

AVANCES

EN CIENCIAS E INGENIERÍAS

Editor

Cesar Zambrano, Ph.D.

Decano de la Escuela de Ciencias - Colegio de Ciencias e Ingeniería

Co-Editor

Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Coordinador de Biología

Consejo Editorial

Santiago Gangotena, Ph.D.
Canciller

Carlos Montúfar, Ph.D.
Vice Canciller, Decano Académico

Ximena Córdova, Ph.D.
*Decana de la Escuela de Ingeniería -
Colegio de Ciencias e Ingeniería*

Stella de la Torre, Ph.D.
*Decana del Colegio de
Ciencias Biológicas y Ambientales*

Ing. Fernando Romo, M.Sc.
*Coordinador
Ingeniería Civil*

María de Lourdes Torres, Ph.D.
*Vice Decana del Colegio de
Ciencias Biológicas y Ambientales*

Producción y Distribución

F. Javier Torres, Ph.D.

Editor de Producción

Fabián Luzuriaga y Julio Ibarra, M.Sc.
Distribución

Editores Asociados - USFQ

Carlos Montúfar, Ph.D.
Stella de la Torre, Ph.D.
Ximena Córdova, Ph.D.
F. Javier Torres, Ph.D.
Fausto Pasmay, M.Sc.
Carlos Marín, Ph.D.
Alexis Hidrobo, Dr.
Carlos Fabara, M.Sc.
Lucía Ramírez-Cárdenas, Ph.D.

Fernando Romo, M.Sc.
María de Lourdes Torres, Ph.D.
René Játiva, M.Sc.
Edison Bonifaz, Ph.D.
Julio Ibarra, M.Sc.
Darío Niebieskikwiat, Dr.
Carlos Valle, Ph.D.
Sonia Zapata, M.Sc.

Editores Asociados - Externos

Eric E. Dueno, Ph.D.
John G. Blake, Ph.D.
Bette A. Loiselle, Ph.D.
Theofilos Toulkeridis, Ph.D.
Cesar Costa, Ph.D.
Marcelo Albuja, M.Sc.
Robert Cazar, M.Sc.
Carlos Ventura, Ph.D., P.E., P.Eng.

Bainbridge College
University of Florida
University of Florida
Escuela Politécnica del Ejército
Escuela Politécnica Nacional
Escuela Politécnica Nacional
Escuela Superior Politécnica del Chimborazo
The University of British Columbia

Diseño e Impresión

G&R, Universidad San Francisco de Quito

Web Master

Jaime Páez

Avances en Ciencias e Ingenierías es una publicación científica y multidisciplinaria que publica trabajos originales producidos por investigadores de cualquier institución o país que deseen reportar resultados de alta calidad y relevancia en todas las áreas de las ciencias y las ingenierías, incluyendo trabajos en la interfase de varias disciplinas. *Avances en Ciencias e Ingenierías* tiene como propósito divulgar trabajos de investigación de importancia dirigidos a la comunidad científica local e internacional.

Guía para autores

Todos los manuscritos deben cumplir los lineamientos mínimos de esta guía, caso contrario serán devueltos a los autores para su corrección. Se recibirán manuscritos en formatos de Microsoft Word, OpenOffice Writer y LaTeX. No se aceptarán manuscritos enviados en formato PDF. Si está interesado en enviar su manuscrito en LaTeX, por favor comuníquese con el Comité Editorial de la revista para recibir el archivo de estilo. Los manuscritos con más de 2000 palabras serán considerados como *Artículos* y deben tener: (a) Título, nombres de los autores, afiliación institucional y direcciones postales; (b) Resumen y Abstract; (c) Introducción; (d) Metodología; (e) Resultados y Discusión; (f) Agradecimientos; (g) Referencias bibliográficas; (h) Leyendas de figuras y tablas. Los manuscritos con menos de 2000 palabras serán considerados *Comunicaciones Breves* y deben tener: (a) Título, nombres de los autores, afiliación institucional y direcciones postales; (b) Resumen y Abstract; (c) Texto –sin divisiones adicionales– (d) Agradecimientos; (e) Referencias bibliográficas; (f) Leyendas de figuras y tablas. Las figuras no deben incluirse en el archivo del manuscrito. El texto y las tablas van en un mismo archivo, mientras que las figuras serán enviadas en archivos separados. Si las figuras o tablas han sido previamente usadas, es responsabilidad del autor el obtener el permiso necesario.

Formato del Manuscrito

- El manuscrito deberá ser escrito usando un tipo de letra *Times New Roman* con un tamaño de letra de 11 puntos y a espacio seguido. Los márgenes deben ser de 30 mm a la izquierda y 15 mm a la derecha.
- El título debe ser conciso y directo, indicando los elementos claves. Debe ser escrito con un tamaño de letra de 12 puntos, en negrillas, centrado y sólo la primera palabra debe ser mayúscula.
- La afiliación completa de cada investigador debe ir asociada con su nombre por medio de superíndices y colocarse separada por una línea debajo de los nombres con un tamaño de letra de 10 puntos. El autor para correspondencia debe ir claramente identificado por un asterisco y se debe incluir su correo electrónico.
- Todo artículo deberá incluir como mínimo un resumen detallado en español y un abstract detallado en inglés. Cada uno será redactado en un párrafo continuo y no debe superar las 300 palabras.
- La introducción debe ser concisa y detallada, revisando literatura relevante y actual, y presentando antecedentes del estudio, datos sobre su importancia, justificación y objetivos.
- La primera vez que una especie de ser vivo sea mencionada, debe siempre ir primero su nombre científico (en cursiva), luego del cual se puede mencionar el nombre común (con formato de nombre propio).
- Las referencias en el texto deben ir numeradas secuencialmente y se colocarán al final de la oración correspondiente dentro de un corchete, ejemplos: [10], [10,15,22], [12-20]
- Las abreviaciones deberán usarse lo menos posible y no deberán permitir ambigüedad alguna. El significado de todas las abreviaciones deberá ser indicado la primera vez que se use la abreviación.
- Las tablas y figuras deberán estar citadas con números arábigos en el orden que aparezcan en el texto; ejemplos: Tabla 1; Tablas 1-3; Figura 1; Figuras 1,4; Figuras 1-3
- Cada tabla o figura debe tener su propia leyenda explicativa, la cual debe ser corta y comprensible sin hacer referencia al texto y será colocada debajo de la tabla o figura respectiva.
- La lista de referencias debe titularse: Referencias Bibliográficas; y debe ordenarse de acuerdo al orden de aparición en el texto del manuscrito y su formato seguirá los ejemplos detallados en:
<http://www.usfq.edu.ec/publicaciones/revistas/avances/>

Instrucciones para Figuras

Las figuras deben ser enviadas en alta resolución. Las fotografías en blanco y negro, fotografías a color y mapas y gráficos realizados en programas basados en raster (e.g. Photoshop, Gimp) deben ser enviadas en formato *.tiff de 1000 pixeles.

Envío del Manuscrito

Los manuscritos deben ser enviados al Editor, Cesar Zambrano, vía correo electrónico a la dirección: avances@usfq.edu.ec. Al enviar el manuscrito, los autores deben confirmar en su mensaje de envío que el manuscrito no ha sido publicado o sometido para publicación en otro sitio y que todos los autores han participado en el desarrollo del manuscrito, lo han leído y están de acuerdo con su envío.

Revisión del Manuscrito

Los manuscritos serán manejados por el Co-Editor y los Editores Asociados, quienes enviarán el manuscrito para evaluación por parte de revisores externos reconocidos (nacionales e internacionales) en cada área. Los autores del artículo pueden sugerir tres revisores apropiados (no ligados directamente al desarrollo del estudio reportado). Los principales criterios para la aceptación son originalidad, rigor científico, contexto, relevancia y seguimiento del estilo y formato requerido para la revista. Nuestro objetivo es indicar a los autores la decisión tomada en un tiempo máximo de ocho semanas luego del envío.

Pruebas de Imprenta y Publicación del Manuscrito

Las pruebas de imprenta serán enviadas al autor para correspondencia como un archivo PDF. Las pruebas revisadas y corregidas deben ser enviadas al Editor dentro de 15 días hábiles luego de su recepción. El autor para correspondencia recibirá vía correo electrónico un archivo PDF en alta definición de su artículo y 1 revista impresa para cada co-autor, entregada vía correo postal.

Avances en Ciencias e Ingenierías –ISSN 1390-5384–

Publicación semestral (Junio y Diciembre) de la Universidad San Francisco de Quito

Diego de Robles y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.

Telf. Ed. +593 2 297 1700 Ext. 1451 FAX +593 2 289 0070.

Email Comité Editorial: avances@usfq.edu.ec

<http://avances.usfq.edu.ec>

SECCIÓN A: CIENCIAS EXACTAS

- A1–A9** ■ Calculation of radar signals delay to second order in the frame of the General Relativity Theory / Cálculo del retardo de las señales de radar a segundo orden en el marco de la Teoría General de la Relatividad
J. Grefa, C. A. Marín
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. A1-A9
-
- A10–A18** ■ The Fundamental Group of a Group Acting on a Topological Space / El Grupo Fundamental de un Grupo que Actúa en un Espacio Topológico
B. Maldonado, J. Skukalek
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. A10-A18
-
- A19–A25** ■ On a class of embedded cubature formulae on the simplex / Sobre una clase de fórmulas de cubicación encajadas en el simplex
F. A. Costabile, L. Guzzardi
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. A19-A25

SECCIÓN B: CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

- B1** ■ Erratum: Rare birds in Ecuador: first annual report of the Committee of Ecuadorian Records in Ornithology (CERO). Published in *Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B24-B41* / Errata: Aves raras en Ecuador: primer informe anual del Comité de Registros Ecuatorianos en Ornitología (CERO). Publicado en *Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B24-B41*
J. F. Freile, R. Ahlman, D. M. Brinkuizen, P. J. Greenfield, A. Solano-Ugalde, L. Navarrete, R. S. Ridgely
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pag. B1
-
- B2–B5** ■ Expansion of the distributional range of some species of amphibians and reptiles in southwestern Ecuador / Ampliaciones del rango de distribución de algunas especies de anfibios y reptiles en el suroccidente de Ecuador
M. H. Yáñez-Muñoz, J. C. Sánchez L., K. López, E. Rea S., P. A. Meza-Ramos, L. A. Oyagata C., P. Guerrero
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B2-B5
-
- B6–B8** ■ Description of the advertisement call of *Noblella lochites* (Anura: Craugastoridae) / Descripción del llamado de advertencia de *Noblella lochites* (Anura: Craugastoridae)
D. Batallas R., J. Brito M.
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B6-B8
-
- B9–B12** ■ New data of the distribution of the Green-fronted Lancebill *Doryfera ludovicae* (Trochilidae) and of the Olive Finch *Arremon castaneiceps* (Emberizidae) in the province of El Oro, Ecuador / Nuevos datos de distribución del colibrí Pico Lanza Frentiverde *Doryfera ludovicae* (Trochilidae) y del Pinzón Oliváceo *Arremon castaneiceps* (Emberizidae) en la provincia de El Oro, Ecuador
G. M. Pozo-Zamora, C. Garzón, G. Echeverría-Vaca, K. León
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B9-B12
-
- B13–B18** ■ Nutritional evaluation of the sesame seed paste (*Sesamum indicum* L.) as replacement of the soybean paste in the growth of Common Quail (*Coturnix coturnix*) / Evaluación nutricional de la pasta de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) como sustituto de la pasta de soya en el crecimiento de codornices (*Coturnix coturnix*)
G. Chiriboga, E. Uzcátegui, R. de la Torre
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B13-B18
-
- B19–B27** ■ Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Ecuadorian fermented foods / Caracterización de las bacterias del ácido láctico aisladas de alimentos fermentados tradicionales del Ecuador
L. Guamán, S. Zapata, M. Serrano, G. Trueba
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B19-B27
-
- B28–B35** ■ Analysis of the site fidelity between male and female humpback whales, visiting the Esmeraldas coasts (Ecuador) / Análisis de la fidelidad de sitio entre machos y hembras de ballenas jorobadas que visitan las costas de Esmeraldas (Ecuador)
K. Rojas, J. Denkinger, V. Arahana, D. Dalgo, M. L. Torres
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B28-B35
-
- B36–B43** ■ Towards a shank description for Laurel *Cordia alliodora* in agroforestry systems in Bosque Protector Sumaco, Ecuador / Hacia una descripción de fuste para el Laurel *Cordia alliodora* en sistemas agroforestales en el Bosque Protector Sumaco, Ecuador
A. Cañadas, F. Vilčko, D. Rade, C. Zambrano, C. Molina
Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B36-B43

B44–B50 ■

Determination of the level of tolerance to salinity in *in vitro* conditions of the plants of tomate de árbol (*Solanum betaceum*) from different localities of the Ecuadorian highlands / Determinación del nivel de tolerancia a salinidad en condiciones *in vitro* de plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) provenientes de distintas localidades de la Sierra ecuatoriana

V. Jaramillo, V. Arahana, M. L. Torres

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B44-B50

B51–B59 ■

Terrestrial frogs in southern Andean ecosystems of Ecuador I: Two new species of *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) of the eastern versant / Ranas terrestres en los ecosistemas surandinos de Ecuador I: Dos nuevas especies de *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) de la ladera oriental

V. L. Urgilés, J. C. Sánchez-Nivicela, C. Nieves, M. H. Yáñez-Muñoz

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B51-B59

B60–B66 ■

Chemical and microbiological characterization of Ecuadorian homemade water kefir / Caracterización química y microbiológica del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano

M. Monar, I. Dávalos, S. Zapata, M. Caviedes, L. Ramírez-Cárdenas

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. B60-B66

SECCIÓN C: INGENIERÍAS

C1–C3 ■

Universidad San Francisco de Quito Faculty CO₂ emissions due to transportation during the Spring Semester 2014 / Cálculo de las emisiones de CO₂ perteneciente al rubro de transporte del personal docente y administrativo de la Universidad San Francisco de Quito durante el Segundo Semestre 2013-2014

L. Rivadeneira, J. Juncosa, K. Naciph, M. Cazorla

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. C1-C3

C4–C10 ■

Design of high performance concrete: high compressive strength, adequate workability and high resistance to erosion - abrasion for hydraulic works / Diseño de hormigones de alto desempeño: alta resistencia a la compresión, trabajabilidad adecuada y alta resistencia a la erosión - abrasión para obras hidráulicas

F. Yépez, F. X. Calderón

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. C4-C10

C11–C15 ■

TCAD Simulation for ultrathin body and buried oxide fully depleted silicon-on-insulator MOSFET: a comparison between COMSOL and Sentaurus / Simulación TCAD para un MOSFET de silicio en aislante, ultra fino con óxido enterrado y completamente agotado: una comparación entre COMSOL y Sentaurus

L. M. Prócel, L. Trojman

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. C11-C15

C16–C20 ■

Study of the use of modified atmospheres on the storage of “Sweetcrust pastry” (precooked mass) / Estudio del uso de atmósferas modificadas en el almacenamiento de “masa quebrada de dulce” (masa precocida)

P. Carrillo, R. Maldonado, A. Palomeque, J. Yugsi, L. Ramírez-Cárdenas

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. C16-C20

C21–C26 ■

A daily representation of Great Britain’s energy vectors: natural gas, electricity and transport fuels / Una representación diaria de los vectores energéticos de Gran Bretaña: gas natural, electricidad y combustibles para transporte

I. A. G. Wilson, A. J. R. Rennie, P. J. Hall, N. J. Kelly

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. C21-C26

C27–C37 ■

Design and Construction of a ROV (Remotely Operated Vehicle) Submarine USFQ / Diseño y Construcción de un ROV (Remotely Operated Vehicle) Submarino USFQ

N. Soria, D. Cabrera, P. Guerra

Avances en Ciencias e Ingenierías, 2014, Vol. 6, No. 1, Pags. C27-C37

Calculation of radar signals delay to second order in the frame of the General Relativity Theory

Cálculo del retardo de las señales de radar a segundo orden en el marco de la Teoría General de la Relatividad

Joaquín Grefa^{1*} y Carlos A. Marín¹

¹Universidad San Francisco de Quito - Colegio de Ciencias e Ingeniería.
Diego de Robles S/N, Cumbayá.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: valerio.grefa@estud.usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 03/01/2014. Aceptado/Accepted: 24/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

From the Schwarzschild metric, the light delay due to a gravitational field is calculated to second order approximation in the gravitational potential. We analyze the contribution of the second order terms for strong gravitational fields as the generated for black holes from stellar collapse and supermassive blackholes. Additionally, the angular dependence of the delay for a distant source as a pulsar is reviewed.

Keywords. general relativity, light deflection, Einstein, black hole, pulsar.

Resumen

Partiendo de la métrica de Schwarzschild se calcula el retardo de las señales de radar debido a un campo gravitacional en aproximación de segundo orden en el potencial gravitacional. La contribución de los términos de segundo orden es analizada en el caso de campos gravitacionales fuertes como los generados por agujeros negros resultado del colapso de estrellas y agujeros negros supermasivos. Adicionalmente, la dependencia angular del retardo para una fuente distante como un pulsar es revisada.

Palabras Clave. relatividad general, desviación de la luz, Einstein, agujero negro, pulsar.

Introducción

Uno de los experimentos que bien podría incluirse dentro del grupo de pruebas clásicas de la Teoría General de la Relatividad (TGR) es el retardo de las señales de radar. Este retardo está íntimamente relacionado con el experimento de desviación de los rayos de luz debido a un campo gravitacional y fue descubierto en 1964 por Irwin Shapiro [1] quien lo postuló como la cuarta prueba a la que debería ser sometida la TGR. Este fenómeno fue bautizado y es conocido como “Shapiro Delay” o “Retardo de Shapiro”.

La prueba de dicho retardo llegó de la mano con el desarrollo de la tecnología de los radares que en ese tiempo se utilizaban para detectar misiles soviéticos. Como Shapiro mismo lo reconoce, fue el avance en la tecnología lo que permitió que las señales de radar enviadas a planetas como Marte, Mercurio y Venus fueran detectadas a su regreso a la Tierra (una ventaja que Einstein no poseía en su época) [1–5].

De acuerdo con la TGR, una señal de radar enviada a través del sistema solar hacia un planeta o satélite sufre un retraso debido al campo gravitacional del Sol. En conjunción superior, es decir, cuando el planeta y la Tierra se encuentran en lados opuestos con el Sol en su centro, el retraso que sufre una señal de radar que pasa muy cerca del limbo del Sol en su viaje de ida y vuelta es [6, 7]:

$$\Delta T = \frac{4GM_{\odot}}{c^3} \left[\ln \left(\frac{4x_E x_P}{R_{\odot}^2} \right) + 1 \right] \quad (1)$$

donde M_{\odot} es la masa del Sol, $x_E = 1.5 \times 10^{11} m$ es la distancia de la Tierra al Sol, x_P es la distancia del Sol al planeta, y R_{\odot} es el radio del Sol. Tomando como ejemplo particular el planeta Mercurio con $x_P = 5.79 \times 10^{10} m$, la ecuación (1) predice un retardo de $\Delta T = 239.84 \mu s$.

Como se dijo anteriormente, la ecuación (1) es solo válida en conjunción superior, es decir, solo para una po-



sición específica. Sin embargo, es posible obtener una expresión general que considera las diferentes distancias entre el planeta y la fuente (la Tierra) tal como lo hace Will [5]:

$$\Delta T = \frac{4GM_{\odot}}{c^3} \ln \left[\frac{(r_E + \vec{x}_E \cdot \hat{n})(r_P - \vec{x}_P \cdot \hat{n})}{b^2} \right] \quad (2)$$

donde \vec{x}_P, \vec{x}_E son los vectores de posición del planeta y la Tierra con respecto al Sol, respectivamente. r_P, r_E son las distancias del Sol al planeta y a la Tierra, \hat{n} es un vector unitario en la dirección del rayo de luz de regreso a la Tierra, y b es la distancia de máxima aproximación del rayo de luz en relación al Sol. Haciendo las aproximaciones necesarias, es decir, $b \approx R_{\odot}$, $\vec{x}_E \cdot \hat{n} \approx r_E$, y $\vec{x}_P \cdot \hat{n} \approx -r_P$ obtenemos la ecuación (1).

En décadas posteriores a la postulación del experimento se realizaron varias medidas de alta precisión enviando señales de radar hacia diferentes objetivos. Como se mencionó anteriormente, se enviaron señales a Venus y Mercurio usando el radio-telescopio de Arecibo en Puerto Rico con el fin de detectar sus ecos. También se usaron satélites artificiales, como los Mariner 6, 7 y 9, Voyager 2, y las sondas Vikingo que fueron enviadas hacia Marte. Todas estas medidas confirmaron la predicción de la TGR dentro del 0.1 % [3, 4, 8, 9]. Sin embargo, el margen de error disminuyó enormemente a partir de los datos obtenidos por la nave Cassini en el año 2003 en su viaje cerca de Saturno, en el cual se pudo reportar que la predicción de la TGR concordaba con el valor medido dentro del 0.0012 % [10].

1 Cálculo del Retardo de las señales de radar a segundo orden

Como se ha visto, los resultados de la ecuación (1) son más que satisfactorios para el caso del sistema solar que es un régimen de campo gravitacional débil. Las relaciones (1) y (2) se obtienen usando una aproximación de primer orden en la métrica de Schwarzschild. En esta sección se procede a calcular el retardo de las señales de radar pero con términos de hasta segundo orden para conjunción superior. El cuadrado del elemento de arco en la métrica de Schwarzschild es [6, 7]:

$$(ds)^2 = c^2(d\tau)^2 = \gamma c^2(dt)^2 - \gamma^{-1}(dr)^2 - r^2(d\theta)^2 - r^2 \sin^2 \theta (d\phi)^2 \quad (3)$$

donde r, θ y φ son las coordenadas esféricas de un punto en el espacio y t es el tiempo coordenado medido por un observador remoto en reposo en dicho punto. $\gamma = 1 - \frac{2GM}{rc^2}$, donde M representa la masa que genera el campo gravitacional y G es la constante de gravitación universal. Para un rayo de luz, $ds = 0$. Tomando, $\theta = \pi/2$ (plano ecuatorial), la ecuación (3) se puede escribir

$$\gamma c^2 - \gamma^{-1} \left(\frac{dr}{dt} \right)^2 - r^2 \left(\frac{d\phi}{dt} \right)^2 = 0 \quad (4)$$

utilizando la regla de la cadena

$$r^2 \left(\frac{d\phi}{dt} \right) = r^2 \left(\frac{d\phi}{d\tau} \right) \left(\frac{d\tau}{dt} \right) \quad (5)$$

donde τ es el tiempo propio medido por un observador inmerso en el campo gravitacional.

Partiendo de la ecuación de la geodésica (ver referencia [7]):

$$\frac{d^2 x^\mu}{d\tau^2} + \Gamma_{\rho\sigma}^\mu \left(\frac{dx^\rho}{d\tau} \right) \left(\frac{dx^\sigma}{d\tau} \right) = 0$$

donde μ, ρ y σ pueden tomar los valores 0, 1, 2 y 3 ($x^0 = ct, x^1 = r, x^2 = \theta$ y $x^3 = \phi$), se puede demostrar fácilmente (haciendo en dicha ecuación $\mu = 0$ y $\mu = 3$) que

$$\frac{d\tau}{dt} = \frac{\gamma c^2}{E'}$$

y

$$\frac{d\phi}{d\tau} = \frac{J}{r^2}$$

donde E' es una constante que tiene dimensiones de energía por unidad de masa y J es el momento angular por unidad de masa.

Reemplazando las dos últimas expresiones en (5) obtenemos :

$$r^2 \left(\frac{d\phi}{dt} \right) = \frac{J\gamma c^2}{E'} \quad (6)$$

Definiendo $\sqrt{w} = \frac{c^2 J}{E'}$ (w es una constante porque J y E' son constantes), tenemos $\left(\frac{d\phi}{dt} \right)^2 = \frac{\gamma^2 w}{r^4}$, de manera que reemplazando en (4) se puede escribir

$$\gamma c^2 - \gamma^{-1} \left(\frac{dr}{dt} \right)^2 - \gamma^2 \frac{w}{r^2} = 0$$

Evaluando la última relación para $r = b$, siendo b la distancia de máxima aproximación del rayo de luz al Sol, se anula el segundo término. Entonces obtenemos

$$w = \frac{b^2 c^2}{\gamma_b} \quad (7)$$

En la expresión anterior $\gamma_b = \gamma|_{r=b} = 1 - \frac{2GM}{bc^2}$, de manera que:

$$\gamma^2 c^2 - \left(\frac{dr}{dt} \right)^2 - \frac{\gamma^3 b^2 c^2}{r^2 \gamma_b} = 0$$

Despejando el segundo término y sacando la raíz cuadrada del mismo

$$\frac{dr}{dt} = \gamma c \left(1 - \frac{b^2 \gamma}{r^2 \gamma_b}\right)^{1/2}$$

De la expresión anterior tenemos que

$$dt = \frac{dr}{c \gamma \left(1 - \frac{b^2 \gamma}{r^2 \gamma_b}\right)^{1/2}} \quad (8)$$

Utilizando la serie $(1 - x)^{-1} = 1 + x + x^2 + \dots$ escribimos γ y γ_b^{-1} conservando términos de hasta segundo orden

$$\gamma^{-1} \approx 1 + \frac{2GM}{rc^2} + \left(\frac{2GM}{rc^2}\right)^2 + \dots$$

$$\gamma_b^{-1} \approx 1 + \frac{2GM}{bc^2} + \left(\frac{2GM}{bc^2}\right)^2 + \dots$$

con lo cual

$$dt = \frac{dr \left(1 + \frac{2GM}{rc^2} + \left(\frac{2GM}{rc^2}\right)^2\right) r}{c \left[r^2 - b^2 \left(1 - \frac{2GM}{rc^2}\right) \left(1 + \frac{2GM}{bc^2} + \left(\frac{2GM}{bc^2}\right)^2\right)\right]^{1/2}}$$

ahora

$$\begin{aligned} & \left(1 - \frac{2GM}{rc^2}\right) \left(1 + \frac{2GM}{bc^2} + \left(\frac{2GM}{bc^2}\right)^2\right) \approx \\ & 1 + \frac{2GM}{bc^2} + \left(\frac{2GM}{bc^2}\right)^2 - \frac{2GM}{rc^2} - \left(\frac{2GM}{c^2}\right)^2 \frac{1}{rb} \\ & \approx 1 + \frac{2GM}{c^2} \left(\frac{1}{b} - \frac{1}{r}\right) + \left(\frac{2GM}{bc^2}\right)^2 \left(1 - \frac{b}{r}\right) \end{aligned}$$

con esta aproximación, el diferencial dt se puede escribir

$$dt = \frac{\left(1 + \frac{2GM}{rc^2} + \left(\frac{2GM}{rc^2}\right)^2\right) r dr}{c(r^2 - b^2)^{1/2} \left\{1 + \frac{2GM}{(r+b)c^2} \left[-\frac{b}{r} - \frac{2GM}{c^2 r}\right]\right\}^{1/2}}$$

Utilizando la serie $(1 + x)^{-1/2} \approx 1 - \frac{1}{2}x + \frac{3}{8}x^2 - \dots$ y conservando de nuevo sólo términos de hasta segundo orden se obtiene

$$\begin{aligned} & \left\{1 + \frac{2GM}{(r+b)c^2} \left[-\frac{b}{r} - \frac{2GM}{c^2 r}\right]\right\}^{-1/2} \\ & \approx 1 - \frac{GM}{(r+b)c^2} \left[-\frac{b}{r} - \frac{2GM}{c^2 r}\right] \\ & + \frac{3}{8} \left\{\frac{2GM}{(r+b)c^2} \left[-\frac{b}{r} - \frac{2GM}{c^2 r}\right]\right\}^2 - \dots \end{aligned}$$

que se reduce a

$$\begin{aligned} & \approx 1 + \frac{GMb}{(r+b)rc^2} + 2 \left(\frac{GM}{c^2}\right)^2 \frac{1}{r(r+b)} \\ & + \frac{3}{2} \left[\frac{GM}{(r+b)c^2}\right]^2 \left(\frac{b}{r}\right)^2 \end{aligned}$$

reemplazando en la expresión del diferencial del tiempo y conservando términos hasta segundo orden en $\frac{GM}{rc^2}$ tenemos

$$\begin{aligned} dt \approx & \frac{r dr}{c(r^2 - b^2)^{1/2}} \left(1 + \frac{2GM}{rc^2} + \left(\frac{2GM}{rc^2}\right)^2\right. \\ & + \frac{GMb}{(r+b)rc^2} + 2 \left(\frac{GM}{rc^2}\right)^2 \frac{b}{r+b} \\ & + 2 \left(\frac{GM}{c^2}\right)^2 \frac{1}{r(r+b)} \\ & \left. + \frac{3}{2} \left[\frac{GM}{(r+b)c^2}\right]^2 \left(\frac{b}{r}\right)^2\right) \quad (9) \end{aligned}$$

Debido a que se considera el tiempo que se demora la señal en ir desde la fuente al planeta o satélite y regresar, se debe sumar dos veces la misma integral, por lo que

$$\begin{aligned} t = 2 \int_b^{r^E} & \frac{r dr}{c(r^2 - b^2)^{1/2}} \left(1 + \frac{2GM}{rc^2} + \left(\frac{2GM}{rc^2}\right)^2\right. \\ & + \frac{GMb}{(r+b)rc^2} + 2 \left(\frac{GM}{rc^2}\right)^2 \frac{b}{r+b} \\ & + 2 \left(\frac{GM}{c^2}\right)^2 \frac{1}{r(r+b)} \\ & \left. + \frac{3}{2} \left[\frac{GM}{(r+b)c^2}\right]^2 \left(\frac{b}{r}\right)^2\right) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} + 2 \int_b^{r^P} & \frac{r dr}{c(r^2 - b^2)^{1/2}} \left(1 + \frac{2GM}{rc^2} + \left(\frac{2GM}{rc^2}\right)^2\right. \\ & + \frac{GMb}{(r+b)rc^2} + 2 \left(\frac{GM}{rc^2}\right)^2 \frac{b}{r+b} \\ & + 2 \left(\frac{GM}{c^2}\right)^2 \frac{1}{r(r+b)} \\ & \left. + \frac{3}{2} \left[\frac{GM}{(r+b)c^2}\right]^2 \left(\frac{b}{r}\right)^2\right) \quad (10) \end{aligned}$$

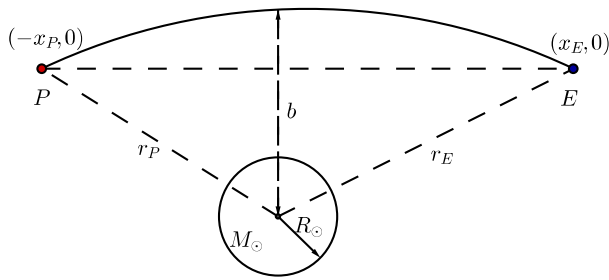


Figura 1: Geometría para el cálculo del retardo de las señales de radar a segundo orden para rayos de luz que se envían desde la Tierra E (en la posición $(x_E, 0)$) hacia un planeta o satélite P (en la posición $(-x_P, 0)$) en conjunción superior. M_\odot es la masa del Sol, R_\odot es el radio del Sol, r_E y r_P representan las distancias desde el Sol a la Tierra y desde el Sol al planeta, respectivamente.

