</i>	VU C2a	LC	LC
	<i>Tinamus osgoodi</i>	CR B1+2c; C2a	EN B2ab(iii,v); C2a(i)	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Crypturellus obsoletus castaneus</i> * ¹	N/A	N/A	CR C2a(i)
	<i>Crypturellus erythropus columbianus</i> ²	NT	EN A4cd	N/A
	<i>Crypturellus erythropus saltuarius</i> ²	CR B1+2c; C2b	CR B2ab(i,ii,iii,iv,v); D1	N/A
	<i>Crypturellus kerriae</i>	VU B1+2c; C2a	VU B1ab(i,ii,iv)	VU C2a(i)
Anhimidae	<i>Chauna chavaria</i>	NT	VU C2a(i)	VU C2a(i)
Procellariidae	<i>Pterodroma phaeopygia</i> ³	CR A1ac+2c	CR A2ace	NE
Anatidae	<i>Oressochen jubatus</i>	NT	NT A2, cd+3cd	VU A2cd+4cd; C2a(ii)
	<i>Sarkidiornis melanotos</i>	LC	EN B2ab(ii,iii)	EN B2ab(iii,v); C2a(i)
	<i>Anas georgica</i>	LC	EN B2ab(ii,iii,v); C1	VU A2cd+4cd; B2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Anas bahamensis</i>	LC	LC	NT A2cd+4cd; B2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Anas cyanoptera</i>	VU A1a; C2a	EN B2ab(ii,iii,iv); C1	EN B2ab(iii,v); C2a(i)
	<i>Netta erythrophthalma</i>	CR A1a; C1	CR C2a(i)	CR D
	<i>Oxyura jamaicensis</i>	LC	EN B2ab(ii,iii); C1+2a(i)	EN B2ab(iii,v); C2a(ii)
	Cracidae	<i>Penelope ortoni</i>	VU A1cd+2cd	VU C1+2a(i)
<i>Penelope perspicax</i> *		EN C2a	EN B2ab(ii,iii,v); C2a(i)	EN C2a(i)
<i>Aburria aburri</i>		NT	NT	LC
<i>Ortalis erythroptera</i>		LC	VU A1cd+2cd; B1a+2ab(i,ii,iii,iv); C1	NT B1ab(iii,v)+2ab(iii,v)
<i>Crax rubra</i>		LC	LC	VU A2cd+4cd
<i>Crax alberti</i> *		CR C2a	CR A4cd	CR A2cd+4cd
<i>Crax daubentoni</i>		LC	VU C1+2a(i)	EN A2cd+4cd; C2a(i)
<i>Crax globulosa</i>		VU A1cd+2cd	CR B2a(i,ii,iii,iv,v); C2a(ii); D1	EN B1ab(iii,iv)+2ab(iii,iv); C2a(ii)
<i>Pauxi pauxi</i>		EN B1+2c	VU A2cd+4cd; B2ab(ii,iii); C2a(i)	EN A2cd+4cd
Odontophoridae		<i>Odontophorus atrifrons</i>	NT	VU B2ab(iii)
	<i>Odontophorus hyperythrus</i>	NT	NT B1+2abcde; C2a	LC
	<i>Odontophorus melanonotus</i>	NT	VU A4c; B1ab(i,iii)+2ab(i,iii)	EN B1ab(ii,iii,v)
	<i>Odontophorus dialeucos</i>	VU D2	EN B1ab(i,ii,iii,iv,v)+2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(ii)	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Odontophorus strophium</i> *	EN B1+2c; C2a	CR B2ab(ii,iii,iv); C2a(ii)	EN B2ab(i,ii,iii,iv,v)
Podicipedidae	<i>Podiceps andinus</i> *	EX	EX	EX
	<i>Podiceps occipitalis</i>	VU C2a	EN B2ab(ii,iii,iv)	CR B2ab(iii,v); C2a(i)
Phoenicopteridae	<i>Phoenicopterus ruber</i>	LC	VU B1ab(i,iii); C2a(ii)	EN A2cd; B2ab(iii,v); C2a(ii)
Sulidae	<i>Sula granti</i> ⁴	N/A	VU D2	VU D2
	<i>Sula leucogaster</i>	LC	LC	EN B2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(i)
Ardeidae	<i>Egretta rufescens</i>	LC	LC	VU C2a(ii)
	<i>Tigrisoma fasciatum</i>	NT	LC	LC
	<i>Agamia agami</i>	NT	LC	LC
	<i>Zebrius undulatus</i>	NT	LC	LC
Cathartidae	<i>Vultur gryphus</i>	EN A1a; C2a	EN D1	CR C2a(i)

Accipitridae	<i>Morphnus guianensis</i>	NT	NT A2cd+3cd	NT A2cd+4cd; C2a(ii)
	<i>Harpia harpyja</i>	NT	NT A2cd+3cd	NT A2cd+4cd; C2a(ii)
	<i>Spizaetus isidori</i>	NT	EN C2a	EN A2cd+4cd; C1
	<i>Circus cinereus</i>	LC	LC	EN B2ab(i,ii,iii,v); C2a(ii); D
	<i>Accipiter collaris</i>	NT	NT C1+2a(i)	NT C2a(i)
	<i>Accipiter poliogaster</i>	NT	LC	LC
	<i>Cryptoleucopteryx plumbea</i>	NT	NT B1+2abcde; C1+2a	NT C2a(ii)
	<i>Leucopternis semiplumbeus</i>	NT	LC	LC
	<i>Buteogallus solitarius</i>	NT	EN C2a(i)	CR C2a(i)
	<i>Spizastur melanoleucus</i>	NT	LC	LC
Rallidae	<i>Coturnicops notatus</i>	DD	DD	DD
	<i>Micropygia schomburgkii</i>	NT	LC	LC
	<i>Rallus semiplumbeus</i> *	EN B1+2c; C2a	EN B2ab(ii,iii); C1+2a(i)	EN B2ab(ii,iii,v)
	<i>Aramides wolfti</i>	VU A1c	VU A4c	LC
	<i>Mustelirallus colombianus</i>	NT	DD	DD
	<i>Porphyriceps melanops</i>	VU A1a+2b; C2a	CR A2abce; B2ab(i,ii,iii,iv,v)	EN B2ab(iii,v); C2a(i)
Scolopacidae	<i>Gallinago imperialis</i>	DD	DD	DD
Laridae	<i>Creagrus furcatus</i>	LC	EN D1	EN D
Columbidae	<i>Patagioenas leucocephala</i>	LC	LC	NT B2ab(iii)
	<i>Leptotila conoveri</i> *	EN C2a	EN C2a	VU B2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Leptotila jamaicensis</i>	NE	NE	CR B1ab(iii,v)
	<i>Zentrygon goldmani</i>	NT	NT B1+2abcde	VU B1ab(iii, v)+2ab(iii, v); C2a(i); D1
Cuculidae	<i>Neomorphus radiolosus</i>	EN C2a	VU C2a(i)	EN C2a(i)
Strigidae	<i>Glaucidium nubicola</i>	LC	VU A2c+3c	VU B2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Aegolius harrisii</i>	NT	LC	LC
	<i>Megascops colombianus</i>	NT	NT B1ab(iii) + 2ab(iii)	LC
Caprimulgidae	<i>Nyctiphrynus rosenbergi</i>	NT	NT A2c+3c	LC
Apodidae	<i>Cypseloides cherriei</i>	NE	DD	DD
	<i>Cypseloides lemosi</i>	VU C2b	CR B2ab(iii,iv); C1	DD
	<i>Tachornis furcata</i>	NE	DD	DD
Trochilidae	<i>Helianthus zusii</i> *	CR D1	DD	CR-PE C2a(i)
	<i>Lophornis stictolophus</i>	NT	LC	LC
	<i>Phlogophilus hemileucurus</i>	NT	NT	NT B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Anthocephala floriceps</i> *	NT	VU B2ab(iii)	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Anthocephala berlepschi</i> * ⁵	N/A	N/A	VU B2ab(ii,iii,v)
	<i>Oxygogon stubelii</i> * ⁶	N/A	N/A	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Oxygogon cyanolaemus</i> * ⁶	N/A	N/A	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Metallura iracunda</i>	NT	EN B1ab(iii)+2ab(iii)	NT B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(ii)
	<i>Haplophaedia lugens</i>	NT	NT B1ab(iii)+2ab(iii)	NT B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Eriocnemis isabellae</i> * ⁷	N/A	N/A	CR B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Eriocnemis derbyi</i>	NT	NT A2c+3c; B1+2abcde	LC
	<i>Eriocnemis godini</i>	CR B1+2c; C2b; D1	DD	CR-PE C2a(i)
	<i>Eriocnemis cupreiventris</i>	LC	NT B1+2abce	LC
	<i>Eriocnemis mirabilis</i> *	VU D1+2	CR B1ab(i,ii,iv)+2ab(i,ii,iv)	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v)
	<i>Coeligena prunellei</i> *	VU A1c+2c; C1+2a	EN B2ab(iii,iv)	NT B2ab(ii,v)
	<i>Coeligena orina</i> * ⁸	N/A	N/A	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v)
	<i>Heliodoxa gularis</i>	NT	NT A2c+3c; B1+2abce	NT B1ab(ii,iii,iv,v)+2ab(ii,iii,iv,v)
	<i>Acestrura bombus</i> ⁹	N/A	VU C1+2a	NE

	<i>Campylopterus phainopeplus*</i>	NT	EN B1ab(i,iii)	VU B1ab(iii,v)
	<i>Amazilia castaneiventris*</i>	EN A1c	CR B2a(iii,iv)	EN B2ab(iii,v)
	<i>Goethalsia bella</i>	NT	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)	VU B1ab(iii)+2ab(iii)
	<i>Lepidopyga lilliae*</i>	CR C2b; D1	CR C2a(i)	EN B2ab(ii,iii,v)
Galbulidae	<i>Galbula pastazae</i>	VU C2a	VU B2ab(ii,iii)	VU C2a(ii)
Bucconidae	<i>Bucco noanamae*</i>	NT	NT B1+2abce	NT A2c+4c; C2a(ii)
	<i>Micromonacha lanceolata</i>	NT	LC	LC
Capitonidae	<i>Capito squamatus</i>	NT	NT A4c; B1ab(ii,iii,iv,v)	VU A4ce; B1ab(ii,iii,v)
	<i>Capito hypoleucus*</i>	EN C2a	EN A4c	EN A4ce
	<i>Capito quinticolor</i>	VU A1c	NT A4c	NT A4c
Semnormithidae	<i>Semnormis ramphastinus</i>	NT	NT B2ab(iii)	NT B2ab(ii,iii,iv,v)
Ramphastidae	<i>Andigena hypoglauca</i>	NT	VU B2ab(ii,iii,v)	VU A2c+4c
	<i>Andigena laminirostris</i>	NT	VU A2c+3c; B1ab(ii,iii,iv,v)+2ab(i,i,iii,iv,v)	EN B1ab(ii,iii,v)
	<i>Andigena nigrirostris</i>	NT	NT A3c	NT A2c+4c
Picidae	<i>Melanerpes pulcher</i>	VU C2a	VU A4c	LC
	<i>Veniliornis callonotus</i>	NE	NE	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(i);
	<i>Veniliornis chocoensis</i>	NT	NT A2c+3c; B1+2abcde	LC
	<i>Campephilus gayaquilensis</i>	LC	NT	EN B2ab(ii,iii,v); C2a(i,ii)
Falconidae	<i>Micrastur plumbeus</i>	EN C2a	NT C1+2a	EN C1
	<i>Falco deiroleucus</i>	NT	DD	DD
Psittacidae	<i>Touit stictopterus</i>	VU C2a	EN A4c; B2ab(iii,v)	VU C2a(i)
	<i>Bolborhynchus ferrugineifrons*</i>	EN C2a	VU B1ab(iii)+2ab(iii); C2a(i)	VU B1ab(iii)+2ab(iii)
	<i>Hapalopsittaca amazonina</i>	EN C1	VU C2a(i)	VU C2a(i)
	<i>Hapalopsittaca fuertesi*</i>	CR D1+2	CR C2a(ii)	CR C2a(i)
	<i>Pyrilia pyrilia</i>	VU A1a, C2a	VU A4c; C1	NT C2a(ii)
	<i>Pionus fuscus</i>	NE	NE	EN B1ab(iii)+2ab(iii)
	<i>Pyrrhura viridicata*</i>	VU C1+2b	EN B2ab(iii); C2a(ii)	EN C2a(ii)
	<i>Pyrrhura calliptera*</i>	VU A1c+2c; C1+2a	VU A4c	VU A2cd+3cd+4cd; B2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(ii)
	<i>Ara militaris</i>	VU A1bc; C2a	VU A2cd+3cd	VU A2cd+4cd; C2a(i)
	<i>Ara ambiguus</i>	VU A1bc; C2a	VU A2cd+3cd	EN A2cd+4cd; C1+2a(ii)
	<i>Leptosittaca branickii</i>	VU A1c+2c; C1+2a	VU A2cd+4cd; C2a(i)	VU C2a(ii)
	<i>Ognorhynchus icterotis</i>	CR C2a	CR B2ab(ii,iv,v); C1+2a(i)	EN C2a(i)
Thamnophilidae	<i>Clytoctantes alixii</i>	EN C1+2a	EN A4c; B2ab(ii,iv); C2a(i)	VU B2ab(iii)
	<i>Dysithamnus occidentalis</i>	VU C1+2a	VU B1ab(i,ii,iii,v)	VU C2a(i)
	<i>Xenomnis setifrons</i>	VU C2a	VU B2ab(ii,iii,v)	VU B2ab(iii)
Conopophagidae	<i>Pittasoma rufopileatum</i>	LC	NT	LC
Grallariidae	<i>Grallaria gigantea</i>	VU A1c+2c; C1+2a	EN B2ab(ii,iii,iv)	VU B2ab(ii,iii,v)
	<i>Grallaria alleni</i>	EN B1+2c; C2a	EN B2ab(ii,iii,iv)	EN B2ab(ii,iii,iv); C2a(i)
	<i>Grallaria bangsi*</i>	NT	VU B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v)
	<i>Grallaria kaestneri*</i>	VU D2	EN B1ab(i,ii,iii,iv)+2ab(i,ii,iii,iv)	EN B1ab(ii,iii,iv,v)+2ab(ii,iii,iv,v); C2a(i)
	<i>Grallaria rufocinerea</i>	VU C2a	VU A4c	VU B2ab(ii,iii,v)
	<i>Grallaria urraoensis* 10</i>	N/A	N/A	EN B1a(iii)+2a(iii); C2a(ii)
	<i>Grallaria milleri*</i>	EN B1+2c	EN B2ab(ii,iii,iv,v)	EN B2ab(ii,iii)
	<i>Grallaricula cucullata</i>	VU A1c+2c; C1+2a	NT	LC
	<i>Grallaricula lineifrons</i>	NT	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)	LC

Rhinocryptidae	<i>Scytalopus sanctaemartae</i> * ¹¹	N/A	N/A	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v)
	<i>Scytalopus panamensis</i>	VU D2	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)	VU C2a(ii)
	<i>Scytalopus rodriguezi</i> * ¹²	N/A	N/A	VU B1ab(ii,iii,v)
	<i>Scytalopus stilesi</i> * ¹³	N/A	N/A	EN B2ab(ii,iii,v)
	<i>Scytalopus perijanus</i> ¹⁴	N/A	N/A	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Scytalopus canus</i> * ¹⁵	N/A	N/A	EN B1ab(iii)+2ab(iii)
Furnariidae	<i>Drymotoxeres pucheranii</i>	NT	NT A4c	LC
	<i>Clibanornis rufpectus</i> * ¹⁶	N/A	N/A	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C1+2a(i)
	<i>Margarornis stellatus</i>	LC	NT A2c+3c	LC
	<i>Margarornis bellulus</i>	VU D2	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(i)	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Asthenes perijana</i>	NT	EN B1ab(i,ii,iii)+2(i,ii,iii)	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii); D
	<i>Siptornis striaticollis</i>	LC	NT A4c	LC
	<i>Synallaxis fuscorufa</i> *	NT	VU B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)	NT B1ab(iii)+2ab(iii)
	<i>Synallaxis cherriei</i>	NT	NT A2c+3c	DD
Tyrannidae	<i>Polystictus pectoralis</i>	NT	NT A2c+3c	VU A2c+3c+4c
	<i>Pseudocolopteryx acutipennis</i>	LC	VU C1	CR C2a(i)
	<i>Phylloscartes lanyoni</i> *	EN A1c+2c	EN A3c+4c	EN C2a(i)
	<i>Aphanotriccus audax</i>	NT	NT B1+2abce	NT B2ab(ii,iii,v)
	<i>Contopus cooperi</i>	LC	LC	NT A2b+3b+4b
	<i>Muscisaxicola maculirostris</i>	DD	EN B2ab(ii,iii)	EN B2ab(ii,iii,v)
	<i>Myiotheretes pernix</i> *	VU C2b	EN B2ab(i,ii,iii,iv); C2a(ii)	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Attila torridus</i>	VU A1c+2c; B1+2c; C1+2a	VU A4ce; B1ab(i,ii,iii,v)+2ab(i,ii,iii,v)	VU A2c+4c; B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(i)
Cotingidae	<i>Pipreola chlorolepidota</i>	NT	VU A4c	NT B1ab(ii,iii,v)
	<i>Pipreola lubomirskii</i>	NT	LC	LC
	<i>Ampelioides tschudii</i>	NT	LC	LC
	<i>Doliornis remseni</i>	VU A1c+2c; B1+2c	EN A4c; B2ab(ii,iii); C2a(i)	EN C2a(i)
	<i>Ampelion rufaxilla</i>	LC	NT A3c	VU C2a(i)
	<i>Pyroderus scutatus</i>	LC	LC	VU C2a(i)
	<i>Cephalopterus penduliger</i>	VU C2a	VU A4c; C1+2(i)	EN C2a(i)
	<i>Lipaugus weberi</i> * ¹⁷	N/A	CR C1	CR C2a(i)
	<i>Porphyrolaema porphyrolaema</i>	NT	LC	LC
	<i>Carpodectes hopkei</i>	NT	LC	LC
Pipridae	<i>Chloropipo flavicapilla</i>	NT	NT A3c	VU C2a(i)
Tityridae	<i>Laniisoma elegans</i>	VU A1b+2b; C1+2a	LC	LC
Vireonidae	<i>Vireo masteri</i>	VU D2	VU B2ab(ii,iii)	VU B2ab(iii)
	<i>Vireo caribaeus</i> *	CR B1+2bc	CR B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)	VU D2
	<i>Vireo crassirostris</i> *	NE	NE	VU D1+2
Corvidae	<i>Cyanolyca pulchra</i>	NT	NT A3c	VU C2a(i)
Alaudidae	<i>Eremophila alpestris</i>	DD	EN B2ab(ii,iii,iv,v); C2a(i)	EN A2ce+3ce+4ce; B2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(i)
Troglodytidae	<i>Troglodytes monticola</i> * ¹⁸	N/A	N/A	EN B1ab(i,ii,iii,v); D
	<i>Cistothorus apolinari</i> * ¹⁸	EN C1+2a	EN B2ab(ii,iii,iv,v); C2a(i)	CR B2ab(ii,iii,iv,v)
	<i>Thryophilus sernai</i> * ¹⁹	N/A	N/A	EN A3c+4c; B2ab(ii,iii,v); C2a(i)

	<i>Thryophilus nicefori</i> *	CR B1+2c	CR B1ab(iii,v); C2(i,ii)	CR C2a(i)
	<i>Henicorhina negreti</i> * ²⁰	N/A	N/A	VU B2ab(iii); C2a(i)
Turdidae	<i>Myadestes coloratus</i>	LC	LC	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Cichlopsis leucogenys</i>	NT	LC	LC
Thraupidae	<i>Creurgops verticalis</i>	LC	LC	VU C2a(i)
	<i>Thlypopsis ornata</i>	LC	LC	NT B2ab(ii,iii,v); C2a(ii)
	<i>Bangsia melanochlamys</i> *	EN B1; C1+2a	VU B2ab(iii)	VU B1ab(ii,iii,v)
	<i>Bangsia edwardsi</i>	LC	LC	NT B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Bangsia aureocincta</i> *	EN B1+2c; C1	EN B2ab(iii)	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Buthraupis wetmorei</i>	VU A1c+2c; B1+2c; C1+2a	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)	VU B2ab(ii,iii,v)
	<i>Iridosornis porphyrocephalus</i>	NT	NT A2c+3c	LC
	<i>Chlorochrysa nitidissima</i> *	VU C1+2a	VU A2b+3c; B2ab(ii,iii)	VU B2ab(ii,iii,v)
	<i>Tangara fucosa</i>	NT	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(ii)	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Tangara johannae</i>	NT	NT A2c+3c	LC
	<i>Dacnis hartlaubi</i> *	VU A1c; B1+2c; C1+2a	VU B2ab(ii,iv); C2a(i)	VU B2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Dacnis viguieri</i>	NT	NT B1ab(iii)	NT B1ab(iii,v)
	<i>Dacnis berlepschi</i>	VU C1	VU A4c; B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Dacnis albiventris</i>	NT	LC	LC
	<i>Oreomanes fraseri</i> ²¹	NT	DD	NE
	<i>Diglossa gloriosissima</i> *	NT	EN B2ab(ii,iii,iv)	VU B2ab(iii)
	<i>Saltator cinctus</i>	VU C2a	VU A4c; B2ab(ii,iii)	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(i)
	<i>Sporophila insulata</i> ²²	CR D1	CR B2ab(ii,iii,iv,v); C2a(i)	N/A
	<i>Sporophila crassirostris</i>	NT	LC	LC
	<i>Catamenia homochroa oreophila</i>	NT	LC	LC
Emberizidae	<i>Oreothraupis arremonops</i>	VU C2a	VU B2ab(ii,iii,v)	LC
	<i>Chlorospingus tacarcunae</i>	LC	LC	NT B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Chlorospingus flavovirens</i>	VU C2a; D2	VU B1ab(ii,iii,v); C1	VU B1ab(iii)+2ab(iii); C2a(i)
	<i>Chlorospingus inornatus</i>	LC	LC	VU B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
	<i>Ammodramus savannarum</i>	EN B1+2c	CR B2ab(iii); C1	EN B2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(i)
	<i>Arremonops tocuyensis</i>	LC	LC	NT A2c+4c; B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Arremon schlegeli</i>	LC	LC	VU B2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Atlapetes flaviceps</i> *	EN B1+2ac; C2a	EN B2ab(ii,iii,v)	VU B2ab(ii,iii,v); C1
	<i>Atlapetes fuscolivaceus</i> *	NT	VU B1ab(i,ii,iii,v)+2ab(i,ii,iii,v)	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
	<i>Atlapetes leucopis</i>	NT	LC	LC
	<i>Atlapetes blancae</i> * ²³	N/A	N/A	CR-PE C2a(i); D
Cardinalidae	<i>Habia gutturalis</i>	NT	NT B1+2abcde	LC
	<i>Cardinalis phoeniceus</i>	LC	LC	VU A2cd+3cd+4cd
Parulidae	<i>Setophaga cerulea</i>	LC	LC	VU A2b+3b+4b
	<i>Myiothlypis basilica</i> *	NT	VU B1ab(i,ii,iii)+2ab(i,ii,iii)	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(i)
	<i>Myiothlypis conspicillata</i> *	NT	EN B2ab(ii,iii)	VU B1ab(iii,v)
	<i>Myiothlypis cinereicollis</i>	NT	NT A4c	NT B2ab(ii,iii,v)
	<i>Basileuterus ignotus</i>	VU D2	VU D1+2	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(ii)
Icteridae	<i>Psarocolius cassini</i> *	EN A2c	EN B2ab(ii,iii,v)	EN B2ab(ii,iii,v); C2a(i)
	<i>Cacicus uropygialis</i>	VU C2a	NT A4c	DD

	<i>Icterus icterus</i>	LC	LC	VU A2cd+3cd+4cd; C1
	<i>Icterus leucopteryx</i>	NE	NE	CR B1ab(iii,v)
	<i>Macroagelaius subalaris</i> *	NT	CR B1ab(iii,v)	EN B2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(i)
	<i>Hypopyrrhus pyrohypogaster</i> *	EN C1+2a	EN A4c	VU B2ab(i,ii,iii,iv,v); C2a(i)
	<i>Molothrus armenti</i> *	DD	VU B1ab(i,ii,iii)+2ab(ii,iii)	VU B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v)
Fringillidae	<i>Spinus cucullatus</i>	EN C2a	EN B1ab(iii,v)+2ab(iii,v); C2a(i)	EN B1ab(ii,iii,v)+2ab(ii,iii,v); C2a(ii); D

¹Taxón endémico de Colombia. De la forma *castaneus* no se tenía certeza de su presencia en Colombia antes de 2006 (Laverde, 2014). Un estudio reciente de las vocalizaciones sugiere que la forma *castaneus* de la falla del Tequendama (cerca de Bogotá) podría ser considerada una especie distinta (Laverde, 2014). ²*Crypturellus columbianus* y *C. saltuarius*, antes consideradas especies separadas, no se evaluaron en 2016 porque ahora son consideradas subespecies de *C. erythropus* (Remsen, et al. 2016); ³ Especie transeúnte (Remsen, et al. 2016); ⁴ Era considerada una subespecie de *Sula dactylatra* lo cual le daba una distribución geográfica muy grande. La separación taxonómica hace que *S. granti* tenga una distribución muy restringida en el país (Pitman & Jehl, 1998); ⁵ Reconocida actualmente como una especie separada de *A. floriceps* (Lozano-Jaramillo, et al. 2014, Remsen, et al. 2016); ⁶ Reconocidas actualmente como especies separadas de *O. guerini* (Remsen, et al. 2016); ⁷ Especie descrita después del año 2002 (Cortés-Diago, et al. 2007); ⁸ Su estatus taxonómico era incierto, posteriormente se confirmó que es una especie válida (Krabbe, et al. 2005b, Remsen, et al. 2016); ⁹ Antes *Chaetocercus bombus*. No se evaluó en 2016 porque no hay certeza de que existan poblaciones residentes en el país; ¹⁰ Especie descrita después del año 2002 (Carantón & Certuche, 2010); ¹¹ Reconocida como especie separada de *S. femoralis* (Remsen, et al. 2016); ¹² Especie descrita después del año 2002 (Krabbe, et al. 2005a); ¹³ Especie descrita después del año 2002 (Cuervo, et al. 2005); ¹⁴ Especie descrita después del año 2002 (Avenidaño, et al. 2015); ¹⁵ Reconocida actualmente como especie separada de *S. opacus* (Remsen, et al. 2016); ¹⁶ Reconocida actualmente como especie separada de *C. rubiginosus* (Remsen, et al. 2016); ¹⁷ Especie descrita después del año 1998 (Cuervo, et al. 2001); ¹⁸ Reconocida como especie separada de *T. solstitialis* (Remsen, et al. 2016); ¹⁹ Especie descrita después del año 2002 (Lara, et al. 2012); ²⁰ Especie descrita después del año 2002 (Salaman, et al. 2003); ²¹ Especie con menos del 2% de su población en el país. No evaluada en 2016 por criterio de filtrado; ²² Antes se consideraba una especie válida, hoy se sabe que es un híbrido entre *S. telasco* y *S. minuta* (De las Casas, et al. 2004); ²³ Especie descrita como nueva para la ciencia después del año 2002 (Donegan, 2009).

emprendimientos turísticos y las oportunidades de empleo que estos últimos generan (Isaac, et al., 2004, Garnett & Christidis, 2017). Estas dificultades han llevado a algunos autores a proponer una mejor gobernanza de la taxonomía de organismos complejos mediante un sistema de estándares para definir los límites de especies y otras unidades taxonómicas que pueda aplicarse confiablemente a diferentes formas de vida (Garnett & Christidis, 2017). Otros autores han hecho la recomendación de usar una lista estandarizada (por ejemplo, una lista de chequeo de sinonimias) como un punto de referencia que, además, facilitaría el manejo de la biodiversidad, pues las prioridades de conservación suelen basarse en listas de especies y es importante que estas sean relativamente estables (Isaac, et al., 2004). Esta discusión se encuentra lejos de haberse dirimido y amerita ser abordada por los científicos dedicados a la sistemática y la taxonomía dadas las implicaciones que tiene más allá de esta área específica de investigación.

Otros cambios. Algunas especies ya analizadas en el pasado no han sido evaluadas recientemente a escala nacional. *Pterodroma phaeopygia* (CR en 2002) y *Chaetocercus bombus* (VU en 2002) no se han evaluado recientemente porque no hay evidencia de que haya poblaciones residentes en Colombia y los registros notificados podrían tratarse de individuos errantes. *Oreomanes fraseri* (DD en 2002) no se ha evaluado tampoco porque se estima que su población en el país es de menos del 2 % de la población global.

Algunos cambios de categoría no pueden clasificarse como mejoría (*downlist*), empeoramiento (*uplist*), o como sin cambios, y ameritan explicación. Dos especies de colibríes pasaron de DD a CR-PE: la primera, *Helianthus zusii*, se categorizó como DD en 2002 porque se conocía

exclusivamente de un espécimen recolectado en 1909 sin localidad exacta y no había certeza de que fuera una especie válida (Renjifo, et al., 2002). En estudios más recientes se sugiere que esta especie es válida y que pertenece a un grupo de colibríes que está asociado a enclaves secos en la cordillera de los Andes (Kirchman, et al., 2009, Parra, 2016), y aunque es probable que esté extinta, no hay certeza de que así sea (Renjifo, et al., 2016). No obstante, la evidencia ya recolectada pero sin publicar sugiere que el único espécimen conocido podría tratarse de un híbrido (Pérez-Emán, et al., en preparación), lo cual enfatiza las dificultades que genera la inestabilidad taxonómica para la conservación (Isaac, et al., 2004). La segunda, *Eriocnemis godini*, se consideró DD en el año 2002 porque solo se conocían dos pieles comerciales del siglo XIX y no existía evidencia inequívoca de que hubiese habitado en Colombia (Renjifo, et al., 2002). Actualmente se considera CR-PE porque, aunque es probable que esté extinta, no hay certeza de ello. Considerando la similitud ecológica y la cercanía de los enclaves secos montanos donde se encontraba esta especie en Ecuador y los enclaves secos montanos de Nariño y Cauca, cabe la posibilidad de que exista en ellos una población remanente (Renjifo, et al., 2016).

Por otro lado, *Cypseloides lemosi* se consideró CR en 2002 por la ausencia de registros durante casi diez años en los valles altos del Cauca y el Patía en los departamentos de Valle del Cauca y Cauca, una región frecuentada por ornitólogos y observadores de aves (Renjifo, et al., 2002). Más aún, la especie se consideraba endémica de Colombia en los valles del alto Cauca y el alto Patía (Hilty & Brown, 1986), posteriormente fue encontrada en el piedemonte amazónico de Perú y Ecuador y después del 2002 en el sur del

pedemonte amazónico en Colombia (Ayerbe-Quiñones, 2016). Aunque el aumento de información significa una ampliación de la distribución de la especie, el escaso conocimiento de sus requerimientos ecológicos impide concluir con certeza si se encuentra amenazada (Renjifo, et al., 2016).

Por último, dos especies consideradas NT en 2002 hoy se consideran DD. La primera de ellas, *Synallaxis cherriei*, se consideró como tal en 2002 según el criterio A y con base en la estimación de BirdLife International (2000) (Renjifo, et al. 2002), pero actualmente no se acerca a los umbrales de amenaza bajo este criterio y no es evaluable aplicando los criterios B2, C y D porque no hay suficiente información para estimar el área de ocupación ni la población de la especie aplicable a Colombia (Renjifo, et al., 2016). La segunda especie que cambió de NT a DD es *Cacicus uropygialis*. En el 2002 se la consideró NT según el criterio A (Renjifo, et al., 2002), pero actualmente, la falta de claridad en torno a los registros visuales dada su similitud, impide que puedan utilizarse en el modelamiento de la distribución de la especie, pues los datos que se obtendrían no serían suficientemente confiables (Renjifo, et al., 2014).

Evolución en los criterios de amenaza. El criterio más prevalente bajo el cual las especies colombianas califican como amenazadas es el criterio B (70 % de las especies en 2002 y 72 % en 2016), es decir especies con distribuciones pequeñas, seriamente fragmentadas y en disminución. El segundo criterio es el C (44 % de las especies en 2002 y 66 % en 2016), es decir especies con poblaciones pequeñas y en disminución. En tercer lugar se encuentra el criterio A (38 % en 2002 y 24 % en 2016), o sea, especies que experimentan una rápida reducción de su tamaño poblacional. Por último está el criterio D (13 % en 2002 y 25 % en 2016), es decir, especies con población o una distribución muy pequeña, y bajo amenaza natural o antrópica plausible (Tabla 2). Mientras que el criterio B se ha mantenido estable (ha aumentado en 1,4 %), la proporción de especies amenazadas bajo los otros criterios ha cambiado dramáticamente. El criterio A disminuyó en 36,8 %, los criterios C y D aumentaron en 43,5 % y 92,3 %, respectivamente. Estos cambios se deben tanto a los que se han producido en los procesos que afectan las especies como a mejoras importantes en la disponibilidad de información y en los métodos analíticos.

No se obtuvieron estimaciones del tamaño poblacional de 36 de las especies que estaban en alguna categoría de amenaza en el 2002 (32 % del total). De estas 36 especies, 28 seguían estando amenazadas en el 2016, y para cinco de ellas ya se cuenta con estimaciones del tamaño poblacional; las 23 restantes persisten como especies cuyo tamaño poblacional no es posible estimar. Asimismo, para 86 de las 140 especies actualmente amenazadas (61 %) no existe información que permita la estimación de su tamaño poblacional a partir de la densidad poblacional de la especie (Tabla 3S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/461/2390>), lo cual debe incentivar a los ornitólogos de campo a investigar la densidad poblacional

de especies amenazadas y casi amenazadas en diferentes tipos de ecosistemas. Sin esa información no se puede saber si se encuentran amenazadas según los criterios C y D.

Una mirada global del estado de conservación actual de la avifauna colombiana

De las 1.786 especies residentes en Colombia permanentemente o durante una época del año, una está extinta, 140 (7,9 %) están amenazadas (CR: 17; EN: 56, y VU: 67) y 28 especies (1,6 %) están casi amenazadas (Tabla 4S, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/downloadSuppFile/461/2391>). En Colombia hay 84 familias de aves residentes, de las cuales 50 tienen cinco o más especies. Entre estas últimas, las familias Psittacidae y Grallariidae se encuentran más amenazadas de lo que podría esperarse, y Cracidae muestra una clara tendencia en ese sentido (prueba exacta de Fisher: $p < 0,05$) (Tabla 3). De las 11 especies de psitácidos que están amenazadas en Colombia, seis lo están por tenencia como mascotas, cinco por cacería, dos por tráfico ilegal y cinco por expansión de la frontera agropecuaria. Las siete especies de la familia Grallariidae que están amenazadas, lo están por pérdida de hábitat, especialmente por la expansión de la frontera agropecuaria. Las especies de la familia Cracidae que se encuentran amenazadas lo están tanto por la pérdida de hábitat como por la cacería.

De las 140 especies amenazadas en Colombia, 61 se encuentran principalmente en los bosques húmedos de los Andes, 20 en los ecosistemas abiertos o secos (sabanas, páramos, bosques secos, matorral espinoso y desierto) y 16 en los bosques húmedos de las tierras bajas en el Pacífico, en el centro y norte del país, y en el piedemonte al oriente de los Andes. Además, 15 especies amenazadas son acuáticas y se encuentran en diversas partes del país, y tres son marinas, dos de las cuales se reproducen solo en la isla de Malpelo. Cinco especies son insulares, cuatro de ellas se encuentran únicamente en San Andrés y Providencia (o solo en una de estas dos islas), y una especie es de las islas de los grandes ríos amazónicos (Caquetá y Amazonas y, probablemente, Putumayo).

Las regiones más críticas por el número de especies amenazadas y con distribución restringida, son la Sierra Nevada de Santa Marta, con 11 especies endémicas amenazadas, y las montañas del Darién, con nueve especies. Si bien todas las especies de la Sierra Nevada se encuentran en áreas pertenecientes al sistema de parques nacionales naturales, ninguna de las del Darién lo está. La gravedad de la situación de las especies de las montañas del Darién se ha agudizado por la reciente expansión de los cultivos ilícitos de coca en el norte del Chocó y el hecho de que estos sistemas montañosos son tan pequeños que ni siquiera son visibles en la escala en que aparecen las otras áreas aquí mencionadas (Figura 1). Tanto las montañas del Darién como la Sierra Nevada albergan, además de sus especies endémicas amenazadas, otras cuya distribución se encuentra

Tabla 3. Distribución de especies amenazadas entre las familias (prueba exacta de Fisher), tras excluir las especies DD. Los asteriscos representan las especies para las cuales la proporción de amenaza observada está por encima de la proporción de amenaza esperada (valor $p < 0,05$).