Donde r_E y r_P son las distancias desde el Sol a la Tierra y al planeta (o satélite), respectivamente. Estas variables se pueden visualizar en la figura 1.

Las integrales que se presentan en (10) y sus respectivas antiderivadas son:

$$\int \frac{r dr}{(r^2 - b^2)^{1/2}} = (r^2 - b^2)^{1/2} + C$$

$$\int \frac{dr}{(r^2 - b^2)^{1/2}} = \ln \left(r + (r^2 - b^2)^{1/2} \right) + C$$

$$\int \frac{dr}{r(r^2 - b^2)^{1/2}} = \frac{1}{b} \arctan \left[\frac{(x^2 - b^2)^{1/2}}{b} \right] + C$$

$$\int \frac{dr}{(r + b)(r^2 - b^2)^{1/2}} = \frac{1}{b} \left(\frac{r - b}{r + b} \right)^{1/2} + C$$

Sin embargo, las siguientes integrales no poseen solución analítica

$$\int \frac{dr}{r(r + b)^i (r^2 - b^2)^{1/2}}$$

donde $i = 1, 2$.

Por otro lado, según la figura 1, el tiempo que la señal de radar tomará en realizar el viaje de ida y vuelta si no consideramos el campo gravitacional del Sol es:

$$t' = \frac{2x_E}{c} + \frac{2x_P}{c}$$

A partir de la figura 1, es evidente que

$$t' = \frac{2}{c} \left[(r_E^2 - b^2)^{1/2} + (r_P^2 - b^2)^{1/2} \right] \quad (11)$$

Usando las fórmulas (10) y (11), el retardo que experimentan las señales de radar es entonces $\Delta t = t - t'$. En otras palabras, es la diferencia entre el tiempo que se demora la señal en ir y regresar considerando el campo gravitacional del Sol (la geodésica correspondiente al espacio-tiempo curvo producido por el campo gravitacional del Sol) menos el tiempo que se demoraría despreciando la gravedad del mismo (una trayectoria recta correspondiente a un espacio-tiempo plano en ausencia de campos gravitacionales).

$$\begin{aligned} \Delta t = & \frac{2GM}{c^3} \left[\left(\frac{r_E - b}{r_E + b} \right)^{1/2} + \left(\frac{r_P - b}{r_P + b} \right)^{1/2} \right] \\ & + \frac{4GM}{c^3} \ln \left(\frac{r_E + (r_E^2 - b^2)^{1/2}}{b^2} \right) \\ & + \frac{4GM}{c^3} \ln \left(\frac{r_P + (r_P^2 - b^2)^{1/2}}{b^2} \right) \\ & + \frac{8(GM)^2}{c^5 b} \left(\arctan \left[\frac{(r_E^2 - b^2)^{1/2}}{b} \right] \right. \\ & \left. + \arctan \left[\frac{(r_P^2 - b^2)^{1/2}}{b} \right] \right) \\ & + \frac{4(GM)^2}{c^5 b} \left[\left(\frac{r_E - b}{r_E + b} \right)^{1/2} + \left(\frac{r_P - b}{r_P + b} \right)^{1/2} \right] \\ & + \frac{4(GM)^2 b}{c^5} \left[\int_b^{r_E} \frac{dr}{r(r + b)(r^2 - b^2)^{1/2}} \right. \\ & \left. + \int_b^{r_P} \frac{dr}{r(r + b)(r^2 - b^2)^{1/2}} \right] \\ & + \frac{3(GMb)^2}{c^5} \left[\int_b^{r_E} \frac{dr}{r(r + b)^2 (r^2 - b^2)^{1/2}} \right. \\ & \left. + \int_b^{r_P} \frac{dr}{r(r + b)^2 (r^2 - b^2)^{1/2}} \right] \quad (12) \end{aligned}$$

Los primeros dos términos pertenecen a la aproximación de primer orden, es decir,

$$\begin{aligned} \Delta t_1 = & \frac{4GM}{c^3} \ln \left(\frac{r_E + (r_E^2 - b^2)^{1/2}}{b^2} \right) \\ & + \frac{4GM}{c^3} \ln \left(\frac{r_P + (r_P^2 - b^2)^{1/2}}{b^2} \right) \\ & + \frac{2GM}{c^3} \left[\left(\frac{r_E - b}{r_E + b} \right)^{1/2} + \left(\frac{r_P - b}{r_P + b} \right)^{1/2} \right] \quad (13) \end{aligned}$$

Los términos correspondientes a la aproximación de segundo orden (sin tener en cuenta las cuatro últimas integrales) son:

$$\begin{aligned} \Delta t_2 = & \frac{8(GM)^2}{c^5 b} \left(\arctan \left[\frac{(r_E^2 - b^2)^{1/2}}{b} \right] \right. \\ & \left. + \arctan \left[\frac{(r_P^2 - b^2)^{1/2}}{b} \right] \right) \\ & + \frac{4(GM)^2}{c^5 b} \left[\left(\frac{r_E - b}{r_E + b} \right)^{1/2} + \left(\frac{r_P - b}{r_P + b} \right)^{1/2} \right] \end{aligned} \quad (14)$$

Finalmente, expresaremos los términos que contienen las integrales como la contribución final al cálculo del retardo de las señales de radar a segundo orden:

$$\begin{aligned} \Delta t_I = & \frac{4(GM)^2 b}{c^5} \left[\int_b^{r_E} \frac{dr}{r(r+b)(r^2 - b^2)^{1/2}} \right. \\ & \left. + \int_b^{r_P} \frac{dr}{r(r+b)(r^2 - b^2)^{1/2}} \right] \\ & + \frac{3(GMb)^2}{c^5} \left[\int_b^{r_E} \frac{dr}{r(r+b)^2(r^2 - b^2)^{1/2}} \right. \\ & \left. + \int_b^{r_P} \frac{dr}{r(r+b)^2(r^2 - b^2)^{1/2}} \right] \end{aligned} \quad (15)$$

Para saber cuál es la contribución de cada término al resultado final, tomaremos un ejemplo en particular. Para una señal enviada al planeta Mercurio, r_E es la distancia de la Tierra al Sol, r_P es la distancia del planeta Mercurio al Sol y en el caso en que el rayo de luz pase muy cerca del limbo del Sol tendríamos $b = R_\odot = 6.9551(4) \times 10^8$ [m] que es el radio del Sol [11]. Entonces se justifican las aproximaciones $r_E \approx x_E = 1.5 \times 10^{11}$ [m], $r_P \approx x_P = 5.79 \times 10^{10}$ [m] y $r_E, r_P \gg b$.

Como se mencionó anteriormente, el retardo de las señales de radar es la suma de tres términos:

$$\Delta t = \Delta t_1 + \Delta t_2 + \Delta t_I \quad (16)$$

donde Δt_1 corresponde a la aproximación a primer orden, Δt_2 corresponde a los términos de la aproximación a segundo orden sin incluir las integrales y Δt_I corresponde a los términos con las integrales que se calcularon numéricamente usando Mathematica. Entonces, para nuestro caso en particular:

$$\Delta t_1 \approx \frac{4GM}{c^3} \left[\ln \left(\frac{4x_E x_P}{R_\odot^2} \right) + 1 \right] \quad (17)$$

de manera que se recupera la ecuación (1) correspondiente al retardo de la señal de radar a primer orden.

En el caso particular del planeta Mercurio se obtiene

$$\Delta t_1 = 239.84342 \mu sec$$

Los términos de Δt_2 se pueden aproximar como:

$$\begin{aligned} \Delta t_2 = & \frac{8(GM)^2}{c^5 R_\odot} \left[\arctan \left(\frac{x_E}{R_\odot} \right) \right. \\ & \left. + \arctan \left(\frac{x_P}{R_\odot} \right) + 1 \right] \end{aligned} \quad (18)$$

e introduciendo los valores numéricos obtenemos

$$\Delta t_2 = 3.443928 \times 10^{-10} sec$$

Por lo tanto, el retardo debido a las dos primeras contribuciones es

$$\Delta t_1 + \Delta t_2 = 239.843769 \mu sec$$

Las integrales de Δt_I fueron calculadas usando Mathematica y sus valores son

$$\int_{R_\odot}^{x_E} \frac{dr}{r(r+b)(r^2 - b^2)^{1/2}} = 1.17994 \times 10^{-18}$$

$$\int_{R_\odot}^{x_P} \frac{dr}{r(r+b)(r^2 - b^2)^{1/2}} = 1.17982 \times 10^{-18}$$

$$\int_b^{x_E} \frac{dr}{r(r+b)^2(r^2 - b^2)^{1/2}} = 7.05794 \times 10^{-28}$$

$$\int_b^{x_P} \frac{dr}{r(r+b)^2(r^2 - b^2)^{1/2}} = 7.05793 \times 10^{-28}$$

con lo cual,

$$\Delta t_I = 6.264739232 \times 10^{-11} sec$$

de manera que el retardo de una señal de radar enviada al planeta Mercurio desde la Tierra es,

$$\Delta t = \Delta t_1 + \Delta t_2 + \Delta t_I = 239.843832 \mu sec$$

La contribución de Δt_I es menor que la de Δt_2 , y a medida que aumenta la distancia entre la fuente o el planeta y el Sol, $\Delta t_I \rightarrow 0$. Por lo tanto, el retardo de la señal de radar con las aproximaciones mencionadas para un rayo de luz que pasa muy cerca del limbo del sol se puede expresar como

$$\Delta t = \frac{4GM}{c^3} \left[\ln \left(\frac{4x_E x_P}{R_\odot^2} \right) + 1 \right] + \frac{8(GM)^2}{c^5 R_\odot} \left[\arctan \left(\frac{x_E}{R_\odot} \right) + \arctan \left(\frac{x_P}{R_\odot} \right) + 1 \right] \quad (19)$$

2 Retardo de las Señales de Radar Producido por Agujeros Negros

Anteriormente se comprobó que en el caso del sistema solar, los últimos cuatro términos en la ecuación (12) (los que contienen las integrales), son despreciables. Usando los datos de las distancias de la Tierra y Mercurio, y el radio del Sol se obtuvo que $\Delta t = 239.84 \mu s$ con lo cual se establece que el cálculo de retraso a primer orden es muy preciso para regímenes de campo débil. No obstante, es interesante analizar los casos en los que se presentan campos gravitacionales fuertes como los producidos por agujeros negros resultado del colapso de estrellas o agujeros negros supermasivos.

Cuando una estrella agota su combustible nuclear y ya no le es posible contener la presión ejercida por la fuerza gravitacional se convertirá en un agujero negro siempre y cuando la masa del núcleo que colapsa sea mayor a 3.2 veces la masa del sol, es decir, cuando $M > 3.2M_\odot$. Al contorno que rodea a un agujero negro se le conoce como horizonte de sucesos. Un rayo de luz proveniente del interior de la estrella en colapso no puede atravesar el horizonte de sucesos porque la velocidad de escape llega a ser igual o mayor que la velocidad de la luz. Al radio del horizonte de sucesos se le conoce como radio de Schwarzschild y está dado por la expresión $r_s = 2GM/c^2$. La posible existencia de agujeros negros fue predicha usando las ecuaciones de Campo de Einstein por Karl Schwarzschild en el año 1916, aunque de acuerdo a lo que se conoce, la primera persona en sugerir la existencia de un objeto de estas características fue John Michell en 1783 [6].

En la Tabla 1 se analiza el valor del retardo de las señales de radar para estrellas y agujeros negros con diversas masas (incluyendo agujeros negros supermasivos), asumiendo que los planetas entre los cuales se envía la señal de radar se encuentran a igual distancia de la estrella o agujero negro. Para este análisis tomaremos como referencia la distancia a la que se encuentra el planeta Saturno en relación al Sol ($x_E = x_P = 1,433,000,000$ km). A estas distancias las integrales en (12) se vuelven totalmente despreciables por lo tanto la contribución de

Δt_I es nula. También se considera que la distancia más próxima del rayo de luz al centro de la estrella o agujero negro es el radio de Schwarzschild, es decir, $b = r_s$.

Como se observa en la Tabla 1, a medida que aumenta la masa de la estrella o del agujero negro que genera el campo gravitacional, la contribución de los términos de segundo orden se hace cada vez más importante dejando de ser despreciable.

3 Cálculo del retardo de una señal proveniente de una fuente distante

El cálculo del retardo de las señales de radar enviadas o recibidas hacia o desde un objeto dentro del sistema solar está expresado por la ecuación (2). Sin embargo, para objetos o cuerpos celestes que se encuentran fuera o muy distantes del sistema solar (estrellas, pulsares, fuentes de radiación, etc), y en vista de la necesidad de analizar las señales que provienen de ellos, también resulta necesario calcular el retardo sufrido por los fotones provenientes de dichas fuentes. Tomaremos el caso de la ondas electromagnéticas que un pulsar emite periódicamente.

Usando la aproximación de campo lineal para una distribución esférica de masa en reposo (como es el caso del sistema solar), el cuadrado del elemento de arco se escribe [12]:

$$(ds)^2 = \left[1 - \frac{2GM_\odot}{rc^2} \right] c^2 (dt)^2 - \left[1 + \frac{2GM_\odot}{rc^2} \right] |d\vec{r}|^2, \quad (20)$$

y debido a que el intervalo invariante para los fotones es $ds = 0$ tenemos

$$cdt = \pm \left[1 + \frac{2GM_\odot}{rc^2} \right] |d\vec{r}| \quad (21)$$

Si \vec{r}_p representa la posición fija del pulsar, \vec{r}_{obs} la posición del observador cuando llega la señal al tiempo t_{obs} , y t_e es el tiempo de emisión de la señal desde el pulsar, entonces la diferencia entre el tiempo t_{obs} medido por el observador y el tiempo de emisión desde el pulsar t_e es [13]:

$$c(t_{obs} - t_e) = \int_{\vec{r}_{obs}}^{\vec{r}_p} \left[1 + \frac{2GM_\odot}{rc^2} \right] |d\vec{r}| = |\vec{r}_p - \vec{r}_{obs}| + \frac{2GM_\odot}{c^2} \int_{\vec{r}_{obs}}^{\vec{r}_p} \frac{|d\vec{r}|}{r} \quad (22)$$

| Masa Estrella (M_{\odot}) | Primer Orden (s) | Segundo Orden (s) | Retardo total (s) |
|-------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------|
| 10 | 0.0074436963 | $8.1597760348 \times 10^{-4}$ | 0.0082596739 |
| 100 | 0.0653638455 | 0.008159775 | 0.0735236205 |
| 1,000 | 0.5629072417 | 0.0815976397 | 0.6445048814 |
| 10,000 | 4.721756986 | 0.8159654346 | 5.5377224207 |
| 100,000 | 38.1440866628 | 8.1585580857 | 46.3026447484 |
| 1'000,000 | 290.67314551 | 81.475991985 | 372.14913749 |
| 10'000,000 | 1995.7644852 | 803.83690371 | 2799.6013889 |
| 100'000,000 | 10510.893483 | 6970.1163737 | 17481.009857 |
| 1,000'000,000 | $r_s > r_p$ | $r_s > r_p$ | $r_s > r_p$ |

Tabla 1: Retardo de las señales de radar para estrellas y agujeros negros con diferentes masas estelares

Por otro lado,

$$|\vec{r}_p - \vec{r}_{obs}| = |(\vec{r}_p - \vec{r}_s) + (\vec{r}_s - \vec{r}_{obs})| \quad (23)$$

donde \vec{r}_s es la posición del centro de masa del sistema solar. Si definimos un vector unitario \hat{n} que apunte desde el centro de masa del sistema solar al pulsar, $\hat{n} = \frac{(\vec{r}_p - \vec{r}_s)}{|\vec{r}_p - \vec{r}_s|}$, y teniendo en cuenta que $|\vec{r}_p - \vec{r}_s| \gg |\vec{r}_s - \vec{r}_{obs}|$ y que $\vec{r}_s - \vec{r}_{obs} \approx -\vec{r}_{obs}$, es posible escribir la relación (23) como:

$$|\vec{r}_p - \vec{r}_{obs}| \approx |\vec{r}_p - \vec{r}_s| + (\vec{r}_s - \vec{r}_{obs}) \cdot \hat{n} \quad (24)$$

y por lo tanto, la ecuación (22) se puede expresar como:

$$t_{obs} = \left(t_e + \frac{|\vec{r}_p - \vec{r}_s|}{c} \right) - \frac{r_{obs} \cdot \hat{n}}{c} + \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \int_{r_{obs}}^{r_p} \frac{|\vec{dr}|}{r} \quad (25)$$

El primer término corresponde al tiempo que tarda la señal en llegar al centro de masa del sistema solar. Se puede interpretar el mencionado término como si fuera el tiempo en que llegaría la señal si se despreciaran los efectos gravitacionales debido al sistema solar. Al segundo término se le denomina Retardo de Roemer (Roemer delay) y se debe al movimiento del observador. El tercer término es el que realmente nos interesa ya que corresponde al retardo de la señal debido al campo gravitacional de sol.

$$\Delta t = \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \int_{r_{obs}}^{r_p} \frac{|\vec{dr}|}{r} \quad (26)$$

Consideremos una señal emitida por el pulsar que llega a la Tierra cuando el ángulo formado por el pulsar, el Sol y la Tierra tiene un valor θ . Sea P un punto cualquiera sobre la línea recta que une la Tierra con el pulsar, entonces podemos escribir

$$r^2 = (r_e + \rho \cos \theta)^2 + (\rho \sin \theta)^2 \quad (27)$$

donde r es la distancia del Sol al punto P , r_e es la distancia entre el sol y la Tierra, ρ es la distancia de la Tierra a P (ver figura 2). Con la sustitución $u = \frac{\rho}{r_e}$ la ecuación anterior es:

$$r = r_e (u^2 + 1 + 2u \cos \theta)^{1/2} \quad (28)$$

Por lo tanto, (26) es:

$$\Delta t = \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \int_0^d \frac{d\rho}{r}$$

donde d es la distancia de la Tierra al pulsar. Con estas sustituciones tenemos

$$\Delta t = \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \int_0^v \frac{du}{(u^2 + 1 + 2u \cos \theta)^{1/2}} \quad (29)$$

donde $v = d/r_e$. Para calcular la integral tomamos $v = \frac{d}{r_e} \rightarrow \infty$ de tal forma que

$$\Delta t = \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \ln \left(\frac{2d}{r_e} \right) - \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \ln(1 + \cos \theta) \quad (30)$$

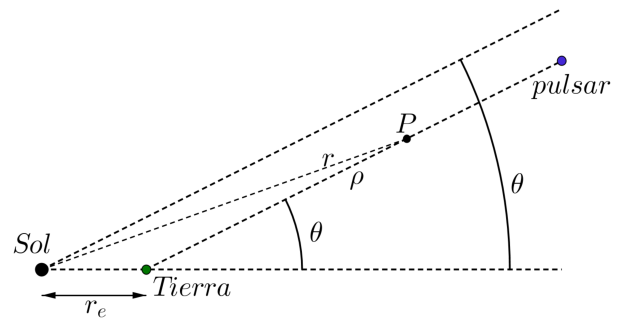


Figura 2: Geometría para el cálculo del retardo de una señal proveniente de una fuente distante, en este caso un pulsar. r_e es la distancia entre la Tierra y el Sol, P es un punto de referencia entre la línea que une la Tierra con el pulsar, ρ es la distancia del punto P a la Tierra, y r representa la distancia del punto P al Sol.

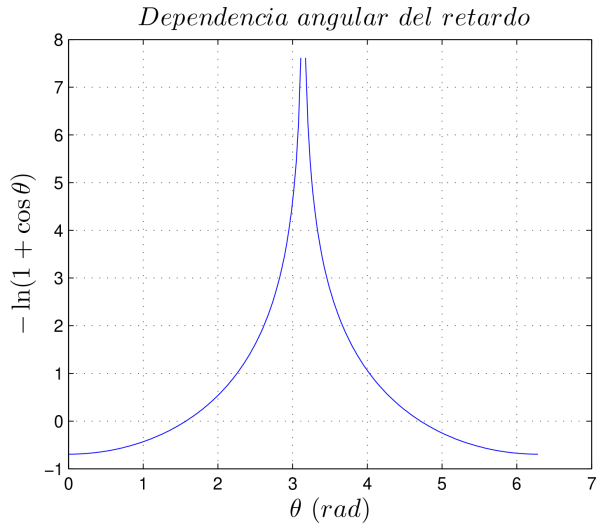


Figura 3: Dependencia angular del retardo de la señal $-\ln(1 + \cos \theta)$

El primer término en la ecuación anterior es simplemente un corrimiento rígido. El término verdaderamente interesante es el segundo pues involucra la variable θ .

La gráfica de la dependencia angular $-\ln(1 + \cos \theta)$ se muestra en la figura 3. Se puede observar que la función diverge cuando $\theta = \pi$, es decir, cuando la señal debería atravesar el Sol para llegar a la Tierra. Sin embargo, esta divergencia no existe en realidad ya que la señal simplemente es absorbida por el Sol y nunca llega a la Tierra. El máximo retardo de la señal se produce en conjunción superior cuando la señal del pulsar pasa muy cerca del limbo del Sol. Es necesario resaltar que la misma dependencia de la figura 3 se puede observar en las curvas experimentales obtenidas por Shapiro y sus colegas además de las diversas sondas y satélites artificiales que se han usado para medir el retardo dentro del sistema solar. En particular, para contrastar estas curvas podemos citar la figura 3 de [3], la figura 1 de [4], y la figura 3 de [9].

Para demostrar que el retardo de la señal es la suma de dos términos positivos, se puede expresar la última ecuación (ecuación [30]) de la siguiente forma

$$\Delta t = \frac{2GM_{\odot}}{c^3} \left[\ln \left(\frac{d}{r_e} \right) - \ln \left(\frac{1 + \cos \theta}{2} \right) \right] \quad (31)$$

ya que $0 \leq (1 + \cos \theta)/2 \leq 1$, la expresión $\ln \left(\frac{1 + \cos \theta}{2} \right)$ es negativa. En conclusión podemos observar que el retardo $\Delta t > 0$ siempre da como resultado el que la señal sea afectada por el campo gravitacional del Sol.

4 Conclusiones

La Teoría General de la Relatividad (TGR) se resume en 14 ecuaciones: Las ecuaciones de campo de Einstein (10 ecuaciones) y las ecuaciones de las geodésicas (4

ecuaciones) [6, 7].

Utilizando las ecuaciones de campo, se puede determinar la métrica del espacio-tiempo para una distribución dada de materia o energía. La TGR y sus predicciones han sido puestas a prueba un sinnúmero de ocasiones. La tres pruebas clásicas que dieron inicio al campo de la experimentación en dicha teoría fueron el avance del perihelio del planeta Mercurio, el corrimiento al rojo gravitacional y la desviación de los rayos de luz debido al campo gravitacional del Sol. Después de una temporada de hibernación en el campo experimental debido a limitaciones tecnológicas, Shapiro propuso una cuarta prueba de la TGR que fue bautizada con el nombre de Shapiro delay. Esta predicción, en estrecha relación con la desviación de la luz, es el retardo que las ondas electromagnéticas sufren al viajar de un punto a otro debido a la presencia de un campo gravitacional. Gracias al desarrollo de la tecnología de radares fue posible medir este fenómeno dentro de nuestro sistema solar con gran éxito y con una precisión que fue mejorando con el paso de los años.

Originalmente el cálculo de éste fenómeno se realizó a primer orden en el potencial gravitacional utilizando la métrica de Schwarzschild, la adecuada para este caso, y se probó que sus resultados son más que satisfactorios para potenciales gravitacionales débiles como lo es el del Sol. En particular, se han realizado y repetido numerosos experimentos enviando señales de radar hacia planetas como Mercurio, Venus y Marte, e inclusive se ha utilizado sondas espaciales como la nave Cassini como fuentes de señales de radar. Para nuestro sistema solar, se encontró que la predicción de la TGR de este fenómeno a primer orden discrepa con los resultados experimentales en un 0.0012 % [10]. Esto demuestra que, para el sistema solar, cualquier contribución al retardo debida a términos de segundo orden es totalmente despreciable y no se necesita tomar en cuenta. Sin embargo, fuera de nuestro sistema solar y debido a que en el universo abundan fuentes de campos gravitacionales fuertes, se realizó el cálculo del retardo de señales de radar con aproximación a segundo orden en el potencial gravitacional. Dichas fuentes pueden ser estrellas supergigantes azules, agujeros negros resultado del colapso de estrellas y agujeros negros supermasivos en los que las contribuciones de los términos de segundo orden son relevantes. Se encontró que el retardo que sufre una onda electromagnética cuando los cuerpos celestes, uno de los cuales es la fuente desde la que se emite la señal y el otro es la estrella (o agujero negro), están en conjunción superior es

$$\Delta t = \frac{4GM}{c^3} \left[\ln \left(\frac{4x_E x_P}{R_{\odot}^2} \right) + 1 \right] + \frac{8(GM)^2}{c^5 R_{\odot}} \left[\arctan \left(\frac{x_E}{R_{\odot}} \right) + \arctan \left(\frac{x_P}{R_{\odot}} \right) + 1 \right]$$

siendo x_E y x_P las distancias de la estrella a E y P

respectivamente. M y R_{\odot} representan la masa y el radio de la estrella, respectivamente. En la ecuación anterior se recuperó el resultado del cálculo a primer orden que es el primer término de la ecuación más el término de segundo orden en el potencial gravitacional.

Ya que sabemos que para potenciales gravitacionales débiles, como es el caso del sistema solar, la contribución de los términos de segundo orden es despreciable, se procedió a calcular la contribución de estos términos al retardo a medida que se aumenta el potencial gravitacional de la estrella tomando como ejemplo agujeros negros resultado del colapso de estrellas y agujeros negros supermasivos. Los resultados del retardo en estos casos se presentan en la Tabla 1 en el cual se evidencia que es necesario tomar en cuenta los términos de segundo orden inclusive cuando la masa del agujero negro es 10 veces la masa del Sol.

Finalmente, cuando se toma en cuenta el retardo de las señales para cualquier posición del planeta fuente y el planeta receptor, y no solo para conjunción superior, el retardo tiene una dependencia del ángulo formado entre el planeta, el Sol y la fuente, que no es evidente a partir de la ecuación (2). Para demostrar esta dependencia se analizó un caso particular en el cual la onda electromagnética proviene de un objeto distante como un pulsar de tal forma que su posición se puede aproximar como fija con respecto al Sol, mientras que la posición de la Tierra, donde se recibe la señal, varía de acuerdo a su órbita. Se encontró que esta dependencia angular está descrita por la función $-\ln(1 + \cos \theta)$ que, por cierto, está en completo acuerdo con las gráficas del retardo de la luz medido en el sistema solar para señales enviadas a Venus, Mercurio y Marte (ver referencias [3, 4, 9]).

Referencias

- [1] Shapiro, I. 1964. "Fourth Test of General Relativity." *Phys. Rev. Lett.* Vol. 13-No. 26.
- [2] Shapiro, I. 1999. "A Century of Relativity." *Rev. Mod. Phys.* Vol. 71-No. 2, March, p. S41-S53.
- [3] Shapiro, I. 1968. "Fourth Test of General Relativity: Preliminary Results." *Phys. Rev. Lett.* Vol. 20-No.22.
- [4] Shapiro, I. 1971. "Fourth Test of General Relativity: New Radar Results." *Phys. Rev. Lett.* Vol. 26-No.18.
- [5] Will, C. 1993. "Theory and Experiment in Gravitational Physics." *Cambridge University Press, Cambridge, UK.*
- [6] Marín, C. 2011. "La Expansión del Universo, Una Introducción a Cosmología, Relatividad General y Física de Partículas, Segunda Edición." *USFQ.*
- [7] Kenyon, I. R. 1996. "General Relativity." *Oxford University Press.*
- [8] Reasenberg, R. D. et al. 1979. "Viking Relativity Experiment: Verification of Signal Retardation by Solar Gravity." *ApJ. Lett.* Vol. 234, p. L219-L221.
- [9] Krisher, T. et al. 1991. "Voyager 2 Test of Radar Time-Delay Effect." *ApJ.* Vol. 373, p. 665-670.
- [10] Bertoti, B. ; Less, L. ; Tortora , P. 2003. "A Test of General Relativity using Radio Links with the Cassini Spacecraft." *Nature*, Vol. 425.
- [11] Particle Data Group 2012. "Particle Physics Booklet." *APS.*
- [12] Ohanian, H. C. 1976. "Gravitation and Spacetime." *W. W. Norton & Company, Inc.*
- [13] Maggiore, M. 2007. "Gravitational Waves: Vol. 1: Theory and Experiments." *Oxford University Press.*

The Fundamental Group of a Group Acting on a Topological Space El Grupo Fundamental de un Grupo que Actúa en un Espacio Topológico

Bryan Maldonado^{1,*} and John Skukalek¹

¹Universidad San Francisco de Quito, Mathematics Department. Colegio de Ciencias e Ingenierías, El Politécnico Cumbayá, Diego de Robles y Vía Interoceánica. Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: bryan_patricio@hotmail.com

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 24/02/2014. Aceptado/Accepted: 21/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

In 1966, F. Rhodes introduced the idea of the fundamental group of a group acting on a topological space. His article contains summarized proofs of results and has been studied since then primarily because the category of transformation groups is more general than the category of topological spaces. In this article, a thorough study of Rhodes's work is presented, providing examples to enrich the theory. Dr. James Montaldi from the University of Manchester has recently provided a more general and applicable approach Rhodes's main theorem. His results are also analyzed here.

Keywords. Algebraic Topology, Fundamental Group, Group Action

Resumen

En 1966, F. Rhodes introdujo la idea del grupo fundamental de un grupo G de homeomorfismos de un espacio topológico X . Su artículo contiene demostraciones que resumen los resultados importantes y ha sido estudiado desde entonces, principalmente debido a que la categoría de grupo de transformación es más general que la categoría de los espacios topológicos. En este artículo, un estudio a fondo del trabajo de Rhodes se presenta con ejemplos para enriquecer la teoría. El Dr. James Montaldi de la Universidad de Manchester ha contribuido recientemente a esta teoría con una forma más general y aplicable del teorema principal de Rhodes. Sus resultados también se analizan aquí.

Palabras Clave. Topología Algebraica, Grupo Fundamental, Acción de Grupo

Introduction

The fundamental group of a transformation group (X, G) of a group G acting on a topological space X generalizes the notion of the ordinary fundamental group $\pi_1(X, x_0)$ of X by incorporating the action of G on X . We will discuss in detail some of the results presented by F. Rhodes [1] in his article "On the Fundamental Group of a Transformation Group." Rhodes' main result deals with the situation in which the structure of the fundamental group of (X, G) is determined by the structure of $\pi_1(X, x_0)$ together with an appropriate action of G on $\pi_1(X, x_0)$. We shall also illustrate the general theory using well-known actions on topological spaces: Euclidean space, regular polygons, spheres, and the torus, on which the groups of integers, orthogonal matrices, and cyclic groups act.

The objective is to provide details in the proofs as well as to supplement the theory with concrete examples.

Groups Acting on Topological Spaces

Let G be a group and X be a topological space. We refer to reader to [2] and [3] for the relevant definitions.

We call the pair (X, G) a *transformation group* if G acts *continuously* on X in the sense below.

Definition 1. A *group action* of a group G on a set X is a map

$$G \times X \longrightarrow X$$

$$(g, x) \longmapsto g \cdot x$$

satisfying the following:

1. For each $g \in G$, the map $x \mapsto g \cdot x$ is continuous.
2. $g_1 \cdot (g_2 \cdot x) = (g_1 \cdot g_2) \cdot x$ for all $g_1, g_2 \in G$ and $x \in X$.

ISSN 1390-5384



- $e \cdot x = x$ for all $x \in X$, where e denotes the identity element of G .

It follows that G acts by homeomorphisms of X . Consider the topological spaces E^n (Euclidean n -space), $S^n \subset E^{n+1}$ (n -sphere), and $\mathcal{P}_n \subset E^2$ (regular n -sided polygon). Consider the groups D_n (dihedral group of order $2n$) and O_n ($n \times n$ orthogonal group). We then have the following transformation groups:

- (E^n, O_n) .
- (S^n, O_{n+1}) .
- (\mathcal{P}_n, D_n) .

The Fundamental Group

We want to know how to describe topological invariants associated with a transformation group (X, G) . In order to do so, we need to understand how paths in X are affected by the action of G . Ultimately we will define equivalence classes of paths in X , taking into account the action of G , and a binary operation on the set of all such equivalence classes [1, Sec. 3].

Definition 2. Let (X, G) be a transformation group and x_0 be a point in X . Let I denote the interval $[0, 1]$ in the set of real numbers. Given $g \in G$, a *path of order g with base-point x_0* is a continuous map $f: I \rightarrow X$ such that $f(0) = x_0$ and $f(1) = g \cdot x_0$.

All paths in X under consideration will have the same base-point but the order of the paths can vary. The *composition rule* for such paths is defined as follows.

Definition 3. Consider paths f_1 of order g_1 and f_2 of order g_2 . We define the *composition path* $f_1 + g_1 f_2$ of order $g_1 g_2$ by

$$\begin{aligned} (f_1 + g_1 f_2)(t) &= f_1(2t) && \text{if } 0 \leq t \leq 1/2 \\ (f_1 + g_1 f_2)(t) &= g_1 f_2(2t - 1) && \text{if } 1/2 \leq t \leq 1. \end{aligned}$$

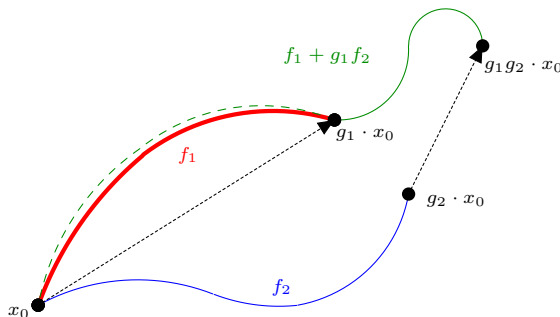


Figure 1: Composition of paths f_1 of order g_1 and f_2 of order g_2

Note that $(f_1 + g_1 f_2)(0) = f_1(0) = x_0$, $(f_1 + g_1 f_2)(1/2) = f_1(1) = g_1 f_2(0) = g_1 \cdot x_0$ and $(f_1 + g_1 f_2)(1) = g_1 f_2(1) = g_1 g_2 \cdot x_0$. Figure 1 illustrates the operation of path composition.

Definition 4. Let f_0 and f_1 be paths in X of the same order g . A *homotopy* from f_0 to f_1 is a continuous function $F: I \times I \rightarrow X$ such that for all $t, s \in I$, $F(t, 0) = f_0(t)$, $F(t, 1) = f_1(t)$, $F(0, s) = x_0$, and $F(1, s) = g \cdot x_0$.

If there exists a homotopy from f_0 to f_1 , we say that f_0 and f_1 are *homotopic* and write $f_1 \asymp_{(g, x_0)} f_0$. The usage of this term is justified as follows.

Proposition 5. The relation $\asymp_{(g, x_0)}$ is an equivalence relation on the set of all paths in X of order g .

Proof. We need to show that the relation $\asymp_{(g, x_0)}$ is reflexive, symmetric, and transitive.

Let f be a path of order g . Consider the map F defined by homotopy $F(t, s) = f(t)$ for all $t, s \in I$. We have $F(0, s) = x_0$, $F(1, s) = g \cdot x_0$ and $F(t, 0) = F(t, 1) = f(t)$. Thus F is a homotopy from f to f , so that $f \asymp_{(g, x_0)} f$, meaning that the relation is reflexive.

If $f_0 \asymp_{(g, x_0)} f_1$ there exists a homotopy F from f_0 to f_1 as defined above. Consider the map \bar{F} defined by $\bar{F}(t, s) = F(t, 1 - s)$. Then we have

$$\begin{aligned} \bar{F}(t, 0) &= F(t, 1) = f_1(t), \\ \bar{F}(t, 1) &= F(t, 0) = f_0(t), \\ \bar{F}(0, s) &= x_0, \\ \bar{F}(1, s) &= g \cdot x_0. \end{aligned}$$

Therefore \bar{F} is a homotopy from f_1 to f_0 , so the relation is symmetric.

If $f_0 \asymp_{(g, x_0)} f_1$ and $f_1 \asymp_{(g, x_0)} f_2$ then there exists a homotopy F_1 from f_0 to f_1 and a homotopy F_2 from f_1 to f_2 . Consider the map F defined by

$$F(t, s) = \begin{cases} F_1(t, 2s) & \text{if } 0 \leq s \leq 1/2, \\ F_2(t, 2s - 1) & \text{if } 1/2 \leq s \leq 1. \end{cases}$$

Note that $F(t, 1/2) = F_1(t, 1) = F_2(t, 0) = f_2(t)$, so that the homotopy is well-defined and continuous. Then

$$\begin{aligned} F(t, 0) &= F_1(t, 0) = f_0(t), \\ F(t, 1) &= F_2(t, 1) = f_2(t), \\ F(0, s) &= F_1(0, s) = F_2(0, s) = x_0, \\ F(1, s) &= F_1(1, s) = F_2(1, s) = g \cdot x_0. \end{aligned}$$

Therefore F is a homotopy from f_0 to f_2 , so the relation is transitive. \square

We use this equivalence relation to define *homotopy classes* of paths in X with the same order. We denote by $[f; g]$ the equivalence class of a path f of order g . We define a binary operation \star on homotopy classes based on the composition rule described in Definition 3:

$$[f_1; g_1] \star [f_2; g_2] = [f_1 + g_1 f_2; g_1 g_2].$$

It is essential to know that this operation is well-defined on the set of homotopy classes, that is, it depends only on the homotopy classes of f_1 and f_2 .

The set of all equivalence classes $[f; g]$ is called the *fundamental group* of the transformation group (X, G) with base-point x_0 and will be denoted by $\pi_1(X, x_0, G)$.

Proposition 6. *The set $\pi_1(X, x_0, G)$ with the binary operation \star is a group.*

Proof. If e is the identity element of the group G and $\mathbf{1}$ denotes the constant map $\mathbf{1}: I \rightarrow \{x_0\}$, then $[\mathbf{1}; e]$ is the identity element of $\pi_1(X, x_0, G)$ since

$$[f; g] \star [\mathbf{1}; e] = [f + g\mathbf{1}; ge] = [f + g \cdot x_0; g] = [f; g]$$

$$\text{and } [\mathbf{1}; e] \star [f; g] = [\mathbf{1} + ef; eg] = [x_0 + f; g] = [f; g].$$

Define $\bar{f}(t) = f(1 - t)$. Then

$$[f; g] \star [g^{-1}\bar{f}; g^{-1}] = [f + gg^{-1}\bar{f}; gg^{-1}]$$

$$= [f + \bar{f}; e]$$

$$= [\mathbf{1}; e]$$

$$[g^{-1}\bar{f}; g^{-1}] \star [f; g] = [g^{-1}\bar{f} + g^{-1}f; g^{-1}g]$$

$$= [g^{-1}(\bar{f} + f); g^{-1}g]$$

$$= [g^{-1}(g\mathbf{1}); e]$$

$$= [\mathbf{1}; e]$$

Thus the inverse element $[f; g]^{-1} = [g^{-1}\bar{f}; g^{-1}]$ exists.

For associativity, we are going to use the fact that the operation \star is well-defined, and prove this for an element of each equivalence class. Suppose $f_1 \in [f_1; g_1]$, $f_2 \in [f_2; g_2]$, and $f_3 \in [f_3; g_3]$. Then

$$(f_1 + g_1 f_2) + g_1 g_2 f_3 = \begin{cases} f_1(4t) & 0 \leq t \leq 1/4 \\ g_1 f_2(4t - 1) & 1/4 \leq t \leq 1/2 \\ g_1 g_2 f_3(2t - 1) & 1/2 \leq t \leq 1, \end{cases}$$

$$f_1 + (g_1 f_2 + g_1 g_2 f_3) = \begin{cases} f_1(2t) & 0 \leq t \leq 1/2 \\ g_1 f_2(4t - 2) & 1/2 \leq t \leq 3/4 \\ g_1 g_2 f_3(4t - 3) & 3/4 \leq t \leq 1. \end{cases}$$

Referring to Figure 2, if we want to define a homotopy between the paths described above it is necessary to delimit Regions I, II and III.

In Region I we have

$$0 \leq t \leq \frac{s+1}{4},$$

so that

$$0 \leq \frac{4t}{s+1} \leq 1.$$

In Region II we have

$$\frac{s+1}{4} \leq t \leq \frac{s+2}{4},$$

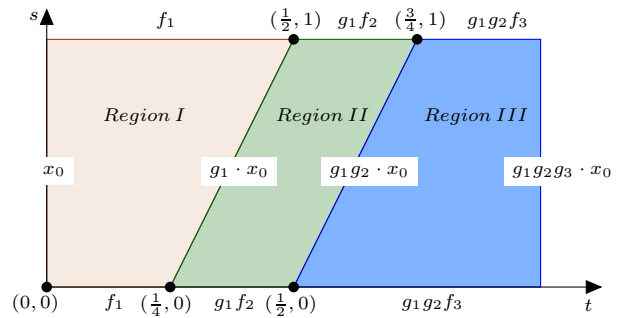


Figure 2: Homotopy between compositions of paths f_1 , f_2 , and f_3 .

so that

$$0 \leq 4t - s - 1 \leq 1.$$

Finally, in Region III we have

$$\frac{s+2}{4} \leq t \leq 1,$$

so that

$$0 \leq \frac{4t - s - 2}{2 - s} \leq 1.$$

We now consider the homotopy

$$F(t, s) = \begin{cases} f_1\left(\frac{4t}{s+1}\right) & 0 \leq t \leq \frac{s+1}{4} \\ g_1 f_2(4t - s - 1) & \frac{s+1}{4} \leq t \leq \frac{s+2}{4} \\ g_1 g_2 f_3\left(\frac{4t - s - 2}{2 - s}\right) & \frac{s+2}{4} \leq t \leq 1. \end{cases}$$

Note that $F(0, s) = f_1(0) = x_0$ and $F(1, s) = g_1 g_2 f_3(1) = g_1 g_2 g_3 x_0$, since

$$F(t, 0) = \begin{cases} f_1(4t) & 0 \leq t \leq 1/4 \\ g_1 f_2(4t - 1) & 1/4 \leq t \leq 1/2 \\ g_1 g_2 f_3(2t - 1) & 1/2 \leq t \leq 1 \end{cases}$$

$$= ((f_1 + g_1 f_2) + g_1 g_2 f_3)(t),$$

$$F(t, 1) = \begin{cases} f_1(2t) & 0 \leq t \leq 1/2 \\ g_1 f_2(4t - 2) & 1/2 \leq t \leq 3/4 \\ g_1 g_2 f_3(4t - 3) & 3/4 \leq t \leq 1 \end{cases}$$

$$= (f_1 + (g_1 f_2 + g_1 g_2 f_3))(t).$$

This proves associativity. \square

Consider an equivalence class $[f; e]$ which is a homotopy class of a path f of order the identity element e . Since e is the identity transformation of X , we have $f(0) = f(1) = x_0$, so that $[f; e]$ is a homotopy class of loops with base-point x_0 . All such homotopy classes of loops form the ordinary *fundamental group* of X with base-point x_0 . We denoted this group by $\pi_1(X, x_0)$ and note that it is a subgroup of $\pi_1(X, x_0, G)$. We shall denote $[\lambda; e] \in \pi_1(X, x_0)$ simply by $[\lambda]$.

Topological Properties

We will restrict our attention to path-connected spaces, so that the role of the base-point x_0 is inconsequential. Rhodes proves in his first theorem [1] that if ρ is a (continuous) path in X from x_0 to x_1 , then the map

$$\begin{aligned} \rho_* : \pi_1(X, x_0, G) &\longrightarrow \pi_1(X, x_1, G) \\ [f; g] &\longmapsto [\bar{\rho} + f + g\rho] \end{aligned}$$

is an isomorphism. More generally, a pair of mappings

$$(\varphi, \psi) : (X, G) \longrightarrow (Y, H)$$

in which $\varphi : X \rightarrow Y$ is a continuous map and $\psi : G \rightarrow H$ is a group homomorphism induces a homomorphism $(\varphi, \psi)_*$ of fundamental groups [1, Sec. 5]:

$$\begin{aligned} (\varphi, \psi)_* : \pi_1(X, x_0, G) &\longrightarrow \pi_1(Y, y_0, H) \\ [f; g] &\longmapsto [\varphi(f); \psi(g)]. \end{aligned}$$

We say that the transformation groups (X, G) and (Y, H) have the same *homotopy type* if there exist pairs of mappings

$$\begin{aligned} (\varphi, \psi) : (X, G) &\longrightarrow (Y, H) \\ (\varphi', \psi') : (Y, H) &\longrightarrow (X, G) \end{aligned}$$

such that $\varphi'\varphi$ and $\varphi\varphi'$ are homotopic to the identity maps of X and Y , respectively, and ψ and ψ' are isomorphisms. Rhodes proves that the fundamental group of a transformation group is an invariant of the homotopy type of its transformation group [1, Sec. 5].

Relationship between $\pi_1(X, x_0, G)$ and $\pi_1(X, x_0)$

Let $[\lambda] \in \pi_1(X, x_0)$ and $[f; g] \in \pi_1(X, x_0, G)$. Observe that

$$\begin{aligned} [f; g] \star [\lambda; e] \star [g^{-1}\bar{f}; g^{-1}] &= ([f; g] \star [\lambda; e]) \star [g^{-1}\bar{f}; g^{-1}] \\ &= [f + g\lambda; ge] \star [g^{-1}\bar{f}; g^{-1}] \\ &= [f + g\lambda + gg^{-1}\bar{f}; gg^{-1}] \\ &= [f + g\lambda + \bar{f}; e]. \end{aligned}$$

This establishes that $\pi_1(X, x_0)$ is a *normal* subgroup of $\pi_1(X, x_0, G)$.

Let us consider the inclusion map

$$i : \pi_1(X, x_0) \hookrightarrow \pi_1(X, x_0, G)$$

such that $i([\lambda]) = [\lambda] = [\lambda; e]$, which is an injective homomorphism (*monomorphism*). Let

$$p : \pi_1(X, x_0, G) \longrightarrow G$$

be the map $p([f; g]) = g$, which is a surjective homomorphism (*epimorphism*).

Definition 7. [4, Chap. 7] An *exact sequence* is a sequence of objects (e.g. vector spaces, groups) and morphisms between them (e.g. linear maps, homomorphisms) such that the image of each morphism in the sequence is equal to the kernel of the next morphism in the sequence.

Note that $\text{Im}(i) = \ker(p) = \pi_1(X, x_0)$ so that we have an exact sequence

$$\pi_1(X, x_0) \xhookrightarrow{i} \pi_1(X, x_0, G) \xrightarrow{p} G \quad (1)$$

in which i is a monomorphism and p is an epimorphism. Such an exact sequence is known as a *short exact sequence*. It follows [2, Chap. 3] that the *quotient group*

$$\pi_1(X, x_0, G)/\pi_1(X, x_0)$$

is isomorphic to G .

In order to obtain a more explicit relationship between the fundamental groups $\pi_1(X, x_0, G)$ and $\pi_1(X, x_0)$, we need to be able to relate loops in X based at x_0 with general paths of order g [1, Sec. 9].

Preferred Paths

Definition 8. The transformation group (X, G) admits a family of *preferred paths* $\{k_g \mid g \in G\}$ at x_0 if it is possible to associate to each $g \in G$ a path k_g in X in such a way that:

1. For all $g \in G$, $k_g(0) = g \cdot x_0$ and $k_g(1) = x_0$.
2. The path k_e associated with the identity element $e \in G$ is constant.
3. For all $g_1, g_2 \in G$ the path $k_{g_1g_2}$ is homotopic to $g_1k_{g_2} + k_{g_1}$.

If G is a *topological group*, then G acts on itself by homeomorphisms via translations. A family of preferred paths $\{h_g \mid g \in G\}$ at the identity element $e \in G$ then induces a family $\{k_g \mid g \in G\}$ of preferred paths at $x_0 \in X$ as follows: $k_g(t) = h_g(t) \cdot x_0, \forall t \in I$. [1, Sec. 9]

The existence of a family of preferred paths leads to a more explicit relationship between both fundamental groups, $\pi_1(X, x_0)$ and $\pi_1(X, x_0, G)$. For each $g \in G$, we have an automorphism K_g of $\pi_1(X, x_0)$ defined by

$$\begin{aligned} K_g : \pi_1(X, x_0) &\longrightarrow \pi_1(X, x_0) \\ [\lambda] &\longmapsto [\overline{k_g} + g\lambda + k_g]. \end{aligned}$$

For $g_1, g_2 \in G$ we have

$$\begin{aligned} K_{g_1}(K_{g_2}([\lambda])) &= K_{g_1}([\overline{k_{g_2}} + g_2\lambda + k_{g_2}]) \\ &= [\overline{k_{g_1}} + g_1(\overline{k_{g_2}} + g_2\lambda + k_{g_2}) + k_{g_1}] \\ &= [\overline{k_{g_1}} + g_1\overline{k_{g_2}} + g_1g_2\lambda + g_1k_{g_2} + k_{g_1}]. \end{aligned}$$

Since the composition rule $+$ is well-defined on homotopy classes of paths, we can take any representative of the equivalence class. Recalling that $g_1k_{g_2} + k_{g_1}$ is homotopic to $k_{g_1g_2}$, we have that $\overline{k_{g_1}} + g_1\overline{k_{g_2}}$ is homotopic

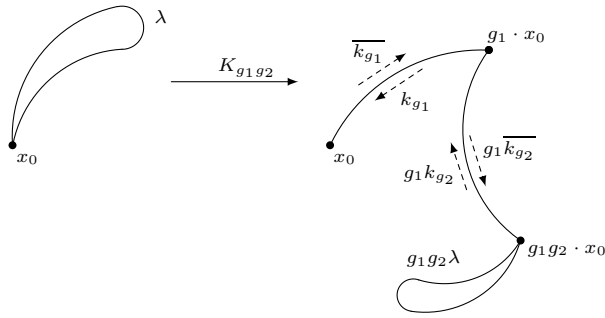


Figure 3: Automorphism induced by k_{g_1}, k_{g_2}

to $\overline{k_{g_1g_2}}$. Thus $\overline{k_{g_1}} + g_1\overline{k_{g_2}} + g_1g_2\lambda + g_1k_{g_2} + k_{g_1} \sim_{x_0} \overline{k_{g_1g_2}} + g_1g_2\lambda + k_{g_1g_2}$. Thus we have

$$\begin{aligned} K_{g_1}(K_{g_2}([\lambda])) &= [\overline{k_{g_1g_2}} + g_1g_2\lambda + k_{g_1g_2}] \\ &= K_{g_1g_2}([\lambda]), \end{aligned}$$

and so $K_{g_1} \circ K_{g_2} = K_{g_1g_2}$. This automorphism is illustrated in Figure 3.

Thus we see that the map $g \rightarrow K_g$ defines a homomorphism

$$K: G \longrightarrow \text{Aut}(\pi_1(X, x_0)) \quad (2)$$

from G into the group $\text{Aut}(\pi_1(X, x_0))$ of automorphisms of $\pi_1(X, x_0)$ [1, Sec. 9].

Let us now consider the product set $\pi_1(X, x_0) \times G$ of all ordered pairs $([\lambda], g)$ where $[\lambda] \in \pi_1(X, x_0)$ and $g \in G$.

Definition 9. [2, Chap. 5] Given a group G that acts on a group H by group automorphism via $\varphi: G \rightarrow \text{Aut}(H)$, the *semidirect product* group, denoted by $H \rtimes_{\varphi} G$ (or simply $H \rtimes G$) is the group whose underlying set is the product set $H \times G$, but whose group operation is defined by

$$(h_1, g_1)(h_2, g_2) = (h_1\varphi(g_1)(h_2), g_1g_2)$$

for $g_1, g_2 \in G$ and $h_1, h_2 \in H$.

Thus a family of preferred paths allows us to form the semidirect product group

$$\pi_1(X, x_0) \rtimes G$$

in which we have the group operation

$$([\lambda_1], g_1)([\lambda_2], g_2) = ([\lambda_1 + K_{g_1}(\lambda_2)], g_1g_2)$$

for any $([\lambda_1], g_1), ([\lambda_2], g_2) \in \pi_1(X, x_0) \times G$.

Rhodes's Theorem

We are going to use the semidirect group $\pi_1(X, x_0) \rtimes G$ in order to obtain an explicit relation between the fundamental groups $\pi_1(X, x_0)$ and $\pi_1(X, x_0, G)$.