Familia	Especies amenazadas	Especies no amenazadas	Total	(valor p)
Tinamidae	3	14	17	0,300
Anatidae	6	13	19	0,116
Cracidae	7	18	25	0,069
Odontophoridae	3	7	10	0,291
Sulidae	2	3	5	0,222
Ardeidae	1	22	23	0,883
Threskiornithidae	0	7	7	1,000
Cathartidae	1	5	6	0,500
Accipitridae	3	46	49	0,782
Rallidae	2	25	27	0,694
Charadriidae	0	9	9	1,000
Scolopacidae	0	29	29	1,000
Laridae	1	17	18	0,757
Columbidae	3	32	35	0,663
Cuculidae	1	17	18	0,757
Strigidae	1	23	24	0,883
Nyctibiidae	0	5	5	1,000
Caprimulgidae	0	21	21	1,000
Apodidae	0	14	14	1,000
Trochilidae	13	149	162	0,580
Trogonidae	0	15	15	1,000
Alcedinidae	0	6	6	1,000
Momotidae	0	6	6	1,000

Galbulidae	1	13	14	0,759
Bucconidae	0	24	24	1,000
Capitonidae	2	6	8	0,500
Ramphastidae	2	19	21	0,697
Picidae	2	39	41	0,820
Falconidae	1	16	17	0,758
Psittacidae***	11	43	54	0,046
Thamnophilidae	3	110	113	0,983
Grallariidae***	13	32	45	0,015
Formicariidae	0	8	8	1,000
Furnariidae	3	107	110	0,983
Tyrannidae	6	195	201	0,993
Cotingidae	5	28	33	0,354
Pipridae	1	19	20	0,885
Tityridae	0	20	20	1,000
Vireonidae	3	18	21	0,500
Corvidae	1	6	7	0,769
Hirundinidae	0	17	17	1,000
Troglodytidae	5	28	33	0,354
Poliophtilidae	0	6	6	1,000
Turdidae	1	27	28	0,882
Thraupidae	10	162	172	0,855
Emberizidae	7	29	36	0,154
Cardinalidae	1	21	22	0,884
Parulidae	4	38	42	0,500
Icteridae	6	33	39	0,240
Fringillidae	1	21	22	0,884
Total	136	1588	1724	

mayoritariamente en los Andes o en los bosques húmedos de tierras bajas. Por último, los bosques de la gran llanura amazónica no tienen especies amenazadas, salvo la especie de las islas ya mencionada.

Las causas de amenaza que enfrentan las especies son diversas. El 55 % está afectado por la agricultura y el 44,3 %, por la ganadería, 32,1 % de ellas por la cacería y el tráfico ilegal, 31,4 % por los cultivos ilícitos, 27,9 % por cambios en los sistemas naturales, 22,9 % por la explotación forestal, 19,3 % por la producción de energía y minería, 16,4 % por especies invasoras, 15,7 % por el transporte y los corredores de servicio, 12,1 % por el desarrollo residencial y comercial, 10 % por la contaminación, 5 % por los fenómenos climáticos y 3,6 % por la intrusión de humanos (Figura 2; Tabla 4). El 80 % de las especies amenazadas lo está por más de una de estas causas, y 98 % de ellas han perdido su hábitat.

Discusión

Nuestros resultados indican que en las evaluaciones de riesgo de extinción se utilizó de manera implícita o explícita el sistema de la UICN vigente en su momento. Las dos

primeras (Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 1986, Negret, 2001) utilizaron un sistema de categorías, mientras que las últimas tres han utilizado un sistema de categorías y criterios (Renjifo, 1998, Renjifo, *et al.*, 2002, Renjifo, *et al.*, 2016). Es preciso señalar que si bien el estudio de Negret (2001) fue publicado después del de Renjifo (1998), la evaluación se hizo previamente, cuando aún no se había adoptado el sistema de criterios de la UICN. Las tres primeras evaluaciones se basaron en el criterio experto (Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 1986, Negret, 2001, Renjifo, 1998), en tanto que las dos últimas utilizaron métodos innovadores para la estimación de los parámetros que sirvieron para las estimaciones cuantitativas sobre cada especie, aunque en las dos se recurrió también al criterio experto (Renjifo, *et al.*, 2002, Renjifo, *et al.*, 2016). Estos nuevos métodos incluyen el uso de sistemas de información geográfica y la estimación del tamaño poblacional con base en el conocimiento de las especies o de especies estrechamente emparentadas o ecológicamente similares. En la última evaluación se utilizó la modelación de nicho ecológico de las especies para

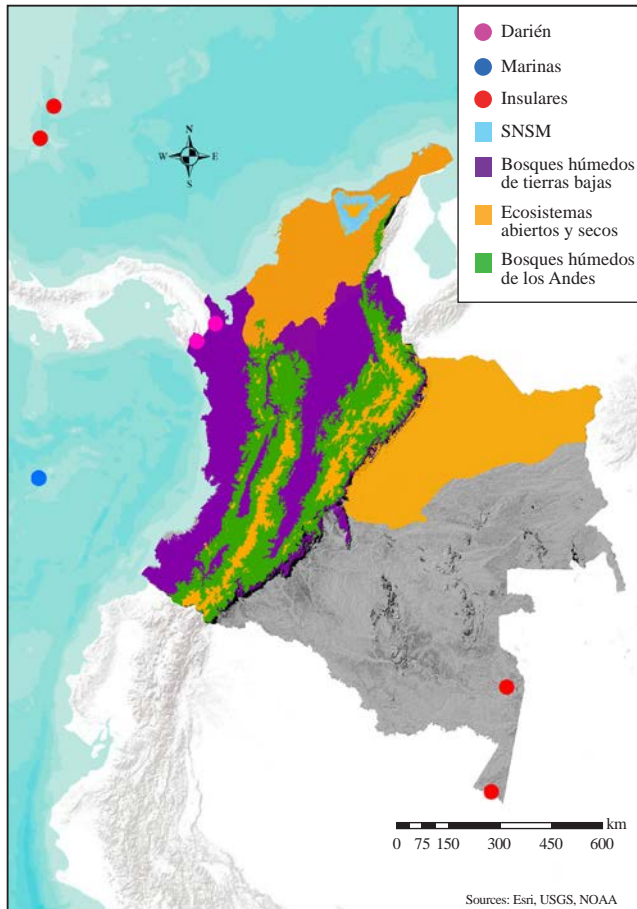


Figura 1. Ubicación de las áreas de distribución de las especies de aves amenazadas en Colombia enumeradas en el cuerpo del artículo. Los ecosistemas abiertos o secos agrupan las sabanas, los páramos, los bosques secos, las áreas de matorral espinoso y el desierto. La geografía de las especies acuáticas no está representada, pues está dispersa en diferentes regiones del país y su distribución se traslapa con las regiones representadas en el mapa.

estimar el tamaño de la distribución geográfica y el área de ocupación. Asimismo, se utilizó información multitemporal del área de los ecosistemas para medir el ritmo de cambio en la extensión de los hábitats de las especies e inferir la tendencia y la magnitud del cambio en el tamaño de las poblaciones.

En Colombia el número de especies amenazadas de aves se ha incrementado progresivamente, lo cual sugiere un acentuamiento de la magnitud y la intensidad de las amenazas y un mayor conocimiento de las especies. A partir del 2002 el conocimiento sobre la distribución, la ecología y la sistemática de aves colombianas ha venido aumentando, como lo destacan varias publicaciones (**Bravo & Naranjo, 2006, Estela, et al., 2010, Naranjo & Bravo, 2006, Peñuela-Ocampo, 2010**). En la medida en que se incrementa el número de especies conocidas en el país también crece el de las especies potencialmente amenazadas, las cuales se suman a las que han tenido un deterioro genuino de su estado poblacional.

Nuestros resultados evidencian que actualmente las principales amenazas para las aves son la expansión de la frontera agropecuaria, los cultivos ilícitos y la minería. La situación ambiental del país ha cambiado profundamente en las últimas tres décadas. Los conflictos ambientales han aumentado considerablemente desde el 2002 y hay evidencia de que este aumento está relacionado con los cultivos ilícitos y las políticas que promueven la inversión extranjera en el sector extractivo del país. Entre 1990 y 2001 se registraron diez conflictos ambientales en Colombia, en tanto que entre el 2002 y el 2010 se reportaron 47 (**Pérez-Rincón, 2014**). Actualmente, el proyecto *Environmental Justice Organizations, Liabilities and Trade* (EJOLT), conocido en español como Atlas Global de Justicia Ambiental, ha recabado datos que evidencian cómo Colombia registró 116 casos de conflictos socio-ambientales en abril de 2016 (**EJOLT**

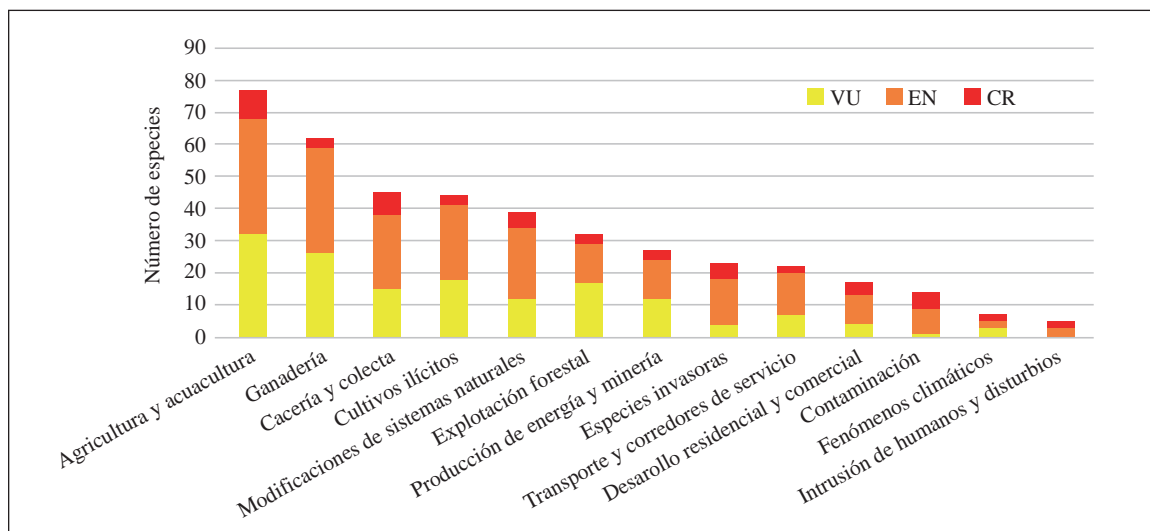


Figura 2. Amenazas directas para las aves clasificadas como amenazadas en Colombia

Tabla 4. Amenazas directas sobre las especies de aves en Colombia basada en la clasificación de tipos de amenazas de la UICN (*World Conservation Union–Conservation Measures Partnership (IUCN-CMP) classification of direct threats to biodiversity, version 1.1*) y modificada para incluir la categoría de cultivos ilícitos. Usualmente una especie es afectada por más de un factor de amenaza.

Factor de amenaza	Número de especies afectadas
1. Desarrollo residencial y comercial	
Expansión urbana	10
Desarrollo comercial e industrial	2
Turismo y áreas recreacionales	6
2. Agricultura y acuicultura	
Pesquerías	3
Cultivos y plantaciones	77
Ganadería	62
Cultivos ilícitos	44
3. Producción de energía y minería	
Actividades petroleras	4
Minería	24
4. Transporte y corredores de servicio	
Carreteras y vías	19
Colisiones/electrocución con infraestructura eléctrica	3
5. Uso de recursos biológicos	
Cacería y colecta	
Tráfico ilegal	39
Cacería de subsistencia	10
Tenencia como mascota	13
Explotación forestal	31
6. Intrusión y disturbios por humanos	
5	
7. Modificaciones de sistemas naturales	
Quemas inducidas o cambios en la frecuencia de fuegos	27
Construcción y operación de embalses	5
Drenajes de humedales	10
Pérdida de fuentes de agua	1
8. Especies invasoras y otras problemáticas	
Animales invasores no nativos (perros, gatos, ratas, cabras y truchas)	19
Plantas invasoras	6
Parasitismo de cría por el Chamón <i>Molothrus bonariensis</i>	3
9. Contaminación	
14	
10. Fenómenos climáticos	
7	

Project, 2016), es decir más del doble de los ocurridos seis años atrás. La extracción de minerales y la producción de petróleo se destacan entre los motivos de dichos conflictos ambientales. La actividad minera ha motivado el 42 % de los conflictos, la energía fósil, el 19 % y la biomasa, el 10 %

(especialmente los cultivos de palma y caña) (Pérez-Rincón, 2014, según datos de Univalle-EJOLT-Colombia). En los años noventa la exportación de petróleo y sus derivados representó el 30 % del valor de las ventas en exportaciones, en el 2012 representaban más de 50 % y en los últimos años, el sector minero-energético generó el 64 % de los productos exportados por Colombia (Pérez-Rincón, 2014). Por otro lado, en algunas regiones han aparecido nuevas fuentes de impacto, como los cultivos de palma de aceite destinados a la elaboración de biocombustible (Arboleda, 2008).

La magnitud y la intensidad de las amenazas directas sobre la avifauna dependen también de actividades ilegales ampliamente extendidas en el país. Según la Contraloría General, la minería ilegal, por ejemplo, representaba en el 2012, el 80 % de la actividad minera del país (Contraloría General de la República, 2012). Por otra parte, después de la ganadería, la segunda causa de deforestación en Colombia es la tala ilegal (García, 2014). El Banco Mundial estimó en el 2006 que la tala ilegal de madera correspondía a 42 % del total de la producción de madera en Colombia (Banco Mundial, 2006). Por otro lado, aunque el comercio y la tenencia de especies amenazadas es una actividad tipificada como delito en la normatividad ambiental (Decreto 1608 de 1978) y en la penal (Ley 599 de 2000), estas actividades han alcanzado niveles muy significativos en Colombia. Según Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2012), entre el 2000 y el 2011 se intentaron exportar de manera ilegal 3.744 especímenes vivos y 24.985 derivados de especies (Rojas-Briñez, *et al.*, 2013). La persistencia de estas actividades ilegales que amenazan a las aves es consecuencia de la falta de control del Estado colombiano en los territorios, donde dichas actividades representan la principal amenaza para las aves del país. Estas amenazas tomadas en conjunto sugieren que la principal causa de amenaza para las aves es la falta de gobernabilidad del Estado sobre el territorio.

Evolución de los criterios de amenaza

La magnitud de la amenaza contra las especies colombianas con distribuciones pequeñas, seriamente fragmentadas y en disminución (criterio B), es la manifestación de diversos factores. En primer lugar, responde al gran número de especies con distribución restringida presentes en Colombia comparado con el de otras regiones del mundo (Stattersfield, *et al.*, 1998), y, en segundo lugar, indica el alcance de la destrucción de los hábitats en algunas regiones del país. Esta destrucción afecta especialmente a las especies con baja tolerancia a la transformación del paisaje. Las especies de distribución restringida son doblemente vulnerables, tanto por el tamaño de su distribución, como por ser más sensibles localmente a la transformación del paisaje, en comparación con las especies de amplia distribución (Renjifo, 1999).

Mientras que la proporción de especies amenazadas bajo el criterio B se ha mantenido relativamente estable (solo ha aumentado en 1,4 % entre 2002 y 2016), la proporción

de las amenazadas bajo los otros criterios ha cambiado dramáticamente. Si bien los métodos utilizados para evaluar el criterio B fueron diferentes en el 2002 y el 2016, los resultados concordaron en gran medida. En el 2002 las estimaciones del tamaño de la distribución de las especies se basaron en el criterio de expertos y en el 2014 y el 2016, en el modelamiento de nicho y en el criterio experto.

Debe destacarse que no todas las especies se evaluaron según todos los criterios. El nivel de conocimiento sobre la distribución de las especies es superior comparado con el conocimiento sobre el tamaño de las poblaciones y el cambio en la cobertura de los hábitats de las especies. Mientras el 100 % de las especies amenazadas y casi amenazadas fueron evaluables según el criterio B y el ‘subcriterio’ D2 (ambos basados en tamaños de la distribución), el 12 % de las especies amenazadas en el 2016 no pudo evaluarse según el criterio C por carecer del sustento suficiente para hacer inferencias sobre su tamaño poblacional, esto a pesar de que la disponibilidad de información sobre algunas especies mejoró comparada con la disponibles para la evaluación del 2002.

Los métodos para la estimación de los tamaños poblacionales en lo relacionado con la evaluación del criterio C fueron similares en el 2002 y el 2016. Por el contrario, los métodos para evaluar el criterio A fueron totalmente diferentes. El principal factor tomado en cuenta para estimar la reducción o el aumento del tamaño poblacional de las especies (criterio A) en Colombia ha sido el cambio en la extensión de los hábitats de cada especie. Estas estimaciones se basaron en el criterio experto en la evaluación del 2002 y en el uso de sistemas de información geográfica e información multitemporal de la cobertura de los ecosistemas del país en la evaluación del 2016.

La proporción de especies amenazadas según el criterio A disminuyó en 36,8 % en el 2016 comparado con el 2002. Las evaluaciones para el criterio A difirieron en cuanto a los métodos entre el 2002 y el 2016. Los cambios en la categoría de las especies bajo este criterio son atribuibles a los avances metodológicos en la estimación de la tasa de pérdida de hábitat y, especialmente, a los profundos cambios en las dinámicas de pérdida y regeneración de ecosistemas en diversas regiones del país. Durante décadas, en diversas fuentes se ha resaltado la rápida pérdida de bosques en diferentes escalas tanto espaciales como temporales (Etter, *et al.*, 2006, Cabrera, *et al.*, 2011, Dávalos, *et al.*, 2011). No obstante Sánchez-Cuervo, *et al.* (2012) encontraron “tendencias sorprendentes de recuperación forestal entre el 2001 y el 2010”. Esta recuperación forestal es el resultado del abandono de tierras como consecuencia de varios factores que incluyen la falta de oportunidades económicas y el conflicto armado, así como los programas de erradicación de coca que llevaron a una drástica reducción de estos cultivos en la primera década de este siglo (Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo, 2011, Sánchez-Cuervo, *et al.*, 2012). Nuestros datos, obtenidos de manera independiente

en el proceso de análisis, indican precisamente ese patrón al evaluar algunas de las especies. La recuperación de bosques en algunas regiones y la reducción en el ritmo de la deforestación en otras han permitido que algunas especies hayan pasado a categorías de menor riesgo y que, incluso, algunas hayan dejado de estar amenazadas (por ejemplo, *Coeligena prunellei*).

No obstante, estas tendencias distan de ser homogéneas a través del país. Los cultivos de coca han sido un factor importante en la deforestación del país (Dávalos, *et al.*, 2009). Los centros de producción de coca han cambiado sustancialmente en lo que va corrido de este siglo. La intensificación de los programas de erradicación y el aumento de las amenazas sobre los productores de coca han promovido el desplazamiento de los cultivos ilícitos hacia áreas con baja presencia estatal (Dion & Russler, 2008, Dávalos, *et al.*, 2009). Los ecosistemas de la región pacífica se vieron mucho más afectados por los cultivos de coca entre el 2001 y el 2008 (Rincón-Ruiz, *et al.*, 2013). Las campañas de erradicación en Putumayo han desplazado los cultivos a Nariño, departamento donde antes no se habían registrado cultivos de coca (Dávalos, *et al.*, 2009). En consecuencia, especies previamente amenazadas por la rápida deforestación de los Andes en Putumayo y Caquetá a finales del siglo pasado, han visto reducida su categoría de amenaza cuando los cultivos se trasladaron a la región del Pacífico, en especial, a Nariño (por ejemplo, *Pipreola chlorolepidota*). El aumento de los cultivos ilícitos en la región pacífica, y en particular en Nariño, ha tenido un grave efecto sobre otro conjunto de especies con distribuciones muy pequeñas. *Andigena laminirostris*, *Capito squamatus* y *Dacnis berlepschi* pasaron a mayores niveles de amenaza. En el caso de *Micrastur plumbeus* y *Campephilus gayaquilensis* la situación empeoró de modo aún más dramático al pasar de casi amenazadas a estar en peligro. Los más recientes incrementos en el área cultivada de coca en el país nos obligan a ser pesimistas sobre el estado de un conjunto importante de especies.

El mayor grado de amenaza para las familias Psittacidae, Grallariidae y Cracidae, respecto a las demás familias, coincide con las tendencias regionales o globales. Los psitácidos son el grupo de aves con más especies amenazadas en el mundo, pues 27 % de las 374 especies existentes lo están (Snyder, *et al.*, 2000, Parr & Juniper, 1998, IUCN, 2015). Las principales causas de amenaza son la pérdida de hábitat y su fragmentación, así como la explotación de sus poblaciones (Snyder, *et al.*, 2000), tal como pudimos constatarlo en este estudio a nivel nacional. Por otra parte, los insectívoros terrestres, como las especies del género *Grallaria*, tienden a extinguirse en paisajes fragmentados (Renjifo, 1999), lo cual es congruente con el hecho de que, según nuestros datos, la principal causa de amenaza para esta familia ha sido la expansión de la frontera agropecuaria. Los crácidos, por su parte, se consideran la familia de aves más amenazada de las Américas tanto por la deforestación como por la cacería (Brooks, *et al.*, 2006).

Como se ha señalado en el desarrollo de este artículo, las listas y libros rojos proveen información orientada a evitar la extinción de especies. Sin embargo, es preciso señalar que tienen una importante limitación: la ausencia de evaluaciones de riesgo de subespecies o de poblaciones regionales. El desarrollo de este tipo de evaluaciones se enfrenta con limitaciones importantes en cuanto a conocimientos y prácticas, entre ellas, la escasa información sobre la validez de estos taxones, los límites de sus distribuciones y las diferencias en cuanto a requerimientos ecológicos, etc., por lo que, en caso de ser evaluadas, un número muy importante quedaría en la categoría de “datos insuficientes” (DD). No obstante, es evidente que algunas subespecies ya se han extinguido, como es el caso de *Anas georgica niceforoi* (Rodríguez-Mahecha, *et al.*, 1986) y otras se encuentran al borde de la extinción, como la garcita *Ixobrychus exilis bogotensis*, endémica de los humedales del altiplano cundiboyacense (Renjifo, *et al.*, 2016). Esta situación resalta la necesidad de desarrollar iniciativas de conservación de algunas subespecies a escala regional.

Una limitación importante del sistema de criterios de la UICN es que una mejoría de categoría según los criterios B, C y D implica una mejoría en el estado de la especie en cuanto al tamaño de su distribución o de su población, pero esto no ocurre con un cambio de categoría basado en el criterio A. Este criterio evalúa la proporción de la reducción de la población de una especie, así que cuando una especie pasa a una categoría de menor riesgo según este criterio, ello no implica una recuperación del tamaño poblacional sino una reducción en el ritmo de pérdida de población. En otras palabras, la especie no necesariamente ha mejorado, sino que está empeorando más lentamente.

Por último, para futuras evaluaciones quisiéramos enfatizar la importancia de la obtención de información valiosa en torno a la densidad de las poblaciones de las especies, preferiblemente en diferentes tipos de hábitats y en sus gradientes de idoneidad. También debe garantizarse que los registros y la precisión de la georreferenciación en el momento de la recolección de datos, así como la exploración de sitios sobre los cuales hay poca información ornitológica, sean óptimos.

Agradecimientos

Esta investigación se desarrolló gracias al apoyo económico y logístico de la Vicerrectoría de Investigación y la Facultad de Estudios Ambientales y Rurales de la Pontificia Universidad Javeriana. Estamos agradecidos con Nicolás Urbina por sus valiosas sugerencias, y con Nick Bayly y Felipe Estela, por compartir con nosotros su conocimiento sobre la condición migratoria o accidental de especies en San Andrés y Providencia, y de especies marinas. Nuestros agradecimientos también van para Alberto Ramírez y Néstor Peralta, por sus opiniones sobre las pruebas estadísticas y, de manera especial, a Juan Carlos Benavides, quien nos asesoró en el cálculo de la prueba exacta de Fisher. Asimismo, agradecemos a Jaime Burbano-Girón la elaboración del mapa de la Figura 2. Los comentarios de Carlos Daniel Cadena y de los dos revisores anónimos contribuyeron a ajustar el contenido del artículo.

Información suplementaria

Tabla 1S. Especies y subespecies de aves de Colombia amenazadas en 1986 según Rodríguez-Mahecha, *et al.* 1986. Los nombres de las especies se actualizaron de acuerdo con SACC (2016), pero se conserva la clasificación original de las familias de ese listado. Vea la tabla 1S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SuppFile/461/2388>

Tabla 2S. Especies y subespecies de aves de Colombia amenazadas en Negret 2001. Los nombres de las especies están actualizados de acuerdo con SACC (2016), pero se conserva la clasificación original de las familias de ese libro. Vea la tabla 2S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SuppFile/461/2389>

Tabla 3S. Disponibilidad de información para obtener estimaciones de tamaño poblacional de las especies amenazadas en Renjifo, *et al.* 2014 y Renjifo, *et al.* 2016. Vea la tabla 3S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SuppFile/461/2390>

Tabla 4S. Proporción de amenaza por familia de las aves residentes permanente o estacionalmente en Colombia. Vea la tabla 4S en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/download/SuppFile/461/2391>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Los dos autores de este artículo contribuyeron igualmente en la compilación, revisión y síntesis de la información, el análisis de resultados, la discusión y la escritura del manuscrito.

Referencias

- Amat, G.G., Andrade, M.G., Amat, G.E.C. (2007). Libro rojo de especies amenazadas de invertebrados terrestres de Colombia. Conservación Internacional Colombia, Instituto de Ciencias Naturales de Colombia, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá, Colombia.
- Amaya-Espinel, J.D., Gómez, M.F., Amaya-Villarreal, A.M., Velásquez Tibatá, J., Renjifo L.M. (2011). Guía metodológica para el análisis de riesgo de extinción de especies en Colombia. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y Pontificia Universidad Javeriana. p. 84.
- Arboleda, N. (2008). La palma africana en el Pacífico colombiano: su ilegalidad, consecuencias y violación de derechos territoriales. *Revista Luna Azul*. **27**: 113-126.
- Ardila, N., Navas, G., Reyes, J. (eds.). (2002). Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Invemar y Ministerio del Medio Ambiente. Santa Marta, Colombia.
- Avendaño, J.E., Cuervo, A.M., López, J.P., Gutiérrez-Pinto, N., Cortés-Diago, A., Cadena, C.D. (2015). A new species of tapaculo (Rhinocryptidae: Scytalopus) from the Serranía de Perijá of Colombia and Venezuela. *The Auk*. **132**: 450-466.

- Ayerbe-Quiñones, F.** (2016). *Cypseloides lemosi*. En: Renjifo, L. M., Amaya-Villarreal A. M., Burbano-Girón, J., Velásquez-Tibatá, J. 2016. Libro rojo de aves de Colombia, Volumen II: Ecosistemas abiertos, secos, insulares, acuáticos continentales, marinos, tierras altas del Darién y Sierra Nevada de Santa Marta y bosques húmedos del centro, norte y oriente del país. Editorial Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C., Colombia. p. 463-465.
- Ayerbe-Quiñones, F., Pulgarín-Restrepo, P., Estela, F.A.** (2016). *Podiceps occipitalis*. En: Renjifo, L. M., Amaya-Villarreal A. M., Burbano-Girón, J., Velásquez-Tibatá, J. (2016). Libro rojo de aves de Colombia, Volumen II: Ecosistemas abiertos, secos, insulares, acuáticos continentales, marinos, tierras altas del Darién y Sierra Nevada de Santa Marta y bosques húmedos del centro, norte y oriente del país. Editorial Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C., Colombia. p. 119-122.
- Banco Mundial** (2006). Fortalecimiento de la gobernabilidad y aplicación de la legislación forestal: confrontando un obstáculo sistémico al desarrollo sostenible. Washington, EUA.
- BirdLife International.** (2017). Country profile: Colombia. Fecha de consulta: 21 de febrero de 2017. Disponible en: <http://www.birdlife.org/datazone/countrycolombia>. Checked: 2017-02-21
- Böhm, M., Collen, B., Baillie, J.E., Bowles, P., Chanson, J., Cox, N., Zug, G.** (2013). The conservation status of the world's reptiles. *Biological Conservation*. **157**: 372-385.
- Bravo, G.A., Naranjo, L. G.** (2006). Estado del conocimiento sobre aves terrestre en Colombia. En: M.E. Chaves y M. Santamaría (eds.). Informe nacional sobre el estado de avance en el conocimiento y la información de la biodiversidad 1998-2004. Tomo 2. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá. p. 130-150.
- Brooks, D.M., Cancino, L., Pereira, S.L.** (2006). Conserving cracids: The most threatened family of birds in the Americas. *Miscellaneous Publications of the Houston Museum of Natural Science*. **6**.
- Cabrera, E., Vargas, D.M., Galindo, G., García, M.C., Ordóñez, M.F., Vergara, L.K., Giraldo, P.** (2011). Memoria técnica de la cuantificación de la deforestación histórica nacional-escalas gruesa y fina. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales-IDEAM, Bogotá, Colombia.
- Calderón-Sáenz, E.** (Ed.). (2007). Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 6: Orquídeas. Primera Parte. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia.
- Calderón, E., Galeano, G., García, N.** (Eds.). (2002). Libro rojo de plantas fanerógamas de Colombia. Volumen 1: Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae y Lecythidaceae. La serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente.
- Calderón, E., Galeano, G., García, N.** (Eds.). (2005). Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 2: Palmas, frailejones y zamias. Serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente.
- Carantón-Ayala, D., Certuche-Cubillos, K.** (2010). A New Species of Antpitta (Grallariidae: Grallaria) from the Northern Sector of the Western Andes of Colombia. *Ornitología Colombiana*. **9**: 56-70.
- Cárdenas, L.D., Salinas, N.R.** (Eds.). (2007). Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 4. Especies maderables amenazadas: Primera parte. Serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. p. 232.
- Carson, R.** (1962). *Silent Spring*. Houghton-Mifflin, Boston, USA.
- Castaña-Mora, O. V.** (Ed.). (2002). Libro rojo de reptiles de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Conservación Internacional Colombia. Bogotá, Colombia.
- Chasqui V., Polanco, L.A., Acero, F.A., Mejía-Falla, P.A., Navia, A., Zapata, L.A., Caldas, J.P.** (Eds.) (2017). Libro rojo de peces marinos de Colombia. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras Inveemar, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Serie de Publicaciones Generales de INVEMAR # 93. Santa Marta, Colombia.
- Clausnitzer, V., Kalkman, V.J., Ram, M., Collen, B., Baillie, J.E., Bedjanič, M., Karube, H.** (2009). Odonata enter the biodiversity crisis debate: The first global assessment of an insect group. *Biological Conservation*. **142** (8): 1864-1869.
- Collen, B., Loh, J., Whitmee, S., McRae, L., Amin, R., Baillie, J. E.** (2009). Monitoring change in vertebrate abundance: The Living Planet Index. *Conservation Biology*. **23** (2): 317-327.
- Contraloría General de la República.** (2012). Cerca del 80% de la minería en Colombia es ilegal, advierte la Contraloría. Fecha de consulta: 21 de febrero de 2017. Disponible en: <http://www.lafm.com.co/noticias/colombia/05-11-12/cerca-del-80-de-la-mineria-en-12>
- Cortés-Diago, A., Ortega, L.A., Mazariegos-Hurtado, L., Weller, A. A.** (2007). A new species of *Eriocnemis* (Trochilidae) from southwest Colombia. *Ornitología Neotropical*. **18** (2): 161-170.
- Cuervo, A.M., Salaman, P.G.W., Donegan, T.M., Ochoa, J.M.** (2001). Una nueva especie de Piha (Cotingidae: *Lipaugus*) de la Cordillera Central de Colombia. *Ibis*. **143**: 353-368.
- Cuervo, A.M., Cadena, C.D., Krabbe, N., Renjifo, L.M.** (2005). *Scytalopus stilesi*, a new species of tapaculo (Rhinocryptidae) from the Cordillera Central of Colombia. *The Auk*. **122** (2): 445-463.
- Dávalos, L.M., Bejarano, A.C., Correa, H.L.** (2009). Disabusing cocaine: Pervasive myths and enduring realities of a globalised commodity. *International Journal of Drug Policy*. **20** (5): 381-386.
- Dávalos, L.M., Bejarano, A.C., Hall, M.A., Correa, H.L., Corthals, A., Espejo, O.J.** (2011). Forests and drugs: coca-driven deforestation in tropical biodiversity hotspots. *Environmental science & technology*. **45** (4): 1219-1227.
- De las Casas, J. C.** (2004). Evaluación del estado taxonómico del Semillero de Tumaco *Sporophila insulata* (Fringillidae: Emberizinae) utilizando métodos morfológicos y genéticos. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

- Dion, M.L., Russler, C.** (2008). Eradication efforts, the state, displacement and poverty: Explaining coca cultivation in Colombia during Plan Colombia. *Journal of Latin American Studies*. **40**: 399-421.
- Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J., Collen, B.** (2014). Defaunation in the Anthropocene. *Science*. **345** (6195): 401-406.
- Donegan, T. M.** (2007). A new species of brush finch (Emberizidae: Atlapetes) from the northern Central Andes of Colombia. *Bulletin of the British Ornithologists' Club*. **127** (4): 255-268.
- EJOLT Project.** (2016). Environmental Justice Organizations, Liabilities and Trade. Fecha de consulta: 21 de febrero de 2017. Disponible en: <http://ejatlas.org/country/colombia>
- Estela, F. A., López-Victoria, M., Castillo, L. F., Naranjo, L. G.** (2010). Estado del conocimiento sobre aves marinas en Colombia, después de 110 años de investigación. *Boletín saó*. **20**: 2-21.
- Estes, J. A., Brashares, J. S., Power, M. E.** (2013). Predicting and detecting reciprocity between indirect ecological interactions and evolution. *The American Naturalist*. **181** (S1): S76-S99.
- Etter, A.** (1993). Diversidad ecosistémica en Colombia hoy. En: Cárdenas S. y M. D. Correa (eds). Nuestra diversidad biológica. Fundación Alejandro Ángel Escobar. Bogotá. p. 43-61
- Kellman, M.** (1989). Mineral nutrient dynamics during savanna forest transformation in Central America. Mineral nutrients in p. 43-61.
- Etter, A.** (1998). Mapa general de ecosistemas de Colombia. En M. E. Chaves y N. Arango, editores. Informe nacional sobre el estado de la biodiversidad. Colombia 1997. Tomo 1. Diversidad biológica. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, PNUMA, Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá D. C., Colombia. p. 1-150.
- Etter, A., McAlpine, C., Pullar, D., Possingham, H.** (2006). Modelling the conversion of Colombian lowland ecosystems since 1940: Drivers, patterns and rates. *Journal of Environmental Management*. **79**: 74-87.
- Etter, A., Andrade A., Amaya, P., Arévalo, P.** (2015). Estado de los ecosistemas colombianos- 2014: una aplicación de la metodología de lista roja de ecosistemas. Fecha de consulta: 20 marzo 2017. Disponible en: <https://iucnrle.org/static/media/uploads/references/published-assessments/etter-et-al-2015-national-rle-assessment-final-report-colombia-sp.pdf>
- Farrier, D., Whelan, R., Mooney, C.** (2007). Threatened species listing as a trigger for conservation action. *Environmental Science & Policy*. **10**: 219-229.
- Foley, J.A., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., Helkowski, J.H.** (2005). Global consequences of land use. *Science*. **309** (5734): 570-574.
- Franco, A.M., Devenish, C., Barrero, M.C., Romero, M.H.** (2009). Colombia. En: C. Devenish, D. F. Díaz Fernández, R. P. Clay, I. Davidson & I. Y. Zabala (Eds). Important bird areas Americas—priority sites for biodiversity conservation. BirdLife International, Quito, Ecuador. p. 135-148.
- Fundación Pro-Sierra Nevada de Santa Marta.** (1998). Evaluación ecológica rápida: definición de áreas críticas para la conservación en la Sierra Nevada de Santa Marta, Bogotá D. C., Colombia.
- García, H.** (2014). Deforestación en Colombia: retos y perspectivas. Fedesarrollo. Fecha de consulta: 19 de abril de 2017. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11445/337>
- García, N., Galeano, G.** (eds.). (2006). Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 3: Las bromelias, las labiadas y las pasifloras. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia y Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.
- García, N.** (ed.). (2007). Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 5: Las magnoliáceas, las miristicáceas y las podocarpáceas. Serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Corantioquia, Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín, Instituto de Ciencias Naturales - Universidad Nacional de Colombia y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá, Colombia.
- Garnett, S. T., Christidis, L.** (2017). Taxonomy anarchy hampers conservation. *Nature*. **546**: 25-27.
- Gill, F., Donsker, D.** (eds). (2017). IOC World Bird List (v 7.1). <https://doi.org/10.14344/IOC.ML.7.1>. Fecha de consulta: 23 de enero 2017. Disponible en: <http://www.worldbirdnames.org/>
- Gregory, R.D., van Strien, A.** (2010). Wild bird indicators: Using composite population trends of birds as measures of environmental health. *Ornithology Science*. **9**: 3-22.
- Haddad, N.M., Brudvig, L. A., Clobert, J., Davies, K. F., González, A., Holt, R.D., Townshend, J. R.** (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*. **1** (2): e1500052. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>
- Hilty, S. L.** (1985). Distributional changes in the Colombian avifauna: A preliminary Blue List. En, P. A. Buckley, M. S. Foster, E. S. Morton, R. S. Ridgely, y F. G. Buckley, (Eds). Neotropical Ornithology. Ornithological Monographs No. 36. American Ornithologists' Union. Lawrence, Kansas, USA. p. 1000-1012.
- Hilty, S. L., Brown, W.L.** (1986). A guide to the birds of Colombia. Princeton University Press. Princeton, N.J., USA.
- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T. M., Butchart, S.H., Darwall, W.R.** (2010). The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*. **330** (6010): 1503-1509.
- Isaac, N.J., Mallet, J., Mace, G.M.** (2004). Taxonomic inflation: Its influence on macroecology and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. **19** (9): 464-469.
- IUCN.** (2001). IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- IUCN.** (2012). Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional and National Levels: Version 4.0. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN. p. iii + 41.
- IUCN.** (2015). IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2. Fecha de consulta: 4 de junio de 2015. Disponible en: www.iucnredlist.org.
- Keith, D.A., Rodríguez, J.P., Rodríguez-Clark, K.M., Aapala, K., Alonso A., Asmussen, M., Zambrano-Martínez, S.** (2013). Scientific Foundations for an IUCN Red List of Ecosystems. *PLoS ONE*. **8** (5): e62111.
- Kellman, M.** (1989). Mineral nutrient dynamics during savanna forest transformation in Central America. En: Mineral Nutrients in Tropical Forest and Savanna Ecosystems. Blackwell, Oxford, UK.