Theorem 10. Suppose that (X, G) admits a family of preferred paths at x_0 . Then the map

$$\begin{aligned} \phi: \pi_1(X, x_0, G) &\longrightarrow \pi_1(X, x_0) \rtimes G \\ [f; g] &\longmapsto ([f + k_g], g) \end{aligned}$$

is an isomorphism. Moreover, if (G, G) admits a family of preferred paths at e , then for every transformation group (X, G) , ϕ is an isomorphism.

Proof. Note that for $a = [f_1; g_1], b = [f_2; g_2]$:

$$\begin{aligned} \phi(a) \star \phi(b) &= ([f_1 + k_{g_1}; g_1] \star ([f_2 + k_{g_2}; g_2]) \\ &= ([f_1 + k_{g_1} + K_{g_1}(f_2 + k_{g_2}), g_1g_2]) \\ &= ([f_1 + k_{g_1} + \overline{k_{g_1}} + g_1(f_2 + k_{g_2}) + k_{g_1}, g_1g_2]) \\ &= ([f_1 + \mathbf{1} + g_1f_2 + g_1k_{g_2} + k_{g_1}, g_1g_2]) \\ &= ([f_1 + g_1f_2 + k_{g_1g_2}, g_1g_2]) \end{aligned}$$

Since $g_1k_{g_2} + k_1$ is homotopic to $k_{g_1g_2}$ (Definition 8). It is also true that:

$$\begin{aligned} \phi(a \star b) &= \phi([f_1 + g_1f_2, g_1g_2]) \\ &= ([f_1 + g_1f_2 + k_{g_1g_2}, g_1g_2]) \end{aligned}$$

Thus, the map ϕ is an homomorphism.

Let $[f_1; g_1], [f_2; g_2] \in \pi_1(X, x_0, G)$ such that $[f_1; g_1] \neq [f_2; g_2]$. If $g_1 = g_2 = g$, then f_1 and f_2 are not homotopy equivalent, and so $f_1 + k_g$ and $f_2 + k_g$ cannot be homotopy equivalent. Hence $([f_1 + k_{g_1}], g_1) \neq ([f_2 + k_{g_2}], g_2)$. Thus ϕ is injective.

Consider the map

$$\begin{aligned} s: G &\longrightarrow \pi_1(X, x_0, G) \\ g &\longmapsto [\overline{k_g}; g]. \end{aligned}$$

Recall that $\overline{k_{g_1}} + g_1\overline{k_{g_2}}$ is homotopic to $\overline{k_{g_1g_2}}$, then:

$$\begin{aligned} s(g_1)s(g_2) &= [\overline{k_{g_1}}; g_1] \star [\overline{k_{g_2}}; g_2] \\ &= [\overline{k_{g_1}} + g_1\overline{k_{g_2}}; g_1g_2] \\ &= [\overline{k_{g_1g_2}}; g_1g_2] \\ &= s(g_1g_2). \end{aligned}$$

Thus s is a homomorphism. Consider the short exact sequence described in Equation 1. Note that

$$p \circ s(g) = p([\overline{k_g}; g]) = g.$$

Thus $p \circ s = \text{id}_G$, the identity map of G . Recall that $\ker(p) = \pi_1(X, x_0)$. Then

$$\begin{aligned} p(s \circ p([f; g]) \star [f; g]^{-1}) &= p(s \circ p([f; g]))p([f; g]^{-1}) \\ &= p([f; g])p([f; g]^{-1}) \\ &= e. \end{aligned}$$

Therefore $s \circ p([f; g]) \star [f; g]^{-1} \in \ker(p)$. Finally,

$$\begin{aligned} s \circ p([f; g]) \star [f; g]^{-1} &= s(g) \star [g^{-1}\overline{f}; g^{-1}] \\ &= [\overline{k_g}; g] \star [g^{-1}\overline{f}; g^{-1}] \\ &= [\overline{k_g} + gg^{-1}\overline{f}; gg^{-1}] \\ &= [\overline{k_g} + \overline{f}; e]. \end{aligned}$$

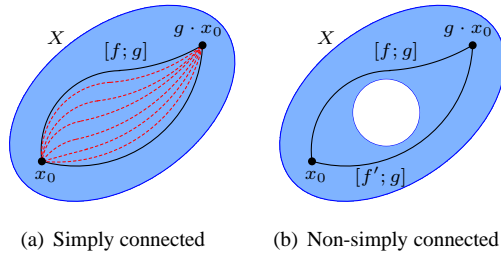


Figure 4: Representation of equivalence classes for paths of order g

Since $[\overline{k_g} + \overline{f}; e] \in \pi_1(X, x_0)$, we have $[f + k_g; e] \in \pi_1(X, x_0)$. This proves surjectivity, since any loop λ is homotopic to certain loop of the form $f + k_g$.

As was pointed out, the condition for (G, G) to admit a family of preferred paths at e is equivalent to the condition that every transformation group (X, G) admits a family of preferred paths.

□

Remark 11. The map s in the proof of Theorem 10 is known as a *splitting map* for the exact sequence 1. In general, the existence of a splitting map establishes an isomorphism with a semidirect product.

We now mention some direct corollaries of Theorem 10.

For a *simply connected* space X we have that $\pi_1(X, x_0)$ is the trivial one-element group, and any two paths with the same order are homotopic. Thus the set of paths of order g make up a *unique* equivalence class $[f; g]$. Figure 4(b) shows how a non-simply connected space can have more than one equivalence class for paths of order g .

In the simply connected case, choosing any path from $g \cdot x_0$ to x_0 provides a family of preferred paths, and the semidirect product in Theorem 10 is isomorphic to G .

Corollary 12. *If X is simply connected, then $\pi_1(X, x_0, G) \cong G$.*

If x_0 is a *fixed point* of (X, G) , that is, $g \cdot x_0 = x_0$ for all $g \in G$, then the constant map **1** alone provides a family of preferred paths at x_0 .

Corollary 13. *If $x_0 \in X$ is a fixed point of (X, G) , then $\pi_1(X, x_0, G) \cong \pi_1(X, x_0) \rtimes G$ where the action of G on $\pi_1(X, x_0)$ is given by*

$$K_g: \pi(X, x_0) \longrightarrow \pi(X, x_0)$$

$$[\lambda] \longmapsto [g\lambda].$$

Examples

We now look at some examples.

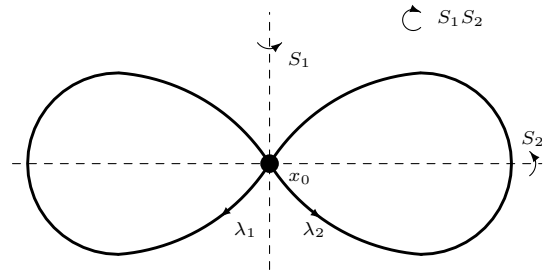


Figure 5: Figure eight space: \mathfrak{E}

Example 1. *Consider the transformation groups (E^n, O_n) and (S^m, O_{m+1}) , $m > 1$ in which the orthogonal group acts on Euclidean space and the sphere, respectively. Since E^n and S^m , $m > 1$ are simply connected topological spaces, we have $\pi_1(E^n, O_n) \cong O_n$ and $\pi_1(S^m, O_{m+1}) \cong O_{m+1}$, $m > 1$.*

Example 2. *Consider the unit disk $\mathcal{D} = \{(x, y) \mid d((x, y), (0, 0)) \leq 1\} \subseteq E^2$. Since \mathcal{D} is simply connected, $\pi_1(\mathcal{D}, O_2) \cong O_2$.*

Example 3. *Consider the topological group $(\mathbb{R}, +)$ acting on itself by translation. Then $\pi_1(\mathbb{R}, 0, \mathbb{R}) \cong \mathbb{R}$. More generally, we can replace \mathbb{R} by any simply connected topological group and obtain the same result.*

We now turn to non-simply connected spaces.

Example 4. *Consider the figure-eight space \mathfrak{E} depicted in Figure 5. The fundamental group is the free group generated by the loops λ_1, λ_2 . This topological space is path-connected and non-simply connected. as said before, we know that $\pi_1(\mathfrak{E}, x_0) \cong \langle \lambda_1, \lambda_2 \rangle \cong \mathbb{F}_2$. The group acting over \mathfrak{E} is the one generated by the reflections S_1 and S_2 . Note that this describes the dihedral group D_2 also known as Klein four-group, which is isomorphic to $\mathbb{Z}_2 \times \mathbb{Z}_2$. The action of D_2 over \mathfrak{E} fixes the point x_0 , thus by Corollary 13 we can conclude that:*

$$\pi_1(\mathfrak{E}, D_2) \cong \mathbb{F}_2 \rtimes (\mathbb{Z}_2 \times \mathbb{Z}_2)$$

In which the automorphism of \mathbb{F}_2 induced by D_2 is given by:

$$K_0: \mathbb{F}_2 \longrightarrow \mathbb{F}_2 \quad K_{S_2}: \mathbb{F}_2 \longrightarrow \mathbb{F}_2$$

$$\lambda_1 \longleftarrow \lambda_1 \quad \lambda_1 \longleftarrow \overline{\lambda_1}$$

$$K_{S_1}: \mathbb{F}_2 \longrightarrow \mathbb{F}_2 \quad K_{S_1 S_2}: \mathbb{F}_2 \longrightarrow \mathbb{F}_2$$

$$\lambda_1 \longleftarrow \lambda_2 \quad \lambda_1 \longleftarrow \overline{\lambda_2}$$

Example 5. *Consider the topological space described in Figure 6. It is basically the regular polygon of n sides with extra sides joining all vertices with the point x_0 (center of rotation), let's call it $\tilde{\mathcal{P}}_n$. If we let the dihedral group D_n to act on $\tilde{\mathcal{P}}_n$, it is clear that the point x_0 is fixed under the action; thus, we can calculate the fundamental group of the transformation group $(\tilde{\mathcal{P}}_n, D_n)$ as follows:*

$$\pi_1(\tilde{\mathcal{P}}_n, x_0, D_n) \cong \mathbb{F}_n \rtimes D_n$$

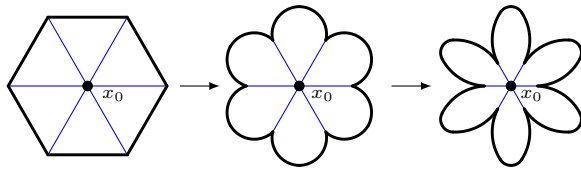


Figure 6: Decomposition of $\tilde{\mathcal{P}}_n$ in its generators

The automorphism of \mathbb{F}_n induced by the elements of D_n are similar to the ones described in Example 4, for there are elements in D_n that map λ_i onto $\lambda_i, \overline{\lambda_i}, \lambda_j$ or $\overline{\lambda_j}$ for $j \neq i$.

The topological group SO_2

Consider the special orthogonal group SO_2 , which is homeomorphic to the circle S^1 , and thus acts continuously on S^1 (by rotations). Let $e = R_0 \in SO_2$, then we have the path $f: I \rightarrow SO_2$ such that $f(t) = R_{(1-t)\theta}$.

However, this does *not* define a family of preferred paths in S^1 . If $f_{\theta_1}(t) = R_{(1-t)\theta_1}$, $f_{\theta_2}(t) = R_{(1-t)\theta_2}$ and $f_{\theta_{1,2}}(t) = R_{(1-t)(\theta_1+\theta_2)}$, it is possible to prove that indeed $f_{\theta_{1,2}}$ is homotopic to $R_{\theta_1}f_{\theta_2} + f_{\theta_1}$. Consider the case when $\theta_1 = \theta_2 = \pi$. The result is the path from R_0 to $R_{2\pi}$ and it is also true that $R_0 = R_{2\pi}$. However, the constant path f_0 is not homotopic to the path $f_{2\pi}$. Indeed no family of preferred paths exists, so that Rhodes's theorem does not apply to the transformation group (S^1, SO_2) .

Actions on S^1

Consider the cyclic group of order n acting on S^1 . Let $R_{\frac{1}{n}} \in \mathbb{Z}_n$ be the counterclockwise rotation of $\frac{2\pi}{n}$ radians and $f_{\frac{1}{n}}$ be the path from x_0 to $R_{\frac{1}{n}} \cdot x_0$.

Theorem 14. $\pi_1(S^1, \mathbb{Z}_n) \cong \mathbb{Z}$.

Proof. Consider the element $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}] \in \pi_1(S^1, \mathbb{Z}_n)$. Then:

$$\begin{aligned} [f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]^2 &= [f_{\frac{1}{n}} + R_{\frac{1}{n}}f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}^2]^2 \\ &= [f_{\frac{2}{n}}; R_{\frac{2}{n}}] \\ [f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]^3 &= [f_{\frac{2}{n}}; R_{\frac{2}{n}}] \star [f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{\frac{2}{n}} + R_{\frac{2}{n}}f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{2}{n}}R_{\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{\frac{3}{n}}; R_{\frac{3}{n}}] \\ &\vdots \\ [f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]^m &= [f_{\frac{m-1}{n}}; R_{\frac{m-1}{n}}] \star [f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{\frac{m-1}{n}} + R_{\frac{m-1}{n}}f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{m-1}{n}}R_{\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{\frac{m}{n}}; R_{\frac{m}{n}}] \end{aligned}$$

Figure 7 represents the actions of different rotations $R_{\frac{m}{n}}$ over the path $f_{\frac{1}{n}}$.

Recall from Proposition 6 that the inverse element of $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]$ is $[R_{\frac{1}{n}}^{-1}f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}^{-1}]$. The rotation $R_{\frac{1}{n}}^{-1} = R_{-\frac{1}{n}}$

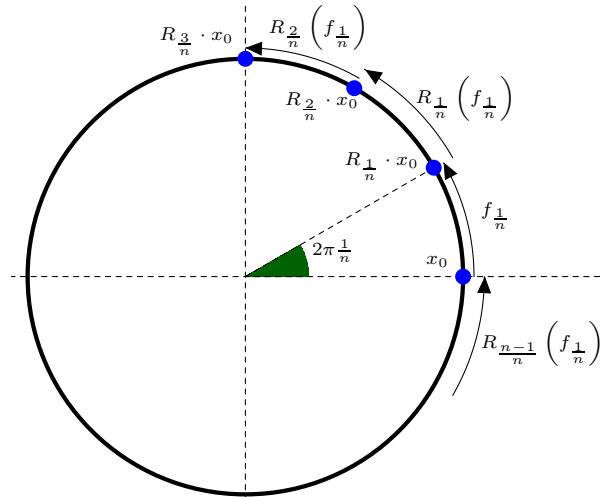


Figure 7: Representation of positive powers of $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]$

is the clockwise rotation of $\frac{2\pi}{n}$ radians, and the path $f_{\frac{1}{n}}$ goes from $R_{\frac{1}{n}} \cdot x_0$ to x_0 (clockwise direction); therefore, the path $R_{\frac{1}{n}}^{-1}f_{\frac{1}{n}} = f_{-\frac{1}{n}}$ goes from x_0 to $R_{-\frac{1}{n}} \cdot x_0$ in a clockwise direction. Using $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]^{-1} = [f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}]$ we can conclude that:

$$\begin{aligned} [f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}]^2 &= [f_{-\frac{1}{n}} + R_{-\frac{1}{n}}f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}^2] \\ &= [f_{-\frac{2}{n}}; R_{-\frac{2}{n}}] \\ [f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}]^3 &= [f_{-\frac{2}{n}}; R_{-\frac{2}{n}}] \star [f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{-\frac{2}{n}} + R_{-\frac{2}{n}}f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{2}{n}}R_{-\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{-\frac{3}{n}}; R_{-\frac{3}{n}}] \\ &\vdots \\ [f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}]^m &= [f_{-\frac{m-1}{n}}; R_{-\frac{m-1}{n}}] \star [f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{-\frac{m-1}{n}} + R_{-\frac{m-1}{n}}f_{-\frac{1}{n}}; R_{-\frac{m-1}{n}}R_{-\frac{1}{n}}] \\ &= [f_{-\frac{m}{n}}; R_{-\frac{m}{n}}] \end{aligned}$$

This clearly reflects an *additive* structure under the composition rule \star , the isomorphism with the integers is given by the mapping of the generator $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}] \in \pi_1(S^1)$ to the generator $1 \in \mathbb{Z}$. Since S^1 is path connected, it does not depend on the base-point chosen. Therefore $\pi_1(S^1, \mathbb{Z}_n) \cong \mathbb{Z}$. Figure 8 shows the actions of some clockwise rotations on the inverse element of the generator $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]$. \square

S^1 acting on Topological Spaces

Suppose that S^1 acts on a topological space X . For $x \in X$, the orbit $S^1 \cdot x_0$ defines and homotopy class on $\pi_1(X, x_0)$. Recall that $\pi_1(S^1) \cong \mathbb{Z}$, then there exists an homomorphism: [5, Sec. 4]

$$\begin{aligned} \alpha: \pi_1(S^1) &\longrightarrow \pi_1(X, x_0) \\ n &\longmapsto \alpha(n) \end{aligned}$$

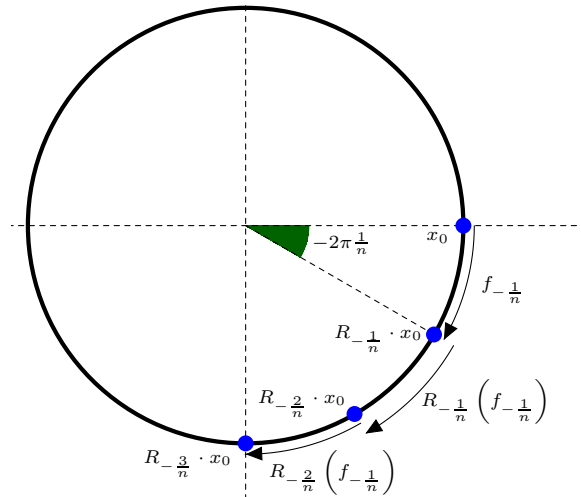


Figure 8: Representation of negative powers of $[f_{\frac{1}{n}}; R_{\frac{1}{n}}]$

Where $\alpha(n)$ is the path from x_0 to itself following the S^1 -orbit n times. Note that there is enough to consider what is the image of 1 under the homomorphism α , since $\mathbb{Z} = \langle 1 \rangle$ and $\alpha(n) + \alpha(m) = \alpha(n+m)$; therefore, $\alpha(\pi_1(S^1)) = \langle \alpha(1) \rangle$.

Consider the \mathbb{Z} -sets: $\pi_1(X, x_0)$ and \mathbb{R} . Let \mathbb{Z} be acting on $\pi_1(X, x_0)$ via the homomorphism α and \mathbb{Z} be acting on \mathbb{R} by translation as follows:

$$\begin{aligned} \mathbb{Z} \times \mathbb{R} &\longrightarrow \mathbb{R} & \mathbb{Z} \times \pi_1(X, x_0) &\longrightarrow \pi_1(X, x_0) \\ (n, r) &\longmapsto n + r & (n, \lambda) &\longmapsto \alpha(n) + \lambda \end{aligned}$$

Now, consider the fiber product over \mathbb{Z} [6, Appendix III]:

$$\pi_1(X, x_0) \times_{\mathbb{Z}} \mathbb{R} = (\pi_1(X, x_0) \times \mathbb{R}) / \mathbb{Z}$$

This set is the quotient group of the group $\pi_1(X, x_0) \times \mathbb{R}$ under the equivalence relation $(\lambda, r + n) \sim (\alpha(n) + \lambda, r)$.

Theorem 15. $\pi_1(X, x_0, S^1) \cong \pi_1(X, x_0) \times_{\mathbb{Z}} \mathbb{R}$

Proof. Let $x \in X$ and $r \in \mathbb{R}$, then $r_{x_0} \in X$ be the path from x to $r \cdot x \in S^1$ -orbit. Consider the following map:

$$\begin{aligned} \rho: \pi_1(X, x_0) \times \mathbb{R} &\longrightarrow \pi_1(X, x_0, S^1) \\ (\lambda, r) &\longmapsto [\lambda + r_{x_0}; r \text{ mod } 1] \end{aligned}$$

Recall that $r \text{ mod } 1 \in S^1$ since $S^1 \cong \mathbb{R}/\mathbb{Z}$. [7] Note that ρ is onto since $\lambda + r_{x_0}$ is a path of order $g \equiv r \text{ mod } 1$. It is clear that $r \equiv r + n \text{ mod } 1$ for $n \in \mathbb{Z}$; moreover, $(\alpha(n) + \lambda) + r_{x_0} \simeq_{(r \text{ mod } 1, x_0)} \lambda + (r+n)_{x_0}$ since $\alpha(n) = n_{x_0}$ (because they follow the same orbit with the base-point x_0). Thus, the map ρ is not one-to-one. Note that if $(\lambda, r + n) \sim (\alpha(n) + \lambda, r)$, then $\rho_*: \pi_1(X, x_0) \times_{\mathbb{Z}} \mathbb{R} \rightarrow \pi_1(X, x_0, S^1)$ is an isomorphism. \square

Corollary 16. $\pi_1(S^1, SO_2) \cong \mathbb{R}$

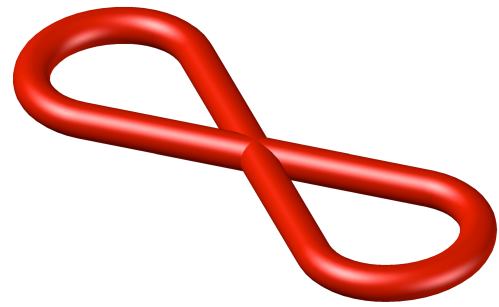


Figure 9: The 3D figure eight as a cartesian product $\mathbb{C} \times S^1$

Proof. From the previous theorem consider $X = S^1$, then $\pi_1(S^1, S^1) \cong \pi_1(S^1) \times_{\mathbb{Z}} \mathbb{R} \cong \mathbb{Z} \times \mathbb{R}/\mathbb{Z} \cong \mathbb{R}$. As $S^1 \cong SO_2$, we get the isomorphism required. \square

Product Spaces

Using the topological spaces and groups studied so far, it is possible to construct new transformation groups using direct products. For instance, let $(X, G), (Y, H)$ be transformation groups, then every pair of action $(g, h) \in G \times H$ gives rise to an homeomorphism: [1, Sec. 10]

$$\begin{aligned} (g, h): \quad X \times Y &\longrightarrow X \times Y \\ (x, y) &\longmapsto (g \cdot x, h \cdot y) \\ (x_1, y_1)(x_2, y_2) &\longmapsto (g \cdot x_1 x_2, h \cdot y_1 y_2) \end{aligned}$$

Proposition 17. The mapping

$$\pi_1(X, x_0, G) \times \pi_1(Y, y_0, H) \longrightarrow \pi_1(X \times Y, (x_0, y_0), G \times H)$$

$$([f_x; g], [f_y; h]) \longmapsto [(f_x, f_y); (g, h)]$$

is an isomorphism.

Proof. To prove that the mapping is a homomorphism is enough to say that the direct product is composed by a morphism in each coordinate. Note that, the projections:

$$\begin{aligned} p_1: f_*(\pi_1(X, x_0, G) \times \{e\}) &\longrightarrow \pi_1(X, x_0, G) \\ p_2: f_*(\{e\} \times \pi_1(Y, y_0, H)) &\longrightarrow \pi_1(Y, y_0, H) \end{aligned}$$

are both bijections; therefore the map is an isomorphism. \square

Example 6. Consider the group G acting on \mathbb{R} . By the Corollary 12 we know that $\pi_1(\mathbb{R}, G) \cong G$. Consider the cartesian product $G^n = \prod_{i=1}^n G$. Then we can use Proposition 17 to calculate the fundamental group of the transformation group $(\mathbb{R}^n, G \times \dots \times G)$ as follows:

$$\pi_1(\mathbb{R}^n, G^n) \cong \prod_{i=1}^n \pi_1(\mathbb{R}, G) \cong G^n$$

which is the desired result as of Corollary 12.

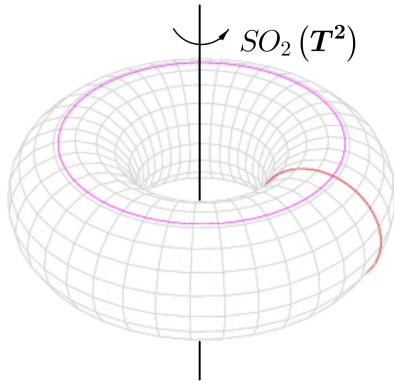


Figure 10: The torus T^2 as a cartesian product $S^1 \times S^1$

Example 7. Consider the topological space described in Figure 9. It is a representation of the cartesian product of the figure eight described in Example 5 and the circle: $\mathfrak{E} \times S^1$. If we want the dihedral group acting over the 3D figure eight, it is possible to use a product space using a trivial group action over the circle as follows:

$$\pi_1(\mathfrak{E} \times S^1, D_2) \cong \pi_1(\mathfrak{E}, D_2) \times \pi_1(S^1, \{e\}) \cong (\mathbb{F}_2 \rtimes D_2) \times \mathbb{Z}$$

Example 8. Consider the torus $T^2 = S^1 \times S^1$. Let SO_2 act on T^2 via rotations with respect to its axis of symmetry for rotations. The fundamental group of the transformation group (T^2, SO_2) can be calculated using a cartesian product as well, using the same trick as before of letting act a trivial group $\{e\}$ on one of the cartesian components of the torus:

$$\pi_1(T^2, SO_2) \cong \pi_1(S^1, SO_2) \times \pi_1(S^1, \{e\}) \cong \mathbb{R} \times \mathbb{Z}$$

Conclusions

The article written by Rhodes opened the door for a whole new category in algebraic topology. His ideas drew a new connection between the worlds of topology and abstract algebra. Although his results were not so applicable at first sight, mathematicians soon came to find them very useful. It is important to emphasize the results obtained when studied the topological group S^1 . Recall that:

$$\begin{aligned} \pi_1(S^1, \mathbb{Z}_n) &\cong \mathbb{Z} \\ \pi_1(S^1, SO_2) &\cong \mathbb{R} \end{aligned}$$

Therefore, when a cyclic group acts on S^1 its fundamental group is a discrete group. In the other hand, when a topological group acts on S^1 its fundamental group is a topological group. What can be garnered from taking a deeper look at this type of work is that there are still some unanswered questions for relatively easy transformation groups. For example, we still do not know how to calculate the fundamental group of (S^1, O_2) .

Acknowledgements

We want to thank James Montaldi Ph.D in Mathematics from University of Manchester, without whose scholarly correspondence this paper could not be finished.

Despite the distance, Professor Montaldi helped us selflessly with doubts in algebraic topology.

Symbols

| | |
|------------------------|---|
| (X, G) | Transformation group |
| $\mathbf{1}$ | Constant function $f(X) = x_0$ |
| $[\lambda]$ | Equivalence class of λ |
| $\pi_1(X, x_0)$ | Fund. group of X with base point x_0 |
| $[f; g]$ | Equivalence class of paths of order g |
| $\pi_1(X, x_0, G)$ | Fund. group of (X, G) with base point x_0 |
| $\{k_g \mid g \in G\}$ | Family of preferred paths |
| R_θ | Rotation of angle θ |
| E^n | Euclidean Space of dimension n |
| \mathfrak{E} | Figure-eight space |
| S^n | Sphere of dimension n |
| D_n | Dihedral group of order $2n$ |
| O_n | Orthogonal group of dimension n |
| \mathbb{F}_n | Free group of n generators |
| \mathbb{Z}_n | Cyclic group of order n |
| \cong | Isomorphic to |
| \sim_{x_0} | Homotopic modulo x_0 |
| $\succ_{(g, x_0)}$ | Paths of order g modulo x_0 |
| \triangleleft | Normal subgroup of |
| \rtimes | Semidirect product |
| \times_G | Fiber product over G |
| $\langle a \rangle$ | Group generated by a |

References

- [1] Rhodes, F. 1966. "On the Fundamental Group of a Transformation". *Proceedings of the London Mathematical*, s3-16(1):635–650 doi: 10.1112/plms/s3-16.1.635.
- [2] Dummit, D.; Foote, R.. "Abstract Algebra". *John Wiley & Sons Canada, Limited, 2004. ISBN 9780471452348.*
- [3] Munkres, J., 2000. "Topology". *Prentice Hall, Incorporated, ISBN 9780131816299. URL <http://books.google.com.ec/books?id=XjoZAQAIAAJ>.*
- [4] Massey, W., 1991. "A Basic Course in Algebraic Topology". *Graduate Texts in Mathematics. Springer-Verlag GmbH. ISBN 9780387974309.*
- [5] Steckles, K.; Montaldi, J., 2013. "Classification of symmetry groups for planar n-body choreographies".
- [6] Kirillov, A., 2004. "Lectures on the Orbit Method". *Graduate studies in mathematics. American Mathematical Society, ISBN 9780821835302.*
- [7] Mitchell, S., 2012. "Topology of the orthogonal and unitary groups". *Technical report, University of Washington, <http://www.math.washington.edu/mitchell/Man/ou.pdf>.*

On a class of embedded cubature formulae on the simplex
Sobre una clase de fórmulas de cubicación encajadas en el símplex

Francesco A. Costabile¹ and Luca Guzzardi^{2*}

¹*Dipartimento di Matematica, Uni Cal, Rende, Cosenza, Italy.*

²*Universidad San Francisco de Quito, Mathematics Department. Colegio de Ciencias e Ingenierías, El Politécnico Cumbayá, Diego de Robles y Vía Interoceánica. Ecuador*

**Autor principal/Corresponding author, e-mail: lguzzardi@gmail.com*

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 25/04/2014. Aceptado/Accepted: 28/04/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

In this paper we investigate a class of embedded cubature formulae on the simplex announced in [1]. Here we recall the class of formulae, we introduce the remainder and we give an estimation of this, we also investigate the convergence. Some numerical examples are given.

Mathematical subject classification: Primary: 65D32

Keywords. approximation by rational functions, cubature, simplex.

Resumen

En este trabajo se investiga una clase de fórmulas de cubicación encajados en el símplex anunciado en [1]. Aquí recordamos la clase de fórmulas, se introduce el resto y damos un estimado de lo mencionado y también investigamos la convergencia. Se dan algunos ejemplos numéricos.

Palabras Clave. aproximación por funciones racionales, cubicación, símplex

1 Introduction

Let T be the standard triangle in \mathbb{R}^2 , i.e.

$$T = \{(x, y) : x > 0 \quad x + y \leq 1\} \quad (1)$$

and let $f : T \rightarrow \mathbb{R}^2$ be a sufficiently smooth function. The numerical calculation of the integral

$$I_T[f] := \int_T f \, dx \, dy \quad (2)$$

by means of cubature formula is of special interest. Widely used cubature formulae for (2) are of type

$$Q_n[f] := \sum_{i=1}^n w_i f(x_i, y_i) \quad w_i \in \mathbb{R} \quad (x_i, y_i) \in T \quad (3)$$

where w_i are weights and (x_i, y_i) are nodes [2]. Then we find

$$I_T[f] = Q_n[f] + R_n[f] \quad (4)$$

where $R_n[f]$ is the remainder of the formula. Formula (3) has algebraic degree of precision d if

$$R_n[f] = 0 \iff I_T[f] = Q_n[f] \quad (5)$$

holds for all polynomial functions of total degree d or less (in x and in y) and a polynomial of total degree $d + 1$ exists for which (5) does not hold. In the following cubature formula with algebraic degree of precision d is indicated as $Q_n^d[f]$; in general the degree of precision depends on the number of nodes in (3). From the wide literature for formulae (3) we refer to [3] [4] [5] and references therein. In order to obtain a numerical estimation of the error in (4) the method of embedded formulae is widely used. If $Q_n^d[f]$ is a formula of degree d and Q_{n+k}^{d+1} is a formula of degree $d + 1$, then the value

$$|Q_n^d[f] - Q_{n+k}^{d+1}[f]| \quad (6)$$

is assumed as error estimation of $Q_n^d[f]$. In [6] a method is introduced to build up pairs of cubature formulae with degree of precision $2d - 1$ and $2d + 1$ with a special feature: all the nodes (and hence all functional values) required in the calculation of formula $Q_n^d[f]$ enter the $n + k$ -th order formula $Q_{n+k}^{d+1}[f]$. This kind of formulae is called embedded formulae. The advantage in using embedded formulae is that it gives the chance to increase the precision of approximation of (2) with a min-

imum number of operations.

In this paper we introduce a method to build up embedded formulae which is in the line of [7] [8] [9]. These cubature formulae have a fixed number of nodes, usually the vertexes of the triangle. They require values from the derivatives of the function and their algebraic degree of precision increases with the degree of the derivatives involved. Quadrature formulae which use derivative values are classical in the literature, see [10] [11] [12]. This kind of formulae is useful when derivative values are obtained directly or indirectly: this is the case proposed in [13]. Moreover calculation of derivatives can be an easy task if it is done with the aid of symbolic calculation software[14].

The Cubature formulae introduced in this paper are achieved by integrating the expansion formulae in [1], have a fixed number of nodes and require values from derivatives in order to increase their algebraic degree of precision; moreover they have a further property: they are exact on a large class of rational functions. As far as the authors are aware this kind of exactness does not appear in the literature. The urge of cubature formulae for rational functions, as it is described, for example, in [15], motivates this paper.

The paper is organized as follows: in sec.2 we summarize previous results required in the development of the paper; among other results, we recall the expansion formula introduced in [1]. In sec.3 we introduce the class of cubature formulae; in sec.4 we investigate the remainder and its bounds. In sec.5 we search for the class of functions such that cubature formulae converge to their integral. We conclude the paper with numerical examples in sec.6.

2 Preliminaries

In this section we summarize some of the results introduced in [1], [16] and [17] in order to make this paper self explanatory.

In [16] an univariate two points expansion formula is introduced. Let $f \in C^m([0, \alpha])$: the expansion formula $B_m(\alpha)[f]$ is the m -th degree polynomial of the variable x

$$B(\alpha)_m[f](x) := f(0) + \sum_{i=1}^m S_i \left(\frac{x}{\alpha} \right) \frac{\alpha^{i-1}}{i!} \Delta_\alpha f^{(i-1)}(0) \tag{7}$$

where

$$\Delta_\alpha f(x) = f(x + \alpha) - f(x)$$

and the polynomial S_j are defined by means of the Bernoulli polynomial [18]:

$$S_j(x) = B_j(x) - B_j(0).$$

Note that expansion $B(\alpha)_m[f]$ has algebraic degree of precision:

$$p(x) \in \mathcal{P}^m([0, \alpha]) \Rightarrow p(x) = B(\alpha)_m[p](x).$$

This property is rigorously proved in [16] and it is straightforward to verify.

In [1] a bi-variate expansion formula for functions defined on the triangle is introduced; this new formula is an extension of (7) and is defined as:

$$B(\alpha, \beta)_{n,m}[f] = B(\alpha)_n \otimes B(\beta)_m[f \circ g^{-1}] \circ g \tag{8}$$

where the function g is the Duffy map [19]:

$$g(x, y) = \left(x, \frac{y}{1-x} \right) \tag{9}$$

In [1] the expansion formula (8) is introduced explicitly in the case $\alpha = 1/2, \beta = 1/2$; here introduce the same formula generalized for $\alpha \in (0, 1)$ and $\beta \in (0, 1)$.

$$\begin{aligned} B(\alpha, \beta)_{n,m}[f](x, y) &:= f(0, 0) \\ &+ \sum_{i=1}^n \frac{\alpha^{i-1}}{i!} \Delta_{(\alpha,0)} f \circ g_{i-1,0}(0, 0) S_i \left(\frac{x}{\alpha} \right) \\ &+ \sum_{j=1}^m \frac{\beta^{j-1}}{j!} \Delta_{(0,\beta)} f \circ g_{0,j-1}(0, 0) S_j \left(\frac{y}{\beta(1-x)} \right) \\ &+ \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \frac{\alpha^{i-1} \beta^{j-1}}{i!j!} \Delta_{(\alpha,\beta)} f \circ g_{i-1,j-1}(0, 0) S_i \left(\frac{x}{\alpha} \right) \cdot S_j \left(\frac{y}{\beta(1-x)} \right) \end{aligned} \tag{10}$$

where

$$\begin{aligned} \Delta_{(\alpha,0)} f(x, y) &= f(x + \alpha, y) - f(x, y); \\ \Delta_{(0,\beta)} f(x, y) &= f(x, y + \beta) - f(x, y); \\ \Delta_{(\alpha,\beta)} f(x, y) &= \Delta_{(\alpha,0)} \Delta_{(0,\beta)} f(x, y) = \\ &= f(x, y) - f(x + \alpha, y) + f(x + \alpha, y + \beta) - f(x, y + \alpha) \end{aligned}$$

Functions $f \circ g_{k,h}$ are expansions of the derivatives of $f \circ g^{-1}$ which are involved in the eq.(8). Hence

$$f \circ g_{k,h}(x, y) := \frac{\partial^{k+h}}{\partial x^k \partial y^h} (f \circ g^{-1})$$

And their explicit calculation results:

$$\begin{aligned} f \circ g_{k,h}(x, y) &= \sum_{i=0}^h \frac{k!}{(k-i)!} (\nabla^{k+i} f \circ g^{-1}) \cdot \\ &\cdot \text{Sym} \left(\left(\otimes_{l=0}^{k-i} g_x^{-1} \right) \left(\otimes_{l=0}^{h-i} g_y^{-1} \right) \left(\otimes_{l=0}^i g_{xy}^{-1} \right) \right) \end{aligned} \tag{11}$$

Expansion $B(\alpha, \beta)_{n,m}[f]$ has properties of exactness:

Theorem 2.1 ([1]). *Expansion formula $B(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f]$ has algebraic degree of precision, it is exact on polynomial of degree (n, m) (see fig.1).*

Expansion $B(\alpha, \beta)_{n,m}[f]$ is exact on rational functions $r(x, y) = p(x, y/(1-x))$ where $p(x, y)$ is a polynomial of degree (n, m) .

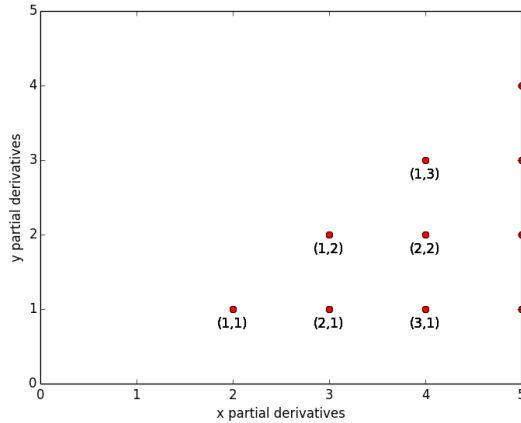


Figure 1: The algebraic degree of precision (n, m) plotted in the plane $(x$ -partial derivatives, y -partial derivatives).

Proof. Let us consider the monomial $p = x^n y^m$: it is the polynomial with highest degree among all of degree (n, m) . Proving that $B(\alpha, \beta)_{n+m,m}[p] = p$ will ensure the precision of the expansion.

We note that $p \circ g^{-1} = x^n (y(1-x))^m$ is a polynomial of degree $(n+m, m)$; because of the precision of $B_n(\alpha)[f]$ and the properties of tensor product, it follows:

$$B_{n+m}(\alpha) \otimes B_m(\beta)[p \circ g^{-1}] = p \circ g^{-1} \quad (12)$$

then, recalling the definition in eq.(8), we found:

$$B(\alpha, \beta)_{n+m,m}[p] = B_n(\alpha) \otimes B_m(\beta)[p \circ g^{-1}] \circ g = p \circ g^{-1} \circ g = p. \quad (13)$$

The same argument can be used to prove the exactness of the expansion on rational functions. It is sufficient to note that if

$p = x^n y^m$, then $r \circ g^{-1} = x^n \left(\frac{y}{1-x}(1-x)\right)^m = x^n y^m$. Then the result follows analogously of eqs.(12,13). \square

3 The new cubature formula

Theorem 3.1. Let f be a sufficiently smooth function defined on the standard triangle $T = \{(x, y) : x > 0, x + y \leq 1\}$. Let be $\alpha \in (0, 1)$ and $\beta \in (0, 1]$.

The cubature formula

$$C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f] := \frac{1}{2} f(0, 0) + \sum_{i=1}^{n+m} \frac{\alpha^{i-1}}{i!} C_\alpha^i \Delta_{(\alpha,0)} f \circ g_{i-1,0}(0, 0) + \sum_{j=1}^m \frac{\beta^{j-1}}{j! 2} C_\beta^j \Delta_{(0,\beta)} f \circ g_{0,j-1}(0, 0) + \sum_{i=1}^{n+m} \sum_{j=1}^m \frac{\alpha^{i-1} \beta^{j-1}}{i! j!} C_\alpha^i C_\beta^j \Delta_{(\alpha,\beta)} f \circ g_{i-1,j-1}(0, 0) \quad (14)$$

where

$$C_\alpha^i = \frac{\alpha^2}{(i+1)(i+2)} S_{i+2}\left(\frac{1}{\alpha}\right) + \frac{\alpha}{i+1} \cdot B_{i+1}(0) - \frac{1}{2} B_i(0) \quad (15)$$

$$C_\beta^j = \frac{\beta}{j+1} S_{j+1}\left(\frac{1}{\beta}\right) - B_j(0), \quad (16)$$

and $f \circ g_{k,h}(x, y)$ is in eq.(11), has algebraic degree of precision (n, m) .

The cubature formula $C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f]$ is exact on rational functions $r(x, y) = p(x, y)/(1-x)$ where $p(x, y)$ is a polynomial of degree (n, m) .

Proof. Cubature formulae (14) are achieved by integrating expansion formulae $B(\alpha, \beta)_{n+m,m}$.

$$\int_0^1 \int_0^{1-x} B(\alpha)_{n+m} \otimes B(\beta)_m [f \circ g^{-1}] \circ g(x, y) dx dy$$

we change the variables to integrate on the square: the function g^{-1} maps the triangle on the square and $J_{g^{-1}} = (1-x)$ is its Jacobian. It result

$$\int_0^1 \int_0^1 B(\alpha)_{n+m} \otimes B(\beta)_m [f \circ g^{-1}] \circ g \circ g^{-1}(x, y) J_{g^{-1}} dx dy = \int_0^1 \int_0^1 B(\alpha)_{n+m} \otimes B(\beta)_m [f \circ g^{-1}](x, y) J_{g^{-1}} dx dy$$

When we breakdown the function in the integral, to obtain the cubature formula we need to integrate the following:

$$C_\alpha^i := \int_0^1 \int_0^1 S_i\left(\frac{x}{\alpha}\right) (1-x) dx dy \quad (17)$$

$$\frac{1}{2} C_\beta^j := \int_0^1 \int_0^1 S_j\left(\frac{y}{\beta}\right) (1-x) dx dy \quad (18)$$

$$C_\alpha^i C_\beta^j = \int_0^1 \int_0^1 S_j\left(\frac{y}{\beta}\right) S_i\left(\frac{x}{\alpha}\right) (1-x) dx dy \quad (19)$$

We note that the rational functions $S_j(y/(\beta(1-x)))$ now are polynomial in y thanks to the change of variables (see eqs.8-10). Because of the separation of variables, the values C_α^i and C_β^j in eqs.(17,18) can be rewritten as:

$$C_\alpha^i = \int_0^1 S_i\left(\frac{x}{\alpha}\right) (1-x) dx \quad C_\beta^j = \int_0^1 S_j\left(\frac{y}{\beta}\right) dy$$

and for the same reason the equality in eq.(19) holds.

To conclude the integration we note that obtaining both C_α^i and C_β^j is straightforward once that we have:

$$\int S_i\left(\frac{x}{\alpha}\right) dx = \int \left(B_i\left(\frac{x}{\alpha}\right) - B_i(0)\right) dx = \frac{\alpha}{i+1} B_{i+1}\left(\frac{x}{\alpha}\right) - B_i(0)x + c$$

which follows from the integral property of Bernoulli polynomials [18].

In sec 2 it is recalled that the expansion formula $B(\alpha, \beta)[f]$ is exact on polynomial and on a class of rational functions. Cubature formula $C(\alpha, \beta)[f]$ inherit the same exactness. \square

In the formula above α is strictly bounded by 1 because Duffy's map (9) is continuous and invertible in the triangle except for the point $(1, 0) \in \mathbb{R}^2$, which is involved when $\alpha = 1$. On the other hand, when it is applied in the calculation of integrals, the singularity in $(1, 0) \in \mathbb{R}^2$ disappears and it is possible to define a cubature formula with the vertexes of the triangle as nodes. Formula $C(1, 1)_{n,m}[f]$ comes as limit case of $C(\alpha, 1)_{n,m}[f]$:

$$\begin{aligned}
 C(1, 1)_{n,m}[f] &= \frac{1}{2}f(0, 0) + \\
 &+ \sum_{i=1}^n \frac{1}{i!} \left(-\frac{B_i}{2} - \frac{B_{i+1}}{(1+i)} + \frac{S_{i+2}(1)}{(2+i)(1+i)} \right) \cdot \\
 &\cdot \Delta_{(1,0)} f_{og_{i-1,0}}(0, 0) \\
 &+ \sum_{j=1}^m \frac{1}{j!2} \left(-B_j + \frac{1}{(j+1)} S_{j+1}(1) \right) \cdot \\
 &\cdot \Delta_{(0,1)} f_{og_{0,j-1}}(0, 0) \\
 &+ \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \frac{1}{i!j!} \left(-\frac{B_i}{2} - \frac{B_{i+1}}{(1+i)} + \right. \\
 &\left. + \frac{S_{i+2}(1)}{(2+i)(1+i)} \right) \left(-B_j + \frac{1}{2(j+1)} S_{j+1}(1) \right) \\
 &\cdot \Delta_{(1,1)} f_{og_{i-1,j-1}}(0, 0)
 \end{aligned}$$

Cubature formula $C(\alpha, \beta)_{n,m}[f]$ can be written in terms of f and its derivatives, without the use of the function f_{og} ; if this is the case, after rearrangements, the cubature formula becomes:

$$\begin{aligned}
 C(\alpha, \beta)_{n,m}[f] &= \sum_{i=1}^4 \sum_{h=0}^{n+1} \sum_{k=0}^{m+1} A_{i,h,k} f^{(h,k)}(x_i, y_i) = \\
 &= C(\alpha, \beta)_{n-1,m-1} + \\
 &+ \sum_{i=1}^4 \left(\sum_{h=0}^n A_{i,h,n+1} f^{(h,m+1)}(x_i, y_i) + \right. \\
 &+ \sum_{k=0}^m A_{i,m+1,k} f^{(n+1,k)}(x_i, y_i) \\
 &+ \left. \sum_{h=0}^n \sum_{k=0}^m A_{i,n+1,m+1} f^{(n+1,m+1)}(x_i, y_i) \right)
 \end{aligned} \tag{20}$$

where (x_i, y_i) are the four nodes, $A_{i,h,k}$ respectively are the weights and both (x_i, y_i) and $A_{i,h,k}$ depend on α and β .

We note that if $f = 1$ then $C(\alpha, \beta)_{n,m}[f] = 1/2$ because of the precision of the formula: thus formula (20) gives:

$$A_{1,0,0} + A_{2,0,0} + A_{3,0,0} + A_{4,0,0} = 1/2$$

where all other $A_{i,h,k}$ are multiplied by 0. Hence the sum of the weights related to the functional values is the area of the triangle.

Remark 3.2. We point out that cubature formula of degree (n, m) contains cubature formula of degree $(n - 1, m - 1)$ as in (20). This ensures that (20) generates a couple of embedded formulae.

4 The remainder formula

In this section we introduce the remainder formula and its bounds. The reminder is achieved by the use of the Sard's kernels [20].

Theorem 4.1. We let

$$R(\alpha, \beta)_{n,n}[f] = \int_0^1 \int_0^{1-x} f \, dx \, dy - C(\alpha, \beta)_{n,n}[f].$$

then we find:

$$\begin{aligned}
 R(\alpha, \beta)_{n,n}[f] &= \frac{1}{k!} \sum_{i=0}^n \binom{k}{i} \left(\int_0^1 K_1^i(u) f^{(k+1-i,i)}(u, 0) \, du + \right. \\
 &+ \int_0^1 K_2^i(v) f^{(i,k+1-i)}(0, v) \, dv \left. + \right. \\
 &\left. \begin{cases} \frac{1}{n!n!} \int_0^1 \int_0^{1-v} K_{n,n}(u, v) \cdot \\ \cdot f^{(n+1,n+1)}(u, v) \, du \, dv & k = 2n + 1 \\ \frac{1}{2(n-1)!n!} \left(\int_0^1 \int_0^{1-v} K_{n,n-1}(u, v) \cdot \right. \\ \cdot f^{(n+1,n)}(u, v) \, du \, dv \\ \left. + \int_0^1 \int_0^{1-v} K_{n-1,n}(u, v) \cdot \right. \\ \cdot f^{(n,n+1)}(u, v) \, du \, dv \left. \right) & k = 2n \end{cases} \right)
 \end{aligned} \tag{21}$$

where

$$\begin{aligned}
 K_1^i(u) &:= \int_0^1 \int_0^{1-x} y^i (x-u)_+^{k-i} \, dx \, dy - C(\alpha, \beta)_{i,i} \cdot \\
 &\cdot [y^i (x-u)_+^{k-i}] \\
 K_2^i(v) &:= \int_0^1 \int_0^{1-x} x^i (y-v)_+^{k-i} \, dx \, dy - C(\alpha, \beta)_{i,i} \cdot \\
 &\cdot [x^i (y-v)_+^{k-i}] \\
 K_{n,n}(u, v) &:= \int_0^1 \int_0^{1-x} (x-u)_+^n (y-v)_-^n \, dx \, dy - \\
 &+ C(\alpha, \beta)_{n,n} [(x-u)_+^n (y-v)_-^n] \\
 K_{n,n-1}(u, v) &:= \int_0^1 \int_0^{1-x} (x-u)_+^n (y-v)_-^{n-1} \, dx \, dy - \\
 &+ C(\alpha, \beta)_{n,n} [(x-u)_+^n (y-v)_-^{n-1}]
 \end{aligned}$$

Proof. The formula (21) comes from a straightforward application of Sard's kernels theorem [20]. \square

If we let

$$M_{i,j} = \sup |f^{(i,j)}(x, y)|$$

we find the following estimation for the remainder

$$\begin{aligned}
 |R(\alpha, \beta)_{n,n}[f]| &\leq \frac{1}{k!} \sum_{i=0}^n \binom{k}{i} \left(M_{k+1-i,i} \int_0^1 |K_1^i(u)| \, du + \right. \\
 &+ M_{i,k+1-i} \int_0^1 |K_2^i(v)| \, dv \left. \right) + \\
 &\left\{ \begin{aligned} &\frac{1}{n!n!} M_{n+1,n+1} \int_0^1 \int_0^{1-v} |K_{n,n}(u, v)| \, du \, dv & k = 2n + 1 \\ &\frac{1}{2(n-1)!n!} \cdot \\ &\cdot \left(M_{n+1,n} \int_0^1 \int_0^{1-v} |K_{n,n-1}(u, v)| \, du \, dv + \right. \\ &\left. + M_{n,n+1} \int_0^1 \int_0^{1-v} |K_{n-1,n}(u, v)| \, du \, dv \right) & k = 2n \end{aligned} \right.
 \end{aligned}$$

5 Convergence theorems

In this section we investigate the convergence of the cubature formula; in particular we prove the following:

Theorem 5.1. *Let f be a function defined on the triangle. If $f \in C^\infty$ and*

$$\left\| \frac{\partial^{h+k}}{\partial x^k \partial y^h} f(x, y) \right\|_\infty < M \quad h, k = 0, \dots \quad (22)$$

then cubature formula $C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f]$ converges to the integral:

$$\lim_{m \rightarrow \infty} C(\alpha, \beta)_{n+m,m} = \int_0^1 \int_0^{1-x} f(x, y) \, dx \, dy$$

Proof. We begin the proof stating an uniform bound in n, m for $C(\alpha, \beta)_{n,m}$. First we have:

$$\begin{aligned} \left| C(\alpha, \beta)_{n,m}[f] \right| &\leq M \left| \frac{1}{2} + \sum_{i=1}^n \frac{\alpha^{i-1}}{i!} C_\alpha^i + \right. \\ &\left. + \sum_{j=1}^m \frac{\beta^{j-1}}{j!2} C_\beta^j + \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \frac{\alpha^{i-1} \beta^{j-1}}{i!j!} C_\alpha^i C_\beta^j \right| \end{aligned} \quad (23)$$

and hence we have to prove the convergence of the three series in eq.(23). Since the method is the same for all of them, let us focus on the series:

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{\alpha^{n-1}}{n!} |C_\alpha^n|$$

Taking into account the definition of C_α^i in eq.(15), the convergence of the series above depends on the convergence of:

$$\sum_n \frac{\alpha^{n-1}}{n!} |B_n(0)| \quad \text{and} \quad \sum_n \frac{\alpha^{n-1}}{n!} \left| B_n \left(\frac{1}{\alpha} \right) \right|. \quad (24)$$

The second series in eq.(24) can be related to the first series in eq.(24) by using the root test and the equality

$$B_n \left(\frac{1}{\alpha} \right) = \left(B + \frac{1}{\alpha} \right)^n$$

where $B^i = B_i(0)$, stated in [18]; in fact we have:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \left| B + \frac{1}{\alpha} \right|^n = \lim_{n \rightarrow \infty} |B_n(0)| + \left| \frac{1}{\alpha} \right|^n.$$

Now let us focus on the first series in eq.(24). For that we take into account another bound stated in [18]:

$$\frac{|B_n(0)|}{n!} < \frac{1}{(2\pi)^{n-2} (n/2)!} \quad (25)$$

Hence the first series in eq.(24) is bounded by:

$$\sum_n \frac{\alpha^{n-1}}{n!} |B_n(0)| \leq \sum_n \frac{\alpha^{n-1}}{(2\pi)^{n-2} (n/2)!} \quad (26)$$

which converges by test root.

We have proven that the inequality (23) can be uniformly bounded, in n and m , by using a certain value S :

$$\left| C(\alpha, \beta)_{n,m}[f] \right| \leq MS \quad (27)$$

To conclude the proof we need:

$$\left| C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f] - \int_0^1 \int_0^{1-x} f(x, y) \, dx \, dy \right| < \varepsilon \quad (28)$$

Because of the density of polynomials in C^∞ we have a polynomial $p(x, y)$ s.t.

$$\left| \frac{\partial^{h+k}}{\partial x^k \partial y^h} (f(x, y) - p(x, y)) \right| < \varepsilon \quad h = 1, \dots, n \quad k = 1, \dots, m$$

The degree of $p(x, y)$ will be (r, t) . If $r \leq n$ and $t \leq m$ we find that

$$C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[p] = \int_0^1 \int_0^{1-x} p(x, y) \, dx \, dy \quad (29)$$

and a straightforward calculation yields:

$$\begin{aligned} &\left| C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f] - C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[p] + \right. \\ &\left. + C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[p] - \int_0^1 \int_0^{1-x} f(x, y) \, dx \, dy \right| \leq \\ &\leq \left| C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f - p] - \right. \\ &\left. + \int_0^1 \int_0^{1-x} (f(x, y) - p(x, y)) \, dx \, dy \right| \leq \\ &\leq \left| C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f - p] \right| + \\ &\left. + \int_0^1 \int_0^{1-x} |f(x, y) - p(x, y)| \, dx \, dy \leq S\varepsilon + 1/2\varepsilon \end{aligned}$$

If $r > n$ or $t > m$ the condition (29) does not hold and the proof need a slight modification: we note that

$$C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[p] = \int_0^1 \int_0^{1-x} p(x, y) \, dx \, dy$$

and hence:

$$\begin{aligned} &\left| C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f] - C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[f] \right| \\ &+ \left| C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[f] - C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[p] + \right. \\ &\left. + C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[p] - \int_0^1 \int_0^{1-x} f(x, y) \, dx \, dy \right| \leq \\ &\leq MS\varepsilon + \left| C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[f - p] - \right. \\ &\left. + \int_0^1 \int_0^{1-x} (f(x, y) - p(x, y)) \, dx \, dy \right| \leq \\ &\leq MS\varepsilon + \left| C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[f - p] \right| + \\ &\left. + \int_0^1 \int_0^{1-x} |f(x, y) - p(x, y)| \, dx \, dy \leq \right. \\ &\left. \leq MS\varepsilon + S\varepsilon + 1/2\varepsilon \end{aligned}$$

where, because of (27), we let

$$\left| C(\alpha, \beta)_{n+m,m}[f] - C(\alpha, \beta)_{r+t,t}[f] \right| \leq MS\varepsilon$$

□

Theorem 5.1 can be further improved because the condition (22) is not sharp with respect to the convergence of the cubature in (14).