- Kirchman, J.J., Witt, C.C., McGuire, J.A., Graves, G.R.** (2009). DNA from a 100-year-old holotype confirms the validity of a potentially extinct hummingbird species. *Biology Letters*. **6**: 112-115.
- Krabbe, N., Salaman, P., Cortés, A., Quevedo, A., Ortega, L. A., Cadena, C.D.** (2005a). A new species of tapaculo from the upper Magdalena valley, Colombia. *Bulletin of the British Ornithologists' Club*. **125**: 93-108.
- Krabbe, N., Flórez, P., Suárez, G., Castaño, J.** (2005b). Rediscovery of the Dusky Starfrontlet *Coeligena orina*, with a description of the adult plumages and a reassessment of its taxonomic status. *Ornitología Colombiana*. **1**: 28-35.
- Lara, C. E., Cuervo, A. M., Valderrama, S.V., Calderón-F, D., Cadena, C. D.** (2012). A new species of wren (Troglodytidae: Thryophilus) from the dry Cauca River Canyon, northwestern Colombia. *The Auk*. **129** (3): 537-550.
- Laverde, O.** (2014). *Crypturellus obsoletus castaneus*. En: Renjifo, L. M., Amaya-Villarreal A. M., Burbano-Girón, J. & Velásquez-Tibatá, J. 2016. Libro rojo de aves de Colombia, Volumen II: Ecosistemas abiertos, secos, insulares, acuáticos continentales, marinos, tierras altas del Darién y Sierra Nevada de Santa Marta y bosques húmedos del centro, norte y oriente del país. Editorial Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C., Colombia.
- Linares, E. L., Uribe-Meléndez, J.** (2002). Libro rojo de briófitas de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.
- Loh, J., Wackernagel, M.** (2004). Living planet report 2004. Fecha de consulta: 12 de julio de 2017. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10919/65909>
- Loh, J., Green, R. E., Ricketts, T., Lamoreux, J., Jenkins, M., Kapos, V., Randers, J.** (2005). The Living Planet Index: Using species population time series to track trends in biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. **360** (1454): 289-295.
- Lozano-Jaramillo, M., Rico-Guevara, A., Cadena, C. D.** (2014). Genetic Differentiation, Niche Divergence, and Origin and Maintenance of the Disjunct Distribution in the Blossomcrown *Anthocephala floriceps* (Trochilidae). *PLoS ONE*. **9** (9):e108345.
- Mace, G. M., Lande, R.** (1991). Assessing extinction threats: toward a reevaluation of threatened species categories. *Conservation Biology*. **5**: 148-157.
- Mace, G.M., Collar, N.J., Gaston, K.J., Hilton-Taylor, C., Akçakaya, H.R., Leader-Williams, N., Milner-Gulland, E.J., Stuart, S.N.** (2008). Quantification of extinction risk: IUCN's system for classifying threatened species. *Conservation Biology*. **22**: 1424-1442. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01044.x>
- Mejía, L.S., Acero, A.** (Eds.). (2002). Libro rojo de peces marinos de Colombia. INVEMAR, Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Medio Ambiente. La serie Libros rojo de especies amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Mojica, J. I., Castellanos, C., Usma, S. y Álvarez, R.** (Eds.). (2002). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales- Universidad Nacional de Colombia y Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.
- Mojica, J.I., Usma, J.S. Álvarez-León, R., Lasso C.A.** (Eds.). (2012). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. Bogotá, D. C., Colombia.
- Naranjo, L.G., Bravo G.A.** 2006. Estado del conocimiento sobre aves acuáticas en Colombia. En: M. E. Chaves y M. Santamaría (eds.). Informe nacional sobre el estado de avance en el conocimiento y la información de la biodiversidad 1998-2004. Tomo 2. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá. p. 214-224.
- Negret, A. J.** (2001). Aves en Colombia amenazadas de extinción. Editorial Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.
- Ocampo-Peñuela, N.** (2010). El fenómeno de la migración en aves: una mirada desde la Orinoquia. *Orinoquia*. **14**: 188-200.
- Pacheco-Garzón, A.** (2012). Study and conservation of the birds of San Andrés island. *Conservación Colombiana*. **16**: 5-54.
- Parr M., Juniper T.** (1998). *Parrots: A Guide to Parrots of the World*. Yale University Press, New Haven.
- Parra, J.L.** (2016). *Heliangelus zusii*. En: Renjifo, L. M., Amaya-Villarreal A. M., Burbano-Girón, J. y Velásquez-Tibatá, J., (2016). Libro rojo de aves de Colombia, Volumen II: Ecosistemas abiertos, secos, insulares, acuáticos continentales, marinos, tierras altas del Darién y Sierra Nevada de Santa Marta y bosques húmedos del centro, norte y oriente del país. Editorial Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C., Colombia. p. 192-194.
- Pereira, H. M., Leadley, P. W, Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J. P. W., Fernández-Manjarres, J. F., Walpole, M.** (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science*. **330**: 1496-1501.
- Pérez-Emán, J.L., Ferreira, J.P., Gutiérrez-Pinto, N., Cuervo, A.M., Céspedes, L.N., Witt, C.C., Cadena, C.D.** (2017). An extinct hummingbird species that never was a cautionary tale about sampling issues in molecular phylogenetics. *bioRxiv*. **Xiv**: 149898; <https://doi.org/10.1101/149898>
- Pérez-Rincón, M.** (2014). Conflictos ambientales en Colombia: inventario, caracterización y análisis. En L. J. Garay (ed.). Minería en Colombia: control público, memoria y justicia socio-ecológica, movimientos sociales y pos-conflicto. Contraloría General de la República, Bogotá. 2014. p. 253-325. Fecha de consulta: 19 de abril de 2017. Disponible en: https://redjusticiaambientalcolombia.files.wordpress.com/2014/08/libro-mineria_contraloria_vol-iv.pdf
- Pimm, S. L., Raven, P.** (2000). Biodiversity: extinction by numbers. *Nature*. **403** (6772), 843-845.
- Pitman, R.L., Jehl Jr, J.R.** (1998). Geographic variation and reassessment of species limits in the "masked" boobies of the eastern Pacific Ocean. *The Wilson Journal of Ornithology*. **110** (2): 154.
- PNUD.** (2011). Colombia rural. Razones para la esperanza. INDH PNUD. Bogotá, D.C, Colombia.
- Proença, V., Martin, L. J., Pereira, H. M., Fernandez, M., McRae, L., Belnap, J., Honrado, J. P.** (2017). Global biodiversity monitoring: from data sources to essential biodiversity variables. *Biological Conservation*. **213** (B): 256-263.
- R Development Core Team.** 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Rands, M. R. W., Adams, W. M., Bennun, L., Butchart, S.H.M., Clements, A., Coomes, D., Entwistle, A., Hodge, I., Kapos, V., Scharlemann, J. P. W., Sutherland, W. J., Vira, B.** (2010). Biodiversity conservation: challenges beyond. *Science*. **329**: 1298-1303.
- Remsen J.V. Jr., Areta J.I., Cadena, C.D., Claramunt, S., Jaramillo, A., Pacheco, J. F., Robbins M. B., Schulenberg, T. S., Stiles G., Stotz, D.F., Zimmer, K.J.** (2016). A classification of the bird species of South America. American Ornithologists' Union, Washington DC, USA. Fecha de consulta: 23 de agosto 2016. Disponible en: <http://www.museum.lsu.edu/>
- Renjifo L.M., Amaya-Villarreal, A.M., Velásquez-Tibatá, Burbano-Girón J.** (2016). Libro rojo de aves de Colombia. Volumen II: Ecosistemas abiertos, secos, insulares, acuáticos continentales, marinos, tierras altas del Darién y Sierra Nevada de Santa Marta y bosques húmedos del centro, norte y oriente del país. Editorial Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, D.C. Colombia. (v. 2).
- Renjifo L.M., Gómez, M.F., Velásquez-Tibatá, J., Kattan, G. H., Amaya-Espinel, J. D., Amaya-Villarreal, A.M., Burbano-Girón J.** (2014). Libro rojo de aves de Colombia. Volumen I: Bosques húmedos de los Andes y la costa pacífica. Editorial Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt. Bogotá, D.C. Colombia ISBN 978-958-716671-2 (v.1).
- Renjifo, L. M.** (1999). Composition Changes in a Subandean Avifauna after Long-Term Forest Fragmentation. *Conservation biology*. **13** (5): 1124-1139.
- Renjifo, L. M.** (1998). Especies de aves amenazadas y casi amenazadas de extinción en Colombia. Informe nacional sobre el estado de la biodiversidad Colombia, Tomo I. Diversidad biológica. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt – Ministerio del Medio Ambiente – Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA).
- Renjifo, L.M., Franco-Maya B., A.M., Amaya-Espinel, J.D., Kattan G.H., López-Lanus, B.** (eds.). (2002). Libro rojo de aves de Colombia. Serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia. ISBN 958-8151-08-2.
- Rincón Ruiz, A. R., Pascual, U., Romero, M.** (2013). An exploratory spatial analysis of illegal coca cultivation in Colombia using local indicators of spatial association and socioecological variables. *Ecological indicators*. **34**: 103-112.
- Ripple, W. J., Estes, J. A., Beschta, R. L., Wilmers, C. C., Ritchie, E. G., Hebblewhite, M., Schmitz, O. J.** (2014). Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science*. **343** (6167): 1241484.
- Rodrigues, A., Pilgrim, J. D., Lamoureux, J. F., Hoffman, M., Brooks, T. M.** (2006). The value of the IUCN Red List for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*. **21** (2): 71-76.
- Rodríguez-Mahecha, J. V., Alberico, M., Trujillo, F., Jorgenson, J.** (Eds.). 2006. Libro rojo de los mamíferos de Colombia. Serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Conservación Internacional Colombia y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá, Colombia.
- Rodríguez-Mahecha, J.V., Hernández-Camacho, J.I., Rueda, J.V., Morales J.** (1986). Colombia, fauna en peligro. (1986). *Revista Procám – Inderena*. **1**: 1-17.
- Rodríguez, J.P., Balch, J.K., Rodríguez-Clark, K. M.** (2007). Assessing extinction risk in the absence of species-level data: Quantitative criteria for terrestrial ecosystems. *Biodiversity Conservation*. **16**: 183-209.
- Rojas-Briñez, D.K.R., Silva, M.R., Melo, J.E.G.** (2013). Estado actual y perspectivas de conservación frente al comercio ilegal de fauna silvestre en el departamento del Tolima (Colombia). *Revista Tumbaga*. p. 97-111.
- Rueda-Almonacid, J.V., Lynch, J.D., Amézquita, A.** (eds.). 2004. Libro rojo de anfibios de Colombia. Serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Conservación Internacional, Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.
- Salafsky, N., Salzer, D., Stattersfield, A. J., Hilton-Taylor, C., Neugarten, R., Butchart, S.H., Collen, B., Cox, N., Master, L.L., O'Connor, S., Wilkie, D.** (2008). A standard lexicon for biodiversity conservation: Unified classifications of threats and actions. *Conservation Biology*. **22** (4): 897-911.
- Salaman, P., Coopmans, P., Donegan, T.M., Mulligan, M., Cortés, A., Hilty S.L., Ortega L.A.** (2003). A new species of woodwren (Troglodytidae: Henicorhina) from the western Andes of Colombia. *Ornitología Colombiana*. **1**: 4-21.
- Sánchez-Cuervo, A.M., Aide, T.M., Clark, M.L., Etter, A.** (2012). Land cover change in Colombia: Surprising forest recovery trends between 2001 and 2010. *PLoS One*. **7**: 1-14.
- Schipper, J., Chanson, J.S., Chiozza, F., Cox, N.A., Hoffmann, M., Katariya, V., Baillie, J.** (2008). The status of the world's land and marine mammals: Diversity, threat, and knowledge. *Science*. **322** (5899): 225-230.
- Şekerciöglü, C.H.** (2006). Increasing awareness of avian ecological function. *Trends in ecology & evolution*. **21** (8): 464-471.
- Snyder, N., McGowan, P., Gilardi, J., Grajal, A.** (Eds.). (2000). Parrots. Status Survey and Conservation Action Plan 2000–2004. International Union for the Conservation of Nature. Gland, Switzerland & Cambridge, UK.
- Stiles, F.G.** 2004. The Tumaco Seedeater (*Sporophila insulata*, Emberizidae): A species that never was? *Ornitología Neotropical*. **15**: 17-30.
- Sokal, R.R., Rohlf F.J.** (1995). Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. 3rd Edition. W.H. Freeman and Company, USA.
- Stattersfield, A.J., Crosby, M.J., Long, A.J., Wege, D.** (1998). Endemic bird areas of the world. Priorities for biodiversity conservation. BirdLife International, Cambridge, UK.
- UICN.** (2003). Directrices para emplear los criterios de la Lista Roja de la UICN a nivel regional: Versión 3.0. Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido.
- Wenny, D. G., Devault, T.L., Johnson, M.D., Kelly, D., Şekerciöglü, C.H., Tomback, D.F., Whelan, C.J.** The Need to Quantify Ecosystem Services Provided By Birds. *The Auk*. **128** (1): 1-14.
- Whelan, C.J., Şekerciöglü, Ç.H., Wenny, D.G.** (2015). Why birds matter: From economic ornithology to ecosystem services. *Journal of Ornithology*. **156**: 227-238.

Determinación de los factores de vulnerabilidad en lagunas de alta montaña: una aproximación

Mónica Patricia Valencia-Rojas*, Apolinar Figueroa-Casas

Grupo de Estudios Ambientales (GEA), Departamento de Biología Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

Resumen

Los procesos de transformación del territorio están dañando importantes sistemas de laguna en la alta montaña en Colombia. Su alteración continua se atribuye principalmente a causas antropogénicas, y afecta los bienes y servicios que proveen, así como la economía de amplios sectores productivos y naturales. El objetivo de este documento es determinar los factores de vulnerabilidad en una laguna de páramo en el departamento del Cauca con base en una propuesta metodológica que integra tres momentos: i) definición del alcance, ii) un modelo conceptual basado en una red causal integrada por los siguientes elementos: 'direccionado'-presión-estado-impacto-respuesta (DPEIR), y iii) análisis y validación de los factores de vulnerabilidad a la luz de información primaria y secundaria. Los resultados revelaron una compleja relación entre diez factores de vulnerabilidad en procesos biofísicos y sociales, entre los cuales se encuentran la precipitación, la temperatura, el área de litigio entre actores, los rituales y las especies de interés cultural, entre otros. El reconocimiento de los factores de vulnerabilidad a partir de la metodología propuesta en este documento da un punto de partida para la generación de indicadores de análisis sistémico y de abajo hacia arriba (*bottom-up*) de la vulnerabilidad. Asimismo, se dan indicios de los principales direccionadores de cambio que deben ser atendidos de manera prioritaria por los diferentes actores sociales con la intención de reducir tanto la vulnerabilidad como el riesgo frente a la pérdida de los servicios ambientales de la laguna paramuna estudiada en el Parque Nacional Natural Puracé.

Palabras clave: Complejidad; Dimensiones; Direccionadores; Páramo, Puracé.

An approach to identifying vulnerability factors in high mountain lagoons

Abstract

Territorial transformation processes are affecting important lagoon systems in the high mountains in Colombia. Their continuous alteration is attributed to anthropogenic causes mainly, and it affects the goods and services they provide, as well as the economy of large productive and natural sectors. The objective of this document was to identify vulnerability factors or drivers in a *páramo* lagoon in the department of Cauca using a methodological approach which integrates three moments: i) definition of the scope; ii) a conceptual model based on a causal network composed of the following factors: Direction-Pressure-State-Impact-Response (DPSIR), and iii) the identification of factors using primary and secondary information. The results revealed a complex relationship among ten factors of vulnerability in biophysical and social processes, among them, precipitation, temperature, areas under litigation among actors, rituals, and species of cultural interest, among others. The detection of vulnerability factors based on this methodology provides a starting point to establish indicators for a systemic and bottom-up analysis of vulnerability. Additionally, we give indications on the main drivers of change that must be addressed by the different social actors to reduce the vulnerability and the risk of losing environmental services of the *páramo* lagoon in the Puracé Natural National Park under study.

Key words: Complexity; Dimensions; Drivers; *Páramo*; Puracé.

Introducción

Los humedales altoandinos o de alta montaña son de gran importancia biológica a nivel global; sin embargo, dada su fragilidad están en riesgo frente a diversas amenazas, especialmente frente a las presiones del desarrollo basado en prácticas no sostenibles y el cambio climático (Ramsar, 2005). En Colombia su deterioro se ha agudizado debido a la ocupación y el uso de los páramos y los piedemontes

cordilleranos andinos desde el siglo antepasado. Desde entonces, la influencia antrópica en ellos ha venido en aumento (Morales, *et al.*, 2007). En numerosas regiones paramunas colombianas se adelantan labores productivas contrarias a la verdadera vocación del uso del suelo

*Correspondencia:

Mónica Patricia Valencia Rojas, mvalenciarojas@unicauca.edu.co

Recibido: 16 de julio de 2017

Aceptado: 26 de diciembre de 2017

dictada por sus características físicas y bióticas. Entre tales actividades cabe mencionar las concesiones mineras (oro, carbón), los cultivos forestales (pino, eucalipto), la agricultura intensiva, la introducción de especies, la ganadería, la extracción intensiva de leña y materiales (bambúes, paja, juncos), y el turismo masivo, entre otras (Vargas & Rivera, 1990; Hofstede, 2003; Buytaert, *et al.*, 2006; Reiss, 2006; Garavito, 2016).

Dichas intervenciones se hacen evidentes incluso en parques nacionales naturales como Chingaza, Los Nevados y Puracé (Verweij & Budde, 1992; Hofstede, 1995; Premauer, 1999; Vargas, *et al.*, 2002; UASPNN, 2004; Joaqui, *et al.*, 2009; Martínez, *et al.*, 2009; Muñoz, *et al.*, 2009), entre otros. A su vez, estos procesos de transformación han impactado los ecosistemas de humedales de alta montaña, especialmente aquellos ubicados en el macizo colombiano, que es despensa de bienes y servicios, pues un alto porcentaje del agua requerida por la nación proviene de ellos.

La vulnerabilidad se entiende como el estado de susceptibilidad al daño por exposición a tensiones asociadas con cambios ambientales y sociales, y la falta de capacidad de adaptación (Adger, 2006). Su estudio se aborda a partir un enfoque integral, sistémico y multidimensional como el de los sistemas socio-ecológicos (Berkes & Folke, 1998; Walker, *et al.*, 2002; Valencia & Figueroa, 2015). Este enfoque permite reconocer la complejidad ambiental del sistema, pues incorpora los componentes más importantes o más indicativos, como son los aspectos sociales (cosmovisión, patrones culturales, saberes), los aspectos económicos (productividad, ingresos), la legislación (política de humedales interiores, cabildo indígena), la dinámica natural (sucesión natural, variabilidad climática), los elementos sociales (actividades antrópicas) y la ecofisiología (características propias del humedal), entre otras.

En este contexto, el análisis de la vulnerabilidad de las lagunas de páramo frente a los procesos antrópicos plantea el reto de determinar, en primer lugar, los factores de vulnerabilidad (direccionadores de cambio y presiones), lo cual debe hacerse no solo desde la perspectiva convencional del cambio climático, sino a partir de la detección de los factores que den respuesta a la presión que ejercen las actividades antrópicas en un territorio y en el marco de las condiciones cambiantes propias de la variabilidad climática, así como de los patrones culturales. Dichos elementos se deben explorar e incorporar al análisis mediante un enfoque integral e interdisciplinario que aborde los sistemas de laguna como sistemas socio-ecológicos y que, a su vez, tenga presente los direccionadores del cambio, la presión, el estado, el impacto y las respuestas en el sistema. En este orden de ideas, la pregunta que se abordó fue, ¿cuáles son los factores que generan vulnerabilidad en la laguna de San Rafael en el Parque Nacional Natural Puracé?

El estudio del funcionamiento de los ecosistemas acuáticos altoandinos (por encima de los 2.500 msnm) y de sus problemáticas desde una visión cada vez más holística

e interdisciplinaria va en aumento. Entre los trabajos de referencia en la literatura especializada se destacan las evaluaciones del estado trófico (Álvarez, 2005; Vásquez, *et al.*, 2006) y de la intervención antrópica (Plaza, *et al.*, 2017), así como las mediciones de los cambios espacio-temporales (Bejarano & Bonilla, 2009; Muñoz, *et al.*, 2009), entre otros. Sobre el tema de la vulnerabilidad, se ha avanzado en el estudio del comportamiento de los recursos hídricos frente al cambio climático, y en cuanto a las lagunas de alta montaña, está el estudio del complejo de humedales de las lagunas de Fúquene, Cucunubá y Palacio en la cordillera Oriental colombiana (Franco, *et al.*, 2011), y del comportamiento de una laguna en el páramo de Puracé, en la cordillera Central, frente a la complejidad ambiental (Valencia, 2014).

En los últimos 20 años el modelo direccionador-presión-estado-impacto-respuesta (DPEIR) viene aplicándose en diferentes campos y contextos como un marco inicial. Dicho modelo ha sufrido modificaciones y desarrollos en un proceso de evolución convergente en el que sus categorías iniciales han variado según el área del conocimiento o los elementos de interés. Así, se ha cambiado la categoría de impacto (I) por la de servicios ecosistémicos (E) o de bienestar (B), y la de estado (E) por la de vulnerabilidad (V), entre otras (Patricio, *et al.*, 2016). En su aplicación al estudio de ecosistemas acuáticos se destaca la construcción de modelos conceptuales para ecosistemas marinos que incorporan sus servicios ecosistémicos (Kelble, *et al.*, 2013); un modelo conceptual para la estimación del índice de seguridad ecológica (sostenibilidad del ecosistema) en un lago en China (Wang, *et al.*, 2015); un modelo conceptual y explicativo de la dinámica de un sistema lótico (Pirvu & Petrovici, 2013); una guía para la determinación de los direccionadores abordados únicamente como necesidades sociales básicas y de indicadores de presión, estado y respuesta a partir de la conceptualización y la comprensión de la dinámica de un sistema ecológico complejo (Pletterbauer, *et al.*, 2017); asimismo, se ha transformado en una herramienta para determinar y diseñar técnicas de monitorización de proyectos de restauración riparia (Song & Frostell, 2012), entre otra decena de estudios en sistemas acuáticos que han empleado el modelo como lente analítica (Vollmer, *et al.*, 2016).

Especialmente en torno a la determinación de factores o direccionadores de vulnerabilidad en sistemas acuáticos, existe el antecedente internacional del estudio de Van Asselen, *et al.* (2013), quienes mediante un metaanálisis de regresión establecieron los factores de cambio en 105 humedales, y elaboraron un listado de 29 factores de vulnerabilidad para estos sistemas de la región templada. En Colombia, Franco, *et al.* (2013) establecieron los factores de vulnerabilidad a partir del desarrollo de un modelo ecológico conceptual de funcionamiento de los humedales altoandinos frente a los procesos que determinan su funcionalidad y los elementos estructurales que los sustentan, y obtuvieron

factores asociados a procesos biofísicos y socio-ecológicos. Por su parte, a partir de una revisión bibliográfica hecha a través de matrices de impactos cruzados y multiplicación aplicada a una clasificación (MIC MAC), **Senhadji, et al.** (2017), diferenciaron factores, problemáticas e impactos en 19 humedales y encontraron que los aspectos asociados a procesos urbanísticos, de disposición de desechos y agrícolas fueron los de mayor impacto.

El presente estudio tuvo como propósito presentar los factores de vulnerabilidad de una laguna de páramo establecidos a partir de una aproximación metodológica que considera tres momentos: i) definición del alcance y la selección del enfoque para la vulnerabilidad; ii) descripción de la dinámica del sistema de laguna a partir de un modelo conceptual basado en una red causal integrada por los siguientes aspectos: direccionador-presión-estado-impacto-respuesta (DPEIR), y iii) el análisis y la validación de los factores de vulnerabilidad a la luz de información primaria y secundaria para la zona de interés.

Dichos factores son el primer peldaño para avanzar en la construcción de los indicadores de un análisis de vulnerabilidad. Con ello se aspira a responder a la necesidad de conocer y entender el estado ecológico y la integridad de los humedales como un medio para documentar el alcance de la

degradación, advertir sobre su estrés y valorar su deterioro. Esta información es pertinente en Colombia para determinar la eficacia de las medidas de gestión y hacer un seguimiento a la condición de los humedales en el marco de programas de gestión, restauración y mitigación.

Materiales y métodos

Área de estudio. La laguna de San Rafael o Andulvio, que significa ninfa de las aguas en la lengua de la comunidad indígena del sector, se ubica en el nororiente del Parque Nacional Natural Puracé (PNNP), en el municipio de Puracé, departamento del Cauca, Colombia (Figura 1). Se encuentra en un pequeño valle aluvial localizado a 3.300 msnm ($1^{\circ} 50' - 2^{\circ} 24' N$ y $76^{\circ} 37' - 76^{\circ} 42' O$), con asociaciones vegetales propias del páramo, como frailejonales, pajonales y chuscales, que dominan en sus alrededores; sobre las pendientes de las colinas circundantes se encuentran parches de bosque y arbustos (**Martínez, et al.**, 2009).

Esta zona hace parte de la reserva de la biosfera Cinturón Andino correspondiente a dicho parque nacional por su significación ecológica y cultural, y alberga importantes áreas de sistemas naturales poco intervenidos. Sin embargo, en las últimas décadas el sector de San Rafael ha sufrido reducciones significativas en el área ocupada por coberturas

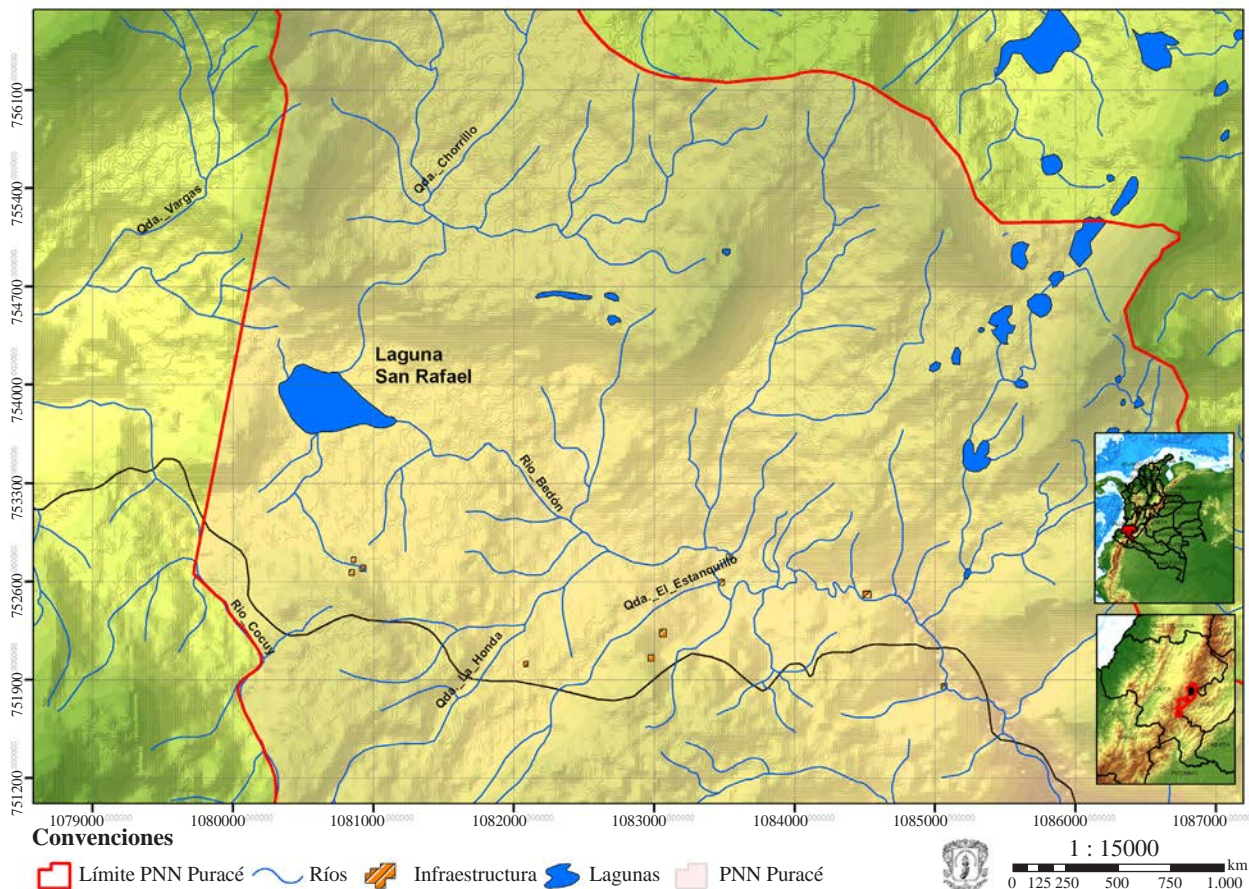


Figura 1. Laguna de San Rafael, Parque Nacional Puracé. Fuente: **Valencia**, 2014

vegetales naturales de bosques, páramos y humedales como resultado de actividades antrópicas tales como la quema, la ganadería, la actividad agrícola, la extracción de madera y las actividades turísticas descontroladas (Duque & Restrepo, 1992; Tandioy, 2008; Joaqui, *et al.*, 2009; Martínez, *et al.*, 2009; Mosquera, 2009; Muñoz, *et al.*, 2009; Ruiz, 2009).

En la zona confluyen diversos actores sociales como el Cabildo Indígena de Puracé, la administración del Parque Nacional Natural Puracé, la alcaldía de Puracé, la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC) y la Corporación del Alto Magdalena (CAM), entre otros. Sus pobladores son mayoritariamente los indígenas de la etnia Kokonuco, representados por el cabildo mencionado, cuyas actividades económicas son la ganadería, la minería (azufre y canteras) y los cultivos de papa, fresa y mora. Además, los cabildantes tienen una estrecha relación cultural con la laguna a través de sus rituales y como espacio de espíritus protectores de la naturaleza.

Tipo de estudio. Se hizo un estudio de tipo descriptivo con el cual se diagnosticó la situación de la laguna, explicando las razones de la situación actual y su origen; por último, se hizo una propuesta de metodología para la determinación de los factores de vulnerabilidad en los siguientes tres momentos.

Delimitación del alcance. El alcance se delimitó a partir de cuatro preguntas orientadoras empleadas en el análisis de vulnerabilidad desarrollado por Malone & Engle, 2011): i) ¿Qué o quién es vulnerable?; ii) ¿Qué es la vulnerabilidad?; iii) ¿Vulnerable a qué?, y iv) ¿Cuál es el atributo a medir? La selección del enfoque se basó en los planteamientos de Adger (2006) y Valencia & Figueroa (2015).

Descripción de la dinámica del sistema de laguna a partir de un modelo conceptual basado en una red causal integrada por direccionador - presión - estado - impacto - respuesta (DPEIR). Este modelo causal fue desarrollado inicialmente por Rapaport & Friend (1979) y popularizado por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD, 1993); se fundamenta en una evolución secuencial que parte de las fuerzas o direccionadores naturales y antrópicos que gobiernan los sistemas, en los cuales el desarrollo social y económico origina presiones en el medio, que dan lugar a una serie de cambios en el estado del medio ambiente. Como consecuencia de estos cambios hay impactos en la salud, la disponibilidad de recursos, la conservación de los ecosistemas naturales, etc., lo cual da lugar a una serie de respuestas por parte de los agentes sociales y los poderes públicos destinadas a mejorar la gestión económica y social, a eliminar o reducir esas presiones y a restaurar y recuperar el estado del medio y contrarrestar las alteraciones derivadas de los impactos.

El DPEIR fue empleado en este estudio para generar un modelo conceptual a partir de la descripción de los componentes del sistema, las diversas relaciones de sus elementos constituyentes y las sinergias presentes en el ecosistema acuático de interés, con el fin de entender los procesos en

la laguna, así como de dar los primeros indicios sobre los factores de vulnerabilidad asociados a sus direccionadores y a las presiones en categorías temáticas superiores.

Análisis y validación de los factores de vulnerabilidad. Tomando como punto de partida las categorías temáticas establecidas en el modelo conceptual, se propusieron y analizaron posibles métricas o indicadores para cada dimensión del sistema, tal como la biofísica, la institucional, la económica, la sociodemográfica y la cultural.

En la validación se empleó información primaria relacionada con las dinámicas culturales, económicas y naturales, entre otras, la percepción que los actores del Parque Nacional Natural de Puracé (sector San Rafael) han tenido de las lagunas de páramo a través del tiempo, así como las observaciones *in situ*, los conversatorios con grupos focales y la elaboración de la historia ambiental del territorio. Para el diseño y el desarrollo de estas actividades se tuvieron en cuenta métodos tradicionales para la reconstrucción y la reflexión analítica, tales como la historia ambiental (Gallini, 2004), los grupos focales (Morgan, 1996) y la sistematización de experiencias (Jara, 1994; Morgan, 1995). En cuanto a la información secundaria, se buscó bibliografía especializada en bases de datos y se analizaron los referentes más adecuados a la temática y el ámbito de interés. Todo ello permitió abordar y resolver la pregunta de investigación.