Corollary 5.2. *In thm5.1 the condition (22) can be replaced by the following:*

$$\left\| \frac{1}{(2\pi)^h(2\pi)^k} \frac{\partial^{h+k}}{\partial x^k \partial y^h} f(x, y) \right\|_{\infty} \leq M$$

proof. The new bound of the partial derivatives of f affects the series in eq.(24); in particular the first one will be:

$$\sum_n \frac{(2\pi)^{n-2} \alpha^{n-1}}{n!} |B_n(0)|$$

however the bound for $B_n(0)$ in eq.(25) is still sufficient to bound the series above with a convergent one as in eq.(26).□

We conclude the section with the following remark. The real part $f(x)$ of a complex function such that

$$|f(z)| \leq M \exp(a\pi|z|).$$

is an *exponential type function*: for such kind of functions we have

$$\left\| \frac{1}{(a\pi)^h} \frac{d^h}{dx^k} f(x) \right\|_{\infty} \leq M.$$

Hence, condition (22) can be rephrased requiring that function $f(x, y)$ is a tensor product of exponential type functions.

6 Numerical Examples

In these numerical tests we fix the value of n (which is the increasing value from 1 to 8 in the first column) and we report on the difference between $C(\alpha, \beta)_{n,n}[f]$ and the exact integral, we also report the value of

$$|C(\alpha, \beta)_{n,n}[f] - C(\alpha, \beta)_{n+1,n+1}[f]|;$$

these are the two values in the braces. We report the results for $(\alpha, \beta) = (1/2, 1/2), (1/3, 1/2), (1/2, 1), (1, 1)$.

In this series of numerical test the functions are the same used in [8]: the results are comparable.

$$f(x, y) = \sin(\pi/4 \cdot x + \pi/6 \cdot y)$$

| n | (1/2, 1/2) | (1/3, 1/2) |
|-----|---|--|
| 1 | {-1.19 * 10 ⁻³ , -6.68 * 10 ⁻³ } | {-2.70 * 10 ⁻³ , -1.89 * 10 ⁻³ } |
| 2 | {-5.27 * 10 ⁻⁴ , -5.38 * 10 ⁻⁴ } | {-8.0 * 10 ⁻⁴ , -8.23 * 10 ⁻⁴ } |
| 3 | {1.15 * 10 ⁻⁵ , 1.01 * 10 ⁻⁵ } | {1.91 * 10 ⁻⁵ , 1.55 * 10 ⁻⁵ } |
| 4 | {1.43 * 10 ⁻⁶ , 1.45 * 10 ⁻⁶ } | {3.65 * 10 ⁻⁶ , 3.71 * 10 ⁻⁶ } |
| 5 | {-1.50 * 10 ⁻⁸ , -1.23 * 10 ⁻⁸ } | {-5.94 * 10 ⁻⁸ , -4.77 * 10 ⁻⁸ } |
| 6 | {-2.68 * 10 ⁻⁹ , -2.62 * 10 ⁻⁹ } | {-1.17 * 10 ⁻⁸ , -1.18 * 10 ⁻⁸ } |
| 7 | {-6.53 * 10 ⁻¹¹ , 3.17 * 10 ⁻¹¹ } | {4.64 * 10 ⁻¹¹ , 1.18 * 10 ⁻¹⁰ } |
| 8 | {-9.68 * 10 ⁻¹¹ , 2.58 * 10 ⁻¹² } | {-7.24 * 10 ⁻¹¹ , 2.72 * 10 ⁻¹¹ } |
| n | (1/2, 1) | (1, 1) |
| 1 | {1.70 * 10 ⁻³ , 1.92 * 10 ⁻³ } | {7.42 * 10 ⁻³ , 7.60 * 10 ⁻³ } |
| 2 | {-2.23 * 10 ⁻⁴ , -2.35 * 10 ⁻⁴ } | {-1.79 * 10 ⁻⁴ , -2.18 * 10 ⁻⁴ } |
| 3 | {1.25 * 10 ⁻⁵ , 1.17 * 10 ⁻⁵ } | {3.91 * 10 ⁻⁵ , 4.09 * 10 ⁻⁵ } |
| 4 | {7.51 * 10 ⁻⁷ , 7.33 * 10 ⁻⁷ } | {-1.83 * 10 ⁻⁶ , -2.17 * 10 ⁻⁶ } |
| 5 | {1.84 * 10 ⁻⁸ , 2.01 * 10 ⁻⁸ } | {3.42 * 10 ⁻⁷ , 3.64 * 10 ⁻⁷ } |
| 6 | {-1.64 * 10 ⁻⁹ , -1.72 * 10 ⁻⁹ } | {-2.14 * 10 ⁻⁸ , -2.54 * 10 ⁻⁸ } |
| 7 | {7.20 * 10 ⁻¹¹ , 1.68 * 10 ⁻¹⁰ } | {4.01 * 10 ⁻⁹ , 4.37 * 10 ⁻⁹ } |
| 8 | {-9.68 * 10 ⁻¹¹ , 1.86 * 10 ⁻¹² } | {-3.69 * 10 ⁻¹⁰ , -3.15 * 10 ⁻¹⁰ } |

$$f(x, y) = \sinh(\pi/4 \cdot x + \pi/6 \cdot y)$$

| n | (1/2, 1/2) | (1/3, 1/2) |
|-----|---|--|
| 1 | {1.29 * 10 ⁻³ , 7.02 * 10 ⁻³ } | {2.89 * 10 ⁻³ , 1.99 * 10 ⁻³ } |
| 2 | {5.95 * 10 ⁻⁴ , 5.83 * 10 ⁻⁴ } | {8.99 * 10 ⁻⁴ , 8.79 * 10 ⁻⁴ } |
| 3 | {1.20 * 10 ⁻⁵ , 1.04 * 10 ⁻⁵ } | {1.99 * 10 ⁻⁵ , 1.58 * 10 ⁻⁵ } |
| 4 | {1.58 * 10 ⁻⁶ , 1.56 * 10 ⁻⁶ } | {4.01 * 10 ⁻⁶ , 3.95 * 10 ⁻⁶ } |
| 5 | {1.55 * 10 ⁻⁸ , 1.27 * 10 ⁻⁸ } | {6.13 * 10 ⁻⁸ , 4.88 * 10 ⁻⁸ } |
| 6 | {2.72 * 10 ⁻⁹ , 2.81 * 10 ⁻⁹ } | {1.24 * 10 ⁻⁸ , 1.24 * 10 ⁻⁸ } |
| 7 | {-9.35 * 10 ⁻¹¹ , 3.27 * 10 ⁻¹¹ } | {2.13 * 10 ⁻¹¹ , 1.21 * 10 ⁻¹⁰ } |
| 8 | {-1.26 * 10 ⁻¹⁰ , 2.76 * 10 ⁻¹² } | {-1.01 * 10 ⁻¹⁰ , 2.85 * 10 ⁻¹¹ } |
| n | (1/2, 1) | (1, 1) |
| 1 | {-1.78 * 10 ⁻³ , -2.06 * 10 ⁻³ } | {-8.04 * 10 ⁻³ , -8.36 * 10 ⁻³ } |
| 2 | {2.76 * 10 ⁻⁴ , 2.62 * 10 ⁻⁴ } | {3.24 * 10 ⁻⁴ , 2.82 * 10 ⁻⁴ } |
| 3 | {1.31 * 10 ⁻⁵ , 1.23 * 10 ⁻⁵ } | {4.21 * 10 ⁻⁵ , 4.52 * 10 ⁻⁵ } |
| 4 | {7.90 * 10 ⁻⁷ , 8.09 * 10 ⁻⁷ } | {-3.14 * 10 ⁻⁶ , -2.77 * 10 ⁻⁶ } |
| 5 | {-1.93 * 10 ⁻⁸ , -2.12 * 10 ⁻⁸ } | {-3.69 * 10 ⁻⁷ , -4.05 * 10 ⁻⁷ } |
| 6 | {1.90 * 10 ⁻⁹ , 1.85 * 10 ⁻⁹ } | {3.61 * 10 ⁻⁸ , 3.19 * 10 ⁻⁸ } |
| 7 | {4.95 * 10 ⁻¹¹ , 1.77 * 10 ⁻¹⁰ } | {4.24 * 10 ⁻⁹ , 4.82 * 10 ⁻⁹ } |
| 8 | {-1.27 * 10 ⁻¹⁰ , 2.03 * 10 ⁻¹² } | {-5.77 * 10 ⁻¹⁰ , -3.99 * 10 ⁻¹⁰ } |

$$f(x, y) = \cos(\sqrt{1 + x^2 + y^2})$$

| n | (1/2, 1/2) | (1/3, 1/2) |
|-----|--|--|
| 1 | {-7.49 * 10 ⁻³ , -8.34 * 10 ⁻³ } | {-2.14 * 10 ⁻² , -2.22 * 10 ⁻² } |
| 2 | {8.53 * 10 ⁻⁴ , 3.83 * 10 ⁻⁴ } | {8.09 * 10 ⁻⁴ , 4.428 * 10 ⁻⁶ } |
| 3 | {4.69 * 10 ⁻⁴ , 4.74 * 10 ⁻⁴ } | {8.05 * 10 ⁻⁴ , 8.05 * 10 ⁻⁴ } |
| 4 | {-4.57 * 10 ⁻⁶ , -2.19 * 10 ⁻⁶ } | {1.87 * 10 ⁻⁷ , 1.06 * 10 ⁻⁵ } |
| 5 | {-2.37 * 10 ⁻⁶ , -2.39 * 10 ⁻⁶ } | {-1.04 * 10 ⁻⁵ , -1.03 * 10 ⁻⁵ } |
| 6 | {2.04 * 10 ⁻⁸ , -9.64 * 10 ⁻¹⁰ } | {-1.07 * 10 ⁻⁷ , -2.03 * 10 ⁻⁷ } |
| 7 | {2.14 * 10 ⁻⁸ , 2.08 * 10 ⁻⁸ } | {9.54 * 10 ⁻⁸ , 9.35 * 10 ⁻⁸ } |
| n | (1/2, 1) | (1, 1) |
| 1 | {1.54 * 10 ⁻² , 1.50 * 10 ⁻² } | {6.08 * 10 ⁻² , 5.91 * 10 ⁻² } |
| 2 | {4.07 * 10 ⁻⁴ , -5.41 * 10 ⁻⁵ } | {1.72 * 10 ⁻³ , 4.69 * 10 ⁻⁴ } |
| 3 | {4.61 * 10 ⁻⁴ , 4.57 * 10 ⁻⁴ } | {1.25 * 10 ⁻³ , 1.19 * 10 ⁻³ } |
| 4 | {3.88 * 10 ⁻⁶ , 1.70 * 10 ⁻⁶ } | {5.63 * 10 ⁻⁵ , 1.37 * 10 ⁻⁵ } |
| 5 | {2.17 * 10 ⁻⁶ , 2.11 * 10 ⁻⁶ } | {4.25 * 10 ⁻⁵ , 4.04 * 10 ⁻⁵ } |
| 6 | {6.66 * 10 ⁻⁸ , -1.94 * 10 ⁻⁸ } | {2.08 * 10 ⁻⁶ , 4.54 * 10 ⁻⁷ } |
| 7 | {8.61 * 10 ⁻⁸ , 8.40 * 10 ⁻⁸ } | {1.63 * 10 ⁻⁶ , 1.55 * 10 ⁻⁶ } |

We recall that cubature formulae are exact on rational function $r(x, y) = q(x, y)/(1 - x)$ where $q(x, y)$ is a polynomial. In particular they are exact on the functions:

$$f(x, y) = (p(x) + q(x)y)/(1 - x)$$

where $p(x)$ and $q(x)$ are polynomials. This is a subset of the class of functions investigated in [15]. The following examples test cubature formulae on rational functions with a bivariate polynomial numerator and linear denominator [15].

In this case we introduce the results only for the cases $(\alpha, \beta) = (1/2, 1/2), (1/3, 1/2), (1/2, 1)$

$$f(x, y) = y^8/(1 - x)$$

| n | (1/2, 1/2) | (1/3, 1/2) |
|-----|---|-----------------------------------|
| 1 | {0.0116845, 0.000881619} | {0.0122314, 0.00257745} |
| 2 | {0.0108028, -4.74718 * 10 ⁻⁶ } | {0.00965392, -0.00338817} |
| 3 | {0.0108076, 0.00550364} | {0.0130421, 0.0102792} |
| 4 | {0.00530395, 0.00213346} | {0.00276287, -0.0014947} |
| 5 | {0.00317049, 0.00209731} | {0.00425757, 0.0033233} |
| 6 | {0.00107318, 0.000841697} | {0.000934277, 0.000702796} |
| 7 | {0.000231481, 0.000231481} | {0.000231481, 0.000231481} |
| 8 | {1.6985 * 10 ⁻¹¹ , 0.} | {1.6985 * 10 ⁻¹¹ , 0.} |
| n | (1/2, 1) | (1, 1) |
| 1 | {-0.0722897, -0.112847} | |
| 2 | {0.0405575, 0.0188368} | |
| 3 | {0.0217207, 0.0467578} | |
| 4 | {-0.0250371, -0.00455729} | |
| 5 | {-0.0204798, -0.0241633} | |
| 6 | {0.00368345, -0.0000202546} | |
| 7 | {0.0037037, 0.0037037} | |
| 8 | {1.6985 * 10 ⁻¹¹ , 0.} | |

$$f(x, y) = (xy)^4 / (1 - x)$$

| | | |
|---|---|--|
| n | (1/2, 1/2) | (1/3, 1/2) |
| 1 | {0.0001547, 0.000108507} | {0.000203148, 0.000195283} |
| 2 | {0.000046193, 0.0000759549} | {7.86574 * 10 ⁻⁶ , 0.000258154} |
| 3 | {-0.0000297619, -8.68056 * 10 ⁻⁶ } | {-0.000250289, -0.000177945} |
| 4 | {-0.0000210813, -0.000062004} | {-0.0000723431, -0.0007697} |
| 5 | {0.0000409226, 0.000093006} | {0.000697357, 0.00102391} |
| 6 | {-0.0000520833, -0.0000520833} | {-0.000326551, -0.000326551} |
| 7 | {-6.29467 * 10 ⁻¹³ , 0.} | {-6.29467 * 10 ⁻¹³ , 0.} |
| n | (1/2, 1) | |
| 1 | {-0.000984623, -0.000868056} | |
| 2 | {-0.000116567, -0.0000868056} | |
| 3 | {-0.0000297619, -8.68056 * 10 ⁻⁶ } | |
| 4 | {-0.0000210813, -0.000062004} | |
| 5 | {0.0000409226, 0.000093006} | |
| 6 | {-0.0000520833, -0.0000520833} | |
| 7 | {-6.29467 * 10 ⁻¹³ , 0.} | |

References

[1] Costabile, F.; Guzzardi, L. 2009. "Extending univariate expansion formulae on the simplex". *IJNMA*, 1:1-17.

[2] Stroud., A. 1971. "Approximate calculation of multiple integrals". *Prentice-Hall, Inc.*

[3] Lyness, J.; Cools, R. 1993. "A survey of numerical cubature over triangles". In *A half-century of computational mathematics, Proc. Sympos. Appl. Math*, 48:1943-1993.

[4] Cools, R.; Rabinowitz, P. 1993. "Monomial Cubature Rules since Stroud: a compilation". *J. Comput. Appl. Math*, 48:309-326.

[5] Cools, R. 2003. "An Encyclopedia of Cubature Formula". *J. Complexity*.

[6] Cools, R.; Haegemans, A. 1989. "On the construction of multi-dimensional embedded cubature formulae". *Numer. Math*, 55:735-745.

[7] Costabile, F.; Dell'Accio, F. 2001. "Expansions over a simplex of real functions by means of Bernoulli polynomials". *Num. Alg*, 28:63-86.

[8] Costabile, F.; Dell'Accio, F. 2007. "New embedded boundary-type quadrature formulas for the simplex". *Numer Algor*, 45:253-267.

[9] Costabile, F.; Dell'Accio, F.; Guzzardi, L. 2008. "New bi-variate polynomial expansions with boundary data on the simplex". *Calcolo*, 45:177-192.

[10] Squire, W. 1961. "Some applications of quadrature by differentiation". *J. Soc. Ind. Appl. Math*, 9:94-108.

[11] Varma, A. 1986. "On Birkhoff quadrature formulas". *Proc. Amer. Math. Soc*, 97:38-40.

[12] Costabile, F.; Longo, E. 2010. "A Birkhoff interpolation problem and application". *Calcolo*, 47:49-63.

[13] Kim, K.; Cools, R.; Ixaru, L. 2002. "Quadrature rules using first derivatives for oscillatory integrands". *J. Comput. Appl. Math*, 140:479-497.

[14] Rajasekaran, S. 2007. "Symbolic computation and differential quadrature method - A boon to engineering analysis". *Struct. Eng. Mech*, 27:713-739.

[15] Rathod, H.; Islam, M. 1998. "Integration of rational function of bi-variate polynomial numerators with linear denominator over a (-1,1) square in a local parametric two-dimensional space". *Comput. Methods Appl. Mech. Engrg*, 161:195-213.

[16] Costabile, F. 1999. "Expansions of real functions in Bernoulli polynomials and applications". *Conf. Sem., University Bari*, 273.

[17] Costabile, F. F. and Dell'Accio. 2001. "Expansion over a rectangle of real functions in Bernoulli polynomials and applications". *BIT*, 41:451.

[18] <http://mathworld.wolfram.com/bernoullipolynomial.html>.

[19] Duffy, M. 1982. "Quadrature over a pyramid or cube of integrands with a singularity at a vertex". *SIAM J. Numer. Anal.*, 19:1260-1262.

[20] Engels, H. 1980. "Numerical Quadrature and Cubature". *Academic Press*.

Erratum: Rare birds in Ecuador: first annual report of the Committee of Ecuadorian Records in Ornithology (CERO). Published in Avances en Ciencias e Ingenierías, 2013, Vol. 5, No. 2, Pags. B24-B41

Errata: Aves raras en Ecuador: primer informe anual del Comité de Registros Ecuatorianos en Ornitología (CERO). Publicado en Avances en Ciencias e Ingenierías, 2013, Vol. 5, No. 2, Pags. B24-B41

Juan F. Freile^{1,2,*}, Roger Ahlman^{1,3}, Dušan M. Brinkuizen^{1,4}, Paul J. Greenfield^{1,5}, Alejandro Solano-Ugalde^{1,6}, Lelis Navarrete^{1,7} y Robert S. Ridgely^{1,8}

¹Comité Ecuatoriano de Registros Ornitológicos. E-mail: cero.ecuador@gmail.com

²Fundación Numashir, Casilla Postal 17-12-122, Tumbaco, Ecuador.

³Juan de Illáñez, edif. Double Diamond, Quito, Ecuador.

⁴Casilla Postal 17-07-9345, Quito, Ecuador.

⁵Mindo Cloud Forest Foundation, Urb. El Bosque, 2da Etapa, Sexta #161, Edif. El Parque, Quito, Ecuador.

⁶Fundación Imaymana, Paltapamba 476, San Pedro del Valle, Nayón, Ecuador.

⁷Neblina Forest, Casilla Postal 17-17-12-12, Puenbo, Ecuador.

⁸Rainforest Trust, 25 Horner Street, Warrenton, VA 20186, USA.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: jfreileo@yahoo.com

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 13/05/2014. Aceptado/Accepted: 13/05/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Pag. B24. Abstract, line 5: first voucher documentation for 10 species.

Pag. B26. Figure 1 caption. Photo b) Ring-necked Duck *Aythya collaris* at Micacocha (D. M. Brinkuizen); photo c) *A. collaris* at La Segua (R. Ahlman).

Pag. B26. Cinnamon Teal *Anas cyanoptera* was reported on 1 June 2003, not 1 January 2003.

Pag. B28. Figure 3 caption. h) Grey-hooded Gull, not Grey-headed Gull; i) Large-billed Tern *Phaetusa simplex* (R. Ahlman); j) Caspian Tern *Hydroprogne caspia* (R. Ahlman).

Pag. B29. Figure 4 caption. e) and f) Great Crested Flycatcher *Myiarchus crinitus*; g) Swainson's Flycatcher *M. swainsoni*. For photo f), the correct photograph is:



Pag. B30. Table 1 corresponds to Table 2 as cited in text.

Pag. B31. Table 2 corresponds to Table 1 as cited in text.

Pag. B33. Wilson's Snipe *Gallinago delicata*, line 3: (Figure 2i); line 13: (Figure 2h).

Pag. B34. Pearly-breasted Cuckoo heading: 28 March 2008, not 38 March 2008.

Pag. B36. White-bellied Pygmy-Tyrant, not Pygmy-tyrant.

Pag. B36. Swainson's Flycatcher *Myiarchus swainsoni*, line 2: (Figure 4g).

Pag. B37. Great Crested Flycatcher *Myiarchus crinitus*, line 4: (Figures 4e, 4f).

Pag. B39. Rejected records, line 2: (Table 2), not (Table 1).

Expansion of the distributional range of some species of amphibians and reptiles in southwestern Ecuador

Ampliaciones del rango de distribución de algunas especies de anfibios y reptiles en el suroccidente de Ecuador

Mario H. Yáñez - Muñoz^{1*}, Juan C. Sánchez L.^{1,2}, Karem López^{1,3}, Edison Rea S.^{1,3},
Paúl A. Meza - Ramos^{1,4}, Luis A. Oyagata C.¹ y Paúl Guerrero^{1,3}

¹Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, División de Herpetología, calle Rumipamba 341 y Av. de los Shyris, Casilla Postal 17-07-8976. Quito, Ecuador.

²Universidad del Azuay, División de Herpetología, Cuenca, Ecuador.

³Universidad Central del Ecuador, Escuela de Ciencias Biológica y Ambientales, Facultad de Ciencia Médicas, Quito, Ecuador.

⁴Universidad Internacional SEK, Campus Miguel de Cervantes, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: mayamu@hotmail.com

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 14/03/2014. Aceptado/Accepted: 02/05/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

We present new localities of four species of amphibians and reptiles from foothill and high-Andean areas of the province of El Oro, southwestern Ecuador. These records significantly expand the global distributional ranges of *Nymphargus buenaventura*, *Gastrotheca lateonata*, *Anolis lyra* and *Pliocercus euryzonus*.

Keywords. Distribution, *Nymphargus buenaventura*, *Gastrotheca lateonata*, *Anolis lyra*, *Pliocercus euryzonus*, herpetofauna, El Oro.

Resumen

Presentamos nuevas localidades para cuatro especies de anfibios y reptiles en áreas piemontanas y altoandinas en la provincia de El Oro, suroccidente de Ecuador. Estos registros expanden significativamente los rangos de distribución globales de *Nymphargus buenaventura*, *Gastrotheca lateonata*, *Anolis lyra* y *Pliocercus euryzonus*.

Palabras Clave. Distribución, *Nymphargus buenaventura*, *Gastrotheca lateonata*, *Anolis lyra*, *Pliocercus euryzonus*, herpetofauna, El Oro.

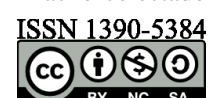
La región Andina del Ecuador tiene una alta concentración de linajes evolutivos endémicos y amenazados de extinción para varios grupos de vertebrados. Sin embargo, existe muy poca información sobre la biodiversidad de las estribaciones occidentales de los Andes en el sur del Ecuador, donde pocas zonas aún mantienen su cobertura vegetal natural [1].

En este documento, presentamos registros de cuatro especies de anfibios y reptiles que amplían su rango de distribución reportado. Estas especies fueron registradas durante el levantamiento de información bioecológica en la provincia del El Oro desarrollado por el Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales. Los especímenes reportados están depositados en la División de Herpetología del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales (DHMECN).

Anura: Centrolenidae: *Nymphargus buenaventura* (Cisneros - Heredia y Yáñez-Muñoz)

Esta especie rana de cristal fue descrita recientemente [2] y es conocida de sólo dos localidades en el suroccidente de Ecuador [3]. Reportamos dos localidades adicionales en la provincia de El Oro (Tabla 1): Marcabelí (DHMECN 10902 colectado el 29 de noviembre de 2013 por J. C. Sánchez, P. A. Meza-Ramos, K.E. López y E. Rea); Cascadas de Manuel (DHMECN 10982, Fig. 1A, colectado el 14 de Febrero de 2014 por J. C. Sánchez, L. A. Oyagata, K. E. López y P. Guerrero). Marcabelí se encuentra 48,5 km al sur de la localidad tipo de la especie y es la localidad más meridional en el rango de distribución (Fig. 2).

El ejemplar DHMECN 10902 es un macho colectado



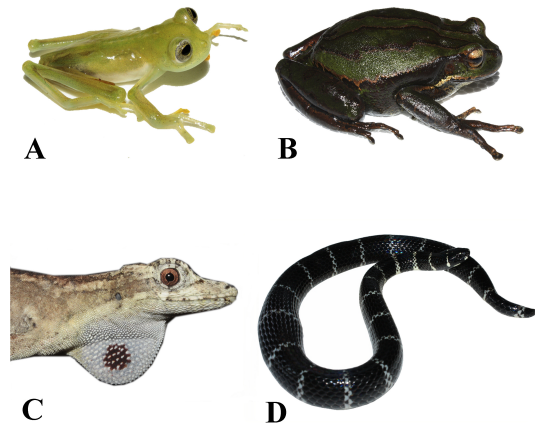


Figura 1: Nuevos registros de Anfibios y Reptiles colectados en la Provincia de El Oro: (A) *Nymphargus buenaventura*, DHMECN 10982 ♀; (B) *Gastrotheca lateonata*, DHMECN 10874 ♀; (C) *Anolis lyra*, DH-MECN 10983♂; (D) *Pliocercus euryzonus*, DHMECN 10931♀.

perchado en vegetación herbácea a 2 m de altura, entre pastizal y bosque secundario. Fue encontrado en simpatria con *Espadarana prosoblepon*, *Smilisca phaeota*, *Hypsiboas pellucens*, *Epipedobates anthonyi*, *Hyloxalus infraguttatus*, *Pristimantis achatinus* y *Pristimantis sp. 1*. El ejemplar DHMECN 10982 es una hembra colectada sobre lodo en el piso al interior del bosque maduro en una ladera hacia la microcuenca del Río Grande. Este ejemplar es la primera hembra conocida para la especie, compartiendo los mismos caracteres diagnósticos que los machos, pero con un tamaño corporal de 23.5 mm. Fue registrada en simpatria con *Rhinella margaritifera*, *Pristimantis achatinus* y tres especies de *Pristimantis* no descritas.

Anura: Hemiphractidae: *Gastrotheca lateonata* (Duellman y Trueb)

Esta rana marsupial fue descrita originalmente de la Cordillera de Huancabamba, departamento de Piura, Perú [4]. Recientemente, Blakburn y Duellman [5] reportaron esta especie para Ecuador de Chillacocho, provincia de El Oro. Reportamos dos nuevas localidades en El Oro (Tabla 1): Cerro de Arcos (DHMECN 10872-75, Fig. 1B, colectados el 26 de Noviembre de 2013 por J. C. Sánchez, P. A. Meza-Ramos, K.E. López y E. Rea.); La Enrramada (registros auditivos obtenidos el 19 de Febrero de 2014). Cerro de Arcos se encuentra a 17,6 km al suroriente de Chillacocho y a 202 km al norte de la localidad tipo, mientras La Enrramada es la localidad más norteña reportada para la especie, a 38,46 km al norte de Chillacocho y 244,66 km al norte de la localidad tipo (Fig. 2B). Debido a la cercanía de las nuevas localidades con el límite provincial entre El Oro, Loja y Azuay, se esperaría que esta especie también ocurra en esas provincias (Fig. 2B).

El ejemplar DHMECN 10872 fue colectado a las 23h00 posado en un pequeño estero junto a vegetación de almohadillas, DH-MECN 10873 es un juvenil colectado a las 23h23 posado en un pequeño estero cubierto de vegetación de almohadillas, y DHMECN 10874 es una

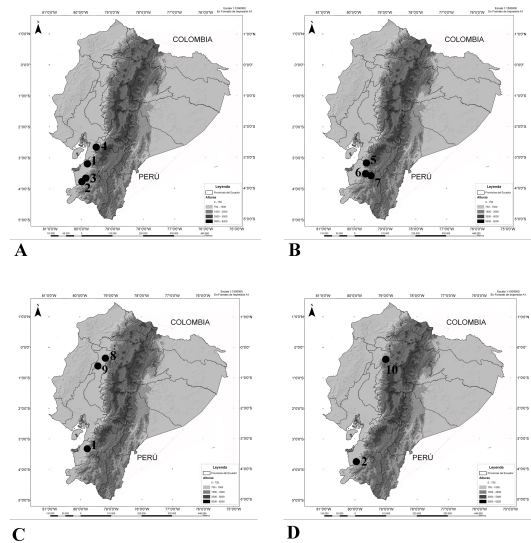


Figura 2: Mapas de distribución y localidades discutidas en esta publicación. (A) *Nymphargus buenaventura*, (B) *Gastrotheca lateonata*, (C) *Anolis lyra*, (D) *Pliocercus euryzonus*. Localidades: (1) Cascadas de Manuel, Prov. El Oro; (2) Marcabellí, Prov. El Oro; (3) Reserva Biológica Buenaventura, Prov. El Oro; (4) Luz María, Prov. Azuay; (5) Enrramada, Prov. El Oro; (6) Chillacocho, Prov. El Oro; (7) Cerro de Arcos, Prov. El Oro; (8) Finca La Victoria, Prov. Sto. Domingo de los Tsachilas; (9) Río Palenque, Prov. Los Ríos; (10) Las Pampas, Prov. Cotopaxi.

hembra colectada a las 23h47 luego de ovopositar a orillas de una laguna cubierta con poca vegetación de pajonal.

Reptilia: Dactyloidae: *Anolis lyra* (Poe et al.)

Este lagartija anolis se distribuye en los bosques tropicales occidentales de Colombia y Ecuador, donde fue descrita de la localidad tipo Finca Victoria (37 km al sureste de Santo Domingo), provincia de Pichincha, Ecuador. Esta especie se ha reportado de varias localidades al noroccidente del Ecuador, siendo el Centro Científico Río Palenque, provincia de Los Ríos, la localidad más al sur reportada para la especie [6–8]. Reportamos la primera localidad para la especie en el suroccidente del Ecuador, provincia de El Oro: Cascadas de Manuel (DH-MECN 10983, Fig. 1C, colectado el 15 de Febrero de 2014 por J. C. Sánchez, K.E. López, L. Oyagata y P. Guerrero). Esta nueva localidad es la más meridional en la distribución de la especie, 285 km al sur del Centro Científico Río Palenque (Fig. 2C).

El ejemplar DHMECN 10983 fue colectado a las 20h25 perchado sobre el envés de una Araceae a 6 m de altura, en las orillas del Río Grande. Se lo encontró en simpatria con *Anolis gracilipes*.

Reptilia: Colubridae: *Pliocercus euryzonus* (Cope)

Esta serpiente falsa coral habita en Ecuador en bosques hasta 2000 m de elevación en las provincias de Esmeraldas, Carchi, Pichincha y Santo Domingo de los Tsachilas [7, base de datos DHMECN]. Reportamos la primera localidad para la especie en el suroccidente del Ecuador, provincia de El Oro: Marcabellí (DHMECN 10931, Fig.

| Especie | Localidad | Coordenadas | Elevación (en m.s.n.m.) | Referencia |
|---------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|------------------|
| <i>Nymphargus buennaventura</i> | Reserva Biológica* Buenaventura | 3°38'42.97"S, 79°45'47.99"W | 1200 m | [2] |
| | Luz María | 2°41'2.40"S, 79°25'1.20"W | 770 m | [3] |
| | Marcabeli | 3°44'47.78"S, 79°53'35.72"W | 667 m | Esta publicación |
| | Cascadas de Manuel | 3°12'22.02"S, 79°43'34.07"W | 800 m | Esta publicación |
| <i>Gastrotheca lateonata</i> | Cerro de Arcos | 3°33'50.68"S, 79°28'10.18"W | 3665 m | Esta publicación |
| | La Enramada | 3°9'55.69"S, 79°35'12.56"W | 2999 m | Esta publicación |
| | El Tambo* | 5°22'S, 79°33'W | 2750 m | [4] |
| | Chillococha | 3°30'39.10"S, 79°36'52.92"W | 1022 m | [3] |
| <i>Pliocercus euryzonus</i> | San Francisco de Las Pampas | 0°26'30.09"S, 78°57'52.42"W | 1982 m | [7] |
| | Marcabeli | 3°44'47.78"S, 79°53'35.72"W | 667 m | Esta publicación |
| <i>Anolis lyra</i> | Centro Científico Río Palenque | 0°35'40.00"S, 79°21'23.55"W | 1179 m | [7] |
| | Finca Victoria* | 1°16'17.09"N, 78°48'35.86"W | 723 m | [7] |
| | Cascadas de Manuel | 3°12'22.02"S, 79°43'34.07"W | 197 m | Esta publicación |

Tabla 1: Localidades referidas en esta publicación(*=localidades tipo)

1D, colectado el 28 de Noviembre de 2013 por J. C. Sánchez, P. A. Meza-Ramos, K.E. López y E. Rea). Esta nueva localidad es la más meridional en la distribución de la especie, 381.53 km al sur de San Francisco de Las Pampas (provincia de Cotopaxi), la localidad más sureña previamente reportada para la especie [7, 9] (Fig. 2D).

El ejemplar DHMECN 10931 fue colectado posando sobre una piedra junto a una quebrada, en simpatria con *Imantodes cenchoa* y *Alopoglossus festae*.

Estos nuevos registros de distribución coinciden con la hipótesis de que varios elementos de la fauna del Chocó tienen distribuciones continuas a lo largo del occidente del Ecuador hasta la provincia de El Oro en los ecosistemas piemontanos semidecuidos bajo los 1200 m de elevación [10]. Así mismo, es alentador encontrar poblaciones de especies recientemente descritas o reportadas para Ecuador, resaltando la importancia de la conservación de la vegetación natural de la provincia de El Oro, altamente amenazada por la destrucción extensiva de los hábitats naturales.

Agradecimientos

El trabajo de campo se desarrolló como parte del proyecto "Anfibios, Reptiles y Aves de la Provincia de El Oro" financiado por el Gobierno Autónomo Provincial de El Oro y ejecutado por el Museo Ecuatoriano de

Ciencias Naturales. La logística para la visita a los sitios evaluados contó con el apoyo de Marco Galves de la Fundación Jocotoco, Edher Armijos de la Prefectura de la provincia de El Oro y César Garzón Santomaro del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales. Esta investigación contó con el permiso de investigación 012-IC-FAN-DPEO-MAE otorgado por el Ministerio de Ambiente de Ecuador.

Referencias

- [1] Campos, F.; Peralvo, M.; Cuesta-Camacho, F.; Luna, S. 2007. "Análisis de vacíos y áreas prioritarias para la conservación de la biodiversidad en el Ecuador continental". Instituto Nazca de Investigaciones Marinas, EcoCiencia, Ministerio del Ambiente, The Nature Conservancy, Conservación Internacional. Proyecto GEF: Ecuador Sistema Nacional de Áreas Protegidas, BirdLife International y Aves & Conservación, Quito.
- [2] Cisneros-Heredia, D.; Yáñez-Muñoz, M. 2007. "A new species of Glassfrog (Centrolenidae) from the southern Andean foothills on the west Ecuadorian region". *South American Journal of Herpetology*, 2:1–10.
- [3] Ron, S.; Guayasamin, J.; Yanez-Muñoz, M.; Merino-Viteri, A.; Ortiz, D. 2014. "AmphibiaWebEcuador. Version 2014.0". Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/>> AnfibiosEcuador>, acceso 3 de enero, 2014. acceso [6.03.2014].

- [4] Frost, D. 2014. "Amphibian Species of the World: an Online Reference". *Version 6.0 (Date of access)*. *Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>*. American Museum of Natural History, New York, USA.
- [5] Blackburn, D.; Duellman, W. 2013. "Ranas marsupiales brasileñas son diphyletic (Anura: Hemiphractidae: Gastrotheca)". *Filogenética Molecular y Evolución*, 68:709–714.
- [6] Uetz, P. 2010. "The original descriptions of reptiles". *Zootaxa*, 2334:59–68.
- [7] Torres-Carvajal, O.; Salazar-Valenzuela, D.; Merino-Viteri, A. 2014. "ReptiliaWebEcuador. Versión 2014.0". *Museo de Zoología QCAZ, Pontificia Universidad Católica del Ecuador*. <<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/reptiles/reptilesEcuador>>, acceso [6.03.2014].
- [8] Poe, S.; Velasco, J.; Miyata, K.; Williams, E. 2009. "Descriptions of two nomen nudum species of Anolis lizard from northwestern South America". *Breviora*, 516: 1–16.
- [9] Pérez-Santos, C.; Moreno, A. 1991. "Serpientes de Ecuador". *Museo Regionale di Scienze Naturali. Torino*.
- [10] Yáñez-Muñoz, M.; Morales, M.; Reyes-Puig, M.; Meza-Ramos, P. 2013. "Reserva Biológica Buenaventura: Entre la transición Húmedo Tropical y la influencia Tumbesina". En: *MECN, JOCOTOCO y ECOMINGA. 2013. HERPETOFAUNA EN ÁREAS PRIORITARIAS PARA LA CONSERVACIÓN: El sistema de Reservas Jocotoco y Ecominga. Monografía 6: 1-408. Serie de Publicaciones del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales (MECN), Fundación para la Conservación Jocotoco, Fundación Ecominga. Quito-Ecuador, : 62–76.*

Description of the advertisement call of *Noblella lochites* (Anura: Craugastoridae) Descripción del llamado de advertencia de *Noblella lochites* (Anura: Craugastoridae)

Diego Batallas R^{1,2,3*} y Jorge Brito M⁴

¹Fundación Naturaleza Kakaram, Santa Rosa 158 BL B Dep 2 Casilla Postal 17-07-9920, Quito, Ecuador

²Escuela Politécnica Nacional, Instituto de Ciencias Biológicas, Quito, Ecuador

³Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Médicas Escuela de Ciencias Biológicas y Ambientales, Quito, Ecuador

⁴Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, Quito, Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: bioandino_kakaram@hotmail.com

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 12/03/2014. Aceptado/Accepted: 05/05/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

We present the first description of the advertisement call of *Noblella lochites* based on recordings obtained at the Cordillera del Condor, province of Zamora-Chinchiipe, Ecuador. The call of *N. lochites* has 6-8 pulsed notes of 369-537 ms, with a dominant frequency of 3.51-3.93 kHz. Variation in the number of pulsed notes in captive individuals suggests that *Noblella* frogs may have complex responses to stress situations.

Keywords. Bioacoustics, behaviour, *Noblella lochites*, Cordillera del Condor, Zamora-Chinchiipe, Ecuador

Resumen

Presentamos la primera descripción del llamado de advertencia de *Noblella lochites* sobre la base de grabaciones obtenidas en la Cordillera del Cóndor, provincia de Zamora-Chinchiipe, Ecuador. El llamado de *N. lochites* está conformado por 6-8 notas pulsadas de 369-537 ms, con una frecuencia dominante de 3.51-3.93 kHz. Variación en el número de notas pulsadas en individuos en cautiverio sugiere que las ranas del género *Noblella* pueden tener complejas respuestas a situaciones de estrés.

Palabras Clave. Bioacústica, comportamiento, *Noblella lochites*, Cordillera del Cóndor, Zamora-Chinchiipe, Ecuador

Los cantos o llamados de los anuros son un sistema de comunicación que guarda una importante relación con la supervivencia y perpetuación de la especie [1, 2]. A través de los llamados, las especies mantienen un sistema de aislamiento reproductivo, pues los mensajes emitidos por los machos solo son interpretados por la hembra de su misma especie [3]. Los llamados no solamente cumplen la función de atraer a la hembra, ya que los anuros tienen un complejo sistema que incluye llamados de apareamiento, llamados territoriales, llamados de liberación de los machos, llamados de liberación de las hembras, llamados de auxilio o emergencia, y llamados de advertencia [4, 5]. Los llamados de advertencia son los más comunes y conocidos de los anuros, denominándose de esta manera ya que advierten o anuncian su receptividad sexual, posición y tamaño [6].

Noblella lochites es una rana endémica de Ecuador, que

se distribuye en los bosques húmedos de las cordilleras del Cóndor y Cutucú sobre los 900 m de elevación [7]. En el presente estudio se presenta la primera descripción del llamado de advertencia de *N. lochites*, reportando sus variables espectrales y temporales.

Las grabaciones fueron obtenidas en la localidad de Paquisha Alto, cantón Paquisha, provincia de Zamora-Chinchiipe, suroriente de Ecuador (3°55'S, 78°30'W, 1820 m), el 15 de julio del 2013 por J. Brito. El ecosistema donde habitaban las ranas era bosque Siempreverde Montano sobre mesetas de arenisca de la cordillera del Cóndor [8]. Estos bosques generalmente permanecen nublados y se caracterizan por árboles de alrededor de 15 m de alto con abundante musgo, orquídeas, helechos y bromelias, el sotobosque presenta dominancia de surales (*Chusquea* sp.), hierbas de la familia Araceae y helechos. La capa vegetal se asienta sobre una meseta

ISSN 1390-5384



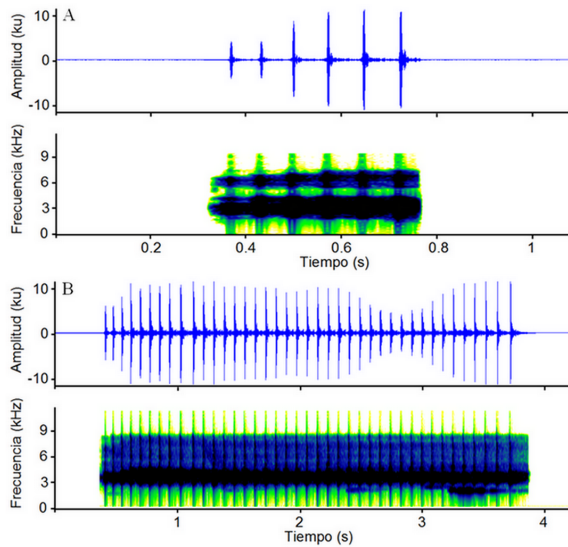


Figura 1: A = Oscilograma y espectrograma del llamado de advertencia de *Noblella lochites* (*in situ*); B = llamado de 40 pulsos, grabado cautivo (*ex situ*). Ejemplar MEPN 15320, longitud rostro-cloaca 14.20mm.

de arenisca, crece sobre un sustrato de arena blanca, ácido y muy pobre en nutrientes [9].

Las grabaciones *in situ* fueron obtenidas a una temperatura de 14°C y 93 % de humedad. Grabaciones *ex situ* fueron realizadas al día siguiente por la mañana mientras la rana emitía llamados dentro de una bolsa plástica. Los llamados fueron registrados con una grabadora Zoom H1 y la temperatura ambiental fue registrada con un termómetro Digital Pocket Thermometer. Los análisis acústicos se realizaron con el programa Adobe Audition 3.0, a una frecuencia de muestreo de 44.1 kHz y 16 “bits” de resolución [10]. Para la diagramación del oscilograma y sonograma se utilizó el programa Raven 1.4 [11] a 512 puntos de resolución de la transformación rápida de Fourier (FFT). Los parámetros que se analizaron fueron: (1) Frecuencia dominante: frecuencia de mayor energía medida a lo largo de toda la llamada; (2) frecuencia fundamental: frecuencia más baja o estructural de un espectro; (3) frecuencia armónica: frecuencia más altas que son múltiplo de la frecuencia fundamental; (4) llamados/minuto: repetición de los llamados en el lapso de un minuto; (5) pulsos/llamado: número de unidades acústicas de un determinado patrón de amplitud reconocido en los llamados; (6) duración de los llamados: tiempo desde el inicio hasta el final de un llamado, medido con el analizador de forma de onda; (7) duración de los pulsos: tiempo desde el inicio hasta el final de los pulsos, medido con el analizador de forma de onda; (8) intervalos entre llamados: tiempo transcurrido entre llamado y llamado; (9) intervalos entre pulsos: tiempo transcurrido entre pulso y pulso. Los parámetros acústicos evaluados siguen la terminología y definiciones propuestas por Duellman y Pyles [12], Crocroft y Ryan [1], Angulo et al. [13], y Diaz y Cádiz [14]. El individuo grabado de *N. lochites* fue colectado y corresponde al ejemplar MEPN 15320 (Museo de Historia Natural Gustavo

Orcés de la Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador).

Los llamados de advertencia de *Noblella lochites* son de frecuencia modulada, con la frecuencia dominante entre 3.51–3.93 kHz (3.73 ± 0.11) y la frecuencia fundamental entre 1.97–2.59 kHz (2.25 ± 0.22). Los llamados presentan un armónico cuya frecuencia es de 6.43–6.80 kHz (6.68 ± 0.13) (Fig. 1A), y tienen una duración de 369–537 ms (428.53 ± 53.60), con intervalos de 3621–5960 ms (4409.50 ± 725.25), emitiendo 9.35–14.63 (12.63 ± 1.75) llamados/minuto. Los llamados están conformados por 6–8 pulsos, los mismos que tienen una duración de 6–17 ms (11.50 ± 2.90), con intervalos de 51–95 ms (60.39 ± 5.77).

De las especies de rana del género *Noblella* de Ecuador solo se ha descrito el canto de *N. personina*, para la que Harvey et al. [8] reportan que los llamados están conformados por 5–11 notas, con duración de llamados que van de 570–1524 ms, frecuencia dominante de 3.91–4.39 kHz (no reportó valores de frecuencia fundamental o si esta es la misma que la dominante). A diferencia de *N. personina*, los llamados de *N. lochites* están conformados por pulsos, de menor duración y sus frecuencias son más bajas. Harvey et al. [8] reportaron que *N. personina* emite llamados en respuestas a situaciones etológicas específicas. El individuo de *N. lochites* emitió un llamado largo de 40 pulsos mientras estaba en cautiverio en una funda plástica. Esta llamada en cautiverio difiere de los llamados de advertencia registrados en libertad (Fig. 1B) y podría indicar que las ranas del género *Noblella* tienen un complejo sistema de respuestas a situaciones de estrés.

Agradecimientos

Agradecemos a Dalton Hurtado por su participación en las fases de campo, a Jorge Vaca-Guerrero por facilitarnos la grabadora, a Ana Almendáriz (MEPN) por el acceso a las colecciones bajo su cargo, y a Mario Yáñez-Muñoz por sus comentarios al manuscrito.

Referencias

- [1] Cocroft, R. B.; Ryan, M. J. 1995. “Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs”. *Animal Behaviour*, 49(5):283–303.
- [2] Duellman, W.; Trueb, L. “*Biology of amphibians*”. Mc Graw Hill. Inc. New York, 1986.
- [3] Wells, K. “*The Ecology and Behavior of Amphibians*”. University of Chicago Press. Chicago., 2007.
- [4] Littlejohn, M. J. “*Long-range acoustic communication in anurans: an integrated and evolutionary approach*”, : 263–294. New York: Plenum, 1977.
- [5] Wells, K. D. 1977. “The social behaviour of anuran amphibians”. *Animal Behaviour*, 25:666–693.

- [6] Gerhardt, H. C.; Huber, F. “*Acoustic Communication in Insects and Anurans*”. University of Chicago Press. Chicago., 2002.
- [7] Harvey, M. B.; Almendáriz, A.; Brito, J.; Batallas, D. 2013. “A new species of *Noblella* (Anura: Craugastoridae) from the Amazonian slopes of the Ecuadorian Andes with comments on *Noblella lochites* (Lynch)”. *Zootaxa*, 3635:1-14.
- [8] Almendáriz, A.; Ron, S. R.; Brito, J. 2012. “Una nueva especie de rana venenosa de altura del género *Excidobates* (Dendrobatoidea: Dendrobatidae) de la Cordillera del Cóndor”. *Papeis Avulsos de Zoologia*, 52:387–399.
- [9] Neill, D.; Guevara, J. “*Bosque siempreverde montano sobre mesetas de arenisca de la cordillera del Cóndor*. In: *Ministerio del Ambiente del Ecuador 2012. Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental*”. Ministerio del Ambiente. Quito., 2012.
- [10] Almendáriz, A.; Batallas, D. 2012. “Nuevos datos sobre la distribución, historia natural y el canto de *Centrolene condor* Cisneros-Heredia y Morales-Mite, 2008 (Amphibia:Anura: Centrolenidae)”. *Revista Politécnica*, 30: 42–53.
- [11] Charif, R. A.; Waack, A. M.; Strickman, L. “*Raven Pro 1.4 User's Manual*”. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, 2010.
- [12] Duellman, W. E.; Pyles, R. A. 1983. “Acoustic Resource Partitioning in Anuran Communities”. *Copeia*, 83:639–649.
- [13] Angulo, A. “*Fundamentos de bioacústica y aspectos prácticos de grabaciones y análisis de cantos*”, : 93–134. Conservación Internacional, Serie Manuales de Campo, Bogotá, Colombia., 2006.
- [14] Díaz, L. M.; Cádiz, L. M. 2007. “Guía descriptiva para la identificación de las llamadas de anuncio de las ranas cubanas del género *Eleutherodactylus* (Anura: Lepidodactylidae)”. *Herpetotropicos*, 3:100–122.

New data of the distribution of the Green-fronted Lancebill *Doryfera ludovicae* (Trochilidae) and of the Olive Finch *Arremon castaneiceps* (Emberizidae) in the province of El Oro, Ecuador

Nuevos datos de distribución del colibrí Pico Lanza Frentiverde *Doryfera ludovicae* (Trochilidae) y del Pinzón Oliváceo *Arremon castaneiceps* (Emberizidae) en la provincia de El Oro, Ecuador

Glenda M. Pozo-Zamora^{1*}, Cesar Garzón¹, Gabriela Echeverría-Vaca¹ y Katherine León¹

¹Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, División de Ornitología, calle Rumipamba 341 y Av. de los Shyris. Casilla Postal 17-07-8976, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: glenda.pozo@yahoo.es

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 05/04/2014. Aceptado/Accepted: 29/04/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

We report new distribution records for *Doryfera ludovicae* (Trochilidae) and *Arremon castaneiceps* (Emberizidae), from southwestern Ecuador, based on mist-netting captures and visual observations. We suggest both species historically crossed from the eastern Andean slopes through the cordillera de Chilla as was been previously suggested in the literature for other taxa. There are no previous published reports of these species in the southwestern slopes of the Andes.

Keywords. *Arremon castaneiceps*, cloud forest, *Doryfera ludovicae*, southwestern, Ecuador.

Resumen

Reportamos nuevos registros de distribución de *Doryfera ludovicae* (Trochilidae) y *Arremon castaneiceps* (Emberizidae) en los bosques suroccidentales del Ecuador, sobre la base de capturas con redes de neblina y observaciones. Sugerimos que ambas especies cruzaron desde los flancos andinos orientales a través de la cordillera de Chilla, como se ha documentado en la literatura previamente para otras especies. No existen reportes previos publicados de estas especies en la vertiente suroccidental de los Andes.

Palabras Clave. *Arremon castaneiceps*, bosque nublado, *Doryfera ludovicae*, suroccidente, Ecuador.

El género *Doryfera* cuenta con dos especies en el Neotrópico, ambas presentes en Ecuador: *D. ludovicae* y *D. johanna* [1, 2]. *Doryfera ludovicae* Pico Lanza Frentiverde se distribuye en Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia [1, 2]. En Ecuador habita en sotobosques y bordes de bosque en subtrópicos bajos de la ladera oriental y noroccidental de los Andes entre 1100-1700 m de elevación [1], en particular junto a arroyos de corriente rápida dentro del bosque [3]. El género *Arremon* cuenta con 16 especies distribuidas en Sudamérica, cinco de ellas en Ecuador [1, 2]. *Arremon castaneiceps* Pinzón Oliváceo habita en Colombia, Ecuador y Perú y está categorizado como una especie Casi Amenazada debido a la deforestación acelerada para la formación de pastizales para ganado y producción de soya [4]. En Ecuador habita en sotobos-

ques de la vertiente oriental y noroccidental, entre 800-1800 msnm, en especial en quebradas con vegetación densa [1]. Esta especie requiere sitios determinados para anidar usando paredes de roca y lianas ubicadas en quebradas altamente conservadas, lo cual puede ser motivo de su distribución localizada [5, 6]. En este trabajo se presentan los primeros registros de *D. ludovicae* y *A. castaneiceps* en la vertiente suroccidental de los Andes.

Una hembra adulta de *Doryfera ludovicae* (Fig. 2A) fue capturada en una red de neblina en un remanente de bosque cerca de la localidad Ñalacapac (S 03°42'06.0"/W 79°48'10.5"; 1031 m de altitud), provincia de El Oro, el 11 de octubre del 2013. Mientras, dos individuos adultos de *Arremon castaneiceps* (Fig. 2B) fueron observados y fotografiados en una pequeña quebrada pedregosa,

ISSN 1390-5384



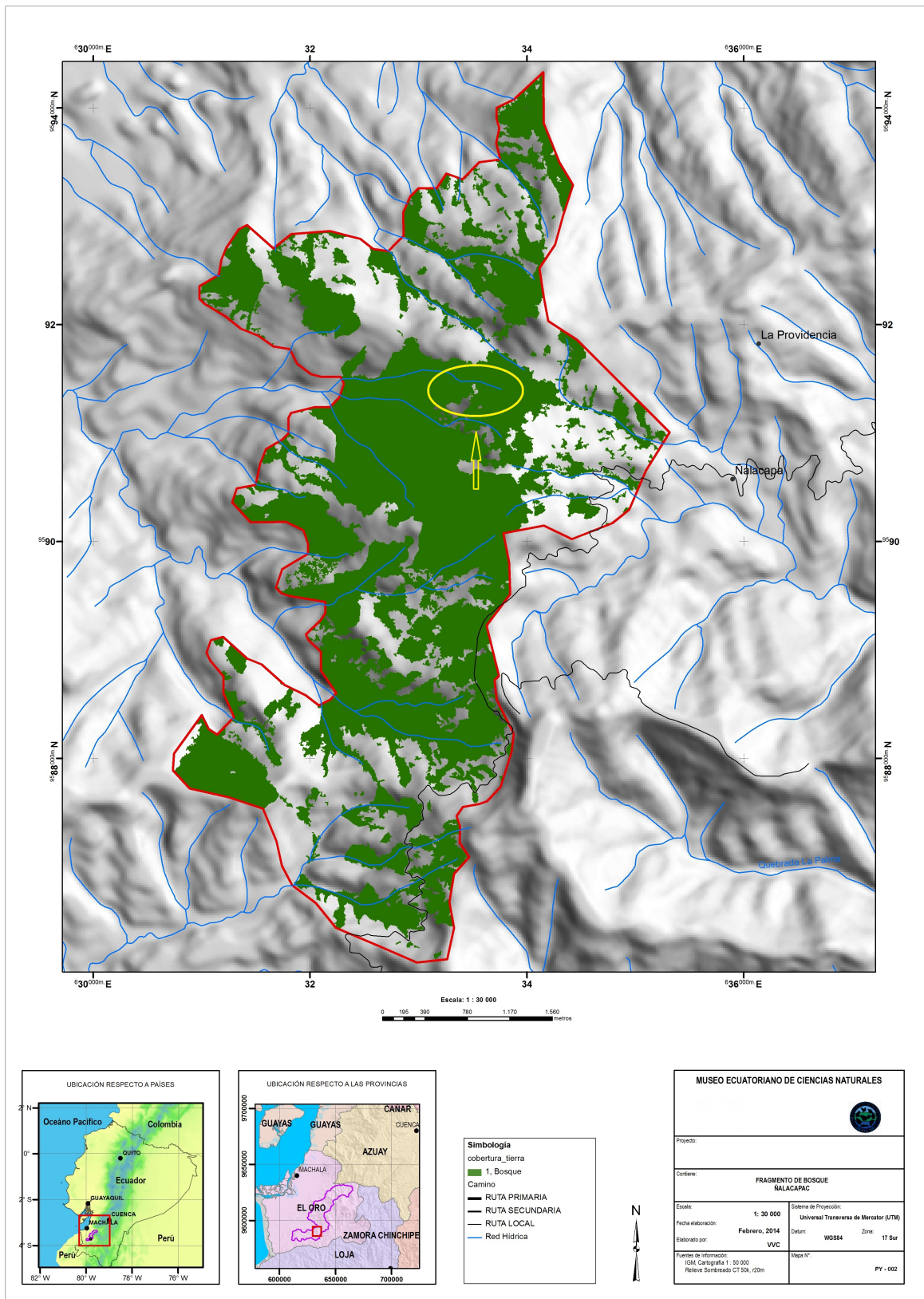


Figura 1: Mapa del bosque de Ñalacapa, provincia de El Oro, suroccidente del Ecuador.