Resultados y discusión

Alcance del análisis de la vulnerabilidad del sistema. El alcance estuvo definido inicialmente por las respuestas a las preguntas planteadas: i) ¿Quién o qué es vulnerable? – Respuesta: unidad de análisis (sistema de la laguna); ii) ¿Qué es la vulnerabilidad? – Respuesta: “El estado de susceptibilidad al daño por exposición a tensiones asociadas con cambios ambientales y sociales, y la falta de capacidad de adaptación” (Adger, 2006), y iii) ¿Vulnerable a qué? – Respuesta: a procesos antrópicos (ampliación de la frontera pecuaria, tránsito de personas, trabajo desarticulado de actores sociales, y conflictos por jurisdicciones, entre otros), y biofísicos; y iv) ¿Cuál es el atributo a medir? – Respuesta: la cantidad y la calidad del agua en el sistema de la laguna.

En cuanto al contexto y el alcance del estudio, se seleccionó el paradigma de los sistemas socio-ecológicos para el estudio de la vulnerabilidad, por ser multidimensional y ‘multitensorial’, por permitir el análisis de las relaciones de abajo hacia arriba (*bottom-up*) y por integrar lo social y lo biofísico.

Modelo conceptual basado en una red causal integrada por los elementos de direccionador - presión - estado - impacto - respuesta (DPEIR). A partir del esquema DPEIR se determinaron los elementos e interacciones asociadas a la vulnerabilidad del sistema de la laguna de San Rafael (Figura 2). En primer lugar, la laguna tiene cuatro direccionadores o fuerzas principales de cambio: a) las diferentes percepciones del territorio de sus actores, lo cual

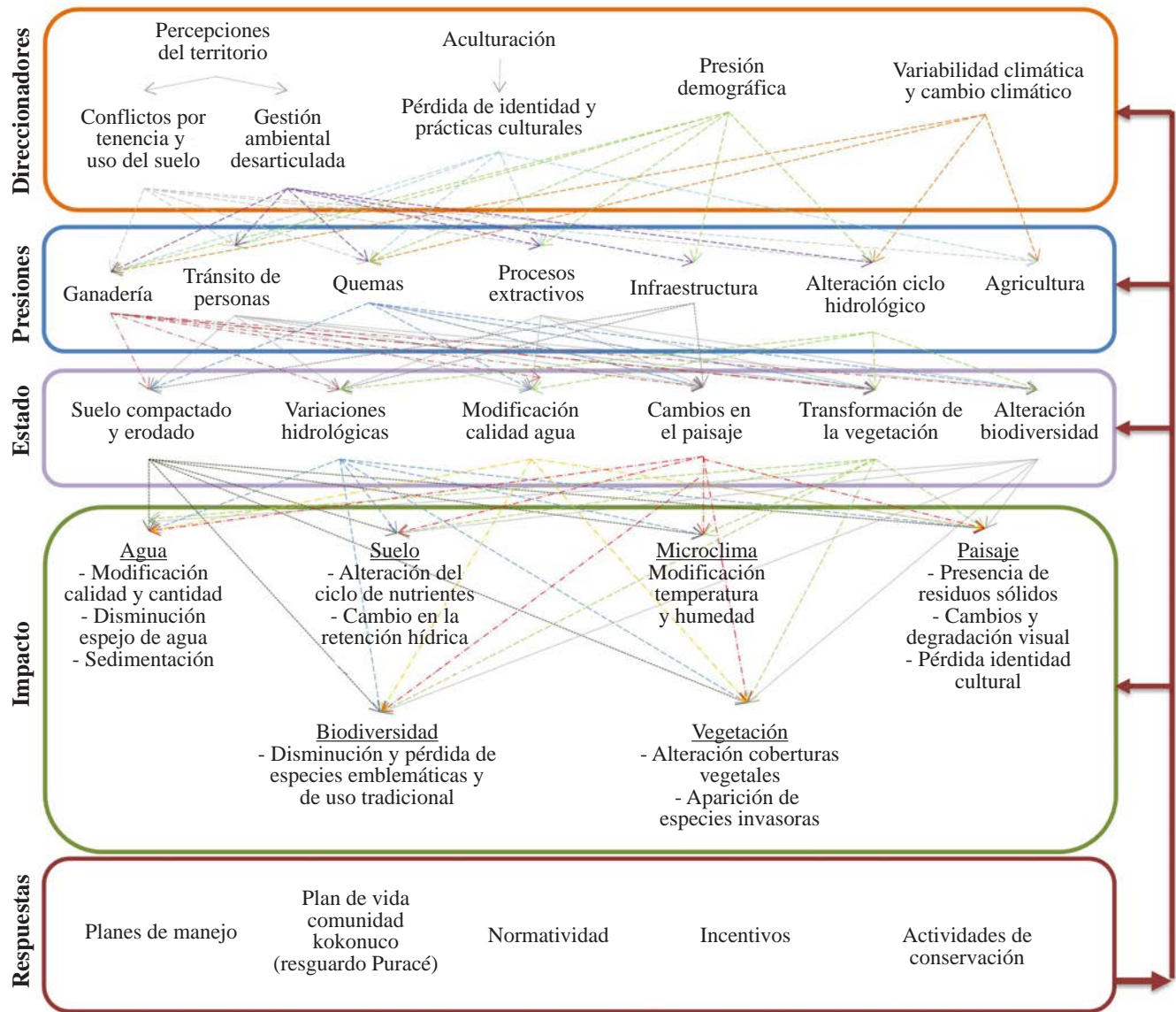


Figura 2. Modelo conceptual del sistema de la laguna de San Rafael. Fuente: elaboración propia

da lugar a conflictos ambientales asociados con la tenencia y el uso de la tierra (la ganadería sobre las zonas de transición se utiliza también como símbolo de posesión de un territorio) entre la comunidad indígena y la administración de Parques Nacionales (**Valencia, et al., 2017**); se incluye aquí una gestión ambiental del sector San Rafael mediante acciones desarticuladas o yuxtapuestas; b) un proceso de aculturación, en el cual la comunidad indígena no ha sido ajena a las dinámicas que imponen la globalización, permeando su forma de trabajar y vivir; c) la presión demográfica debida a procesos de expansión de tierras y límites de los actores sociales, el crecimiento poblacional y el correspondiente aumento en la demanda de recursos naturales, y d) una variabilidad y cambio climáticos que tienen causas naturales y antrópicas e inciden fuertemente sobre los diferentes elementos biofísicos y sociales del territorio.

Estos direccionadores generan presiones específicas de las actividades humanas tales como: a) la ganadería, con presencia de animales vacunos en la cuenca de la laguna, ya sea como una extensión del área de usufructo de una familia o como indicador de posesión ante otro actor; b) el tránsito de personas debido a la práctica del turismo, la cual constituye una de las actividades económicas importantes en la región, con un número elevado de visitantes diarios (>100 personas), y que se efectúa, por lo general, de manera desarticulada entre los actores; c) las quemas inducidas por el ser humano para el control de la vegetación y la preparación del terreno para las labores agrícolas, a pesar de que el páramo puede presentar fuego natural como parte de su dinámica; d) procesos extractivos de recursos naturales, por ejemplo madera, paja, plantas medicinales, pesca con atarraya y caza de animales silvestres, entre otros, los cuales

han dejado una importante huella en el paisaje debido a su frecuencia en años pasados, y al hecho de que aún ocurren ocasionalmente en el presente; e) la infraestructura asociada a la carretera, que en muchas zonas actúa como línea divisoria de aguas, además de fragmentar el sistema de la laguna al separarla de la cadena volcánica de los Kokonucos; en esta misma categoría se encuentra un camino de acceso a la laguna desde una antigua cabaña de Parques Nacionales; f) la alteración del ciclo hidrológico como consecuencia de la variabilidad y el cambio climáticos, asociados a las prácticas de transformación del territorio, por ejemplo, la canalización o desecación de zonas húmedas y el deterioro de la vegetación que interviene en dicho ciclo, y g) la agricultura, que se realiza en áreas cercanas y podría extenderse en un futuro hacia el sistema de la laguna.

Los diferentes tipos de presión sobre el sistema se evidencian en indicadores de estado como los siguientes: a) un suelo compactado y erosionado que se expresa en el cambio de cobertura vegetal, el deterioro físico y la pérdida de humedad; b) la reducción del espejo de agua, que pasó de tener 24,83 ha en 1965 a 20,73 en 1991 (Muñoz, *et al.*, 2009) y 17,5 en el 2013 (Imbachi, 2014); c) la alteración de la calidad del agua, reflejada en cambios en la producción primaria y la acidez (Donato, 2001; Imbachi, 2014); d) cambios en el paisaje debidos a los procesos de fragmentación de coberturas vegetales (Joaqui, *et al.*, 2009; Martínez, *et al.*, 2009); e) la alteración de la vegetación debida a la ampliación de las coberturas de arbustos, y pajonales-frailejonales, así como la reducción de las coberturas arbóreas y las lagunas (Mosquera, 2009; Muñoz, *et al.*, 2009), y f) la alteración de la biodiversidad, evidenciada en la desaparición de especies de aves, grandes mamíferos y anfibios (Plaza, 2014; Vidal, 2014).

Los direccionadores y las presiones tienen impacto en las funciones y servicios del sistema de la laguna como: a) el agua, con efectos visibles en el aumento de la sedimentación, la disminución del espejo de agua y la alteración de su cantidad y su calidad; b) el suelo, debido a su compactación y degradación por la presencia del ganado vacuno (erosión física), que afecta en parte el ciclo de nutrientes, c) el microclima, por la disminución de la humedad, la presencia de plantas más resistentes al calor (llamadas pastos por los cabildantes, pero pertenecientes a la familia Cyperaceae), y un aumento de la sensación térmica al interior del sistema de la laguna en comparación con años anteriores; d) el paisaje, por la presencia de residuos sólidos y cambios abruptos en la vegetación y en el suelo, aspectos que han llevado a pensar a los cabildantes que la laguna es más mansa, que está en proceso de degradación y que podría dejar de ser un elemento de su identidad; e) la biodiversidad, dado que cada vez es más difícil observar o encontrar rastros de la danta, el oso, el puma y los patos canadienses, entre otras especies; de igual forma, es menos frecuente encontrar plantas medicinales (árnica, apio de monte), y f) la vegetación, con un incremento a través de los años de las especies pioneras y

de sucesión vegetal en los humedales, como por ejemplo los géneros *Carex* y *Holcus* (124 %) y la turbera (62,3 %) (Muñoz, *et al.*, 2009), lo cual refleja, en parte, la intervención humana en el sector.

Las comunidades humanas han dado respuestas mediante diferentes acciones para contrarrestar los procesos antrópicos y naturales en el sistema de la laguna, entre las que se pueden citar: a) los planes de manejo del Parque Puracé, que exhiben unas líneas maestras de acción dictaminadas por los responsables de la oficina de Parque Nacionales; b) el Plan de Vida de los Kokonucos, que le otorga a San Rafael la condición de sitio de interés cultural y espiritual; c) la normatividad nacional, departamental y municipal, así como la de las comunidades del territorio, d) los incentivos del gobierno nacional a través de los programas de familias guardabosques, familias en acción y del adulto mayor, y e) las actividades de conservación conducidas por Parques Nacionales, que catalogan a San Rafael como sitio de conservación especial en el plan de manejo.

Si bien la validez del DPEIR es reconocida, también tiene desventajas como su cobertura y aplicación restringidas, la inconsistencia de los conceptos o sus categorías analíticas en los estudios, la falta de inclusión de realimentación en cada categoría, la ubicación diferencial de los direccionadores, ya sea al principio, en el medio o al final del ciclo, y su escasa utilidad en la valoración y cuantificación de métricas (Oesterwind, *et al.*, 2016; Patrício, *et al.*, 2016; Pletterbauer, *et al.*, 2017). No obstante, es importante reconocer que se ha empleado ampliamente como un modelo conceptual con énfasis en el componente analítico, como un mecanismo de apoyo en la estructura de selección de indicadores, y como una herramienta de explicación para los responsables de decisiones y para usuarios finales. Además, en los últimos años ha venido avanzando en la integración de métricas para valoraciones (Wang, *et al.*, 2015; Pletterbauer, *et al.*, 2017). Para empezar a superar las dificultades mencionadas, se propone delimitar desde el momento inicial la determinación del alcance y los conceptos a trabajar en el marco de una visión de análisis integral (sistémico), considerando los direccionadores como procesos de múltiples escalas, tanto de tipo natural como antrópico, que están al inicio del ciclo y con posibles momentos de realimentación en cada una de sus categorías. Por último, en años recientes los estudios asociados al DPEIR han comenzado a integrar métricas para optimizar su uso en la estimación de variables o indicadores particulares mediante pruebas estadísticas.

La interacción de las fuerzas, las presiones, las condiciones de estado y los impactos, así como las respuestas ante estos factores de estrés, dan cuenta de las causas, las sinergias y la complementariedad existente en el sistema, las cuales pueden, a su vez, organizarse en varias dimensiones temáticas (Figura 3). Al confrontar los elementos resultantes del DPEIR con la información primaria (observación *in situ*, historia ambiental y conversatorios) y la secundaria,

se determinaron y validaron diez factores que favorecen la vulnerabilidad. Estos surgieron al analizar los direccionadores (promotores de cambio) y las presiones sobre la laguna de San Rafael. Los diez factores de vulnerabilidad incluyen aspectos climáticos como la temperatura y la precipitación, los cuales delimitan en gran medida la dinámica climática e hidrológica del sistema de la laguna. Los aspectos socio-demográficos están relacionados con las personas que tiene predios adjudicados en usufructo y que definen la dinámica de uso del suelo en el cabildo indígena, dado que es un territorio colectivo y con delimitación de áreas para uso familiar, y índice de necesidades básicas insatisfechas de 0,51, el cual es más alto que el promedio nacional y revela que la zona todavía tiene muchas necesidades por cubrir. En el tema cultural, la cosmogonía y el simbolismo que le dan las comunidades humanas al sistema se reflejan en la presencia de especies de interés como la palma de chonta, las plantas medicinales, el oso de anteojos y la danta, así

como en los rituales relacionados con el refrescamiento de los bastones de mando y las leyendas asociados con las lagunas del páramo y sus cuidadores, que sirven como estrategia de conservación y protección de un espacio que tiende a ser salvaje, agreste para los visitantes y, por ende, un sistema menos expuesto a la entrada deliberada de personas.

Otros promotores de cambio son las presiones originadas por las fuerzas o direccionadores. En este sentido, el conflicto entre actores sociales por la yuxtaposición de autoridades e instituciones se expresa en un litigio permanente por el territorio, puesto que en 100 % del sector de San Rafael hay solapamiento de actores, y la ampliación de la frontera pecuaria por el pastoreo como actividad económica en esta zona de conservación. También se presentan casos de posesión del territorio de un actor sobre otro mediante las quemas para la preparación de terrenos y las actividades de turismo desarticuladas que generan residuos sólidos y una mayor presión sobre el suelo y la vegetación de páramo, con una

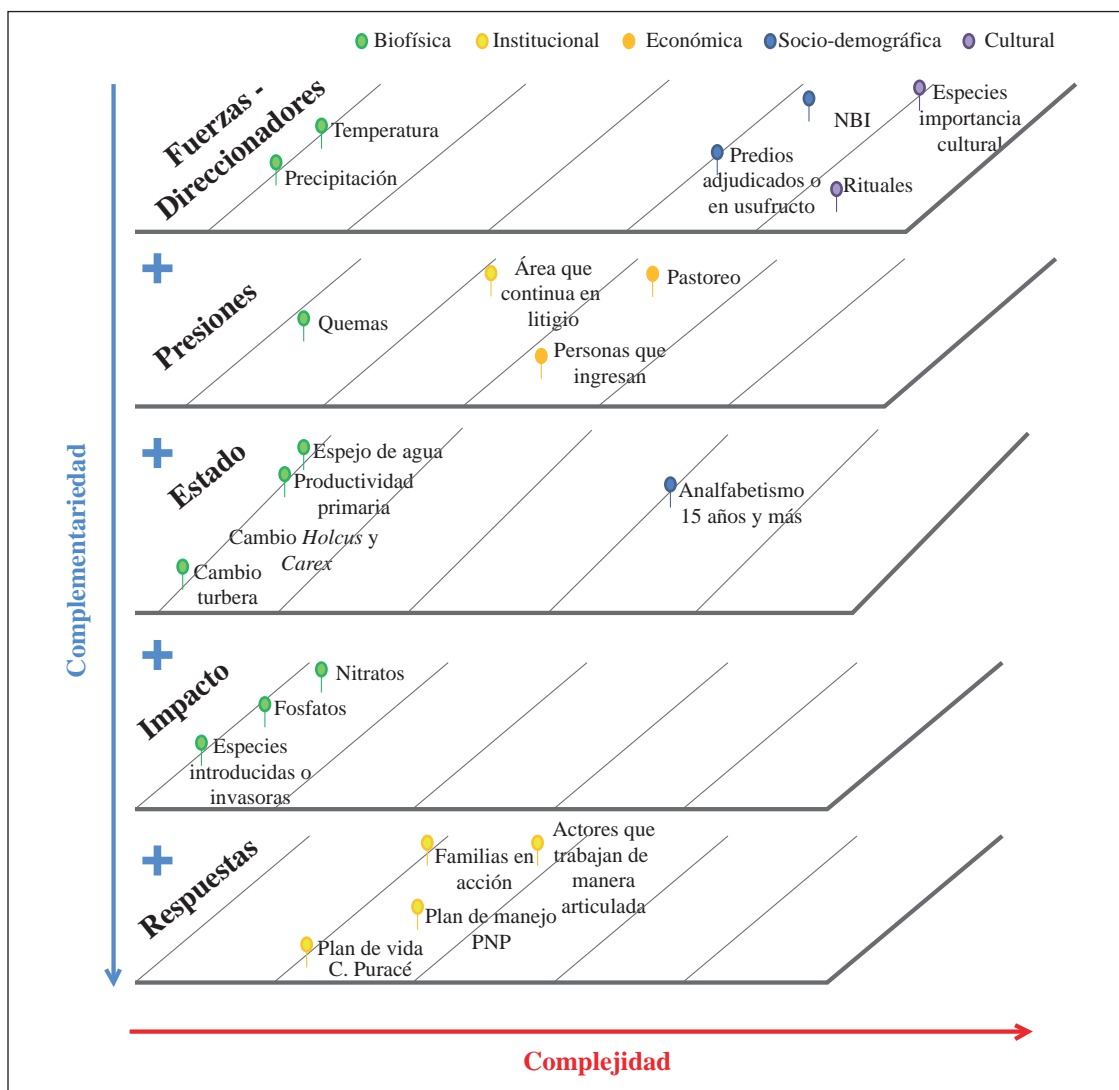


Figura 3. Diagrama conceptual que relaciona los elementos del modelo DPEIR y las dimensiones del sistema. Fuente: elaboración propia

posible superación de la capacidad de carga de la laguna. Estos diez factores establecidos podrían maximizarse si se llegara a presentar un evento climático extremo como el fenómeno de El Niño, el cual tendría un efecto drástico sobre la hidrología y las propiedades fisicoquímicas del agua y, por ende, sobre la biota que habita el sistema. No pueden ignorarse las probables alteraciones en los diferentes servicios ecosistémicos y la afectación del bienestar humano.

La laguna de San Rafael está en un área de conservación nacional, en la que actúan simultáneamente Parques Nacionales y el Cabildo Indígena de Puracé. Este ecosistema carece de afectaciones debidas a actividades agrícolas intensivas, a cambios en las geofomas o modificaciones drásticas en el uso del suelo, como tampoco a dinámicas de urbanización. Por ello los resultados del presente estudio son completamente diferentes a los de la investigación de **Franco, et al.** (2013), quienes trabajaron en un sistema de laguna sometido a un impacto considerable y con una velocidad de cambio diferente. En ese trabajo los factores de cambio se relacionaron con los regímenes hidrológicos y climáticos, la heterogeneidad del paisaje y los procesos sociales y eco-sistémicos que, a través de los sistemas productivos, cambiaron las coberturas vegetales en las cuencas hidrográficas, afectaron el drenaje y fragmentaron el humedal. Los resultados también son distintos a los hallados por **Senhadji, et al.** (2017), quienes encontraron que los factores direccionadores giraron en torno a procesos urbanos (51,7 %), vertimiento de aguas residuales (17,2 %), actividad agrícola (13,7 %) y vertimiento de residuos sólidos (10,3 %) en 29 humedales en diferentes regiones de Colombia.

Las diferencias con dichos estudios radican en que la vulnerabilidad y los factores que la influyen tienden a ser específicos en cada caso. Por lo tanto, la definición del alcance y el conocimiento de las características particulares de cada sistema, así como la manera en que se da la interacción causal, son aspectos indispensables a la hora de evaluar la vulnerabilidad. La certeza solo se tiene sobre aquellos atributos generales relacionados con procesos biofísicos y sociales registrados en la literatura (**Mitsch & Gosselink**, 2000; **Van Asselen, et al.**, 2013), y que denotan un punto de partida para la comprensión de las dinámicas entre diferentes sistemas. A partir de allí debe avanzarse en un mejor conocimiento del funcionamiento del sistema de interés, así como en el análisis detallado y de abajo hacia arriba de sus interacciones a partir de sus particularidades. Por el contrario, si la intención es abordar un sistema con condiciones generales o regiones más amplias, el análisis puede ser de arriba hacia abajo, e involucrar categorías temáticas de escalas medias sin perder de vista las diferentes dimensiones que integran un sistema desde una perspectiva holística.

A partir de los factores determinados en el marco metodológico de este estudio, así como en la adecuada comprensión de la problemática ambiental de la laguna con base en un modelo conceptual analítico de cadena causal, se dio paso a la determinación de los indicadores o métricas para

el análisis de la vulnerabilidad del sistema socio-ecológico de interés. La propuesta metodológica descrita es operativamente práctica y eficiente, tiene una gran capacidad de réplica con ajustes según el contexto, lo que ofrece un enfoque alternativo para determinar dichos factores que, en la medida en que existan datos cuantitativos, puede integrarse para desarrollar análisis más sólidos.

Conclusiones

San Rafael cuenta con un historial de cerca de 50 años de presiones tanto antrópicas como naturales, entre las que se destaca el conflicto territorial generado por sus actores, lo cual afecta de manera especial su dinámica de conservación. Además, cuenta con una condición particular de sensibilidad atribuible al hecho de que se trata de una zona de vida paramuna y tiene la fragilidad de un humedal dadas sus características ecofisiológicas. Estos atributos pueden verse alterados fácilmente por los diez factores de vulnerabilidad establecidos y que se relacionan con procesos biofísicos asociados a la temperatura y la precipitación, y con procesos sociales vinculados al usufructo de la tierra y a la práctica del pastoreo, las quemadas y el tránsito de personas, entre otros. Es importante resaltar que los factores culturales pueden direccionar de manera positiva o negativa la conservación de la laguna y de sus especies de interés mediante los rituales que se llevan a cabo en su entorno y el sentido mítico que acompaña a las lagunas en la alta montaña.

Los factores derivados de la aplicación del modelo conceptual basado en cadenas causales (DPEIR) y su validación con diferentes fuentes de información permitieron integrar las problemáticas ambientales desde su origen y su evolución en términos del estado y los impactos, y con las alternativas de gestión ambiental y territorial en desarrollo. Además de que los factores relacionan los cambios antrópicos y naturales (fuerzas motrices o *driving forces*) responsables de las presiones, constituyen un insumo para la adopción de decisiones por parte de los diferentes actores interesados en adelantar acciones preventivas y correctivas. Su determinación también permite avanzar en la construcción de indicadores para el análisis de la vulnerabilidad de los sistemas de interés.

Esta aproximación a la determinación de los factores de vulnerabilidad con base en la complejidad de un territorio ayudará a entender cómo funcionan las lagunas altoandinas, qué tan vulnerables son a las perturbaciones, y a prever en qué medida y de qué manera se debe actuar para lograr su gestión considerando sus relaciones y no sus componentes, como se ha hecho por décadas. Por último, esta investigación resalta el papel de la comprensión de la vulnerabilidad de los sistemas frente al cambio global como medio para orientar las intervenciones específicas en un territorio. En este sentido, el enfoque utilizado permite encarar el desafío de anticiparse a los cambios futuros a partir de la comprensión de los procesos y fenómenos que dinamizan los procesos sociales y los biofísicos en ecosistemas estratégicos.

Agradecimientos

Este documento forma parte de una tesis doctoral en Ciencias Ambientales, que analiza desde una perspectiva interdisciplinaria la vulnerabilidad de las lagunas de páramo frente a los procesos antrópicos en el Macizo Colombiano, financiada por Colciencias a través del Fondo Francisco José de Caldas. Se da especial reconocimiento al financiador, a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca, al Cabildo Indígena de Puracé y a Parques Nacionales Naturales de Colombia, por su apoyo en el desarrollo de esta investigación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Aporte conjunto a partir del trabajo doctoral de Mónica Patricia Valencia Rojas, con contribuciones de Apolinar Figueroa Casas.

Referencias

- Adger, W.** (2006). Vulnerability. *Global Environmental Change*, **16**: 268-281.
- Álvarez, J. P.** (2005). Evaluación del estado trófico del humedal de Jaboque: análisis espacial y temporal de las características físico-químicas del agua y de la comunidad planctónica. Informe final Convenio de cooperación Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá-Universidad Nacional de Colombia-Instituto de Ciencias Naturales. Bogotá.
- Bejarano, P.A., Bonilla, M.A.** (2009). Dinámica espacio-temporal del humedal Juan Amarillo entre 1950 - 2005. *Acta Biológica Colombiana*, **14**: 87-106.
- Berkes, F. Folke, C.** (1998). Linking social and ecological systems for resilience and sustainability: Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Buytaert, W., Céleri, R., De Bièvre, B., Cisneros, F.** (2006). Human impact on the hydrology of the Andean páramos. *Earth-Science Reviews*, **79**: 53-72.
- Donato, J. C.** (2001). Fitoplancton de los lagos andinos del norte de Sudamérica (Colombia). Bogotá (Colombia): Academia Colombiana de Ciencias Exactas y Naturales (Colección Jorge Álvarez Lleras, N.º 19). p. 232.
- Duque, A. Restrepo, C.** (1992). Tipos de vegetación del llano de Paletará. Cordillera Central Colombia. *Caldasia*, **17**: 21-34.
- Franco, L., Delgado, J., Andrade, G.** (2013). Factores de la vulnerabilidad de los humedales altoandinos de Colombia al cambio climático global. *Revista Colombiana de Geografía*, **22**: 2256-5442.
- Franco, L., Delgado, J., Andrade, G., Hernández, S., Valderrama, J.** (2011). Humedales altoandinos frente al cambio climático global evaluación de la vulnerabilidad y estrategia de adaptación en un complejo de humedales de la Cordillera Oriental Colombiana: lagunas de Fúquene, Cucunubá y Palacio (p. 430). Bogotá: Informe Final CONVENIO DHS No. 131 DE 2009 ECOPETROL – Fundación Humedales.
- Gallini, S.** (2004). Problemas de métodos en la historia ambiental de América Latina. *Anuario IHES*, **19**: 147-171.
- Garavito, L. N.** (2016). Los páramos en Colombia, un ecosistema en riesgo. *Ingeniare*, **19**: 127-136.
- Hofstede, R.** (2003). Los páramos en el mundo: su diversidad y sus habitantes. En: Hofstede, R., Mena, P., Segarra, P. (Eds.). *Los páramos del mundo*. Proyecto Atlas Mundial de los Páramos. Global Peatland Initiative/NC-IUCN/Eco Ciencia. Quito.
- Hofstede, R.G.M.** (1995). The effects of grazing and burning on soil and plant nutrient concentrations in Colombian páramo grasslands. *Plant and Soil*, **173**: 111-132.
- Imbachi, D.** (2014). Integridad ecológica de la laguna San Rafael Parque Nacional Natural Puracé, Cauca. Biólogo, Universidad del Cauca, Popayán.
- Jara, O.** (1994). Para sistematizar experiencias: una propuesta teórica y práctica (p. 73-125). San José: IUCN.
- Joaqui, S., Figueroa, A., Ramirez, B.** (2009). Análisis multi-temporal de coberturas vegetales para ecotopos paramunos. Parque Nacional Natural Puracé. In A. Figueroa & M. Valencia (Eds.), *Fragmentación y coberturas vegetales en ecosistemas andinos, departamento del Cauca*. Popayán: Universidad del Cauca.
- Kelble, C. R., Loomis, D. K., Lovelace, S., Nuttle, W. K., Ortner, P. B., Fletcher, P., Boyer, J.N.** (2013). The EBM-DPSER Conceptual Model: Integrating Ecosystem Services into the DPSIR Framework. *PLoS ONE*, **8** (8): e70766. doi: 10.1371/journal.pone.0070766
- Malone, E.L. Engle, N.L.** (2011). Evaluating regional vulnerability to climate change: purposes and methods. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, **2**: 462-474. doi: 10.1002/wcc.116
- Martínez, J., Figueroa, A., Ramírez, B.** (2009). Cambios de cobertura y fragmentación a través de un análisis espacio temporal en el Parque Nacional Natural Puracé In A. Figueroa & M. Valencia (Eds.), *Fragmentación y coberturas vegetales en ecosistemas andinos, departamento del Cauca* (p. 400). Popayán: Universidad del Cauca.
- Mitsch, W., Gosselink, J.** (2000). *Wetlands* (3 ed.). Canada.: John Wiley & Sons, Inc.
- Morales, M., Otero, J., Van der Hammen, T., Torres, A., Cadena, C., Pedraza, C., Cárdenas, L.** (2007). Atlas de páramos de Colombia. Bogotá, D. C.: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Morgan, D. L.** (1996). Focus groups. *Annual Review of Sociology*, **22**: 129-152.
- Morgan, F.** (1995). La sistematización: apuesta por la generación de conocimientos a partir de las experiencias de promoción. Escuela para el Desarrollo. Materiales Didácticos.
- Mosquera, A.** (2009). Caracterización de dos zonas de transición, mediante el análisis de las coberturas vegetales y variables microambientales en una zona de páramo, en el sector nororiental del Parque Nacional Natural Puracé. Biólogo, Universidad del Cauca, Popayán.
- Muñoz, F., Figueroa, A., Vergara, H.** (2009). Análisis espacio temporal de humedales altoandinos: laguna de San Rafael y humedal de Calvache. In A. Figueroa & M. Valencia (Eds.), *Fragmentación y coberturas vegetales en ecosistemas andinos, departamento del Cauca*. Popayán: Universidad del Cauca.
- Organization for Cooperation and Economic Development.** (1993). OECD indicators for environmental performance reviews. A synthesis report by the Group on the State of the Environment. Paris.

- Oosterwind, D., Rau, A., Zaiko, A.** (2016). Drivers and pressures – Untangling the terms commonly used in marine science and policy. *Journal of Environmental Management*. **181** (Supplement C): 8-15. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.05.058
- Patrício, J., Elliott, M., Mazik, K., Papadopoulou, K.-N., Smith, C. J.** (2016). DPSIR—Two Decades of Trying to Develop a Unifying Framework for Marine Environmental Management? *Frontiers in Marine Science*. **3**: 177.
- Pîrvu, M., Petrovici, M.** (2013). DPSIR conceptual framework role: A case study regarding the threats and conservation measures for caddisflies (Insecta: Trichoptera) in Romania. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. **411**: 11.
- Plaza, V.** (2014). Alteraciones antrópicas en el sistema lagunar San Rafael (Parque Nacional Natural Puracé) a través de tres subdivisiones de hábitat. *Bióloga, Universidad del Cauca, Popayán*.
- Plaza, V., Valencia, M., Figueroa, A.** (2017). Aplicación del índice integrado relativo de antropización (INRA), en un ecosistema de alta montaña. *Luna Azul*. **44**: 80-93.
- Pletterbauer, F., Funk, A., Hein, T., Robinson, L., Culhane, F., Delacamara, G., ...Tamis, J.** (2017). Drivers of change and pressures on aquatic ecosystems: European Union.
- Premauer, M.J.M.** (1999). Efecto de diferentes regímenes de disturbio por quema y pastoreo sobre la estructura horizontal y vertical de la vegetación de páramo (Parque Nacional Natural Chingaza). Trabajo de grado, departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Ramsar.** (2005). Estrategia regional de conservación y uso sostenible de los humedales altoandinos. Ramsar COP9 DOC. 26. Fecha de consulta: 20n de enero de 2017. Disponible en: http://www.ramsar.org/doc/cop9/cop9_doc26_s.doc
- Rapport, D. & Friend, A.** (1979). Towards a comprehensive framework for environmental statistics: A stress-response approach. *Statistics Canada Catalogue*. 11-510. Ottawa.
- Reiss, K. C.** (2006). Florida Wetland Condition Index for depression forested wetlands. *Ecological Indicators*. **6** (2): 337-352. doi: 10.1016/j.ecolind.2005.03.013
- Ruiz, D.** (2009). Determinación del impacto ambiental sobre el recurso hídrico para consumo humano generado por el establecimiento de actividades antrópicas en la parte alta de la subcuenca del río San Francisco, municipio Puracé, Departamento del Cauca. *Bióloga, Universidad del Cauca, Popayán*.
- Senhadji, K., Ruiz, M., Rodríguez, J.** (2017). Estado ecológico de algunos humedales colombianos en los últimos 15 años: una evaluación prospectiva. *Colombia Forestal*. **20** (2): 181-191.
- Song, X. & Frostell, B.** (2012). The DPSIR Framework and a Pressure-Oriented Water Quality Monitoring Approach to Ecological River Restoration. *Water*. **4** (3): 670.
- Tandioy, W.** (2008). Análisis comparativo de los patrones de cambio naturales y antrópicos en un ecosistema altoandino, en la parte alta de la cuenca río Palacé. *Biologo, Universidad del Cauca, Popayán*.
- Unidad Especial Administrativa de Parques Nacionales Naturales.** (2004). Plan de Manejo Parque Nacional Natural Puracé. Informe técnico. Unidad Especial Administrativa de Parques Nacionales Naturales, Territorial SurAndina (UASPNN). Fecha de consulta: 20 de enero de 2014. Disponible en: <http://www.parquesnacionales.gov.co/portal/wp-content/uploads/2013/12/ParquePurace.pdf>
- Valencia, M.** (2014). Vulnerabilidad de las lagunas de páramo a procesos degradativos de origen antrópico incorporando la complejidad ambiental del territorio (Departamento del Cauca, Colombia). Tesis de Doctorado. Popayán (Colombia): Doctorado Interinstitucional en Ciencias Ambientales, Universidad del Cauca. p. 303.
- Valencia, M. & Figueroa, A.** (2015). Vulnerabilidad de humedales altoandinos ante procesos de cambio: tendencias del análisis. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*. **14** (26): 29-42.
- Valencia, M., Martínez, J., Joaqui, S., Figueroa, A.** (2017). Historia de las transformaciones en ecosistemas paramunos: el caso del área de traslape del Parque Nacional Natural de Puracé. In A. Perafán Cabrera (Ed.), *Conflictos ambientales en ecosistemas estratégicos. América Latina y el Caribe. Siglos XIX-XXI* (p. 316). Santiago de Cali: Universidad del Valle.
- Van Asselen, S., Verburg, P.H., Vermaat, J.E., Janse, J.H.** (2013). Drivers of wetland conversion: A global meta-analysis. *Plos One*. **8** (11): 1-13. doi: 10.1371/journal.pone.0081292
- Vargas, J.O., Rivera, D.** (1991). El páramo, un ecosistema frágil. *Cuadernos de Agroindustria y Economía Rural*. **6**: 144-166.
- Vargas, O., Premauer, J., De los Ángeles, C.** (2002). Efecto del pastoreo sobre la estructura de la vegetación en un páramo húmedo de Colombia. *Ecotrópicos*. **15** (1): 33-50.
- Vásquez, C., Ariza, A., Pinilla, G.** (2006). Descripción del estado trófico de diez humedales del Altiplano Cundiboyacense. *Universitas Scientiarum*. **11**: 61-67.
- Verweij, P. & Budde, P.** (1992). Burning and grazing gradients in páramo vegetation: Initial ordination analyses. *Páramo: An Andean ecosystem under human influence*. Academic Press, London, p. 177-195.
- Vidal, C.** (2014). Relación de procesos de fragmentación ecosistémica con la diversidad de comunidades de aves frugívoras e insectívoras en el sector nor-oriental del Parque Nacional Natural (PNN) Puracé (p. 95). Popayán: Informe Final de Actividades como Joven Investigador de COLCIENCIAS.
- Vollmer, D., Regan, H.M., Andelman, S.J.** (2016). Assessing the sustainability of freshwater systems: A critical review of composite indicators. *Ambio*. **45** (7): 765-780. doi: 10.1007/s13280-016-0792-7
- Walker, B., Carpenter, S., Anderies, J., Abel, N., Cumming, G., Janssen, M., Pritchard, R.** (2002). Resilience management in social-ecological systems: A working hypothesis for a participatory approach. *Conservation Ecology*. **6** (1): 14.
- Wang, Z., Zhou, J., Loaiciga, H., Guo, H., Hong, S.** (2015). A DPSIR model for ecological security assessment through indicator screening: A case study at Dianchi Lake in China. *PLoS ONE*. **10** (6): e0131732.

Analysis and geometry on non-smooth domains

Tatiana Toro*

University of Washington

Artículo de posesión para el ingreso como miembro correspondiente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 23 de agosto de 2017

Abstract

This paper is a summary of the talk given with the occasion of the author's induction as Corresponding Member of the Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. We describe recent results in an area of analysis which focuses on the relationship between the geometric properties of a domain and the behavior near the boundary of the solutions to canonical PDEs in this domain. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key words: Harmonic measure; Elliptic measure; Uniform rectifiability, A_∞ -weight; Medida armónica; Dominio de Lipschitz.

Análisis y geometría en dominios irregulares

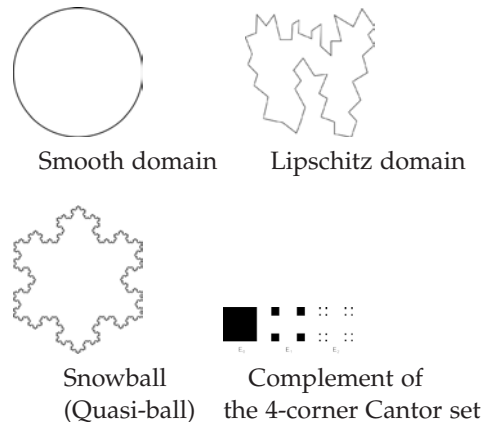
Resumen

Esta nota esta basada en la charla de posesión como Miembro Correspondiente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. En ella describo algunos de los resultados recientes en un area de análisis que esta enfocada en entender la relación entre las propiedades geométricas de un dominio y el comportamiento hacia la frontera de las soluciones de ecuaciones diferenciales parciales en este dominio. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras clave: Harmonic measure; Elliptic measure; Uniform rectifiability, A_∞ -weight; Medida armónica; Dominio de Lipschitz.

1. Introduction

Over the last few years there has been growing interest in understanding the relationship between the geometry of a domain in Euclidean space and the properties of the solutions to canonical partial differential operators defined on it. The question of whether the boundary behavior a *general harmonic function* can distinguish between a ball and a snowflake or between a Lipschitz domain and the complement of the 4-corner Cantor set illustrates the type of issues one is concerned with in this area of analysis, which lies at the interface of Partial Differential Equations, Harmonic Analysis, Geometric Measure Theory and Free Boundary Problems.



From the geometric point of view the boundaries of these four domains are very different. A smooth domain in \mathbb{R}^n is, locally, the area above the graph of a C^∞ function, tangent planes exist and are continuous at each point of the boundary, the $(n - 1)$ -dimensional Hausdorff measure, \mathcal{H}^{n-1} , of a surface ball (that is a ball centered on the

Corresponding autor:
Tatiana Toro, toro@uw.edu
Received: July 30, 2017
Accepted: November 27, 2017

*T. Toro was partially supported by NSF grants DMS-1361823 and DMS-1664867, the Robert R. & Elaine F. Phelps Professorship in Mathematics and the Craig McKibben & Sarah Merner Professorship in Mathematics.

boundary intersection the boundary) of radius r grows like r^{n-1} for r small. A Lipschitz domain in \mathbb{R}^n is, locally, the area above the graph of a Lipschitz function, tangent planes exist \mathcal{H}^{n-1} almost everywhere on the boundary, the $(n - 1)$ -dimensional Hausdorff measure of a surface ball of radius r grows like r^{n-1} for r small. A snowball (resp. a typical quasi-ball, that is the image of the unit ball by a quasi-conformal map on the whole space) is not locally the area above any function, tangent lines (resp. tangent planes) do not exist and the \mathcal{H}^1 (resp. \mathcal{H}^{n-1}) measure of surface balls is infinite. Furthermore for a typical quasi-ball in \mathbb{R}^n the Hausdorff dimension of the boundary is strictly greater than $n - 1$. The complement of the 4-corner Cantor set (produced by iterating the picture above) has a totally disconnected boundary of Hausdorff dimension 1, the \mathcal{H}^1 measure of a surface ball centered on the boundary and of radius r grows like r for $r < 1$. On the other hand since the 4-corner Cantor set is purely unrectifiable tangent lines do not exist on any subset of positive \mathcal{H}^1 measure.

Nevertheless from the analytic point of view, under the correct magnifying glass, these domains are very similar. In fact these four type of domains are uniform or 1-sided NTA (non-tangentially accessible, see Definition 2.4) and satisfy the CDC (Capacity Density Condition)(see (Ma), (A1), (A2), (HM1), (HMT2)). The CDC is a rather technical condition, which will not be defined here. The reader should interpret it as a uniform measure of the thickness of the complement of the domain which makes the domain Wiener regular (see (W) and Definition 1.1) and yields additional estimates on the continuity of the classical solution to the Dirichlet problem if the boundary data f is Lipschitz.

Definition 1.1. A bounded domain $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ is said to be **Wiener regular** for L if for any $f \in C(\partial\Omega)$ there exists $u \in W^{1,2}(\Omega) \cap C(\bar{\Omega})$ satisfying

$$\begin{cases} Lu = 0 & \text{in } \Omega \\ u = f & \text{on } \partial\Omega \end{cases} \quad (1.1)$$

where $Lu = -\text{div}(A(X)\nabla u)$ and $A(X) = (a_{ij}(X))$ is an **uniformly elliptic** matrix with bounded measurable coefficients, i.e. there exist $0 < \lambda \leq \Lambda < \infty$ such that for $X \in \Omega$ and $\xi \in \mathbb{R}^n$

$$\lambda|\xi|^2 \leq \langle A(X)\xi, \xi \rangle = \sum_{i,j=1}^n a_{ij}(X)\xi_i\xi_j \leq \Lambda|\xi|^2. \quad (1.2)$$

Remarks 1.1. (1) If $A = Id$, then $L = \Delta$ is the Laplacian. In general L is a variable coefficient version of the Laplacian. A domain Ω is Wiener regular for L if and only if it is Wiener regular for the Laplacian ((LWS)).

(2) $Lu = 0$ means that u and its weak derivatives are in $L^2(\Omega)$ and that for any $\zeta \in C_c^1(\Omega)$

$$\int \langle A(X)\nabla u, \nabla \zeta \rangle = 0. \quad (1.3)$$

(3) The maximum principle holds for the solutions to (1.1),

$$\sup_{\Omega} |u| \leq \max_{\partial\Omega} |f|. \quad (1.4)$$

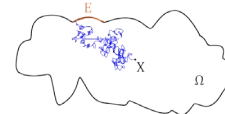
(4) The interior regularity is a classical result due to DeGiorgi, Nash and Moser: u is Hölder continuous in Ω (see (DeG), (N), (Mo)). Furthermore additional regularity of A implies higher interior regularity of the solution (see (GT)).

(5) If Ω is regular then for $X \in \Omega$ and $f \in C(\partial\Omega)$ if $u \in C(\bar{\Omega})$ is the solution to (1.1), by the Maximum Principle $|u(X)| \leq \max_{\partial\Omega} |f|$. Thus for each $X \in \Omega$, the operator $T_X : C(\partial\Omega) \rightarrow \mathbb{R}$ defined by $T_X(f) = u(X)$ is a bounded linear operator, with $\|T_X\| \leq 1$. Moreover $T_X(1) = 1$. Hence by the Riesz Representation Theorem there is a probability measure ω_L^X s.t.

$$u(X) = \int_{\partial\Omega} f(q)d\omega_L^X(q). \quad (1.5)$$

ω_L^X is the L -elliptic measure of Ω with pole X .

(6) If L is the Laplacian $\omega_L = \omega$ is the harmonic measure. For a domain $\Omega \subset \mathbb{R}^n$, $\omega^X(E)$ denotes the probability that a Brownian motion starting at X will first hit the boundary at a point of $E \subset \partial\Omega$ (see figure below). As a function of X , $\omega^X(E)$ is a harmonic function.



(7) If Ω is (Wiener) regular and connected the Harnack principle implies that for $X, Y \in \Omega$, ω_L^X and ω_L^Y are mutually absolutely continuous. In fact given a compact set $K \subset \Omega$ and $E \subset \partial\Omega$, $\omega^X(E)/\omega^Y(E)$ is bounded above and below by a constant depending only on n and K . This makes the type of properties we focus on are independent of the pole X so we denote ω^X simply by ω .

One of the sample questions in this area is whether the harmonic measure distinguishes between: smooth domains, Lipschitz domains, quasi-balls or the complement of the 4-corner Cantor set? This is part of a central theme which addresses the problem of characterizing the operators L satisfying (1.2) in a uniform domain $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ with Ahlfors regular boundary (see Definitions 2.4 and 2.5) for

which the behavior of the elliptic measure determines the structure of the $\partial\Omega$.

2. The Laplacian on non-smooth domains

In this section we consider different classes of Wiener regular non-smooth domains: Lipschitz domains, uniform domains with Ahlfors regular boundaries (these are a special type of uniform domains satisfying the CDC, see Definition 2.1 or (A1), (A2) and (Z)), non-tangentially accessible (NTA) domains (see Definition 2.4) and chord-arc domains (see Definition 2.6).

Definition 2.1. A domain $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ with $n \geq 3$ is said to satisfy the **capacity density condition (CDC)** if there exist constants $c_0, R > 0$ such that for any $q \in \partial\Omega$ and any $r \in (0, R)$, we have

$$\text{Cap}_2(\overline{B(q,r)} \cap \Omega^c) \geq c_0 r^{n-2}. \quad (2.1)$$

For any compact set K , $\text{Cap}_2(K)$ is defined as follows:

$$\text{Cap}_2(K) = \inf \left\{ \int |\nabla \varphi|^2 dx : \varphi \in C_c^\infty(\mathbb{R}^n), K \subset \{\varphi \geq 1\}^\circ \right\}$$

Definition 2.2. (JK) A domain $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ satisfies the **Corkscrew condition** if for some uniform constant $c > 0$ and for every surface ball $\Delta := \Delta(q,r) = \partial\Omega \cap B(q,r)$, with $q \in \partial\Omega$ and $0 < r < \text{diam} \partial\Omega$, there is a ball $B(X_\Delta, cr) \subset B(q,r) \cap \Omega$. The point $X_\Delta \subset \Omega$ is called a *corkscrew point relative to Δ* .

Definition 2.3. (JK) A domain Ω satisfies the **Harnack Chain condition** if there is a uniform constant C such that for every $\rho > 0$, $\Lambda \geq 1$, and every pair of points $X, X' \in \Omega$ with $\delta(X), \delta(X') \geq \rho$ and $|X - X'| < \Lambda\rho$, there is a chain of open balls $B_1, \dots, B_N \subset \Omega$, $N \leq C(\Lambda)$, with $X \in B_1, X' \in B_N, B_k \cap B_{k+1} \neq \emptyset$ and $C^{-1} \text{diam} B_k \leq \text{dist}(B_k, \partial\Omega) \leq C \text{diam} B_k$. The chain of balls is called a *Harnack Chain*.

Definition 2.4. A domain Ω is a **1-sided NTA or uniform domain** if it satisfies both the Corkscrew and Harnack Chain conditions. Furthermore, we say that Ω is an **NTA domain** if it is 1-sided NTA and if, in addition, $\Omega_{\text{ext}} := \mathbb{R}^n \setminus \overline{\Omega}$ also satisfies the Corkscrew condition.

Definition 2.5. Given a domain $\Omega \subset \mathbb{R}^n$, we say that $\partial\Omega$ is **Ahlfors regular** if there is some uniform constant C such that

$$C^{-1} r^{n-1} \leq \mathcal{H}^{n-1}(\partial\Omega \cap B(q,r)) \leq C r^{n-1}, \quad (2.2)$$

for all $q \in \partial\Omega$ and $0 < r < \text{diam} \partial\Omega$.

Definition 2.6 (1-sided CAD and CAD). A **1-sided chord-arc domain** (1-sided CAD) is a 1-sided NTA domain with Ahlfors regular boundary. A **chord-arc domain** (CAD) is an NTA domain with Ahlfors regular boundary.

- Remarks 2.1.** (1) Smooth domains, Lipschitz domains and quasi-balls are NTA domains.
(2) CAD have uniformly rectifiable boundaries (see (DS1), (DS2) for definitions and relevant results).
(3) Bounded Lipschitz domains are CAD.

We discuss the extent to which the harmonic measure distinguishes between these types of domains. Here is a sample of the questions we ask.

- (1) What properties of ω depend on the geometry of Ω and more precisely on the fact that Ω is a uniform domain with Ahlfors regular boundary?
- (2) In this case what is the relationship between σ and ω ?
- (3) Does the behavior of ω with respect to σ determine the geometry of the boundary?

To illustrate the type of results we have in mind we cite below a couple of authors who laid the foundation of what has become a booming field.

In 1970 Hunt and Wheeden (HW) proved that on a bounded connected Lipschitz domain the harmonic measure ω is doubling, i.e. there exists a constant $C > 0$ such that for all $q \in \partial\Omega$ and $0 < r < \text{diam} \Omega$

$$\omega(B(q,2r)) \leq C\omega(B(q,r)). \quad (2.3)$$

In 1977 Dahlberg (D1) showed that on a bounded Lipschitz domain $\omega \ll \sigma$ and $\omega \in B_2(\sigma)$, i.e. the Radon-Nikodym derivative of ω with respect to σ , $k = \frac{d\omega}{d\sigma}$ satisfies a reverse Hölder inequality with exponent 2. More precisely for $q \in \partial\Omega$ and $r \in (0, \text{diam} \Omega)$

$$\left(\frac{1}{\sigma(B(q,r))} \int_{B(q,r)} k^2 d\sigma \right)^{1/2} \leq C \frac{1}{\sigma(B(q,r))} \int_{B(q,r)} k d\sigma, \quad (2.4)$$

where $k = \frac{d\omega}{d\sigma}$ is the Poisson kernel. In particular $\omega \in A_\infty(\sigma) = \bigcup_{p>1} B_p(\sigma)$, which means that ω and σ are quantitatively mutually absolutely continuous.

Motivated by the work in (HW) in 1982 Jerison and Kenig (JK) introduced the notion of NTA domains and proved that on an bounded NTA domain: 1) the elliptic measure ω_L of L as in (1.2) is doubling; 2) the non-tangential limit of the solution of (1.1) at the boundary exists and coincides with f ω_L -a.e (i.e $u = f$ on $\partial\Omega$), if f is Lipschitz, u is Hölder continuous in $\overline{\Omega}$; 3) the uniform boundary Harnack principle holds, i.e. *the ratio of 2 non-negative solutions which vanish on an open piece of the boundary is bounded* and 4) CFMS (CFMS) holds: i.e. *the density ratio of elliptic measure is comparable to the "normal derivative" of the Green function toward the boundary*. These four properties were known to hold on Lipschitz domains but the fact that

they held independently of the differential structure of the boundary raised many questions (KT1). In 2004 Aikawa (A1) provided a characterization of uniform domains with CDC in terms of the boundary behavior of harmonic functions and harmonic measure. Aikawa’s results fit in the free boundary regularity theory as they describe the geometry of the domain in terms of the canonical harmonic functions associated to it. To some extent this is the converse problem than the one studied in (JK). In (HMT1) the authors show that the results (JK) can be extended to uniform domains satisfying the CDC. Thus in particular to uniform domains with Ahlfors regular boundaries (see (Z)).

Dahlberg’s work raised a fundamental question: on a Lipschitz domain, for what type of operators $L = -\operatorname{div}(A\nabla)$ where A satisfies (1.2) is $\omega_L \in A_\infty(\sigma)$? Examples appeared in (MMS) and (MM) exhibit Lipschitz domains and operators L for which ω_L and σ are mutually singular. In (CFK) the authors provide a characterization of operators with continuous coefficients on the unit ball for which ω_L and σ are mutually absolutely continuous. Dahlberg’s work and these examples generated a wealth of activity which would be described briefly in Section 3.

The first results generalizing Dahlberg’s result concerning harmonic measure to non Lipschitz domains appeared in (DJ) and (S) where the authors proved that if Ω is a CAD then the harmonic measure $\omega \in A_\infty(\sigma)$. As the field has evolved, the focus has turned to the question of what does the fact that $\omega \in A_\infty(\sigma)$ imply about the geometry of Ω ? Very recently several authors have started also looking at the question of what geometric information about Ω is encoded in the fact that $\omega_L \in A_\infty(\sigma)$ and whether this depends on the operator L . See Section 3.

We finish this section by highlighting a couple of recent results in this area concerning the relationship between the properties of the harmonic measure and the geometry of the boundary. The first one provides a necessary and sufficient condition for quantitative absolute continuity (in the form of the A_∞ property) of harmonic measure with respect to surface measure. The second provides a sufficient condition (in terms of the behavior of harmonic measure with respect to surface measure) to guarantee rectifiability, which should be understood as a statement about the regularity of the boundary. In fact, $E \subset \mathbb{R}^n$, is rectifiable (more precisely $(n - 1)$ -rectifiable) if it can be included in a countable union of Lipschitz images of \mathbb{R}^{n-1} union a set of \mathcal{H}^{n-1} measure 0 (see (EG)). Uniform rectifiability is a quantitative version of rectifiability (see (DS1), (DS2)).

Theorem 2.1. *Suppose that $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ is a uniform domain, with Ahlfors regular boundary. Then the following are equivalent:*

- (1) $\partial\Omega$ is uniformly rectifiable.
- (2) Ω is an NTA domain, and hence, a chord-arc domain (CAD).
- (3) $\omega \in A_\infty(\sigma)$.

As mentioned above, the implication (2) \implies (3) was proved independently in (DJ) and in (S), while (3) \implies (1) appears in (HMU), and (1) \implies (2) was proved in (AHMNT).

Theorem 2.2. (AHMMMTV2) *Given an open connected set $\Omega \subset \mathbb{R}^n$, and $E \subset \partial\Omega$ with $\mathcal{H}^{n-1}(E) < \infty$ absolute continuity of the harmonic measure ω with respect to the Hausdorff measure restricted to E (i.e. $\omega \ll \mathcal{H}^{n-1} \llcorner E$) implies that $\omega \llcorner E$ is rectifiable.*

For further information of the type of research carried forward in this area see also (AHMMMTV1), (ABHM), (HL), (HLMN), (HM1), (HM2), (HMM), (HMNTV), (KT1), (KT2), (KT3).

3. Second order divergence form elliptic operators on non-smooth domains

In this section we describe some of the contributions to the problem of characterizing the operators L for which $\omega_L \in A_\infty(\sigma)$. There are several distinct approaches to this question.

The first approach begins with the work of Dahlberg, (D2), and involves the perturbation theory for elliptic operators on Lipschitz domains. The initial observation is that if two uniformly elliptic second order divergence form operators $L_0 = -\operatorname{div}(A_0\nabla)$ and $L_1 = -\operatorname{div}(A_1\nabla)$ coincide in a neighborhood of the boundary of a Lipschitz domain Ω (i.e. $A_0 = A_1$ near $\partial\Omega$) then $\omega_0 \in A_\infty(\sigma)$ if and only if $\omega_1 \in A_\infty(\sigma)$. Here ω_i is the elliptic measure of L_i in Ω . In (D2) the author showed that on a Lipschitz domain Ω if the deviation function, defined by,

$$a(X) = \sup\{|A_1(Y) - A_0(Y)| : Y \in B(X, \delta(X)/2)\} \tag{3.1}$$

where $\delta(X)$ is the distance of X to $\partial\Omega$, satisfies

$$\lim_{s \rightarrow 0} \sup_{0 < r < s} \sup_{q \in \partial\Omega} \left\{ \frac{1}{\sigma(B(q, r))} \int_{B(q, r) \cap \Omega} \frac{a^2(X)}{\delta(X)} dX \right\}^{1/2} = 0 \tag{3.2}$$

then $\omega_0 \in A_\infty(\sigma)$ if and only if $\omega_1 \in A_\infty(\sigma)$. Dahlberg’s proof is very ingenious and has been used successfully

to refine his results (see (E) and (MPT2)). Nevertheless the fact the hypothesis included a smallness assumption (that is that the limit as $s \rightarrow 0$ of the above quantity be 0) puzzled the experts for some time. In 1991 R. Fefferman, Kenig and Pipher showed, using techniques from harmonic analysis, that the smallness condition is not necessary. The following definition allows us to state this important result.

Definition 3.1. Let Ω be a uniform domain with Ahlfors regular boundary. Let $L_0 = -\operatorname{div}(A_0 \nabla)$ and $L_1 = -\operatorname{div}(A_1 \nabla)$ be such that A_0 and A_1 satisfy (1.2), L_1 is a perturbation of L_0 if

$$\sup_{0 < r < \operatorname{diam} \Omega} \sup_{q \in \partial \Omega} \left\{ \frac{1}{\sigma(B(q, r))} \int_{B(q, r) \cap \Omega} \frac{a^2(X)}{\delta(X)} dX \right\}^{1/2} < \infty. \quad (3.3)$$

Theorem 3.1. (FKP) Let Ω be a Lipschitz domain. Let L_1 be a perturbation of L_0 then $\omega_1 \in A_\infty(d\sigma)$ if and only if $\omega_0 \in A_\infty(d\sigma)$.

Currently similar results are available for CAD (MPT1). On going work indicates that they also hold on uniform domains with Ahlfors regular boundaries. See (CHM) and (AHMT).

Other approaches to the question of whether the elliptic measure ω_L on a Lipschitz domain or a CAD is an A_∞ -weight with respect to σ , focus on either the behavior of solutions with specific boundary data ((DKP), (Z), (KKiPT)), the structure of A (see for example (KKoPT), (HKMP), (KKiPT)) or the oscillation A . In terms of the oscillation the key point is to control the behavior of A near the boundary. We present below a result that illustrates this well.

Theorem 3.2. (KP) Let $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ be a connected Lipschitz domain. Let $A(X) = (a_{i,j}(X))_{1 \leq i, j \leq n}$ be a real matrix such that $a_{i,j} \in L^\infty(\Omega)$ for $1 \leq i, j \leq n$, and A is uniformly elliptic (see (1.2)) Suppose further that A satisfies the following conditions:

(a) $\|\nabla A\|_{L^\infty(\Omega)} < \infty$, where $\delta(X) = \operatorname{dist}(X, \partial \Omega)$.

(b) ∇A satisfies the Carleson measure estimate:

$$\sup_{0 < r < \operatorname{diam} \partial \Omega} \sup_{x \in \partial \Omega} \frac{1}{\sigma(B(x, r))} \iint_{B(x, r) \cap \Omega} |\nabla A(X)|^2 \delta(X) dX < \infty. \quad (3.4)$$

Then $\omega_L \in A_\infty(\sigma)$.

Using the work in (DJ) a simple argument shows that Theorem 3.2 also holds on CADs. A central question in the field, which is under active investigation, is whether for

operators satisfying the hypothesis of Theorem 3.2, a characterization like the one provided in Theorem 2.1 holds. The proof of Theorem 2.2 depends very deeply on the fact that the operator is the Laplacian, efforts are underway to prove similar results for more general operators using tools from Geometric Measure Theory rather than Harmonic Analysis. See (HMT2), (AGMT), (TZ).

References

- [A1] H. Aikawa, *Characterization of a uniform domain by the boundary Harnack principle*, Harmonic analysis and its applications, Yokohama Publ., Yokohama, (2006), 1-17.
- [A2] H. Aikawa *Equivalence between the boundary Harnack principle and the Carleson estimate* Math. Scand. 103 (2008), no. 1, 61-76.
- [ABHM] M. Akman, M. Badger, S. Hofmann and J. M. Martell, *Rectifiability and elliptic measures on 1-sided NTA domains with Ahlfors-David regular boundaries*, to appear, Trans. Amer. Math. Soc.
- [AGMT] J. Azzam, J. Garnett, M. Mourougolou, and X. Tolsa, *Uniform rectifiability, elliptic measure, square functions and ϵ -approximability*, preprint 2016, arXiv:1612.02650.
- [AHMMMTV1] J. Azzam, S. Hofmann, J. M. Martell, S. Mayboroda, M. Mourougolou, X. Tolsa and A. Volberg, *Harmonic measure is rectifiable if it is absolutely continuous with respect to the co-dimension one Hausdorff measure*, C. R. Math. Acad. Sci. Paris 354 (2016), no. 4, 351-355.
- [AHMMMTV2] J. Azzam, S. Hofmann, J. M. Martell, S. Mayboroda, M. Mourougolou, X. Tolsa and A. Volberg *Rectifiability of harmonic measure*, to appear in GAFA.
- [AHMNT] J. Azzam, S. Hofmann, J. M. Martell, K. Nyström and T. Toro, *A new characterization of chord-arc domains*, to appear, J. European Math. Soc.
- [AHMT] M. Akman, S. Hofmann, J. M. Martell and T. Toro, in preparation.
- [CFMS] L. Caffarelli, E. Fabes, S. Mortola and S. Salsa, *Boundary behavior of nonnegative solutions of elliptic operators in divergence form.*, Indiana Univ. Math. J. **30** (1981), no. 4, 621-640.
- [CFK] L. Caffarelli, E. Fabes and C. Kenig, *Completely singular harmonic-elliptic measures*, Indiana U. Math. J. **30**(1981), 917-924.
- [CHM] J. Cavera, S. Hofmann and J.M. Martell, *Perturbations of elliptic operators in 1-sided chord-arc domains*, in preparation.
- [Dah] B. Dahlberg, *On estimates for harmonic measure*, Arch. Rat. Mech. Analysis **65** (1977), 272-288.

- [D1] B. Dahlberg, *On estimates for harmonic measure*, Arch. Rat. Mech. Analysis **65** (1977), 272–288.
- [D2] B. Dahlberg, *On the absolute continuity of elliptic measure*. American Journal of Mathematics **108** (1986), 1119–1138.
- [DJ] G. David and D. Jerison, *Lipschitz approximation to hypersurfaces, harmonic measure, and singular integrals*, Indiana Univ. Math. J. **39** (1990), no. 3, 831–845.
- [DS1] G. David and S. Semmes, *Singular integrals and rectifiable sets in \mathbb{R}^n : Au-dela des graphes lipschitziens*, Asterisque **193** (1991).
- [DS2] G. David and S. Semmes, *Analysis of and on Uniformly Rectifiable Sets*, Mathematical Monographs and Surveys **38**, AMS 1993.
- [DeG] E. De Giorgi, *Sulla differenziabilità analiticità delle estremali degli integrali multipli regolari*, Mem. Acad. Sci. Torino **3** (1957), 25–43.
- [DKP] M. Dindos, C. Kenig and J. Pipher, *BMO solvability and the A_∞ condition for elliptic operators*, J. Geom. Anal. **21** (2011), 78–95.
- [E] L. Escauriaza *The L^p Dirichlet problem for small perturbations of the Laplacian*, Israel J. Math. **94** (1996), 353–366.
- [EG] L. Evans and R. Gariepy, *Measure theory and fine properties of functions*. Revised edition. Textbooks in Mathematics. CRC Press, Boca Raton, FL, (2015).
- [FKP] R. Fefferman, C. Kenig, J. Pipher, *The theory of weights and the Dirichlet problem for elliptic equations*. Ann. of Math. (2) **134** (1991), no. 1, 65–124.
- [GMT] J. Garnett, M. Mourgoglou, and X. Tolsa, *Uniform rectifiability in terms of Carleson measure estimates and ϵ -approximability of bounded harmonic functions*, preprint 2016, arXiv:1611.00264.
- [GT] D. Gilbarg and N. Trudinger, *Elliptic partial differential equations of second order*. Reprint of the 1998 edition. Classics in Mathematics. Springer-Verlag, Berlin, 2001
- [HKMP] S. Hofmann, C. Kenig, S. Mayboroda and J. Pipher, *Square function/Non-tangential maximal function estimates and the Dirichlet problem for non-symmetric elliptic operators* to appear in Journal of the AMS.
- [HL] S. Hofmann and P. Le, *BMO solvability and absolute continuity of harmonic measure*, arXiv:1607.00418
- [HM1] S. Hofmann and J.M. Martell, *Uniform rectifiability and harmonic measure I: Uniform rectifiability implies Poisson kernels in L^p* , Ann. Sci. École Norm. Sup. **47** (2014), no. 3, 577–654.
- [HM2] S. Hofmann and J.M. Martell, *Uniform Rectifiability and harmonic measure IV: Ahlfors regularity plus Poisson kernels in L^p implies uniform rectifiability*, preprint, arXiv:1505.06499.
- [HMM] S. Hofmann, J.M. Martell, and S. Mayboroda, *Uniform rectifiability, Carleson measure estimates, and approximation of harmonic functions*, Duke Math. J. **165** (2016), no. 12, 2331–2389.
- [HMMTV] S. Hofmann, J. M. Martell, S. Mayboroda, X. Tolsa and A. Volberg *Absolute continuity between the surface measure and harmonic measure implies rectifiability*, ArXiv: 1507.04409
- [HLMN] S. Hofmann, P. Le, J.M. Martell and K. Nyström, *The weak- A_∞ property of harmonic and p -harmonic measures*, to appear in Anal. & PDE.
- [HMT1] S. Hofmann, J.M. Martell and T. Toro, *General divergence form elliptic operators on non-smooth domains*, in progress.
- [HMT2] S. Hofmann, J.M. Martell and T. Toro, *A_∞ implies NTA for a class of variable coefficient elliptic operators*, to appear in J. of Diff. Eq., arXiv:1611.09561.
- [HMU] S. Hofmann, J.M. Martell and I. Uriarte-Tuero, *Uniform Rectifiability and Harmonic Measure II: Poisson kernels in L^p imply uniform rectifiability*, Duke Math. J. **163** (2014), no. 8, 1601–1654.
- [HW] R. Hunt and R. Wheeden, *Positive harmonic functions on Lipschitz domains* Trans. Amer. Math. Soc. **147** (1970), 507–527.
- [JK] D. Jerison and C. Kenig, *Boundary behavior of harmonic functions in nontangentially accessible domains*, Adv. in Math. **46** (1982), no. 1, 80–147.
- [K] C.E. Kenig, *Harmonic analysis techniques for second order elliptic boundary value problems*, CBMS Regional Conference Series in Mathematics, **83**. Published for the Conference Board of the Mathematical Sciences, Washington, DC; by the American Mathematical Society, Providence, RI, 1994.
- [KKoPT] C. Kenig, H. Koch, J. Pipher and T. Toro, *A new approach to absolute continuity of elliptic measure, with applications to non-symmetric equations*, Adv. Math. **153** (2000), no. 2, 231–298.
- [KKiPT] C. Kenig, B. Kirchheim, J. Pipher and T. Toro, *Square functions and the A_∞ property of elliptic measures*, J. Geom. Anal. **26** (2016), no. 3, 2383–2410.
- [KP] C.E. Kenig and J. Pipher, *The Dirichlet problem for elliptic equations with drift terms*, Publ. Mat. **45**, (2001), 199–217.
- [KT1] C. Kenig and T. Toro, *Harmonic measure on locally flat domains* Duke Math. J. **87** (1997), no. 3, 509–551.
- [KT2] C. Kenig and T. Toro, *Free boundary regularity for harmonic measures and Poisson kernels*, Ann. of Math. (2) **150** (1999), no. 2, 369–454.
- [KT3] C. Kenig and T. Toro, *Poisson kernel characterization of Reifenberg flat chord arc domains*, Ann. Sci. École Norm. Sup. (4) **36** (2003), 323–401.
- [LWS] W. Littman, G. Stampacchia and H.F. Weinberger, *Regular points for elliptic equations with discontinuous*

- coefficients* Ann. Scuola Norm. Sup. Pisa (3) **17** (1963) 43-77
- [Ma] O. Martio, *Capacity and measure densities*, Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A I Math. **4** (1979), 109-118.
- [MPT1] E. Milakis, J. Pipher and T. Toro, *Harmonic Analysis on Chord Arc Domains*, J. Geom. Anal. **23** (2013), 2091-2157.
- [MPT2] E. Milakis, J. Pipher and T. Toro, *Perturbation of elliptic operators in chord arc domains*, Contemporary Mathematics (AMS) **612** (2014), 143 -161.
- [MT] E. Milakis and T. Toro, *Divergence form operators in Reifenberg flat domains*, Mathematische Zeitschrift **264** (2010), 15-41.
- [MM] L. Modica and S. Mortola, *Construction of a singular elliptic-harmonic measure*, Manuscripta Math. **33** (1980), 81-98.
- [MMS] L. Modica, S. Mortola and S. Salsa, *A nonvariational second order elliptic operator with singular elliptic measure* Proc. of Amer. Math. Soc. **84** (1982), 225-230.
- [Mo] J. Moser, *On Harnack's theorem for elliptic differential equations*, Comm. Pure Appl. Math. **14** (1961) 577-591.
- [N] J. Nash, *Continuity of solutions of parabolic and elliptic equations*, Amer. J. of Math **80** (1958), 931-954.
- [S] S. Semmes, *A criterion for the boundedness of singular integrals on hypersurfaces*, Trans. Amer. Math. Soc. **311** (1989), 501-513.
- [W] N. Wiener, *The Dirichlet problem*, J. Math. Phys. **3** (1924), 127-146.
- [Z] Z. Zhao, *BMO solvability and the A_∞ condition of the elliptic measure in uniform domains*, preprint, arXiv:1602.00717.
- [TZ] T. Toro & Z. Zhao, *A_∞ implies rectifiability for elliptic operators with VMO coefficients*, in preparation.

Introducción de la topología de vecindades en los trabajos de Fréchet y Hausdorff

Luis Carlos Arboleda

Universidad del Valle, Cali

Artículo de posesión para el ingreso como miembro de número de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 26 de abril de 2017

Resumen

En la primera parte, retomamos testimonios de Fréchet sobre la naturaleza de sus primeros trabajos (1904-1906) en los campos emergentes del Análisis funcional y Análisis general, en relación con su idea de introducir una estructura topológica en un espacio abstracto. En la segunda parte, destacamos la influencia que tuvo en esta idea, el punto de vista algebraico de la época de extender las nociones cantorianas a un espacio abstracto con una estructura de grupo finito. Fréchet supo aprovechar técnicas como el “modo de composición” entre los elementos del espacio, para axiomatizar operaciones y estructuras de la “clase L ” con convergencia secuencial, la “clase V ” con sistema de vecindades, la “clase E ” con “écart” (métrica). Luego se aprovechan nuevos datos históricos para reafirmar la proximidad de las concepciones filosóficas subyacentes a estas investigaciones, con las ideas de Leibniz, específicamente en cuanto al método de “análisis de los principios”. En la tercera parte se estudia la contribución de Hausdorff de 1912 y 1914 al establecimiento de la axiomática de las vecindades para la topología de un espacio abstracto. Teniendo en cuenta las observaciones de Weyl y Bourbaki de que Hausdorff se inspiró para ello en Hilbert, se examina el sistema de axiomas para las vecindades del plano introducido por Hilbert en dos trabajos de 1902 consagrados al problema de la continuidad del espacio. Se exploran las conexiones del “espacio topológico” de Hausdorff basado en las vecindades, con las nociones de métrica, convergencia secuencial y vecindades propuestas años antes por Fréchet. Hausdorff insistió desde el comienzo que la topología del espacio separable tenía las características de generalidad y rigor formal que le permitían adaptarse a las aplicaciones mejor que otras. Se mostrará que todo ello era consistente con los ideales de simplicidad, unidad y economía de pensamiento que Hausdorff había adquirido en sus trabajos filosóficos tempranos. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Palabras Clave: Historia de la topología; Filosofía de la práctica matemática; Sistemas de axiomas para vecindades; Fréchet; Hausdorff.

Introduction of the topology structure in Fréchet and Hausdorff works

Abstract

In the first part, we remind Fréchet's testimonies about the approach of his early work (1904-1906) in the emerging fields of Functional Analysis and General Analysis, in relation to his idea of introducing a topological structure in an abstract space. In the second part, we highlight the influence that had on this idea, the algebraic point of view of the time of extending the Cantorian notions to an abstract space with a finite group structure. Fréchet took advantage of techniques such as the “composition mode” between the elements of the space, to axiomatize operations and structures of the “class” with sequential convergence, the “class” with neighborhood system, the “class” with “écart” (metric). Then, new historical data are used to reaffirm the proximity of the philosophical conceptions underlying these investigations with the ideas of Leibniz, specifically with regard to the method of “analysis of principles”. The third part examines the contribution of Hausdorff of 1912 and 1914 to the establishment of the neighborhood axiomatics for the topology of an abstract space. Taking into account the observations of Weyl and Bourbaki that Hausdorff drew on Hilbert, we examine the system of axioms for the neighborhoods of the plane introduced by Hilbert in two 1902 papers devoted to the problem of the space continuity. As regards Fréchet's influence in Hausdorff, we explore the connections of Hausdorff's “topological space” based on neighborhoods with the notions of metric, sequential convergence and neighborhoods, proposed years earlier by Fréchet. From the beginning, Hausdorff argued that the topology of the separable space had the characteristics of generality and formal rigor that allowed it to adapt to applications better than others. It is shown that all this was consistent with the ideals of simplicity, unity and economy of thought Hausdorff had acquired in his early philosophical works. © 2017. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.

Key Words: History of topology; Philosophy of mathematical practice; systems of axioms for neighborhoods; Fréchet; Hausdorff.

Correspondencia:

Luis Carlos Arboleda, luis.carlos.arboleda@gmail.com; **Recibido:** 19 de julio de 2017; **Aceptado:** 15 de diciembre de 2017

Introducción

Es bien sabido que los conceptos y métodos fundamentales de la topología conjuntista relativos a la recta real y a los espacios euclidianos se encuentran en la creación cantoriana de finales del siglo XIX. Con posterioridad a los trabajos de Cantor otros matemáticos se consagraron a generalizar estos resultados a espacios de naturaleza cualquiera, dando lugar a la constitución de nuevos campos matemáticos. En particular, la Topología conjuntista o *Point-Set Topology* se fue configurando rápidamente y hacia los años 1920 las investigaciones en este campo registraban un gran avance, sobre todo en conexión con aquellos dominios que posibilitaron su existencia, el Análisis y el Análisis funcional (Arboleda, 1980a) (Arboleda, 1980b) (Tarrés Freixenet, 1994).

En este trabajo examinamos algunas de las características históricas y filosóficas de este desarrollo, las cuales fueron previamente esbozadas en (Arboleda, 2012) y que aquí tratamos a fondo aprovechando una bibliografía más amplia, actualizada y original. Nos interesan en particular los ideales de la práctica matemática que más intervinieron en estas transformaciones. No entramos en el estudio de la tendencia que por la misma época se manifiesta en la síntesis de ideas y métodos conjuntistas y algebraicos, y que permitió la emergencia de la topología algebraica cuyos orígenes remontan a los trabajos geométricos de Euler y Riemann basados en métodos combinatorios (Hirsch, 1978) (Alexandroff y Fedorchuk, 1978).

En varios de sus trabajos, concretamente en (Fréchet, 1928) y (Fréchet, 1941), Fréchet recuerda que en los comienzos del Análisis funcional (sobre todo en los trabajos de Volterra y la escuela italiana), lo usual era estudiar por separado distintas categorías de funcionales numéricas según los campos particulares de definición de la variable (puntos, curvas, funciones, etc.). Una “funcional”, según la denominación de Hadamard, es una función del tipo $Y = F(X)$ que hace corresponder un número Y a un elemento X de naturaleza cualquiera.

El aporte de Fréchet consistió en reconocer que tampoco era necesario fijar la naturaleza del elemento transformado. En distintos campos de la matemática era frecuente el uso de transformaciones con valores no numéricos: transformaciones geométricas de puntos en rectas, de rectas en esferas; transformaciones en análisis de funciones en funciones, etc. En consecuencia, Fréchet se propuso adelantar el estudio de transformaciones $V = T(U)$ de elementos U de naturaleza cualquiera en elementos V también de naturaleza cualquiera.

Esta fue la idea de base para la constitución del nuevo campo llamado “Análisis general”. En comparación con el Análisis funcional, el Análisis general no solo apuntaba a generalizar propiedades importantes del Análisis clásico. Ante todo, se proponía “llevar la abstracción hasta el límite”, y unificar en un mismo campo el estudio de las propiedades comunes a la clase de funciones $V = T(U)$. En ello, Fréchet reconoce que se inspiró en los métodos generales empleados

en el Cálculo vectorial y la Teoría de grupos abstractos. (Fréchet, 1941). Pero, esta tarea de generalizar objetos y propiedades del análisis clásico para darles una presentación simple y unificada, se enfrentaba a la necesidad previa de caracterizar apropiadamente en los espacios abstractos nociones fundamentales como continuidad, diferencial, integral, etc. Como lo reconocerá años después (Fréchet, 1941; 71):

“para formular propiedades que se expresan simultáneamente en términos de la variable U y su transformada $V = T(U)$, es necesario determinar el sentido de ciertas nociones fundamentales relativas, de una parte, a la variable U y el conjunto E de sus ‘valores’ y, de otra parte, a la transformada V y el conjunto F de sus ‘valores’”.

La noción de proximidad se revela, entonces, esencial para caracterizar la *geometría intrínseca* de los conjuntos abstractos E y F . Es decir, establecer en ellos una estructura de espacio topológico, sea a través de las nociones de distancia entre dos puntos, la de convergencia de una sucesión de puntos o la de vecindad de un punto. Fréchet advierte que esto era tanto más apremiante en el Análisis general, que en el caso “más simple” del Análisis funcional. En efecto, siendo U una función clásica y V un número, la tarea se reducía a dotar de una topología al espacio abstracto E o “campo funcional”. La caracterización de la “topología de los campos funcionales” fue uno de los problemas más delicados en el desarrollo del Análisis funcional a comienzos del siglo XX. En (Fréchet, 1934) aparece una cita en la cual Hadamard ubica la importancia de esta problemática alrededor de 1910, y reconoce los aportes que el “joven geómetra” Fréchet venía haciendo en su estudio (Hadamard, 1912; 17):

“El *continuo funcional* —es decir, la multiplicidad obtenida al hacer variar continuamente una función de todas las maneras posibles, no ofrece a nuestro entendimiento, ninguna imagen simple. La intuición geométrica no nos enseña nada, *a priori*, al respecto. Estamos obligados a poner remedio a esta ignorancia, y solo podemos hacerlo analíticamente, creando un capítulo de la teoría de conjuntos para el uso del continuo funcional.”

Fréchet y la génesis de las primeras estructuras topológicas

En su historia de los espacios completos Dugac reconoce que (Dugac, 1984; p. 18):

“Fréchet abrirá con su tesis una nueva época en el análisis, caracterizada por un florecimiento de espacios nuevos y por la búsqueda de las propiedades características de estos espacios que condujo a “estructuras” a la vez flexibles y ricas para responder a las aplicaciones más importantes en el análisis.”

En efecto, Fréchet introduce en su Tesis el enfoque que permitirá dotar a un espacio abstracto de una estructura topológica. Sea una clase L de elementos de naturaleza cualquiera. Fréchet define la convergencia de una sucesión (a_n) de tales elementos con base en las siguientes condiciones (Fréchet, 1906; p. 5-6):

- (i) Si $a_n = a$, para $n = 1, 2, \dots$, entonces (a_n) converge a a ;
- (ii) Si (a_n) converge a a , entonces (a_{kn}) converge a a para toda sucesión (a_{kn}) de (a_n) .

Es el llamado *espacio L* de Fréchet, una clase L de elementos indeterminados en la cual la convergencia de sucesiones generalizadas está determinada por las condiciones (i) y (ii).

Es interesante recordar la explicación del propio Fréchet sobre el ideal algebraico que motivó su escogencia de esta estructura (Fréchet, 1906; p. 4-5), (Taylor, 1982; p. 252). Al extender la noción de límite de sucesiones definidas en conjuntos específicos a un conjunto de elementos de naturaleza cualquiera, dice haber procedido de acuerdo con los desarrollos recientes de la teoría abstracta de grupos. Antes, las investigaciones en este campo se venían desarrollando por separado en teorías de grupos de movimientos, de sustituciones, de transformaciones, etc., en las cuales la definición del *modo de composición* variaba de una teoría a la otra. Pero la experimentación con distintos sistemas de axiomas en grupos específicos poco a poco condujo a la convicción de que (Fréchet, 1906; p. 5):

“Sólo era posible llegar a una teoría común absteniéndose de dar una definición general del modo de composición, y buscando las condiciones comunes a las definiciones particulares y considerando únicamente las que eran independientes de la naturaleza de los elementos considerados.”

La misma idea se encuentra expuesta en la *Noticia* sobre sus trabajos científicos que elaboró para su ingreso a la *Académie des Sciences* de París. Fréchet insiste allí que el enfoque estructural empleado en sus trabajos de Topología general (Fréchet, 1933):

“evita la repetición fastidiosa de teorías y demostraciones exactamente idénticas en el fondo, aunque relativas a dominios de objetos de naturaleza diversa: números, curvas, superficies, funciones, series, grupos, variables aleatorias, etc., etc.”

En el comentario de su Tesis sobre la noción de límite generalizado, Fréchet menciona de paso una referencia bibliográfica: (Séguier, 1904). Hoy sabemos que la importancia histórica de esta obra radica en la presentación de una de las primeras formulaciones sobre el carácter abstracto del concepto de grupo finito, todavía no en el marco del álgebra moderna sino de la teoría de ecuaciones polinómicas y la teoría de números. En el inicio del prefacio a sus *Elementos*, Séguier afirma lo siguiente:

“A partir de los diversos grupos particulares que se han encontrado en Álgebra, Análisis y Geometría, debía necesariamente emerger la idea de grupo abstracto, es decir el grupo considerado en sí mismo, independientemente de la naturaleza de sus elementos. Muchas investigaciones ya realizadas en dominios diversos se fundieron en una teoría más general que desde entonces no ha cesado de desarrollarse. Bajo el título de *Elementos* se encontrará aquí la parte de esta teoría que no exige ninguna representación concreta.”

Séguier comienza por extender a un conjunto abstracto las nociones cantorianas requeridas por el desarrollo de la obra. Igual con respecto a las relaciones definidas entre los elementos de tales conjuntos, para las cuales se hace abstracción de su naturaleza y solo se consideran los principios lógicos comunes que reglan su comportamiento en diversos conjuntos particulares. Fréchet reconoce que el

grupo abstracto se define entonces por determinado sistema de axiomas a partir de un conjunto G dotado de una operación binaria $G \times G \rightarrow G$ que satisface tales axiomas. (Katz and Parshall, 2014; pp. 333-334).

El inicio de sus trabajos tendientes a extender nociones fundamentales del análisis de variable real a un conjunto abstracto, se encuentra en la nota de 1904 en la cual Fréchet define por primera vez las partes compactas E del espacio L como generalizaciones de los intervalos de R . Fréchet comienza por dotarse de una clase C de elementos cualesquiera (números, superficies, etc.) (Fréchet, 1904; 849):

“en la cual es posible distinguir sus diferentes elementos. Podemos decir que U_A es una función uniforme (u operación funcional) en un conjunto de E elementos de C , si a todo elemento A de E le corresponde un número bien determinado U_A .”

A partir de la noción de convergencia de sucesiones Fréchet define las de conjunto cerrado, continuidad y conjunto compacto. (Arboleda, 1984). Aunque ellas serán reelaboradas en la Tesis, le bastan en ese momento para enunciar el teorema de Weierstrass a nivel general (Fréchet, 1904; p. 849):

“TEOREMA. Toda operación funcional U_A uniforme y continua en un conjunto compacto y cerrado E : 1° es acotada en E ; 2° obtiene al menos una vez su límite superior.”

El esfuerzo de Fréchet, en este y otros trabajos, por abstraer la noción de compacto que se encontraba en estado práctico en varios contextos “naturales” de la época (Arboleda, 1984), es tanto más significativo tratándose de la generalización de un teorema del análisis como el de valores extremos, cuya importancia para el desarrollo de nuevos campos de las matemáticas había sido ya subrayada por Hilbert en su informe en memoria de Weierstrass (Hilbert, 1897; p. 333): “Con este teorema (...) Weierstrass creó un instrumento que hoy es indispensable para todos los matemáticos en las investigaciones analíticas o aritméticas más elaboradas.”

En las consideraciones de método que hace al comienzo de la Tesis, Fréchet afirma que el problema de estudiar las propiedades infinitesimales de las funcionales está *lógicamente precedido* por el problema de establecer las propiedades infinitesimales de ciertos conjuntos abstractos. Recordemos que, en el caso más simple, se trata del problema de establecer la topología en los campos funcionales que Hadamard considera crucial en la cita al final de la Introducción de este artículo, y al cual se refiere en términos de “crear una teoría de conjuntos para el uso del continuo funcional”. (Hadamard, 1912). En el caso de los objetos del Análisis general (las transformaciones $V = T(U)$ entre conjuntos U y V de naturaleza cualquiera), la topología se establece sobre el espacio abstracto. De ahí el título de su obra más conocida: *Los espacios abstractos y su teoría considerada como introducción al Análisis general* (Fréchet, 1928).

Sin embargo, Fréchet reconoce en el capítulo 2 de la Tesis que las clases L son excesivamente generales y no permiten la extensión de ciertas propiedades de los conjuntos

lineales muy en boga en su época, como la propiedad de que el conjunto derivado E' , que contiene los puntos límites de un conjunto cualquiera E de la clase L , sea cerrado. Para remediar esta situación considera necesario imponer ciertas restricciones a las clases L (**Fréchet**, 1906; p. 17):

“1° Tales restricciones deberían poder enunciarse independientemente de la naturaleza de los elementos considerados; 2° Deberían satisfacerse para las clases de elementos que intervienen lo más frecuentemente en las aplicaciones; 3° Deberían proporcionar la generalización que se está buscando de los teoremas sobre conjuntos lineales y funciones continuas.”

Entonces define la clase V (“ V ” de vecindad) como una clase de elementos de naturaleza cualquiera dotada de una operación binaria o función distancia que a cada par de elementos A y B de la clase le asigna un número llamado “vecindad” $(A,B) = (B,A) \geq 0$. La clase V es una especie de clase L para la cual toda sucesión $\{A_n\}$ de elementos de V tiene como límite el elemento A a condición de que $(A_n, A) \rightarrow 0$ cuando $n \rightarrow \infty$. Esta definición garantiza que el límite es único, e igualmente tiene como consecuencia que los conjuntos derivados son cerrados (**Taylor**, 1982; p. 254). La estructura de la clase V cumple las siguientes propiedades (**Fréchet**, 1906; p. 18):

- (i) $(A,B) = 0$ si y solamente si $A = B$;
- (ii) existe una función positiva $f(\varepsilon)$, tal que $f(\varepsilon)$ tiende a 0 para ε muy pequeño y para la cual $(A,C) \leq f(\varepsilon)$ si $(A,B) \leq f(\varepsilon)$ y $(B,C) \leq f(\varepsilon)$ para todo A, B, C de la clase V .

Conviene aclarar que en los años siguientes Fréchet continuó desarrollando sus investigaciones sobre la topología de las vecindades de manera independiente de Hausdorff cuya obra de 1914 solamente conoció en 1919. Estos trabajos de Fréchet, en conexión con Riesz, Moore, Hausdorff y otros autores han sido estudiados en (**Arboleda**, 1980). Nos interesa aquí destacar las nociones de clase V separable y clase V completa, las cuales van a permitirle a Fréchet desde muy temprano (1906), introducir en estos espacios de vecindades la técnica de recubrimientos de un conjunto por una familia de conjuntos.

Una clase V es *separable* si contiene un conjunto numerable cuyo conjunto derivado es la clase. En una publicación de 1921 Fréchet modificará esta definición, y el requerimiento para la separabilidad en la clase será únicamente que existan a lo sumo conjuntos infinitos numerables que constituyan, junto con sus respectivos derivados, la clase en su totalidad. (**Taylor**, 1982; 255).

Luego se define la propiedad de *completez* de una clase V sin apelar todavía a la palabra con la que habitualmente designamos el concepto (**Fréchet**, 1906; p. 23): “Diremos que V admite una generalización del teorema de Cauchy si toda sucesión de elementos de esta clase, que satisface la condición de Cauchy, tiene un elemento límite en V .” Y una sucesión $\{A_n\}$ de la clase V satisface la condición de Cauchy, cuando a cada $\varepsilon > 0$ corresponde un n tal que $(A_n, A_{n+p}) < \varepsilon$, para $p = 1, 2, 3, \dots$

Fréchet estudia varias propiedades topológicas de las clases V que darán lugar a numerosas investigaciones posteriores.

(**Taylor**, 1892; 256-257). Una de ellas es de significativa importancia para este trabajo. Se trata de la idea (sugerida por Hadamard) de recubrir un conjunto de V incluida la misma clase, mediante una familia de conjuntos o vecindades. En la terminología actual, decimos que Fréchet asume que una familia \mathcal{M} de conjuntos M es una *cubierta* de un conjunto E , cuando cada elemento de E es interior a algún conjunto M de \mathcal{M} .

En analogía con los conjuntos de la recta, Fréchet demuestra que para un $\varepsilon > 0$, toda clase V separable se puede considerar como la unión de una familia numerable $K(\varepsilon)$ de conjuntos $k(\varepsilon)$ con la propiedad de que, siendo A, B , dos elementos del mismo $k(\varepsilon)$, la vecindad (A,B) es menor que ε . Taylor sugiere designar esta propiedad diciendo que los conjuntos $k(\varepsilon)$ son “ ε -pequeños”, con lo cual se quiere destacar el sentido moderno del siguiente teorema de Fréchet: Un conjunto E cerrado de una clase V separable y completa (o clase V normal según Fréchet) es compacto si y solo si para cada $\varepsilon > 0$, E es la unión de una familia finita $K(\varepsilon)$ de conjuntos pequeños $k(\varepsilon)$. (**Fréchet**, 1906; 25). Esta propiedad que le permite a Fréchet caracterizar un conjunto de una clase V normal como compacto, será utilizada a partir de (**Hausdorff**, 1914) para definir un conjunto de un espacio métrico como *totalmente acotado*. (**Taylor**, 1982; 256-257). A partir de Bourbaki se hizo corriente llamar *precompacto* a un conjunto totalmente acotado. (**Pier**, 1980; 440).

Por otra parte, como se sabe, uno de los principales logros de la Tesis de Fréchet es la introducción, bajo el nombre de clase E , “ E ” de écart o distancia, el espacio que años más tarde Hausdorff va a llamar “metrischer Raum” (espacio métrico). (**Hausdorff**, 1914; 211). La clase E está dotada de una operación binaria tal que a todo par de elementos A, B de la clase asocia un número $(A,B) \geq 0$ que verifica las siguientes propiedades (**Fréchet**, 1906; p. 30):

- (i) La distancia (A,B) es nula cuando A y B son idénticos;
- (ii) Si A, B, C son tres elementos cualesquiera, siempre se tiene que $(A,B) \leq (A,C) + (C,B)$.

Luego se demuestra que las vecindades pueden definirse por medio de la distancia, es decir que toda clase E es una clase V . Recordemos que un problema de mayor interés en las investigaciones topológicas de los años 1920, empezando por los trabajos de Alexandroff y Urysohn en esta materia, fue el estudio de las condiciones suficientes y necesarias para que una clase V sea clase E . Es decir, el problema de las *metrificaciones* de un espacio abstracto.

La introducción del écart resulta de una forma estructural de pensamiento que busca preservar intuiciones euclidianas en los espacios abstractos. Se define esencialmente por ese *modo abstracto de composición* entre los puntos del espacio que cumple los axiomas anteriores, y que corresponde al procedimiento estructural del mismo tipo de los modos de composición en la teoría de grupos.

Justamente en relación con este asunto de la influencia de concepciones matemáticas en la constitución de objetos y teorías, cabe tener en cuenta que Fréchet reconoce la

proximidad entre las concepciones e ideales que sustentaron sus investigaciones en Topología general y Análisis general con la filosofía de Leibniz, en particular con su idea de análisis de los principios. La *Noticia* sobre sus trabajos científicos lleva el siguiente epígrafe de Leibniz (**Fréchet**, 1933):

“Quienes prefieren avanzar en los detalles de las ciencias desprecian las investigaciones abstractas y generales. Quienes profundizan en los principios entran raramente en las particularidades. En cuanto a mí, le doy igual importancia a lo uno y lo otro porque he encontrado que *el análisis de los principios* facilita el avance de las invenciones particulares.”

Al inicio de la *Noticia* manifiesta que se “siente confundido de admiración y de humildad frente a la profundidad de Leibniz y la universalidad de su genio”. Considera que, guardadas todas las proporciones, esta cita se aplica a su propio *état d’esprit* y a la naturaleza abstracta y concreta de sus investigaciones. A lo largo de treinta años, sus trabajos abordaron cuestiones “abstractas y generales” de la Topología, el Análisis funcional y el Análisis general, como también temas más particulares del análisis clásico, la geometría, las probabilidades y la estadística y, últimamente, se había orientado al estudio de las “aplicaciones científicas e industriales de las matemáticas”.

Una sección de la *Noticia* con sus trabajos “divulgativos y pedagógicos”, se refiere a elaboraciones epistemológicas y filosóficas de Fréchet. En (**Arboleda y Recalde**, 2003) se han examinado y comparado estas ideas con las expuestas en trabajos de años posteriores. Entre ellas se destaca su crítica a la posición de Poincaré sobre intuición y convencionalismo, su elaboración sobre el conocimiento matemático como síntesis inductiva, y sus concepciones sobre axiomatización y “desaxiomatización” en los espacios abstractos.

Retornemos al epígrafe para comentar que aparece literalmente en (**Halbwachs**, 1906-1928-1950). Se trata de una monografía muy bien documentada en las obras y manuscritos de Leibniz que, sin haber tenido la significación histórica de los trabajos en lógica de Couturat, Russell, Rougier o Nicod, en todo caso pudo permitirle a algunos intelectuales y matemáticos de mentalidad filosófica como Fréchet, familiarizarse con los aspectos fundamentales y sutiles del programa de Leibniz. Maurice Halbwachs (1877-1945) fue un sociólogo de la escuela de Durkheim que se haría célebre por su teoría sobre la memoria colectiva. Fue colega de Fréchet en el proyecto estratégico de instaurar la enseñanza francesa en la Universidad de Estrasburgo a finales de la primera guerra mundial. Juntos ofrecieron uno de los primeros cursos sobre aplicaciones de la estadística a los fenómenos sociales que se publicaría luego en un pequeño libro: (**Fréchet y Halbwachs**, 1924).

Su cercanía académica con Halbwachs en Estrasburgo y la lectura de su *Leibniz*, aportan nuevos elementos para constatar el fondo de la devoción de Fréchet por las ideas de este autor, y ayudan a entender la manera privilegiada en que se posiciona el matemático con respecto a su filosofía desde su propia práctica. Un primer indicio se encuentra en la noción leibniziana de “espacio abstracto” que Fréchet

ha podido leer en (**Halbwachs**, 1928; 93-94). Decir que determinados objetos ocupan ciertas situaciones, equivale a decir que, al existir al mismo tiempo, mantienen entre ellos relaciones más o menos simples. El espacio no es más que el orden de coexistencias posibles, así como la duración no es otra cosa que el orden de situaciones posibles. “Espacio, duración, números, son puros ideales, *entia mentalia*”. La existencia del espacio no es absoluta para Leibniz como lo fuera para Newton; es relativa a la manera como se consideren las relaciones de proximidad entre sus puntos. Esta es una idea central en la caracterización de los espacios abstractos por su estructura, y en la aceptación de distintas estructuras en un mismo conjunto abstracto. (**De Risi**, 2015), (**Tarrés Freixenet**, 1994; 197).

Otra expresión de la cita que resulta clave para entender la vocación leibniziana de Fréchet, es el “análisis de los principios”. En el capítulo “La Lógica”, Halbwachs explica en qué consiste el “arte racional” de Leibniz aplicado a las matemáticas. “Toda demostración o resolución solo es válida si se puede establecer un posible *retorno* del punto de llegada al punto de partida, por medio de una sucesión de proposiciones idénticas”. Fréchet ha podido reconocer aquí el criterio de demostrar una proposición “analizando el sujeto”, es decir reduciendo la proposición a una identidad mediante la regla de sustitución de equivalentes.

Tanto más llamativas para Fréchet, lector del *Leibniz* de Halbwachs, pudieron haber sido las siguientes dos observaciones: 1) Este método es un instrumento efectivo de descubrimiento en matemáticas siempre que la descomposición se lleve hasta su límite y se encuentren en las nociones o proposiciones complejas, las nociones o proposiciones simples. 2) El buen éxito del arte racional depende del descubrimiento de una *característica universal*, entendida más que como un medio de comunicación entre los hombres de países distintos, “como un alfabeto de nuestras ideas”, el “método lógico por excelencia”, el sistema de cifras y símbolos que nos permite razonar correctamente y, al mismo tiempo, ganar en economía de pensamiento. (**Halbwachs**, 1928; 53-54).

Bastan estas dos problemáticas filosóficas del *Leibniz* para ilustrar su proximidad con las concepciones que orientaron el programa de investigación de Fréchet. Este se refiere a ellas en su *Noticia* (**Fréchet**, 1934) y en su obra más conocida sobre los *Espacios abstractos* (**Fréchet**, 1928), como haciendo parte del sustrato de su programa de unificación de los enunciados clásicos de la Teoría de funciones y del Análisis funcional en el Análisis general. Esta proximidad entre matemáticas y filosofía leibniziana también se puede reconocer en otras esferas de su vida intelectual. Recordemos que durante largos años Fréchet fue promotor y organizador de la Unión Universal de Esperanto, lengua en la cual él mismo publicó interesantes resultados matemáticos a costa incluso de ver por ello reducido su impacto científico. Es posible suponer que Fréchet lo hacía, además de otros intereses humanistas, porque quería convencer a sus colegas

de que era deseable escoger una lengua “ordinaria” muy general -y acaso más apropiada que otras- para comunicar enunciados matemáticos con carácter universal.

Hausdorff y la formalización de la topología de vecindades

En sus *Elementos de historia de las matemáticas* (Bourbaki, 1974; p. 180), Bourbaki reconoce que:

“Con Hausdorff comienza la topología general como se la entiende actualmente. Retomando la noción de vecindad, supo escoger entre los axiomas de Hilbert para las vecindades del plano aquellos que podían dar a su teoría toda la precisión y al mismo tiempo toda la generalidad deseable. El capítulo en el que desarrolla las consecuencias continúa siendo el modelo de teoría axiomática, abstracta pero bien concebida para adaptarse a las aplicaciones. Este fue el punto de partida natural de las posteriores investigaciones sobre la topología general.”

En efecto, la axiomática de las vecindades de Hausdorff para la topología de un espacio abstracto se introduce en el capítulo VII sobre “Conjuntos de puntos en espacios generales” de los *Fundamentos de la teoría de conjuntos* (Hausdorff, 1914). (La selección y traducción de los apartes de *Grundzüge der Mengenlehre* que se comentan en seguida son tomados de (Dugac, 2003); como se sabe estos apartes difieren en su presentación con respecto a otras ediciones y traducciones del original). Al comienzo del primer párrafo sobre “Vecindades”, Hausdorff aclara así uno de los rasgos característicos de la formalización de las estructuras topológicas, el hecho de fundamentarse en lenguaje conjuntista (Hausdorff, 1914; p. 209):

“La teoría de conjuntos ha celebrado su más bello triunfo en la aplicación a los conjuntos de puntos de los espacios, en la clarificación y la consolidación de los fundamentos geométricos.”

Antes de presentar la forma general del sistema de axiomas sobre las vecindades para un espacio abstracto, Hausdorff lo *interpreta* para un espacio métrico siguiendo la idea originaria de Hilbert que, como veremos, se encuentra en (Hilbert, 1902). Hausdorff procede como si la ilustración del objeto le permitiera justificar la pertinencia de su escogencia (Hausdorff, 1914; p. 211):

“Pero para generar inmediatamente una imagen concreta, comencemos por vecindades especiales que se definen a través de la distancia. Entendemos por *espacio métrico* un conjunto E en el cual se hace corresponder a dos elementos (puntos) x e y cualesquiera, un número real no negativo, su *distancia* $\overline{xy} \geq 0$ y además exigimos seguidamente la validez de los axiomas siguientes sobre vecindades:

(α) (Axioma de simetría). Siempre se tiene que $\overline{yx} = \overline{xy}$.

(β) (Axioma de coincidencia). Siempre se tiene que $\overline{xy} = 0$ si y solamente si $x = y$.

(γ) (Axioma de desigualdad triangular). Siempre se tiene que $\overline{xy} + \overline{yz} \geq \overline{xz}$.”

Define en seguida una *vecindad* U_x de un punto x en un espacio métrico E , como el conjunto de puntos y cuya distancia a x es más pequeña que un número positivo dado. Después de precisar que de acuerdo con la costumbre de sus antecesores emplea la designación de espacio abstracto para indicar que sus elementos son de naturaleza cualquiera, introduce el siguiente sistema de axiomas (Hausdorff, 1914; p. 213):

“Por espacio *topológico* entendemos un *conjunto* E , cuyos elementos (puntos) x pertenecen a subconjuntos U_x que llamamos vecindades de x , y que verifica los siguientes *axiomas de vecindades*:

(A) Para todo $x \in E$, existe una vecindad U_x y $x \in U_x$.

(B) Si U_x y V_x son vecindades de x , existe otra vecindad de x , W_x tal que $W_x \subseteq U_x$ y $W_x \subseteq V_x$.

(C) Si $y \in U_x$, existe un U_y tal que $U_y \subseteq U_x$.

(D) Si $x \neq y$, existen U_x y U_y tales que $U_x \cap U_y = \emptyset$.”

El axioma (D) caracteriza la condición de separación de los llamados *espacios de Hausdorff* o espacios T_2 . El estudio de otras modalidades de axiomas de separación es un capítulo interesante en la historia de los espacios topológicos en sus primeros años. Fréchet propuso, en particular, el axioma que caracteriza el espacio topológico T_1 de Fréchet, en el cual cada par de puntos distintos poseen respectivamente una vecindad que no contiene al otro. Fréchet los denominó “espacios accesibles”.

Recordemos que previamente a su obra de 1914, Hausdorff trató las propiedades fundamentales del sistema de vecindades en sus conferencias de Bonn de 1912. Los manuscritos de estas conferencias hacen parte del fondo científico de Hausdorff conservado en la Universidad de Bonn. La transcripción de los apartes de las lecciones correspondientes al sistema de vecindades ha sido publicada, en particular, en (Taylor, 1985) y (Epple, et al., 2002). En ellas se observa que antes de dar una presentación formal del sistema y permaneciendo fiel al enfoque intuitivo que caracterizó sus primeros trabajos matemáticos, Hausdorff prefirió interpretar las vecindades de manera geométrica como el interior de esferas con centro en puntos de un espacio euclidiano E de dimensión n . En sus lecciones de 1912 el sistema de axiomas es equivalente al de los *Fundamentos de la teoría de conjuntos* (1914), salvo el axioma (B) que se enuncia entonces de la siguiente manera: “Dadas dos vecindades de un punto U_x y U'_x , $U_x \subseteq U'_x$ o bien $U_x \supseteq U'_x$ ”. Esta cuestión y otras conexas con los fundamentos de la topología de vecindades, han sido tratadas además de (Taylor, 1985) y (Eppel, et al., 2002), por (Sholtz, 1996), (Koetsier y van Mill, 1999) y (James, 1999).

Sabemos que la idea de “topologizar” el espacio euclidiano mediante un adecuado sistema de vecindades se debe a Hilbert, quien lo introduce en sus investigaciones sobre el problema de los fundamentos de la geometría y la continuidad del espacio. Esta idea aparecerá bajo el mismo título, *Sobre los fundamentos de la geometría*, primero en la memoria (Hilbert, 1902) y luego en la nota (Hilbert, 1903). La última será incluida como apéndice en la traducción de Townsend, (Hilbert, 1902a). Menos conocido es que en este trabajo, Hilbert apela a una argumentación original de la topología conjuntista cantoriana en dos dimensiones, para sustentar su convicción de que la noción de movimiento no era necesaria para fundamentar el sistema de axiomas del espacio euclidiano y que, por consiguiente, su enfoque de la geometría era más general que la teoría de grupos de transformaciones de Helmholtz, Lie y Poincaré. Esta cuestión ha sido analizada en dos contextos distintos en (Majer, 2006) y (Rodríguez, 2015).

Según la cita de Bourbaki antes mencionada, Hausdorff se inspiró en Hilbert para establecer su sistema de axiomas para las vecindades. Recordemos que (Hilbert, 1902) comienza por considerar el plano como un espacio abstracto constituido por puntos, y pasa a asociarle a cada punto una familia de vecindades o subconjuntos del plano, ello con el interés de caracterizar la continuidad como una propiedad local del espacio. El sistema de vecindades difiere en ambos trabajos de Hilbert. En (Rodríguez, 2015) se analizan estas diferencias desde el punto de vista del problema de la continuidad del espacio que más interesaba a Hilbert y en relación con las propias investigaciones de Riesz a este respecto. En (Hilbert, 1902) el sistema de vecindades está determinado por los siguientes seis axiomas (de acuerdo con la presentación de (Taylor, 1985) que permite evidenciar mejor su relación con el sistema de Hausdorff):

(1) Un punto pertenece a cada una de sus vecindades.

(2) Si B es un punto en una vecindad U del punto A , entonces U es también una vecindad de B .

(3) Si U y V son vecindades de A , existe otra vecindad de A que está contenida tanto en U como en V .

(4) Si A y B son dos puntos cualesquiera, existe una vecindad de A que contiene a B .

(5) Para cada vecindad existe al menos una aplicación uno a uno de sus puntos en puntos (x, y) de alguna región de Jordan (el interior de una curva cerrada simple) en el plano numérico.

(6) Dado un punto A , una vecindad U de A , y una región de Jordan G imagen de U , entonces toda región H de Jordan contenida en G y que contiene la imagen de A es también imagen de alguna vecindad de A . Si una vecindad de A tiene como imágenes dos regiones de Jordan diferentes, la correspondencia uno a uno inducida es bicontinua.

Hermann Weyl, uno de los primeros en reconocer la importancia del nuevo enfoque tanto para la investigación en topología conjuntista como en su aplicación a la formalización del concepto de variedad, dejó al respecto el siguiente testimonio (Weyl, 1944):

“(...) Hilbert define una variedad de dos dimensiones por medio de vecindades, y requiere que se designe una clase “admisibles” de aplicaciones uno-a-uno de una vecindad sobre dominios de Jordan en un plano- x, y , tales que cualesquiera dos de ellas estén conectadas por transformaciones continuas. Cuando hice un curso sobre superficies de Riemann en Göttingen en 1912, consulté el trabajo de Hilbert y noté que las mismas vecindades podían usarse para caracterizar tal clase. La definición resultante obtuvo su toque final de F. Hausdorff; los axiomas de Hausdorff se han convertido en un paradigma en topología.”

Observemos que en (Hausdorff, 1914, 315) se define un *espacio métrico completo* como aquel espacio métrico en el cual toda sucesión de Cauchy (“sucesión fundamental”) converge. Hausdorff recuerda que Fréchet ha generalizado antes esta propiedad para una “clase”. Efectivamente en (Fréchet, 1906; 23) aparece la siguiente definición: decimos que una “clase V admite una generalización del teorema de Cauchy si y solo si toda sucesión de elementos de la clase,

que satisface las condiciones de Cauchy, tiene un elemento límite”. Hausdorff demuestra que todo espacio métrico E se puede prolongar en un espacio métrico completo \mathbf{E} , en donde \mathbf{E} resulta ser el conjunto de clases de equivalencia de las sucesiones de Cauchy de E con respecto a la convergencia de sus distancias a cero. En su demostración Hausdorff dice emplear un método análogo al utilizado por G. Cantor y Ch. Méray para construir los números reales. El procedimiento se estudia en (Dugac, 1984; 19-20).

Hausdorff aclara en 1914 que la topología del espacio puede fundamentarse indistintamente en las nociones de distancia, convergencia secuencial o vecindades, pero escoge axiomatizar las vecindades porque la noción de vecindad es más general que la de distancia. Es decir, permite deducir de ella una teoría de conjuntos de puntos válida no solo para la recta y el plano, sino para las superficies de Riemann, los espacios de dimensión finita e infinita y los espacios de curvas y superficies.

En el contexto de las investigaciones sobre estas cuestiones alrededor de los años 1930, el espacio de Hausdorff se revela como “un concepto unificador del pensamiento geométrico” (Alexandroff, 1961; p. 9). En el prefacio de la obra *Elementary Concepts of Topology*, cuya versión alemana fue publicada en 1932, Hilbert se refiere así a la importancia del formalismo de Hausdorff para la topología de vecindades comparado con la diversidad de investigaciones previas (Alexandroff, 1961):

“Pocas ramas de la geometría se han desarrollado tan rápida y exitosamente en tiempos recientes como la topología, y raramente una rama de una teoría que inicialmente era poco prometedora como la topología, ha adquirido una importancia tan fundamental en un amplio rango de campos completamente diferentes. Actualmente se utilizan los métodos de la topología y se estudian problemas topológicos en casi todas las ramas del análisis y de sus más amplias aplicaciones. Este dominio amplio de aplicaciones requiere naturalmente que la estructura conceptual sea de tal precisión que pueda reconocerse el núcleo común de problemas que en primera instancia parecen distintos.”

La precisión de la estructura conceptual era justo lo que buscaba Hausdorff cuando, entre varias presentaciones generales de la teoría, escogió *aquella con la axiomática más sencilla y menos redundante posible*. En alusión evidente a las clases L de Fréchet, afirma que las vecindades eran preferibles “porque permiten desembarazarse de las dificultades de lo numerable que conlleva el uso de la convergencia secuencial” (Hausdorff, 1914; p. 211). Su punto de vista es que la generalidad no debe traducirse en grandes complicaciones y, al menos en lo relacionado con las características principales de la teoría, debe acompañarse de la simplicidad de la presentación.

Este estilo de presentación formal nos protege contra los errores de razonamiento derivados de una intuición defectuosa (Hausdorff, 1914; p. 211):

“Finalmente, con este procedimiento lógico-deductivo nos protegemos de los errores a los que nos puede conducir la intuición. Esta pretendida fuente de conocimiento – cuyo valor heurístico obviamente no se cuestiona – se nos revela a menudo tan insuficiente y

poco confiable en las partes más sutiles de la topología de conjuntos de puntos, que *solo podemos confiar en ella después de un examen cuidadoso.*”

Este “examen cuidadoso” equivale al “análisis lógico de la intuición espacial” al que se refiere Hilbert en la introducción de los *Fundamentos de la Geometría*, una obra que, por supuesto, Hausdorff comprendió a fondo desde el comienzo (Punkert, 2008; p. 44-45) (Epple, 2006; p. 279-280). La garantía de la precisión conceptual de la estructura topológica es pues, el análisis lógico de la intuición. Es lo que Hilbert reafirma expresamente en la continuación de la cita anterior en el prefacio a los *Elementary Concepts of Topology* (Alexandroff, 1961):

“No es de extrañar que el análisis de los conceptos geométricos fundamentales les sustraiga en gran medida su inmediata intuición, tanto más, cuando en la aplicación a otros campos, como en la geometría de nuestro espacio circundante, se hace necesaria una extensión a dimensiones arbitrarias.”

Fue a finales de la Primera Guerra, cuando se normaliza la actividad matemática y los *Fundamentos de la Teoría de Conjuntos* pudieron circular ampliamente, que empezó a manifestarse la preferencia por los espacios de Hausdorff. Las lecturas de la obra empezaron a dar sus frutos en numerosas publicaciones de topología conjuntista. El caso más notable fue el grupo de matemáticos que empezaban a liderar las escuelas de Moscú y Varsovia, respectivamente Alexandroff, Urysohn y Tychonoff, y Sierpinski y Kuratowski.

Entre estas contribuciones cabe señalar la memoria (Alexandroff y Urysohn, 1929), que en esencia recogía los resultados de las investigaciones adelantadas por sus autores desde 1922. El propósito de la memoria era remediar la dispersión que prevalecía en la época entre diferentes tratamientos de la noción de compacto en los espacios abstractos. Se trataba entonces de adoptar un lenguaje unificado para sistematizar tales resultados y, al mismo tiempo, seleccionar el espacio topológico más adecuado para los requerimientos de la teoría. En su correspondencia de los años 1920 con Fréchet ambos autores explican el proceso que siguieron para construir una teoría unificada y simple de la compacidad tomando como base el espacio de Hausdorff (al que ellos designan como *el “espacio topológico”*), en lugar del espacio accesible de Fréchet (Arboleda, 1980a) (Arboleda, 1984).

Concretamente en la carta del 28 de enero de 1924 Alexandroff recuerda que años antes habían introducido la noción de “bcompacto” para reemplazar la compacidad de Fréchet y hacerla más conforme con la definición de la compacidad “ordinaria” (Arboleda, 1979). Se refieren a la definición que utilizaba el teorema de Borel-Lebesgue cuya utilización se hizo corriente a través de los *Fundamentos de la Teoría de Conjuntos*. Si se reemplaza el término original de “bcompacto” por “compacto” a secas, se evidencia que la definición de la Memoria de 1929 se expresaba en la forma habitual: Un conjunto E es *compacto* si, dada una familia cualquiera S de conjuntos abiertos que cubre a E , un subconjunto finito de S también cubre a E .

Anotemos de paso que el anterior cambio de denominación se debe a Bourbaki, quien lo introdujo formalmente en su “Topología general” (Bourbaki, 1971), aunque ya aparece en las versiones anteriores de esta publicación y en otras de miembros del grupo sobre aplicaciones de los teoremas principales de la Memoria de la compacidad a las nuevas nociones de filtros y ultrafiltros (Cartan, 1937a, 1937b) y espacios uniformes (Weil, 1939). La conexión de estos trabajos con la crítica de Bourbaki a lo numerable en topología se estudia en (Arboleda, 1982) y (Anaconda, 2017).

La presentación de la compacidad a través de una de las propiedades que hacia los años 1920 mejor expresaba su carácter esencial, el teorema de Borel-Lebesgue, inmediatamente se reveló fecunda y permitió la interrelación con otros conceptos y teorías. En (Arhangel’skii y Dranishnikov, 1997), Arhangel’skii, uno de los alumnos más destacados de Alexandroff, cree encontrar en este tratamiento de la compacidad la manifestación de un rasgo característico de la práctica matemática de su maestro: no proceder jamás con estrechez de miras en la consideración de nociones y construcciones fundamentales; por el contrario, utilizarlas como base para profundizar en la indagación matemática y promover el desarrollo integral de la teoría objeto de estudio. De ahí el papel fundamental que desempeñan los trabajos pioneros de Alexandroff sobre la compacidad y los fundamentos de la topología general, en principios básicos de las matemáticas. Entre los cuales, Arhangel’skii y Dranishnikov prefieren mencionar el teorema de Hahn-Banach, el teorema de Krein-Milman, el teorema de Gel’fand-Kolmogorov, y el teorema de Stone-Weierstrass.

Conclusiones

La axiomatización de la topología de espacios abstractos es un paso fundamental en el desarrollo de las estructuras matemáticas del siglo XX. Las vecindades constituyen un medio conveniente para seleccionar y organizar las estructuras de la topología general, y garantizar el estudio fecundo de los problemas más importantes de la teoría de funciones.

Fréchet, Hilbert, Riesz, Moore y otros matemáticos hicieron aportes significativos a la caracterización de la topología del espacio abstracto a través de las vecindades. Pero la presentación axiomática que hoy utilizamos fue formulada inicialmente por Hausdorff en sus conferencias de Bonn de 1912 y luego en sus *Fundamentos de la teoría de conjuntos* (Hausdorff, 1914).

Las propuestas de ambos autores para la fundamentación de la topología general se inspiraron en concepciones filosóficas que fueron determinantes en sus respectivas prácticas matemáticas constitutivas de la teoría. En el caso de Fréchet las estructuras topológicas se introducen y estudian como parte del programa del Análisis general. Este enfoque se reclama de la “analiticidad” leibniziana, y está orientado por un cierto ideal de “categoricidad de los espacios abstractos”. En términos de las primeras investigaciones de comienzos del siglo XIX de Hadamard y Fréchet en Análisis

funcional, este enfoque analítico consistió en extender los métodos conjuntistas cantorianos a una gran variedad de nuevos espacios abstractos.

Cincuenta años después con el advenimiento de la teoría de categorías, la polaridad de lo analítico conjuntista será sustituida por su contraparte sintética: “la teoría de categorías deja de desmenuzar los objetos por dentro y de analizarlos mediante sus elementos, y pasa a elaborar aproximaciones sintéticas en las cuales los objetos son estudiados por su comportamiento exterior en correlación con su medio ambiente”. (Zalamea, 2009).

Por su parte, el estilo de Hausdorff se inspira en sus trabajos filosóficos tempranos. Según Hausdorff, entre varias presentaciones generales de la topología del espacio, se escoge aquella con la axiomática más sencilla y menos redundante posible. Simplicidad, unidad y economía de pensamiento configuran el estilo que hace de los *Fundamentos de la Teoría de Conjuntos* una obra pionera en su campo y que contribuyó al desarrollo del enfoque estructural de las matemáticas modernas.

Conflicto de intereses

Ninguno

Referencias

- Alexandroff, P.** (1961). *Elementary Concepts of Topology*. Dover: New York. (Traducción de Einfachste Grundbegriffe der Topologie. Springer, 1932).
- Alexandroff, P. S., Fedorchuk, V. V.** (1978). The Main Aspects in the Development of Set-Theoretical Topology. *Russian Math. Surveys*. **33**: 1-53.
- Alexandroff, P. S., Urysohn, P. S.** (1929). Mémoire sur les espaces topologiques compacts. *Ver. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*. **14**: 1-96.
- Anacona, M. P.** (2017). La teoría de conjuntos y los números reales en el estructuralismo de Bourbaki. Tesis Doctoral. Cádiz: Universidad de Cádiz.
- Arboleda, L. C.** (1979). Les debuts de l'École topologique soviétique: notes sur les lettres de Paul S. Alexandrov et Paul S. Urysohn à Maurice Fréchet. *Archive for History of Exact Sciences*. **32**: 73-89.
- Arboleda, L. C.** (1980a). Contribution à l'étude des premières recherches topologiques d'après l'œuvre et la correspondance de Maurice Fréchet. Tesis de Doctorado. École d'Hautes Études en Sciences Sociales. Paris.
- Arboleda, L. C.** (1980b). Las primeras investigaciones sobre los espacios topológicos. *Sociedad Colombiana de Matemáticas. X Coloquio Colombiano de Matemáticas, Paipa*.
- Arboleda, L. C.** (1982). Consideraciones metodológicas sobre el aporte de M. Fréchet a la topología general. *Actualités mathématiques: actes du VIe Congrès du regroupement des mathématiciens d'expression latine*. Paris: Gauthier-Villars; 493- 499.
- Arboleda, L. C.** (1984). Sobre los fundamentos de la teoría de los espacios compactos. *Asclepio, Madrid*. **35**: 123-157.
- Arboleda, L. C.** (2007). Modalidades constructivas y objetivación del cuerpo de los reales. *Revista Brasileira de Historia da Matemática, Especial n°1*: 215-230.
- Arboleda, L. C., Recalde, L. C.** (2003). Fréchet and the Logic of the Constitution of Abstract Spaces from Concrete Reality. *Synthese*. **134**: 245-272.
- Arboleda, L. C.** (2012). Objetos Matemáticos y Prácticas Constitutivas: La Génesis de la Topología de Vecindades. *Notae Philosophicae Scientiae Formalis*. **1**: 32-44.
- Arhangel'skii, A. V. y Dranishnikov, A. N.** (1997). P. S. Alexandroff and Topology: an introductory note. *Topology and its Applications*, **80**: 1-6.
- Aull, C. E., Lowen, R.** (eds.) (1997). *Handbooks of the History of General Topology*. Vol.1. Dordrecht: Springer.
- Bourbaki, N.** (1971). *Topologie Générale*. Vol. 1, chapitres 1 à 4. Paris: Hermann.
- Bourbaki, N.** (1974). *Éléments d'histoire des mathématiques*. Paris: Hermann.
- Cartan, H.** (1937a). Théorie des filtres. *C. R. Acad. Sci. Paris*. **205**: 595-598.
- Cartan, H.** (1937b). Filtres et ultrafiltres. *C. R. Acad. Sci. Paris*. **206**: 777-779.
- De Risi, V.** (ed.) (2015). *Mathematizing Space. The Objects of Geometry from Antiquity to the Early Modern Age*. Heidelberg: Birkhäuser.
- Dieudonné, J.** (1981). *History of functional analysis*. Amsterdam: North-Holland.
- Dugac, P.** (1984). Histoire des espaces complets. *Revue d'Histoire des Sciences*. **37**: 3-28.
- Dugac, P.** (2003). *Histoire de l'Analyse. Autour de la notion de limite et de ses voisinages*. Paris: Vuibert.
- Epple, M., Herrlich, H., Husek, M., Preuß, G., Purkert, W., Scholz, E.** (2002). *Zum Begriff des topologischen Raumes*. En: Felix Hausdorff: Gesammelte Werke, Bd. II. Berlin: Springer.
- Epple, M.** (2006). Felix Hausdorff's Considered Empiricism. En J. Ferreirós, J. Gray (Ed) (2006): *The Architecture of Modern Mathematics* (263-289). New York: Oxford University Press.
- Fréchet, M.** (1904). Généralisation d'un théorème de Weierstrass. *C. R. Acad. Sci. Paris*. **139**: 848-850.
- Fréchet, M.** (1906). Sur quelques points du calcul fonctionnel. *Rendiconti Circolo Mat. Palermo*. **22**: 1-74.
- Fréchet, M.** (1928). *Les Espaces Abstraits et leur théorie considérée comme introduction à l'Analyse Générale*. Paris: Gauthier-Villars.
- Fréchet, M.** (1933). *Notice sur les travaux scientifiques de Maurice Fréchet*. Paris: Hermann.
- Fréchet, M.** (1941). L'analyse générale et la question des fondements. En: Gonseth, F. (ed). (1941). *Les entretiens de Zurich sur les fondements et la méthode des sciences mathématiques*. Zurich: Leemann. p. 53-81.
- Fréchet, M. et Halbwachs, M.** (1924). *Les calcul de probabilités à la portée de tous*. Paris: Dunod.
- Hadamard, J.** (1912). *Le calcul fonctionnel. Enseignement mathématique*. **14**: 5-18.
- Halbwachs, M.** (1906). *Leibniz. Collection Les Philosophes*. Paris: Delaplane. Segunda edición aumentada: Paris, Mellotée, 1928. Tercera edición: Paris, Mellotée, 1950.
- Hausdorff, F.** (1914). *Grundzüge der Mengenlehre*. Leipzig: Veit.
- Hilbert, D.** (1897). *Zum Gedächtnis an Karl Weierstrass*. En D. Hilbert (1970). *Gesammelte Abhandlungen* (vol. 3). Berlin: Springer-Verlag.
- Hilbert, D.** (1899). *Grundlagen der Geometrie*. Leipzig: Teubner.

- Hilbert, D.** (1902): Über die Grundlagen der Geometrie. Göttinger Nachrichten. **4**: 233-241.
- Hilbert, D.** (1902a). The Foundations of Geometry. Chicago: Open Court.
- Hilbert, D.** (1903): Über die Grundlagen der Geometrie. Math. Annalen. **56**: 381-422.
- Hirsch, G.** (1978). Topologie. En J. Dieudonné. (Ed). Abrégé d'Histoire des mathématiques. **2**: 211-266. Paris: Hermann.
- James, I. M.** (Ed) (1999). History of Topology. Amsterdam: Elsevier.
- Katz, V., Parshall, K. H.** (2014). Taming the Unknown: A History of Algebra from Antiquity to the Early Twentieth Century. Princeton: Princeton University Press.
- Koetsier, T. Y Van Mill, J.** (1999). By their fruits ye shall know them: Some remarks on the interaction of general topology with other areas of mathematics. En I. M. James (1999): 199-239.
- Majer, U.** (2006). The relation of Logic and Intuition in Kant's Philosophy of Science, particularly Geometry. Western Ontario series in Philosophy of Science. **70**: 47-66.
- Manheim, J.** (1964). The Genesis of point set Topology. Rinehart: Oxford.
- Purkert, W.** (2008). The Double Life of Felix Hausdorff/Paul Mongré. Math. Intelligencer. **30**: 36-50.
- Pier, J.-P.** (1980). Historique de la notion de compacité. Historia Mathematica. **7**: 425-443.
- Rodríguez, L.** (2015). Frigyes Riesz and the emergence of general topology. The roots of 'topological space' in geometry. Archive for History of Exact Sciences, **69**: 55-102.
- Scholz, E.** (1996). Logische Ordnungen im Chaos: Hausdorff's frühe Beiträge zur Mengenlehre. En E. Brieskorn (Ed) (1966). Felix Hausdorff zum Gedächtnis, Vol. 1, Aspekte seines Werkes (107-134). Wiesbaden: Vieweg.
- Séguier, J. A. de** (1904). Théorie des groupes finis. Éléments de la théorie des groupes abstraits. Paris: Gauthier-Villars.
- Tarrés Freixenet, J.** (1994). La topología general desde sus comienzos hasta Hausdorff. Historia de la matemática en el siglo XIX (2ª. Parte). Madrid: Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Taylor, A. E.** (1982). A Study of Maurice Fréchet: I. His Early Work on Point Set Theory and the Theory of Functionals. Archive for History of Exact Sciences. **27**: 233-295.
- Taylor, A. E.** (1985). A Study of Maurice Fréchet: II. Mainly about his Work on General topology, 1909-1928. Archive for History of Exact Sciences. **34**: 279-380.
- Weil, A.** (1937). Sur les espaces à structure uniforme et sur la topologie générale. Publications de l'Institut de mathématiques de l'Université de Strasbourg. Paris: Hermann.
- Weyl, H.** (1949). David Hilbert and his Mathematical Work. Bulletin of American Mathematical Society. **50**: 612-654.
- Zalamea, F.** (2009). Filosofía sintética de las matemáticas contemporáneas. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

Agradecimientos - Acknowledgements

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Volumen 41, números 158, 159, 160 y 161.

El comité editorial de la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales expresa sincero agradecimiento a los revisores que han participado durante el año 2017, en la valoración crítica de los artículos presentados a la revista, por su valiosa contribución, esfuerzo y tiempo dedicado.

Adriana Gracia
Adriana Pico Villalobos
Alan Giraldo
Alfonso Castro
Ana Cristina Bolaños
Andrés Navia
Andrés Reyes Lega
Alf Onshuus
Ángela Zapata
Armando Sarmiento Santos
César Vinasco
Camilo Montes
Carlos Trujillo Solarte
Carlos Vásquez López
Clara González Rugeles
Claudia García García
Constanza Ricaurte
Edmundo Grisard
Emel Vega
Emilse Gómez
Enrique Combatt Caballero
Enrique Pardo Pérez
Euaggelos Zotos
Euriel Millán Romero
Fanor Mondragón
Farid Chejne
Frey Jaramillo
Gabriel Gómez
Gabriel Pinilla-Agudelo
Germán Vargas Cuervo
Gloria León
Gloria Vásquez
Gonzalo Correal Urrego
Guillermo Páramo

Hans Kreuzer
Héctor Ramírez Chávez
Hernan Asorey
Horacio Torres Sánchez
Homero San Juan-Vergara,
Idael Blanco
Ignacio Briceño Balcázar
Ignacio Montoya
Jaime Luna Carrascal
Januario Varela
Jean Cortisoz
Jesús Morán Campaña
Jesús Rangel
Juan Díaz Merlano
Juan Sanabria Arenas
Juan Silva Tamayo
Johann Martínez
Jhon Olaya Florez
Johny Montaña
José Diestra
José Duque
José Pabón Caicedo
José Tavera
Juan Parra
Liliana Giraldo
Luciano Nascimento
Ludy Pabón
Luis Echeverri López
Luis Gaspar
Luz González de Bashan
Luz Restrepo
María Noguera Santamaría
Mario Quijano
Marcos Rubinstein Scharf

Manuel Franco Cortes
Manuel Chaur
María Martínez Cordón
Margarita María Toro Villegas
Marco Suárez Herrera
Marlon Peláez Rodríguez
Maximiliano Ujevic
Miguel Angel Sanjuan
Miguel Parra
Natalia Pardo
Néstor Ardila
Nikolay Zverkov
Pablo Abad Mejía
Raúl Joya Olarte
Rafael Baquero Parra
Rami Grossberg
Ramón Giraldo Henao
Ramón López Pérez
Ricardo Callejas
Rocío García Urueña
Rosario Medel
Sonia Quintanilla Quintero
Susana Fiorentino
Sven Sachs
Sven Zea Sjorberg
Thomas Dittrich
Townsend Peterson
William Aperador
Wilman Delgado
William Posada Restrepo
Yaneth Muñoz Saba
Yolima Torres Ruiz
Ziv Arbeli

Índice de autores - Index of Authors

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Volumen 41, números 158, 159, 160 y 161.

-
- Adolfo A. Pájaro-Payares, 361
Adriana Cuéllar, 456
Alberto Gómez-Gutiérrez, 418
Alex José Ferrero-Ronquillo, 94
Alfredo José Torres-Benítez, 119
Andrea Polanco F., 200
Andrés F. Peña-Cruz, 187
Andrés Orlando Garzón, 154
Ángela María Amaya-Villarreal, 490
Ángela María Wilches-Flórez, 71
Angie Patiño-Montoya, 187
Apolinar Figueroa-Casas, 511
Armando Sarmiento-Santos, 36
Arturo Acero P., 200
Aura Lucía Prieto-Wilches, 370
Beatriz Parra, 435
Bladimir Azdrúbal Ramón-Valencia, 479
C.A. Parra-Vargas, 154
Carlos A. Ríos R., 230
Carlos Alberto Andrade-Amaya, 94
Carlos Andrés Bonilla-Ovallos, 107
Carlos Arturo Parra-Vargas, 36
Carolina Ángel-García, 213
Catalina Lopera-Doncel, 326
Cindy Viviana Vanegas-Castillo, 71
Clara Helena Sánchez B., 381
Claudia C. Pérez-Jaramillo, 64
Claudia Elizabeth Torres-Pineda, 79
Concepción J. Puerta, 456
Daniel Barragán, 349
David A. Landínez, 154
Diego Mauricio Cabrera-Amaya, 326
Edgardo Meza-Fuentes, 361
Edier Soto-Medina, 59
Eduar A. Becerra, 22
Eduardo A. Espinosa-Fuentes, 361
Eduardo López, 435
Edwin Orlando Lopez, 192
Enrique Peña-Salamanca, 338
Erika Yazmin Soto-Gómez, 36
F. López-Suspes, 292
Fabián Andrés Franco-Candela, 281
Fabio. E. Fajardo-Tolosa, 154
Fernández-Alonso JL, 319
Fernández-Hilario R, 319
Fernando A. Zapata, 306
Fernando Tinoco, 119
Flor Inés Quiñones, 435
Francisco Villa-Navarro, 192
Fredy Colpas-Castillo, 361
Fredy L. Dubeibe, 22
G.A. González, 292
Gabriel Antonio Pinilla-Agudelo, 41
Gabriel Peña-Rodríguez, 154
Gladys Reinoso-Florez, 192
Gloria Patricia Cardona-Gómez, 6
Guillermo A. González, 22
Guillermo Barreto, 281
Héctor Eduardo Esquivel, 119
Héctor Mora-Páez, 94
Henry Carvajal-Perico, 94
Hermann León-Rincón, 94
Hernando del Castillo-Sabogal, 447
Horacio Serna, 349
Horacio Torres-Sánchez, 174
Humberto Sarria Zapata, 127
J. Gregorio Portilla, 244
Jacobo Robledo-Buriticá, 213
Jairo Castaño-Zapata, 213
Jairo Roa-Rojas, 154
Jennifer Laverde- Múnera, 221
Jesús Manuel Vásquez-Ramos, 192
JI Reina, 292
Joaquín Pelkowski, 370
Johana Rodríguez-Ruiz, 361
Johanna Gutiérrez-Vargas, 6
John J. Méndez-Arteaga, 64
John M. González, 456
Jonathan Guerrero, 30
Jorge Alonso Cárdenas-León, 71
José Daniel Pabón-Caicedo, 79
José Iván Mojica-Corzo, 51
José Wilfredo López-Cruz, 326
Josefina Huespe, 298
Julian L. Cuevas Roza, 127
Juliana Barbosa, 435
Liliana Alarcón, 435
Luis Carlos Arboleda, 528
Luis Carlos Mantilla F., 230
Luis Miguel Renjifo, 490
Manuel Antonio Franco, 435
Maribel Yesenia Vásquez-Valderrama, 326
Mercedes Díaz-Lagos, 168
Mónica Patricia Valencia-Rojas, 511
Mónica Sandoval-Ramos, 326
Noboru Takeuchi, 30
Nohora Efigenia Gutiérrez-Hoyos, 192
Ofelia Mejía-Egas, 51
Oscar José Mesa, 107
Oscar M. Castellanos A., 230
Pamela Rubio-Pereda, 30
Paul Andrés Gómez-Sandoval, 51
Paulo César Pulido-López, 41
Pedro Nel Alvarado-Torres, 221
Reynel-Rodríguez C., 319
Robert Lücking, 59
Roberto Fernández-Maestre, 361
Rodrigo Meléndrez-Amavizca, 168
Román Castañeda, 466
Segundo Agustín Martínez-Ovalle, 168
Sergio Bolaños-Cuéllar, 370
Tatiana Espitia-Ortiz, 447
Tatiana Toro, 521
Walter Murillo-Arango, 64
Walter Stühmer, 274
Wilmer Fernando Sánchez-Peralta, 64
Wilson Ruiz- Machado, 221
Wilson Uriel Sierra, 447
William Javier Mora-Espinosa, 479

Índice de artículos - Index of Articles

Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Volumen 41, números 158, 159, 160 y 161.

Ciencias Biomédicas Biomedical Sciences

Terapia génica en enfermedades neurodegenerativas y demencia post infarto cerebral: perspectiva de traslación Gene therapy in neurodegeneration and dementia post-stroke	6
El canal de potasio dependiente de voltaje Kv10.1 y el cáncer The voltage-dependent potassium channel Kv10.1 and cancer	274
Estructura genética de poblaciones indígenas del occidente colombiano mediante el uso de marcadores ligados al cromosoma Y Genetic Structure of Indigenous Groups in West Colombia by Using Y-Chromosome Markers	281
Caracterización genética de los primeros pobladores de los Andes nororientales en Colombia Genetic characterization of the first settlers of the North-Eastern Andes in Colombia	418
Prevalencia y periodicidad del virus sincitial respiratorio en Colombia Prevalence and periodicity of respiratory syncytial virus in Colombia	435
Protocolo unificado de digestión y descalcificación de tres métodos de extracción de ADN de restos humanos Unified digestion and decalcification protocol for three DNA extraction methods in human remains	447
La respuesta inmunitaria adaptativa en la infección crónica por <i>Trypanosoma cruzi</i> Adaptive immune response in chronic infection by <i>Trypanosoma cruzi</i>	456

Ciencias Físicas Physical Sciences

On the influence of the mass definition in the stability of axisymmetric relativistic thin disks Influencia de la definición de masa en la estabilidad de discos relativistas axialsimétricos	22
Simulaciones computacionales para estudiar el nanomundo Computational simulations to study the nanoworld	30
Síntesis del superconductor $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-\delta}$ mediante sinterización por descarga luminiscente anormal Synthesis of the $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-\delta}$ superconductor through abnormal glow discharge sintering	36
Production and structural, electrical and magnetic characterization of a composite material based on powdered magnetite and high density polyethylene Producción y caracterización estructural, eléctrica y magnética de un material compuesto a base de magnetita pulverizada y polietileno de alta densidad	154
Properties of the HPHT diamond when used as a soft X-Ray detector Propiedades del diamante HPHT cuando es usado como detector de rayos x de baja intensidad	168

**Ciencias
Físicas**
Physical Sciences

La interdisciplinariedad en la ciencia del rayo	
The interdisciplinarity of lightning	174
Chaotic and regular motion around objects with quadrupolar and octupolar deformation.	
Movimiento caótico y regular alrededor de objetos con deformación cuadrupolar y octupolar. ...	292
The impact of kinetic observables: sticking coefficient and thermal programmed desorption spectra on dynamic schemes in two dimensional lattice gas	
El impacto de los observables: coeficiente de sticking y espectros de desorción térmica programada sobre los esquemas dinámicos en un gas de red en dos dimensiones	298
¿Requiere la interferencia de la superposición de ondas como principio físico?	
Does interference require the wave superposition as physical principle?	466
Caracterización térmica, mecánica y morfológica de fibras naturales colombianas con potencial como refuerzo de biocompuestos	
Thermal, mechanical, and morphological characterization of Colombian natural fibers as potential reinforcement for biocomposites	479
Evaluación del estado trófico de El Salitre, último humedal urbano de referencia en Bogotá	
Evaluation of the trophic state of El Salitre, the last urban reference wetland of Bogotá	41
Trazabilidad de los registros de mamíferos en el marco del otorgamiento de licencias ambientales para proyectos de hidrocarburos en Colombia	
Traceability of mammal records in the framework of environmental licensing of oil projects in Colombia	51
A new species of <i>Rhytidhysterion</i> (Ascomycota: Patellariaceae) from Colombia, with a provisional working key to known species in the world	
Una nueva especie de <i>Rhytidhysterion</i> (Ascomycota:Patellariaceae) de Colombia, con una clave provisional para las especies conocidas en el mundo	59
Diferenciación temporal del perfil genético de la población de gatos de Cali, Colombia, en las últimas décadas	
Temporal differentiation of the genetic profiles of the cat population in Cali, Colombia, during the last decades	187
Aspectos bioecológicos de la ostra de agua dulce <i>Acostaea rivoli</i> (Mollusca, Etheriidae) en el río Opia, Tolima, Colombia	
Bioecological aspects of the freshwater oyster <i>Acostaea rivoli</i> (Mollusca, Etheriidae) in the Opia river, Tolima, Colombia	192
Biodiversidad íctica de los mares colombianos: riqueza amenazada	
Fish biodiversity of Colombian seas: threaten richness	200
Environmental Scanning Electron Microscopy of the Infection Process of <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>passiflorae</i> in Seedlings of Passionfruit (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>)	
Microscopía electrónica de barrido ambiental del proceso de infección de <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>passiflorae</i> en plántulas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>)	213

**Ciencias
Naturales**
Natural Sciences

**Ciencias
Naturales**
Natural Sciences

Temporal dynamics of coral and algal cover and their drivers on a coral reef of Gorgona Island, Colombia (Eastern Tropical Pacific)
Dinámica temporal de la cobertura de corales y algas y sus impulsores en un arrecife coralino de Isla Gorgona, Colombia (Pacífico Tropical Oriental) 306

Redescripción del zapotillo rosado del Perú, *Phragmotheca sidereotricha* Fern. Alonso (Malvaceae), y notas sobre su hábitat y distribución
Redescription of the pink zapotillo of Perú, *Phragmotheca sidereotricha* Fern. Alonso (Malvaceae), and notes on its habitat and distribution 319

Diversidad florística y cambios en las coberturas de la cuenca del humedal Jaboque y el parque La Florida (Bogotá, Colombia)
Floristic diversity and changes in land cover of the Jaboque wetland basin and La Florida Park (Bogotá, Colombia) 326

El complejo Bostrychietum: la flora de algas asociadas a las raíces del manglar en la costa pacífica colombiana
The complex Bostrychietum: The algal flora associated to mangrove roots in the Pacific coast of Colombia 338

Patterns in nature: more than an inspiring design
Patrones en la naturaleza: más que un diseño inspirador 349

Evolución del riesgo de extinción y estado actual de conservación de las aves de Colombia
Evolution of extinction risk and current conservation status of Colombian birds 490

Determinación de los factores de vulnerabilidad en lagunas de alta montaña: una aproximación
An approach to identifying vulnerability factors in high mountain lagoons 511

**Ciencias
Químicas**
Chemical Sciences

Acción antioxidante conjunta de extractos etanólicos de *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* y *Siparuna sessiliflora*
Joint antioxidant action of ethanolic extracts of *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* and *Siparuna sessiliflora* 64

Variaciones de la acidez durante la incubación de las muestras en pruebas de demanda biológica de oxígeno
Variations of acidity during incubation of samples in biological oxygen demand tests 71

Efecto del contenido de oxígeno y metano en la cinética de oxidación de un carbonizado de carbón
Effect of oxygen and methane on the oxidation kinetics of coal char 221

Effect of particle size and oxidant concentration in the yield of humic acids from mineral coal using response surface methodology
Efecto del tamaño de partícula y la concentración del oxidante en el rendimiento de ácidos húmicos obtenidos de carbón mineral proveniente de Colombia usando la metodología de superficie de respuesta 361

**Ciencias
de la Tierra**
Earth Sciences

Variabilidad intraestacional de la precipitación en Colombia y su relación con la oscilación de Madden-Julian	
Intraseasonal variability of precipitation in Colombia and its relationship with the Madden-Julian oscillation	79
Sobre cambios en la línea de costa entre 1735 y 2011 y la subsidencia en la Bahía de Cartagena de Indias, Colombia	
On coastline changes between 1735 and 2011 and subsidence in Cartagena Bay, Colombia	94
Validación de la precipitación estimada por modelos climáticos acoplados del proyecto de intercomparación CMIP5 en Colombia	
Validation of the precipitation estimated by CMIP5 climate models in Colombia	107
Composición física y química de los suelos fluviovolcánicos de Armero Tolima, Colombia	
Physical and chemical composition of fluviovolcanic soils in Armero, Tolima, Colombia	119
Petrogénesis de venas de cuarzo y cianita en rocas metapelíticas de la formación Silgará, región central del macizo de Santander en los Andes colombianos	
Petrogenesis of quartz-kyanite veins in metapelitic rocks of the Silgará Formation, central Santander Massif (Colombian Andes)	230
Los inicios de la meteorología de Gustav Hellmann	
The dawn of meteorology	370

Matemáticas
Mathematics

Computation of matrices and submodular functions values associated to nite topological spaces	
Calculo de matrices y funciones submodulares asociadas a espacios topologicos nitos	127
Caldas y el gran cometa de 1807	
Caldas and the great comet of 1807	244
Género y matemáticas. Colombianas pioneras en el campo de las matemáticas	
Gender and mathematics. Colombian pioneering women in mathematics	381
Analysis and geometry on non-smooth domains	
Análisis y geometría en dominios irregulares	521
Introducción de la topología de vecindades en los trabajos de Fréchet y Hausdorff	
Introduction of the topology structure in Fréchet and Hausdorff works	528
Comentarios bibliográficos	393
Vida de la Academia	394
In Memoriam	
Un 'Héroe de la Salud': Hernando Groot Liévano	137
José Ignacio Martínez Rodríguez	139
In Memoriam de un gran Maestro, Jorge Martínez Collantes	253
Víctor Albis González	255
Doctor Fernando Cervigón Marcos: historia de una vida dedicada a la ictiología y al humanismo en latinoamericana	399

Enfoque y alcance

La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales es una publicación periódica trimestral, multidisciplinaria, que tiene como objetivo dar a conocer artículos inéditos de investigación de alta calidad.

La Revista publica artículos científicos en las áreas de ciencias biomédicas, ciencias del comportamiento (filosofía, psicología, antropología, sociología), ciencias físicas, ciencias naturales (biología, microbiología, botánica, zoología, ecología) ciencias químicas, ciencias de la tierra (geología, medio ambiente) y matemáticas.

Está reseñada en varios índices nacionales e internacionales tales como Actualidad Iberoamericana, Agris, CIRS (*International Center for Scientific Research*), *Current Mathematical Publications*, EBSCO, Dialnet, Historia Mathematica, Index Kewensis, Latindex, Mathematical Reviews, MathSciNet (on line data base), PERIODICA, SciELO Colombia, Online Computer Library Center – OCLC, *Zentralblatt für Mathematik*, *Zoological Record*. Nacionalmente se encuentra reseñada en la base de datos Publindex de Colciencias.

El primer número se publicó en diciembre de 1936, año de creación oficial de la Academia, bajo la dirección del doctor Jorge Álvarez Lleras y hasta el momento se han editado 41 volúmenes.

Proceso de evaluación por pares

Se recibirán solo los manuscritos que cumplan con todos los requisitos que se mencionan en las indicaciones a los autores. Los manuscritos serán evaluados en primera instancia por el editor y los editores asociados de la disciplina correspondiente.

Cada manuscrito será enviado a dos especialistas en el tema, quienes evaluarán y enviarán sus recomendaciones. Este proceso de revisión tendrá una duración aproximada de 90 días.

Los pares académicos pueden adoptar alguna de las siguientes tres opciones: a) aceptación sin modificaciones; b) aceptación con correcciones; c) no aceptación. En caso de desacuerdo de los pares, el original será enviado a un tercer evaluador.

En cualquiera de los casos, el autor será informado y deberá realizar las modificaciones correspondientes en el manuscrito y enviarlo dentro de las cuatro semanas siguientes. Además, deberá enviar un documento en el que responderá, una a una, todas las observaciones señaladas por los evaluadores.

Cuando el autor demore más de 30 días en responder a las sugerencias de los evaluadores, se entenderá que los

autores han retirado el manuscrito en su forma actual y, si se remitiera de nuevo, el Comité Editorial de la Revista lo considerará como un nuevo trabajo.

Los trabajos que sean aceptados se considerarán como propiedad de la **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales** y podrán ser reproducidos total o parcialmente por la Revista.

La Revista no se hace responsable de los contenidos científicos ni de las implicaciones legales de los artículos publicados.

Ética de la publicación

La **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (RACCEFYN)**, acoge la normatividad internacional definida por el *Committee on Publication Ethics* (COPE). Algunas normas se pueden consultar en:

COPE guidelines on good publication practice:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1753164/>

COPE code of conduct:

<https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

Ver documento pdf (anexo)

Política de acceso abierto

La página web de la Revista (www.raccefyn.co) permite el acceso libre y abierto a los artículos con el fin de contribuir a la visibilidad, el acceso y la difusión de la producción científica.

Directrices para autores

Tipología de los artículos publicados en la Revista

Artículos originales o artículos de investigación científica y tecnológica: documento que presenta, de manera detallada, los resultados originales de proyectos de investigación. La estructura generalmente utilizada contiene los siguientes apartes importantes: introducción, metodología, resultados, discusión, conclusiones y referencias.

Artículos cortos: documentos breves que presenta resultados originales preliminares o parciales de una investigación científica o tecnológica y, que, por lo general, requieren de una pronta difusión.

Artículos de posesión o artículos de revisión de tema: documentos resultantes de una investigación donde se analizan crítica y sistemáticamente, a la par que se integran los resultados de investigaciones publicadas o no publicadas, centradas en un campo de la ciencia o la tecnología, con el fin de dar cuenta de sus avances y sus tendencias de

desarrollo. Presentar un artículo de revisión constituye un requisito para que un Académico pueda posesionarse como miembro correspondiente o de número.

Cartas al editor: posiciones críticas, analíticas o interpretativas sobre los documentos publicados en la revista que, a juicio del Comité Editorial, constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia.

Comentarios bibliográficos: son escritos críticos breves sobre libros recientes publicados en las disciplinas de interés de la Revista.

Corrección de los autores

Fe de erratas

Indicaciones a los autores

Los autores deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Los trabajos presentados deberán ser originales y de alto nivel, escritos en inglés o español, y que traten sobre aspectos relacionadas con las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Todos los trabajos aceptados quedarán como propiedad permanente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de manera que la misma podrá publicarlos en formato físico y electrónico, incluyendo la internet. (Ver transferencia derechos de autor).
2. El autor de la correspondencia aceptará mediante comunicación escrita firmada que el manuscrito es un trabajo original, que no ha sido publicado por ningún medio, ni está siendo evaluado para aparecer en otra publicación impresa o electrónica y que, además, ha sido aceptado por todos los autores para su publicación en la Revista. Igualmente, que los derechos de autor no han sido cedidos a nadie con anterioridad. (Ver formatos declaración originalidad, conflicto de intereses y sesión de derechos de autor en la página web de la Revista: <http://www.racefyn.co>).
3. La participación de los autores en el trabajo deberá ser suficiente como para aceptar públicamente la responsabilidad por los aportes de cada cual. El orden de los autores en la publicación deberá ser una decisión compartida de los coautores, quienes deberán ser capaces de explicar el orden en el que aparecen sus nombres. Finalmente, el manuscrito debe contener un párrafo en el que se detallará la contribución de cada uno de los autores.
4. De acuerdo con el ICMJE, todos los colaboradores que no cumplan con los criterios de autoría o hayan realizado contribuciones menores deberán aparecer en la sección de *Agradecimientos*, pero no serán citados como autores. Las ayudas económicas y materiales deberán aparecer en los *Agradecimientos*.

5. La terminología debe regirse por el Código Internacional de Nomenclatura Botánica. La terminología física, química o bioquímica, deberá seguir las normas del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada (IUPAC). Deberán usarse las abreviaturas internacionales convencionales y las unidades del Sistema Internacional (SI). Los nombres científicos deberán ser escritos en la forma recomendada por el *Internacional Code of Botanical Nomenclature* y por el *International Committee on Systematics of Prokaryotes* o ICSP.

Envío y presentación del manuscrito

Los artículos deberán ser enviados a través de <http://www.racefyn.co>

El manuscrito incluirá además de la página correspondiente al título, el resumen, las referencias, las tablas y sus títulos, las leyendas de las figuras, todos los cuales deberán estar escritos en procesador de palabras Word a doble espacio, usando la fuente Arial de tamaño 12, sin justificar el texto. No debe olvidarse el usar la numeración en todo el manuscrito. Extensión máxima de 30 páginas, entre 5.000 a 8.000 palabras.

Los manuscritos deben incluir la siguiente información:

1. Una hoja de presentación, página en Word con los nombres y apellidos (si desea poner el segundo apellido, debe ir separado por un guion) de todos los autores (sin cargos, ni grado académico), filiaciones y correos electrónicos. Agregar aquí un párrafo en el que los autores declaren su aporte personal al manuscrito bajo consideración.
2. Título completo del manuscrito en español e inglés (máximo 30 palabras, 165 caracteres)
3. Título corto (máximo 10 palabras, 50 caracteres)
4. Resumen en español e inglés que no supere 250 palabras.
5. Palabras clave en español y en inglés que no superen en número a seis, separadas por punto y coma.
6. Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico, dirección electrónica y código ORCID. *Open Research and Contributor ID* (Identificación del Investigador y del colaborador abierto)
7. Direcciones electrónicas de todos los coautores y códigos ORCID *Open Research and Contributor ID*.
8. Texto, referencias y tablas en un mismo archivo en conjunto con las leyendas de las figuras en formato jpg o tiff en archivos individuales y con una resolución mayor a 300 dpi (*dots per inch*).
9. El número máximo de tablas y figuras es de 7. Para enviar información adicional se puede emplear la sección de *Información suplementaria* debidamente referenciada en el texto: tabla 1S, 2S, etc.; figura 1S, 2S, etc.

Estructura del manuscrito

Introducción: se debe mostrar el marco teórico en el cual se inscribe el tema de la investigación, propósito del artículo y justificación del estudio indicando, además, la delimitación de la pregunta problema.

Materiales y métodos: se describirán los sujetos de observación o experimentación, aparatos o dispositivos y metodologías empleadas en el estudio. La descripción de la metodología debe tener referencias de los métodos usados.

Análisis estadístico: señalar los métodos estadísticos utilizados y la manera de analizar los datos.

Resultados: deben presentarse en secuencia lógica, con las tablas y las figuras acompañadas de una explicación y análisis de las mismas.

Discusión: debe hacerse énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio, contrastando los resultados con la información pertinente disponible en literatura actualizada y relacionar las conclusiones con los objetivos propuestos. Se deben incluir las implicaciones y limitaciones de los hallazgos y comparar las observaciones relevantes con las de otros estudios.

Los resultados y la discusión pueden presentarse también en forma combinada, en cuyo caso la sección se denominará *Resultados y Discusión*.

Conclusiones: deberán responder al objetivo de la investigación reportada e incluir el planteamiento de objetivos futuros a seguir en la línea de investigación.

Referencias: todas las referencias bibliográficas se insertarán en el texto y deberán llevar siempre entre paréntesis el apellido del primer autor y el año de publicación. Si el apellido del autor o autores forma parte de la estructura formal de la frase, sólo se pondrá entre paréntesis la fecha; por ejemplo: Pérez y Ribas (1996). Si no forma parte de la estructura formal del texto, por ejemplo: ... como indica Barbudo (2003). Si son solo dos autores se pondrán los dos apellidos, si son más de dos sólo se pondrá el apellido del primero añadiendo “*et al.*”

La Revista ACCEFYN utiliza las normas del Manual APA, estas emplean un sistema de citación de autor-fecha.

Lista de referencias. Se organizan alfabéticamente y se citan de la siguiente manera:

Artículo de revista

Apellido, A. A., Apellido, B. B., Apellido, C. C. (Año). Título del artículo. Nombre de la revista, **volumen:** pp-pp.
Ejemplo

Kay, M.A., Glorioso, J.C., Naldini, L. (2001). Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nat Med.*, **7:** 33-40.

Libro

Apellido, A. A. (Año). Título. Ciudad, País: Editorial
Ejemplo

Salisbury, F. B., Ross, C. M. (1994). *Fisiología Vegetal*. Guadalajara, México: Grupo editorial Iberoamérica.

Capítulo de libro

Apellido, A. A., Apellido, B. B. (Año). Título del capítulo o la entrada. En A. A. Apellido. (Ed.), Título del libro (pp. xx-xx). Ciudad, País: Editorial.

Ejemplo

Guba, E.G. (1983). Criterios de credibilidad en la investigación naturalista. En J. Jimeno Sacristán y A. Pérez Gómez. *La enseñanza: Su teoría y su práctica* (148-165). Madrid, España: Akal.

Revista en línea

Apellido, A. A. (Año). Título del artículo. Nombre de la revista, **volumen** (número): pp-pp. Disponible en: <http://www...>
Ejemplo

Cintrón, G., Lugo, A. E., Pool, D. J., Morris, G. (1978). Mangroves of arid environments in Puerto Rico and adjacent islands. *Biotropica*, **10** (2): 110-121. Disponible en: <http://www.jstor.org/pss/2388013>.

Gutiérrez-Vargas, J.A., Moreno, H., Cardona-Gómez, G.P. (2016). Targeting CDK5 post-stroke provides long-term neuroprotection and rescues synaptic plasticity. *J Cereb Blood Flow Metab.* doi: 10.1177/0271678X16662476

Citas páginas web

Anotar la fecha de la consulta

Ejemplo

Guiry, M.D., Guiry, G.M. (2015). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponible en <http://www.algaebase.org>., accedida entre enero y junio de 2015.

Tablas y figuras: las tablas y cuadros se denominarán tablas y llevarán numeración arábica de acuerdo con el orden de aparición. El título correspondiente se coloca en la parte superior de la tabla y las notas en la inferior. Los símbolos para unidades deben aparecer en el encabezamiento de las columnas. Si es necesario exponer alguna información, utilizar las letras minúsculas del alfabeto según orden de aparición en la respectiva tabla: a, b, c, d, e, etc.

Las fotografías, gráficos, dibujos y esquemas se denominan todos como Figuras, las cuales se enumeran según el orden de aparición y sus leyendas se describen en hoja separada. Si se trata de micro-fotografías debe indicarse el aumento utilizado. Las personas, o sus nombres, no deben ser identificables en las fotografías pero se requiere permiso escrito para su publicación.

Cuando las tablas y figuras hayan sido tomadas de revistas o libros, sean impresos o electrónicos, se debe especificar la fuente y adjuntar autorización de la respectiva publicación para su reproducción.

Agradecimientos: podrán ser expresados a personas o entidades que hayan ayudado en la realización del trabajo. Se mencionarán las personas y el tipo de ayuda aportada, así como las entidades, instituciones o fundaciones que hayan financiado o suministrado materiales. En caso de proyectos de investigación financiados será suficiente con mencionar el código de registro y la entidad, institución o fundación que lo apoyó económicamente.

Consideraciones

Los trabajos aceptados son propiedad de la Revista ACCEFYN y podrán ser reproducidos total o parcialmente por la Revista.

La Revista no se hace responsable de los contenidos científicos ni de las implicaciones legales de los artículos publicados.

Corrección de estilo y publicación del manuscrito

Una vez aceptados los artículos, éstos se enviarán a corrección orto-tipográfica. Se usará la herramienta de control de cambios de Word, en la cual quedará el registro de cada una de las sugerencias llevadas a cabo y los comentarios o dudas para que el autor o los autores aprueben y contesten apropiadamente.

La versión corregida deberá ser enviada nuevamente para su aprobación definitiva en un plazo mínimo de 48 horas. El manuscrito deberá ir con una carta al editor, informando cuales correcciones fueron procesadas. El editor le informará al autor la fecha aproximada y el número del volumen en el que el trabajo será publicado.

Rectificaciones y correcciones de errores

Las rectificaciones sobre la información suministrada por parte de los autores, se harán en el número inmediatamente posterior al anuncio de las mismas y serán responsabilidad de los mismos autores. La Revista se encargará de publicar una nota aclaratoria a manera de erratas. En el caso que sean necesarias mejoras y corrección de errores orto-tipográficos, de manejo visual de la información o de imprecisiones involuntarias, el o los autores podrán comunicarse al correo de la Revista para que puedan efectuarse en las versiones electrónicas de la Revista.

Falsificación de artículos

Si en el proceso editorial se encuentra falsificación, omisión de datos, duplicidad del artículo o plagio, se devolverá el original al autor con la debida notificación a su institución patrocinadora, centro de investigación o universidad.

Conflicto de intereses

Si los autores o coautores, editores o revisores (evaluadores) tienen algún conflicto de intereses que pueda de alguna manera influir en la transparencia u objetividad en el proceso de revisión por pares y publicación, tal conflicto debe ser declarado.

Los conflictos de interés más evidentes son los llamados conflictos financieros, resultado de relaciones entre empleador-empleado, financiaciones y patentes, así como también honorarios, consultorías, investigación pagada por compañías que dependen de los resultados investigativos, entre otros.

También existen los conflictos personales resultado de amistades o animadversiones, competencias académicas y pasiones en el campo intelectual o moral (por ej. parientes en una compañía que se beneficiaría de los resultados que se van a publicar, el uso de los resultados publicados para promoción inmediata basada en el artículo publicado, creencias religiosas que estén en conflicto directo con la investigación que se va a publicar, entre otros).

Transferencia de derechos de autor

En caso de que el artículo enviado sea aprobado para publicación, el autor principal en nombre propio y en el de los coautores o el autor principal y los coautores deben ceder los derechos de autor del artículo mencionado a la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), excepto en los siguientes casos:

- a) Los autores y coautores retienen el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, presentaciones orales y distribuir a algunos colegas impresos de su propio trabajo publicado, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente a la revista de ACCEFYN. También pueden publicarse el título del trabajo, resumen, tablas y figuras del trabajo en los correspondientes sitios web de autores o de sus empleadores, también dando el crédito correspondiente a la revista de ACCEFYN.
- b) Si el trabajo ha sido realizado por contrato, el empleador del autor tiene el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, reproducir o distribuir en formato impreso el trabajo publicado, de una manera segura y para el uso exclusivo de sus empleados.
- c) Si a la revista de ACCEFYN se le solicitara permiso individual por terceras personas para usar, imprimir o publicar específicamente artículos ya publicados, deberá obtenerse el permiso expreso del autor y coautores del trabajo o del empleador con excepción del uso en salones de clase, bibliotecas o reimpresos en un trabajo colectivo.
- d) La revista ACCEFYN se reserva el posible uso en la portada de la revista, de figuras sometidas con los manuscritos.
- e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de ACCEFYN.

Aviso de derechos de autor

Los autores certifican que son los creadores originales del trabajo y declaran que:

- a) Los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal y, en los casos que así lo requieran, se cuenta con las debidas autorizaciones de quienes poseen los derechos patrimoniales.
- b) Todos los materiales que se presentan están totalmente libres de derecho de autor y, por lo tanto, el autor de la correspondencia se hace responsable de cualquier litigio o reclamación relacionada con derechos de propiedad intelectual, exonerando de responsabilidad a la **Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**.
- c) El trabajo es inédito y no será enviado a otras revistas mientras se espera la decisión de los editores de tal revista. El primer autor declara que no existe un posible conflicto de intereses en este manuscrito.
- d) En caso de ser publicado, los autores del artículo transfieren todos los derechos de autor a la Revista ACCEFYN, sin cuyo permiso expreso no podrá reproducirse ninguno de los materiales publicados en la misma.
- e) A través de este documento, y si el trabajo es aceptado para su publicación, la Revista ACCEFYN asume los derechos para editar y publicar los artículos en índices nacionales, e internacionales o bases de datos con fines académicos y científicos no comerciales en medios impresos, electrónicos, Internet en texto completo o cualquier otro medio conocido o por conocer con respeto de los derechos de autoría.

Transferencia de derechos de autor

En caso de que el artículo enviado sea aprobado para publicación, el autor principal en nombre propio y en el de los

coautores o el autor principal y los coautores deben ceder los derechos de autor del artículo mencionado a la revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ACCEFYN), excepto en los siguientes casos:

- a) Los autores y coautores retienen el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, presentaciones orales y distribuir a algunos colegas impresos de su propio trabajo publicado, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente a la revista de ACCEFYN. También se pueden publicar el título del trabajo, el resumen, las tablas y las figuras del trabajo en los correspondientes sitios web de autores o de sus empleadores, dando también el crédito a la revista de ACCEFYN.
- b) Si el trabajo ha sido realizado por contrato, el empleador del autor tiene el derecho de revisar, adaptar, preparar trabajos derivados, reproducir o distribuir en formato impreso el trabajo publicado, de una manera segura y para el uso exclusivo de sus empleados.
- c) Si a la revista de ACCEFYN se le solicitara permiso individual por terceras personas para usar, imprimir o publicar específicamente artículos ya publicados, deberá obtenerse el permiso expreso del autor y de los coautores del trabajo o del empleador con excepción del uso en salones de clase, bibliotecas o reimpresos en un trabajo colectivo.
- d) La revista ACCEFYN se reserva el posible uso en la portada de la revista, de figuras sometidas con los manuscritos.
- e) Ningún otro derecho, además del de derechos de autor, debe ser reclamado por la revista de ACCEFYN.

Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico incluidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros ni serán usados con otros fines.

Lista de comprobación para la preparación de envíos

Como parte del proceso de envíos, los autores están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

1. Carta de sometimiento del artículo, donde informa que todos los autores han leído, aprueban y declaran que:

- Están de acuerdo con el manuscrito remitido, en su contenido, organización y presentación.
- El trabajo es original, el cual no ha sido publicado previamente y, de igual forma, no se someterá a otra revista hasta conocer la respuesta del Comité Editorial.

- En caso de ser aceptado el manuscrito, se autoriza su publicación bajo las normas establecidas por la revista.
- El documento no cuenta con texto o figuras que tengan reserva de derechos y si los tuviere se cuenta con la autorización escrita para su reproducción.
- El documento no contiene citas o transcripciones de obras que carezcan de referencias bibliográficas debidamente citadas.
- Se incluye un párrafo donde los autores declaran cuál fue el aporte de cada uno de ellos al documento.
- Esta carta firmada debe ser adjuntada en el paso 4 del presente proceso de envío en formato PDF.

2. Presentación

- Una página en Word con los nombres y apellidos (nombre completo, apellido y segundo apellido separado por un guion) de todos los autores (sin cargos, ni grados académicos), filiaciones y correos electrónicos.
- Título completo del manuscrito en español e inglés.
- Título corto.
- Nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico y dirección electrónica.
- Direcciones electrónicas de todos los coautores.
- Texto, referencias y tablas en un mismo archivo junto con las leyendas de las figuras.
- Figuras en formato jpg o tiff en archivos individuales.

3. Estructura del artículo

Se incluyen

- El resumen en español e inglés (Abstract).
- Las palabras clave (máximo 6) en español e inglés (Key words).
- Introducción.
- Materiales y métodos.
- Resultados y Discusión para comunicaciones cortas.
- Discusión.
- Agradecimientos a colaboradores y a las instituciones u organizaciones que financiaron la investigación.
- Referencias.
- Declaración de conflicto de interés.

4 Información adicional: figuras

- Se incluyen como archivo independiente, cada figura en página aparte.
- Se incluyen las leyendas correspondientes al final del original.

Estas figuras deberán ser cargadas en el paso 4 del presente proceso de envío en formato JPEG o PNG.

5. Información adicional: tablas

- Se incluyen al final del original, elaborados en el modelo más sencillo de tablas del programa Word.
- Se ordenan secuencialmente.
- Se incluye el título correspondiente.

6. Referencias

- Se han seguido las normas de la revista de ACCEFYN en las instrucciones a los autores.

7. Abreviaturas:

- Se introducen entre paréntesis la primera vez que se usan.

8. Nomenclatura:

- Los nombres de género y especie están en letra cursiva.
- Los nombres de microorganismos, plantas y animales se escriben completos la primera vez que se citan, en el título y en el resumen.

9. Ética

- Todos los autores conocen y aprueban la presentación del manuscrito, su contenido, la autoría y el orden de la autoría.
- El manuscrito ha sido postulado solo a la Revista ACCEFYN y no se encuentra postulado ni ha sido publicado en otra revista.
- Si el artículo incluye la investigación en humanos o con animales se han seguido las directrices de la Declaración de Helsinki y el uso de primates no humanos en la investigación.
- Se incluye los agradecimientos a las instituciones u organizaciones que financiaron la investigación.

10. Revisores

Se suministran indicaciones sobre tres o cuatro posibles revisores con sus nombres completos, formación académica y direcciones de correos electrónicos

Focus and Scope

The Journal of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences (ACCEFYN) is a multidisciplinary quarterly journal that publishes high quality original research articles.

The journal publishes scientific articles in the disciplines of Biomedical Sciences, Behavioral Sciences (philosophy, psychology, anthropology, and sociology), Natural Sciences (Biology, Botany, Microbiology, Zoology, Ecology), Physical Sciences, Chemical Sciences, Earth Sciences (Geology, Environmental Sciences) and Mathematics. It is included in several national and international directories and indexing services like Actualidad Iberoamericana, Agris, CIRS (International Center for Scientific Research), Current Mathematical Publications, EBSCO, Dialnet, Historia Mathematica, Index Kewensis, Latindex, Mathematical Reviews, MathSciNet (on line data base), PERIODICA, SciELO Colombia, Online Computer Library Center – OCLC, Zentralblatt für Mathematik, Zoological Record, RLG. Within the Colombian citation system, the journal is register in Publindex (The Journal index Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias).

The journal's website (www.raccefyn.co) allows free and open access to full-text articles with the purpose of contributing to the visibility, access and dissemination of Colombian scientific production.

The first issue was published in December 1936, year of the official creation of the National Academy, led by Jorge Álvarez Lleras. The journal has been edited 41 volumes since then.

Peer Review Process

Manuscripts that meet the author guidelines are welcomed. Manuscripts will be assessed by the editor in chief and associate editors' expert in the topic of the manuscript.

If the editors see fit, the manuscript will be sent to, at least, two peers knowledgeable in the topic of the manuscript. It is estimated the peer reviewing process will take around 90 days.

The reviewers can decide to a) accept the article without any modification, b) accept it if some recommendations are addressed, or c) reject the manuscript. If peers exhibit contradicting assessments, an extra reviewer will be approached to settle disparities and reach a final decision.

The corresponding author will be notified of the results of the peer review process. The author should return an amended version, along with a documenting reporting the response to the reviewers, four weeks after receiving the results of the reviewers.

If the author does not send these documents past the suggested time, the journal will assume the manuscript has been withdrawn. If the author send these documents past the suggested time, the journal takes the manuscript as a new submission and the reviewing process starts anew.

Accepted manuscripts are considered property of the journal. Thus, the journal is free to reproduce an entire manuscript or parts of it.

The journal is not responsible of the contents of the published manuscripts and related legal implications.

Publication Ethics and Publication Malpractice Statement

The journal abides by the *Committee on Publication Ethics* (COPE) standards. These guidelines can be consulted in the following links:

COPE guidelines on good publication practice:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1753164/>

COPE code of conduct:

<https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

See document pdf (annex)

Open access policy

The journal enables open access to published articles via its website (www.raccefyn.co) to contribute to the dissemination, accessibility, and visibility of scientific work.

Author Guidelines

Research articles. A manuscript documenting the results of at least one experiment/study by following the following structure: introductions, methodology, results, discussion, conclusions, and references. Extra material can be reported as an appendix.

Brief articles. Manuscripts reporting the results of novel experiments/study in a succinct manner and that require prompt diffusion.

Inaugural articles or Review articles. Manuscripts reporting literature reviews on a topic. It is one requirement for the Academics to be admitted to the Academy

Letters to the editor. Manuscripts proposing critical comments, novel analysis or re-interpretations of published work.

Book reviews. Short manuscripts reporting a review of a book recently published within an area of interest to the journal.

Authors correction

Errata

Information for Authors

Authors should bear in mind the following

1. Submitted manuscripts must be original and of outstanding quality. They can be written in Spanish or English in an area related to the **Exact, Physical or Natural Sciences**. All works accepted will remain permanent property of the Colombian Academy of Exact, Physical and Natural Sciences so that such work can be published in hard copy or in electronic format, including web posting. (See transference of authors' rights).
 2. The corresponding author will be required to state that the work is original, has not been published elsewhere, is not under review elsewhere and that co-authors agree as to the version submitted. Equally important, the corresponding author will be asked to state whether copyrights have been passed on to other parties. (See form for declaration of originality, conflicts of interest, and authors' rights).
 3. It is assumed all listed authors have contributed substantially to the manuscript. Their order in the manuscript should be reached by agreement. Finally, each author's contribution should be explicitly stated. Collaborators whose contribution was not substantial (see above) should be mentioned in the 'acknowledgments' section (see <http://www.icmje.org/> for a reference). Financial supports and grants should also be mentioned in this section.
 4. The terminology used in the manuscript should follow that used in specific areas (we therefore recommend authors to consult specialised references in this regards as to their own fields of research). Scientific names should follow recommendations such as those stated, for example, by the International Code of Botanical Nomenclature and the International Committee on Systematics of Prokaryotes.
2. Complete manuscript title in Spanish and English.
 3. Short Title
 4. Abstract in Spanish and English using 250 or less words
 5. Key words in Spanish and English not containing more than 6 words.
 6. Name of the author responsible for all correspondence, including his complete address, telephone number and email address.
 7. Electronic addresses of all the co-authors.
 8. Text, bibliographical references, and tables in the same file together with the legends for all the figures.
 9. Figures must be in jpg or tiff format.

Submission and Presentation of manuscript

The manuscripts should be submitted using the website of the Academy: <http://www.acefyn.co>

The manuscript, including the title page, the abstract, tables with titles, graphics with descriptive legends, must be prepared in Microsoft WORD processor in double space. Use Arial font size 12 without justification. Do not forget to number the entire manuscript. Maximum extension 30 pages, 5,000 to 8,000 words.

The manuscripts must contain the following information:

1. A page in Microsoft Word with the names and surnames (complete name, first and second family name separated by a hyphen) of all the authors (without positions, and without academic degrees), academic affiliations and email addresses.

Manuscript Structure

Introduction: there must be a clear description of the theoretical framework of the theme of the investigation, purpose of the article and justification of the study, indicating the limitation of the problem question.

Materials and methods: a description of the object of observation or experimentation, instruments or devices and the methodology employed in the study.

Statistical analysis: indicate the statistical methods used and the data analysis employed.

Results: these must be presented in a logical sequence, with the accompanying tables and figures with their respective explanations and analysis.

Discussion: emphasis must be given to those aspects of the study which are new and important, contrasting the results with the relevant information available in the recent literature and relate the conclusions with the proposed objectives. Mention must be made of the implications and limitations of the results found and a comparison of the relevant observations with that of other studies. The results and the discussion may also be presented in a combined form.

Conclusions: an up to date survey of the investigation. Mention can be made here of future objectives of the same line of investigation.

References: these citations must be verifiable. When a citation is made, indicate in the text the author, the year and page in the following way: last name of the first author and year of publication Pérez (1996). If there are only two authors use both last names Perez and Ribas (1996). If there are more than two authors use only the first last name followed by *et al.*

Reference list: alphabetically and following the examples

Journal article

Last name, A. A., Last name, B. B., Last name, C. C. (Year). Title. Journal name, **volume:** pp-pp.

Example

Kay, M.A., Glorioso, J.C., Naldini, L. (2001). Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nat Med.*, **7**: 33-40.

Book

Last name, A. A. (year). Title, City, Country: Publisher

Example

Salisbury, F. B., Ross, C. M. (1994). *Fisiología Vegetal*. Guadalajara, México: Grupo editorial Iberoamérica.

Book chapter

Last name, A. A., Last name, B. B. (Year). Chapter title. In A. A. Last name. (Ed.), *Book title* (pp. xx-xx). City, Country: Publisher.

Example

Guba, E.G. (1983). Criterios de credibilidad en la investigación naturalista. En J. Jimeno Sacristán y A. Pérez Gómez. *La enseñanza: Su teoría y su práctica* (148-165). Madrid, España: Akal.

Journal on line

Last name, A. A. (Year). Article title. *Journal*, **volume** (issue): pp-pp. Available in <http://www...or DOI>

Examples

Cintrón, G., Lugo, A. E., Pool, D. J., Morris, G. (1978). Mangroves of arid environments in Puerto Rico and adjacent islands. *Biotropica*, **10** (2): 110-121. Available in: <http://www.jstor.org/pss/2388013>

Gutiérrez-Vargas, J.A., Moreno, H., Cardona-Gómez, G.P. (2016). Targeting CDK5 post-stroke provides long-term neuroprotection and rescues synaptic plasticity. *J Cereb Blood Flow Metab.* doi: 10.1177/0271678X16662476

References web pages

Date of the access

Example

Guiry, M.D., Guiry, G.M. (2015). *AlgaeBase*. Worldwide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available in <http://www.algaebase.org>., accessed in June 2015.

Tables and graphics: The tables and frames are called tables and carry an Arabic numeration in accordance with the order in which they appear. The corresponding title is placed on the upper part of the table and notes are placed in the lower part. Symbols for unit measures must appear in the column headings. If it is necessary to display some information, use lower case letters from the alphabet according to the appearance of the table: a, b, c, d, e, etc.

Photographs, graphics, pictures, or sketches are named figures, are enumerated in order of appearance, and their legends must be written in a separate page. With respect

to microfiches, indicate the size of the augmentation used. People or their names should not be identifiable in photographs, unless written permission for their publication has been obtained.

When tables and figures have been taken from magazines or books, published in hard copy or electronically, specify the source and include the authorization for its reproduction from the respective publication.

Acknowledgments: These can be expressed to persons or entities who have aided in the realization of the work. Mention is made of persons and their type of aid provided, as well as to entities or institutions which have provided financial and material assistance. In case of investigative projects with financial support it suffices to mention the registry code and the entity, institution or foundation which provided the economic support.

Considerations

They will be published in the following issue to the announcement of the correction. They are responsibility of the authors. Errata are responsibility of the Journal.

Fabrication of evidence, data omission, duplicity of data or plagiarism will be penalized. The authors and their institutions, research center or university and sponsors will be notified.

Once the article has been accepted, it will undergo a style and format revision which will bring it to its definitive version. The authors will receive the galley proofs in PDF format for the correction of errors before its printing. The corrected version must be returned for final approval within a period of 48 hours. The manuscript must be accompanied with a letter to the editor informing him of the corrections that were carried out. The editor will inform the author of the date and volume number in which the publication will appear.

If the authors or co-authors, the editors or reviewers (evaluators) have some conflict of interest which may in any way influence the transparency and objectivity of the peer review process and publication, it must be so declared.

The most obvious conflicts of interest are those referred to as financial conflicts, which result between, employer-employee, investments, and patents, as well as honoraria, consulting, paid investigation by companies which depend on the investigative results, etc.

There also exist personal conflicts arising from friendships, animosity, academic competencies and passions in the moral or intellectual field (for example relatives in a company which will benefit from the results to be published, the use of the results for immediate promotion based on the published article, religious beliefs which are in direct conflict with the investigation that will be published, etc.).

Copyright Notice

Declaration of originality and transfer author's rights

The authors declare:

The published data and reference materials have been duly identified with their respective credits and have been included in the bibliographic notes and citations that have been so identified and that should it be required, I have all releases and permissions from any copyrighted material.

All material presented is free from any copyright and that I accept full legal responsibility for any legal claims relating to copyrighted intellectual property, fully exonerating from responsibility the **Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**.

This work is unpublished and will not be sent to any other journal while waiting for the editorial decision of this journal. I declare that there is no conflict of interest in this manuscript.

In case of publication of this article, all author's rights are transferred to the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, and so cannot be reproduced in any form without the express permission of it.

By means of this document, if the article is accepted for publication by the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, the Revista assumes the right to edit and publish the articles in national and international indices or data bases for academic and scientific use in paper, electronic, CD-ROM, internet form either of the complete text or any other known form known or to be known and non-commercial, respecting the rights of the authors.

Transfer of author rights

In case the article is approved for publication, the main author in representation of himself and his co-authors or the main author and his co-authors must cede the author rights

of the corresponding article to the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, except in the following cases:

The authors and co-authors will retain the right to revise, adapt, prepare derived works, oral presentations, and distribution to some colleagues of reprints of their own published work, if the corresponding credit is given to the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**. It is also permissible to publish the title of the work, summary, tables, and figures of the work in the corresponding web sites of the authors or their employers, also giving credit to the Revista.

If the work has been realized under contract, the author's employer has the right to revise, adapt, prepare derivative works, reproduce, or distribute in hard copy the published work, in a secure manner and for the exclusive use of his employees.

If the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales** were approached for permission by a third party for using, printing, or publishing specifically articles already published, the Revista must obtain the express permission of the author and co-authors of the work or of the employer except for use in classrooms, libraries, or reprinted in a collective work. The **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales** reserves the possible use in its front cover of figures submitted with the manuscripts.

No other right, other than the author's right, can be claimed by the **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**.

Privacy Statement

The names and e-mail addresses appearing in the journal will be used solely for the purposes explicitly therein expressed and by no means will they be supplied to third parties.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. Letter of submission, where it is stated that all authors have read and approved that:

- The submitted manuscript conforms in content, organization and presentation with established norms.
- The original article has not been previously published in any form nor has it been submitted to another journal nor will it be until an answer is received from the Editorial Committee.

- In the case the manuscript is accepted, it is then authorized to be published under the journal's norms.
- The document may not be published without authorization of all copyrighted texts and figures.
- The document is fully cited in a list of references.

2. Appearance

- The first page written in Word with names and surnames (complete name, first and second surnames separated by a hyphen) of all authors (without job titles or academic titles), affiliations and e-mail address.
- Complete title of the manuscript in Spanish and English.

- Short title.
- Name of person responsible for correspondence with their complete address, telephone number and electronic address.
- E-mail of all coauthors.
- Text, references and tables in the same file together with legends of the figures.
- Figures in jpg or tiff format.

3. Structure of the article

The following sections are to be included:

1. An abstract should be included in both Spanish and English.
2. Key words (no more than 6) should be included in both Spanish and English.
3. Introduction.
4. Materials and methods.
5. Results and Discussion for short communications.
6. Discussion.
7. Acknowledgments to collaborators and institutions and organizations which financed the research.
8. Declaration of conflict of interest.

4. Additional information: Figures

- Each figure is included in a separate page in jpg or tiff format
- Corresponding legends are included in a separate page
- Figures should be charged in JPG o PNG format

5. Additional information: Tables

- Tables are included on a separate page and are presented in a simple manner as a Word table
- Tables are ordered sequentially

6. References

Citations must follow the journal ACCEFYN's norms found in the authors' instructions

7. Abbreviations

The first use is introduced in parentheses

8. Nomenclature

- The generic and specific names are written in italics
- Names of micro-organisms, plants and animals are written out completely the first time that they are cited in the title and in the abstract.

9. Ethics and malpractice considerations

- All authors must know and approve of the form, content, authors, and the order of the authors
- An article that has been submitted to the journal ACCEFYN has not be submitted or published in any other journal.
- If the article includes research on human or animals have all authors read and followed the guiding principles of the Declaration of Helsinki and the use of non-human primates in the research?

10. Reviewers

List 3 or 4 possible reviewers with their complete names, academic background and e-mails.