Figura 2: A = Hembra adulta de *Doryfera ludovicae* capturada en una red de neblina el 11 de octubre del 2013. B = Individuo de *Arremon castaneiceps* observado el 10 de octubre del 2013. Ambos registros se hicieron en Ñalacapac, 1031 m de altitud, provincia de El Oro, Ecuador.

con sotobosque denso a 1 m sobre el nivel del suelo en el mismo bosque (S 03°41'54.4"/W 79°48'09.9"; 903 m de altitud), el 10 de octubre del 2013.

El área corresponde al piso zoogeográfico subtropical occidental [7] (Fig. 1), en el ecosistema Bosque siempreverde piemontano del Catamayo-Alamor [8]. Este ecosistema se caracteriza por la prevalencia de neblina, con árboles emergentes de 25-30 metros de alto, cobertura de dosel del 70 %, sotobosque con predominancia de musgos y herbáceas. Un pequeño riachuelo pedregoso atraviesa el área. La humedad del sitio de estudio proviene principalmente de los vientos del oeste desde el océano Pacífico [9].

Las principales características de *Doryfera ludovicae* que permiten diferenciar de *D. johanna* es la frente verde centellante, el pico más largo, parte ventral gris y las coberteras caudales superiores verdes [1]. Mientras que *Arremon castaneiceps* se distingue de sus congéneres por la coloración ventral y dorsal verdeoliva, corona y nuca castañas, sin diseño facial [1].

Krabbe [10] menciona que la cordillera de Chilla podría ser un puente para el cruce de algunas especies desde la vertiente oriental de los Andes hacia los bosques suroccidentales. Nuestros registros de *Doryfera ludovicae* y *Arremon castaneiceps* en la vertiente suroccidental podrían explicarse de esta manera, aunque tampoco podemos descartar que sean poblaciones vinculadas a otras poblaciones más al norte, en la Cordillera Occidental ya que, en el caso de *D. ludovicae*, no hay diferencias subespecíficas entre las dos cordilleras, mientras que *A. castaneiceps* es monotípica.

Agradecimientos

Nuestros agradecimientos al Gobierno Provincial Autónomo de El Oro por financiar el proyecto “Guía de Aves, Anfibios y Reptiles de la provincia de El Oro” bajo el cual se realizaron los registros. A Eder Armijos y Marco Tulio Gálvez, quienes colaboraron en la logística de campo. A Jorge Brito por sus comentarios para el mejoramiento del manuscrito. El Ministerio del Ambiente otorgó el permiso de investigación número 012-IC.FAN.DPEO.MAE.

Referencias

- [1] Ridgely, R.; Greenfield, P. 2006. “Aves del Ecuador”. *Academia de Ciencias Naturales de Filadelfia y Fundación de Conservación Jocotoco: Quito*.
- [2] Restall, R.; Rodner, C.; Lentino, M. 2006. “Birds of Northern South America”. *Yale University Press: New Haven*.
- [3] Greeney, H.; Dobbs, R.; Díaz, G.; Keer, S.; Hayhurst, J. 2006. “Breeding biology of the Green-fronted Lancebill (*Doryfera ludovicae*) in eastern Ecuador”. *Ornitología Neotropical*, 17(3):321–331.
- [4] IUCN. 2013. “IUCN Red List of Threatened Species”. *Version 2013.2., Enlace: <http://www.iucnredlist.org>, Fecha de Consulta: 5 Marzo 2014*.

- [5] Schulenberg, T.; Gill, F. 1987. "First description on the nest of the Olive Finch, *Lysurus castaneiceps*". *The Condor*, 89:673–674.
- [6] Flores-V, C.; Londoño, G. 2012. "Biología de anidación del Pinzón Oliva (*Arremon castaneiceps*) en el sureste peruano". *Ornitología Neotropical*, 23:417–427.
- [7] Albuja, L.; Almendáriz, A.; Barriga, R.; Montalvo, L.; Cáceres, F.; Román, J. 2012. "Fauna de Vertebrados del Ecuador". *Instituto de Ciencias Biológicas, Escuela Politécnica Nacional: Quito*.
- [8] Chinchero, M.; Medina-Torres, B.; Herrera, X.; Morales, C.; Guevara, J.; Santiana, J.; Aguirre, C. 2013. "Sistema de Clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental: Región Litoral". en: "*Sistema de Clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*", *Ministerio del Ambiente del Ecuador: Quito*, : 34–74.
- [9] Ridgely, R.; Robbins, M. 1988. "*Pyrrhura orcesi*, a new parakeet from southwestern Ecuador, with systematic notes on the *P. melanura* complex". *The Wilson Bulletin*, 100(2):173–182.
- [10] Krabbe, N. 2008. "Arid valleys as dispersal barriers to high-Andean forest birds in Ecuador". *Cotinga*, 29:28–30.

Nutritional evaluation of the sesame seed paste (*Sesamum indicum* L.) as replacement of the soybean paste in the growth of Common Quail (*Coturnix coturnix*)**Evaluación nutricional de la pasta de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) como sustituto de la pasta de soya en el crecimiento de codornices (*Coturnix coturnix*)**Gabriela Chiriboga¹, Eduardo Uzcátegui¹ y Raúl de la Torre^{1*}¹Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias e Ingeniería, Diego de Robles y Vía Interoceánica, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: rdelatorre@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 03/20/2014. Aceptado/Accepted: 07/04/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

In order to assess the feasibility of using sesame seed paste as a partial substitute for soybean meal in quail rations, an experiment was conducted to test four treatments in one-day-old birds: treatment 1: Control diet (0 % sesame paste); treatment 2: diet with 25 % substitution of soybean meal by sesame paste; treatment 3: 50 % substitution of soybean meal by sesame paste, and treatment 4: 75 % substitution of soybean meal by sesame paste. Four groups of 50 birds each were formed to receive one of the four diets offered *ad libitum* in equal amounts during 5 consecutive weeks. Using a complete randomized experimental design with factorial arrangement (4 x 5 four treatments and five weeks), four variables were evaluated: feed intake, live weight gain, feed conversion ratio and mortality. Treatment 4 diet was the least consumed throughout the experiment, while treatment 2 diet recorded the highest weekly average consumption per bird, both significantly different from the others ($P < .01$). Animal weight gain was significantly lower in treatment 4 birds and significantly higher in birds of treatment 1 ($P < .01$), so feed conversion ratio of treatment 4 turned out to be the highest and, therefore, the least efficient ($P < .05$) since it required the greatest amount of food to convert it into live weight; conversion ratio of control diet, was significantly lower than that of treatments 3 and 4 but not different from ratio obtained in treatment 2, showing that sesame paste content reduces feed conversion when substitution levels of soybean meal rise higher than 25 %. The mortality of the birds was somewhat higher than normal and it was not influenced by the level of sesame paste, since the loss of birds was similar in all groups. Deficiency of lysine in diets containing sesame paste could account for the lower performance of quails fed these diets.

Keywords. Animal nutrition, feeding, Japanese quail, *Sesamum indicum*, sesame seed paste, soybean meal.

Resumen

Se evaluó la pasta de ajonjolí como sustituto parcial de la pasta de soya en raciones alimenticias de codornices en un experimento en el que se probaron cuatro dietas (tratamientos): Tratamiento 1: dieta testigo (0 % pasta de ajonjolí); Tratamiento 2: dieta con sustitución del 25 % de la pasta de soya por pasta de ajonjolí; Tratamiento 3: sustitución del 50 % de la pasta de soya por pasta de ajonjolí; Tratamiento 4: sustitución del 75 % de la pasta de soya por pasta de ajonjolí. Se conformaron cuatro grupos de 50 aves de un día de edad y cada uno recibió una de las cuatro dietas *ad libitum* durante 5 semanas. En un diseño completamente al azar con arreglo factorial (4x5, 4 tratamientos y 5 semanas) se midieron el consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia y mortalidad. La dieta del tratamiento 4 fue la menos consumida a lo largo del experimento, mientras la dieta del tratamiento 2 registró el mayor consumo promedio semanal por ave, ambos significativamente diferentes de los demás ($P < .01$). La ganancia de peso por animal fue notablemente inferior en las aves del tratamiento 4 y significativamente mayor en las aves del tratamiento 1 ($P < .01$), por lo que el índice de conversión alimenticia del tratamiento 4 resultó ser el más alto y, por ende, el menos eficiente ($P < .05$) al requerir mayor cantidad de alimento para convertirlo en peso vivo. Este índice de conversión de la dieta testigo, fue significativamente más bajo que en los tratamientos 3 y 4, sin diferir del obtenido en el tratamiento 2, demostrando que el contenido de pasta de ajonjolí reduce la conversión alimenticia en niveles superiores al 25 % de sustitución de la pasta de soya. La mortalidad de las aves fue un tanto mayor que la normal y no estuvo influenciada por el nivel de pasta de ajonjolí en el alimento, puesto que la pérdida de aves fue similar en todos los grupos. La deficiencia de lisina en las dietas que contenían pasta de ajonjolí podría explicar el menor desempeño de las codornices alimentadas con estas dietas.

Palabras Clave. Nutrición animal, alimentación, codornices, *Sesamum indicum*, pasta de ajonjolí, pasta de soya.

Introducción

El ajonjolí es una planta anual que se cree tuvo su origen en Etiopía (África), desde donde se extendió hasta Japón, India y China en sus inicios. Tiempo después del descubrimiento de América este cultivo oleaginoso se ha expandido por el mundo para uso *gourmet*. Este cultivo crece preferiblemente en regiones cálidas, siendo Guatemala el país que produce semillas de mayor calidad [1].

La pasta de ajonjolí, sub producto resultante de la extracción del aceite, ha sido empleada en varios países como ingrediente en la formulación de raciones alimenticias para de aves, cerdos y vacas lecheras, siendo su composición química y textura dependientes de la variedad y del método de extracción que se haya usado. El color de la pasta puede variar desde amarillo claro hasta gris oscuro dependiendo del color de la semilla [2].

La semilla de ajonjolí es una gran fuente de energía y proteína, debido a que contiene del 17 a 23 % de proteína cruda con una gran cantidad de metionina, 42 a 50 % de aceite (oleico y linoleico), de 4 a 7 % de ceniza con altas cantidades de calcio (0.98 %); es también fuente de fitatos como componente anti nutricional. La pasta de ajonjolí, por su parte, contiene de 44 a 50 % de proteína, de 10 al 12 % de extracto etéreo, 5 a 7 % de fibra cruda y de 5 al 12 % de cenizas [3, 4]. En el Ecuador, la disponibilidad de este cultivo no satisface las demandas nacionales de grano para consumo humano, razón por la cual se lo tiene que importar, afectando así su accesibilidad debido a sus costos y a que el principal objetivo no es el de obtener aceite de esta oleaginosa [5]. En el año 2005, se importaron 84,067 toneladas de aceite crudo proveniente de Argentina, y 93,780 toneladas entre semilla y pasta de soya [6].

La búsqueda de nuevos ingredientes como fuentes de proteína, que cumplan con los requerimientos nutricionales de los animales a precios razonables, se ha constituido en una prioridad, especialmente de la industria avícola que depende mayoritariamente del suministro de la pasta de soya, producto cuya demanda también debe satisfacerse mediante importaciones que afectan su costo. En el Ecuador se han producido alrededor de 25 toneladas anuales de grano de ajonjolí en los últimos diez años [7] y la pasta obtenida luego del proceso de extracción del aceite puede adquirirse a menor precio que la pasta de soya. Por ser poco conocida y evaluada en nuestro país como ingrediente alimenticio para animales de granja, la pasta de ajonjolí fue objeto del presente estudio que tuvo por objetivo determinar su viabilidad nutricional como sustituto parcial de la pasta de soya en dietas para crecimiento de codornices.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en la Granja María Elena ubicada en el kilómetro 1.5 de la vía Santo Domingo de los Colorados al Búa, provincia de Santo Domingo de los

Tsáchilas. Se empleó un “galpón” con ventanas protegidas con malla, piso de cemento y techo de zinc. Antes de recibir a los pollos de codorniz las instalaciones fueron desinfectadas con cresol (1 mililitro por 1 litro de agua) para eliminar la posible presencia de organismos patógenos. Se preparó una jaula circular en el piso construida con láminas de acero que albergó a 200 pollos de codornices de un día de edad, separados por planchas moldeadas con el propósito de dividir el círculo en cuatro partes, cada una destinada a alojar a 50 aves, que recibirían uno de los cuatro tratamientos en estudio. En cada espacio del círculo se dispusieron dos bebederos con agua con vitaminas y dos comederos con el alimento.

El piso fue cubierto con viruta y encima se colocaron hojas de papel periódico durante los tres primeros días, las cuales fueron cambiadas a diario, mientras que los bebederos fueron lavados todos los días para colocar agua limpia y fresca. Después de los tres primeros días, se retiró el papel periódico para proceder a cambiar cada semana la viruta del piso por viruta nueva con el fin de mantener a los animales en un lugar limpio.

En cuanto al horario de la alimentación, todos los días a las 8 de la mañana se procedió a lavar los bebederos y a pesar el alimento sobrante y el alimento a suministrar. También, se retiró y se registró el número de codornices muertas en cada grupo (tratamiento). De igual manera, a las 5 de la tarde se procedió a limpiar los bebederos para eliminar la viruta humedecida por las aves, aumentar el alimento y verificar que las lámparas estuvieran prendidas para mantener el calor del galpón.

Los pollos de codorniz son sumamente sensibles al cambio de temperatura durante los primeros días de vida, por esta razón es importante que el lugar donde permanezcan tenga una adecuada temperatura de aproximadamente 35 a 38°C. Las ventanas deben permanecer cerradas, sobre todo en las noches, y ser abiertas por un tiempo determinado en las mañanas para que el lugar se ventile, debido a que el amoníaco emitido por las heces de las aves puede causar problemas respiratorios no solamente a los animales sino también a los trabajadores. El uso de lámparas durante las tres primeras semanas es esencial para mantener la temperatura del galpón; sin embargo, se debe controlar el nivel de calor emitido por las mismas, siendo un indicador de la deficiencia o exceso de calor el comportamiento de las propias aves al alejarse de las lámparas o agruparse cerca de ellas [8].

Se estudiaron cuatro tratamientos en este experimento: Tratamiento 1: dieta testigo con 100 % de pasta de soya; Tratamiento 2: dieta formulada con 25 % de pasta de ajonjolí y 75 % de pasta de soya; Tratamiento 3: dieta con 50 % de pasta de ajonjolí y 50 % de pasta de soya y, Tratamiento 4: dieta con 75 % de pasta de ajonjolí y 25 % de pasta de soya. La composición de las cuatro dietas experimentales se presenta en la Tabla 1.

Se empleó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 4 x 5 (4 tratamientos y 5 sema-

| Ingredientes | 0 % | 25 % | 50 % | 75 % |
|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | pasta de ajonjolí (Testigo) | pasta de ajonjolí Trat. 2 | pasta de ajonjolí Trat. 3 | pasta de ajonjolí Trat. 4 |
| Maíz | 58.61 | 58.61 | 58.61 | 58.61 |
| Soya | 36.90 | 27.32 | 18.45 | 9.58 |
| Ajonjolí | 0.00 | 9.58 | 18.45 | 27.32 |
| Carbonato de calcio | 1.30 | 1.30 | 1.30 | 1.30 |
| Fosfato monoamónico | 1.50 | 1.50 | 1.50 | 1.50 |
| Metionina | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 |
| Manteca | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Sal | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| Premix broiler | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Antimicótico | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| TOTAL | 100 | 100 | 100 | 100 |

Tabla 1: Composición de las dietas (%)

nas) y se evaluaron los siguientes parámetros: consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia durante 5 semanas. Por obvias razones el consumo de alimento no fue medido individualmente sino en cada grupo representativo de cada tratamiento y fue calculado semanalmente pesando todos los días la cantidad de alimento ofrecido y sustrayendo el alimento sobrante; la diferencia semanal acumulada fue dividida para el número de aves, a efectos de estimar el consumo promedio por animal. La ganancia de peso también se evaluó cada semana mediante la diferencia entre el peso final promedio de los animales del grupo y su peso inicial. Finalmente, la conversión de alimento fue estimada mediante simple cálculo, dividiendo la cantidad de alimento consumido para el peso promedio ganado cada semana.

La significación estadística de las diferencias de los promedios entre tratamientos y semanas fue determinado mediante el análisis de variancia (ADEVA), seguido de la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan [9] cuando el ADEVA reveló variaciones significativas.

Resultados y Discusión

Consumo de alimento: Los datos del consumo semanal de alimento se presentan en la Tabla 2. Al analizar los resultados obtenidos en la medición del consumo de alimento, el ADEVA detectó diferencias significativas al 1 % de probabilidad entre los tratamientos, poniendo en evidencia que el consumo alimenticio fue afectado por la composición de la dieta, es decir, por el nivel de pasta de ajonjolí en sustitución de la pasta de soya. El consumo de alimento de las aves del tratamiento 4 que contenía 75 % de pasta de ajonjolí (69.6g) fue significativamente menor que el consumo registrado en los restantes tratamientos, seguido por el consumo de las aves de los tratamientos 3 (50 % pasta de ajonjolí) y 1 (testigo) y, finalmente, por el consumo en el tratamiento 2

(25 % pasta de ajonjolí) que exhibió el promedio más alto y estadísticamente diferente de los demás (108.3g).

Con base en estos resultados, podría concluirse que las codornices toleran la pasta de ajonjolí en su dieta en dosis que no supere un nivel de sustitución de soya mayor al 50 %, ya que por encima de este nivel ocurre una reducción marcada del consumo de alimento con el consiguiente efecto sobre la ganancia de peso. El bajo consumo de alimento de las aves del tratamiento 4 puede deberse a la textura de la mezcla ofrecida, debido a que la dieta con el 75 % de pasta de ajonjolí presentaban grumos y aglutinaciones que dificultaban la aprehensión y deglución, y por otra parte, a la apariencia externa, puesto que su coloración era bastante oscura y obviamente resultaba menos atractiva que el alimento de los otros grupos.

Al comparar el consumo semanal de alimento en las cinco semanas, como era de esperar, la prueba de Duncan determinó diferencias altamente significativas ($P < .01$) entre semanas, con el menor consumo medio por ave durante la primera y segunda semanas (55.7 y 71.2g, respectivamente). El consumo alimenticio aumentó hasta la cuarta semana (108.8g), pero en la quinta y última semana se produjo una pequeña disminución que, posiblemente, obedeció a las condiciones ambientales del galpón, aunque las diferencias anotadas no alcanzaron el grado de significación estadística. El bajo consumo alimenticio de la primera semana se explicaría tanto por tratarse de los primeros días de vida de las aves, como por el proceso de adaptación a las instalaciones del experimento y a las condiciones que éstas proveían.

Los datos obtenidos en este parámetro productivo exhiben una alta variabilidad y revelan un bajo nivel de consumo aun en el tratamiento testigo, puesto que en otros estudios reportan cifras de 120 a 140 gramos semanales por animal, durante las primeras 8 semanas de vida [10].

Ganancia semanal de peso: La ganancia de peso semanal por ave se presenta en la Tabla 3. Los resultados del

| TRATAMIENTOS | | | | | |
|-----------------|---------------|----------------|---------------|---------------|-------------|
| Semanas | T1 Testigo | T2 25 % | T3 50 % | T4 75 % | Promedio |
| 1 | 56.0 | 60.0 | 56.9 | 49.8 | 55.7 a |
| 2 | 76.1 | 81.0 | 68.5 | 59.3 | 71.2 a |
| 3 | 117.3 | 134.9 | 105.0 | 76.5 | 108.4 b |
| 4 | 112.1 | 134.6 | 99.7 | 88.8 | 108.8 b |
| 5 | 100.4 | 130.6 | 105.7 | 73.4 | 102.5 b |
| Promedio | 92.4 b | 108.3 a | 87.2 b | 69.6 c | 89.3 |

Promedios con distinta letra en la hilera o columna son significativamente diferentes ($P < .01$)

Tabla 2: Consumo de alimento (g/ave/semana)

| TRATAMIENTOS | | | | | |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|--------------|-------------|
| Semanas | T1 Testigo | T2 25 % | T3 50 % | T4 75 % | Promedio |
| 1 | 30.6 | 12.6 | 15.7 | 6.0 | 16.2 a |
| 2 | 22.4 | 16.9 | 8.9 | 5.9 | 13.5 a |
| 3 | 45.1 | 29.5 | 13.5 | 9.0 | 24.3 b |
| 4 | 25.2 | 17.8 | 11.2 | 4.8 | 14.8 a |
| 5 | 28.9 | 15.1 | 13.5 | 5.3 | 15.7 a |
| Promedio | 30.4 a | 18.4 b | 12.6 b | 6.2 c | 16.9 |

Promedios con distinta letra en la hilera son significativamente diferentes ($P < .01$)

Promedios con distinta letra en la columna son significativamente diferentes ($P < .05$)

Tabla 3: Ganancia de peso (g/ave/semana)

ADEVA mostraron diferencias altamente significativas entre tratamientos ($P < .01$) y entre semanas ($P < .05$). La prueba de Duncan, por su parte, estableció una marcada superioridad de la dieta testigo (Tratamiento 1), con un incremento de peso significativamente mayor que aquel alcanzado con las tres dietas que contenían pasta de ajonjolí, mientras que las dietas correspondientes a los tratamientos 2 y 3 (25 y 50 % de pasta de ajonjolí, respectivamente) no difirieron entre sí, pero superaron estadísticamente a la dieta 4 (75 % pasta de ajonjolí), la cual exhibió la menor ganancia durante el periodo experimental. Es evidente también la gran variabilidad de los datos, puesto que el coeficiente de variación fue de aproximadamente 26 %.

Los valores aquí encontrados difieren marcadamente del estándar empleado por Rostagno y colaboradores [11], quienes, al determinar los requerimientos nutricionales de las codornices en Brasil, establecieron como estándar un incremento diario de 1.3 gramos por ave para el periodo de edad entre las 6 y 10 semanas, mientras que en otro experimento llevado a cabo en Nigeria, con codornices de 2 a 8 semanas de edad, alimentadas con bagazo de grano de sorgo en sustitución del maíz, se reportaron ganancias de peso de 2.47 a 2.63 gramos diarios por animal [10].

Por otra parte, la comparación del incremento de peso semanal por ave entre semanas permitió determinar que la media más alta, obtenida en la semana 3 (24.3 gramos, equivalente a 3.46 gramos diarios) fue significativamente mayor que los promedios de las semanas restantes, entre las cuales no se detectaron diferencias, sin que se pueda encontrar una explicación para este inusual comportamiento de las aves. Díaz et al., [12], mencionan que los microorganismos en el tracto intestinal de las codornices juegan un papel fundamental en

| TRATAMIENTOS | | | | | |
|-----------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Semanas | T1 Testigo | T2 25 % | T3 50 % | T4 75 % | Promedio |
| 1 | 4.37 | 1.8 | 2.24 | 0.9 | 2.32 |
| 2 | 3.2 | 2.4 | 1.27 | 0.84 | 1.93 |
| 3 | 6.44 | 4.21 | 1.93 | 1.3 | 3.46 |
| 4 | 3.6 | 2.54 | 1.6 | 0.68 | 2.1 |
| 5 | 4.13 | 2.16 | 1.93 | 0.76 | 2.24 |
| Promedio | 4.35 | 2.62 | 1.79 | 0.88 | 2.41 |

Tabla 4: Ganancia diaria de peso (g/ave/día)

su comportamiento productivo, ya que en la primera fase de crecimiento el consumo de alimento, la ganancia de peso y la conversión de alimento se acentúan, de tal manera que, mientras aumenta la edad de las codornices disminuye la absorción de nutrientes en relación al peso corporal, y la correspondiente respuesta en términos de incremento de peso. También hacen referencia al estancamiento del incremento de peso y de la conversión de alimento a medida que transcurre la edad de las codornices, aun cuando el consumo de alimento vaya en aumento. Por esta razón, los datos de la ganancia de peso obtenidos en la quinta semana fueron más homogéneos entre los tratamientos, que en las semanas previas.

Los datos de ganancia semanal de peso expresados en términos de ganancia diaria por ave (Tabla 4) variaron de 0.88 gramos en el tratamiento 4 a 4.35 gramos en el tratamiento testigo, y de 1.93 en la segunda semana a 3.46 gramos en la tercera semana.

Conversión alimenticia: La conversión alimenticia es un indicador de la eficiencia de las especies animales para convertir el alimento en el producto de interés comercial, carne o leche, y es mejor mientras más baja sea la relación de la cantidad de alimento consumido por unidad de peso ganado o de leche producida. En el presente estudio, el índice promedio total para la conversión de alimento fue de 7.06 gramos, esto es, 7.06 gramos de alimento necesarios para conseguir el incremento de peso de 1 gramo, lo cual demuestra una baja eficiencia de conversión (Tabla 5). El ADEVA reveló diferencias significativas entre tratamientos ($P < .01$), lo mismo que entre semanas ($P < .05$). De acuerdo a la prueba de Duncan, los promedios de conversión alimenticia de las aves pertenecientes a los tratamientos 1 (testigo) y 2 (25 %) no difirieron estadísticamente entre sí, al 5 % de probabilidad, pero fueron significativamente menores que el promedio del tratamiento 4 (75 % de pasta de ajonjolí) que resultó el más alto, lo que equivale a decir que las aves alimentadas con el mayor contenido de pasta de ajonjolí fueron menos eficientes en la transformación del alimento que las dietas con 0 y 25 % de ajonjolí, por requerir mayor cantidad de comida para ganar un gramo de peso corporal. Sin embargo, el promedio de conversión alimenticia del tratamiento 2 fue estadísticamente similar al del tratamiento 3 y los dos, inferiores al del tratamiento 4. Debe recordarse que los índices de conversión alimenticia no son obtenidos como resultado de una medición directa, sino de un cálculo utilizando los datos del consumo de alimento e incremento de peso, razón por la cual, tanto la variación como los errores

| Semanas | TRATAMIENTOS | | | | Promedio |
|-----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|-------------|
| | T1 Testigo | T2 25 % | T3 50 % | T4 75 % | |
| 1 | 1.83 | 4.76 | 3.62 | 8.3 | 4.63 a |
| 2 | 3.40 | 4.79 | 7.70 | 10.05 | 6.48 ab |
| 3 | 2.60 | 4.57 | 7.78 | 8.50 | 5.86 ab |
| 4 | 4.45 | 7.56 | 8.90 | 18.50 | 9.85 c |
| 5 | 3.47 | 8.65 | 7.83 | 13.85 | 8.45 bc |
| Promedio | 3.15 a | 6.07 ab | 7.17 b | 11.84 c | 7.06 |

Promedios con distinta letra en la columna o hilera son significativamente diferentes ($P < .05$)

Tabla 5: Conversión alimenticia (g alimento/g peso vivo).

que podrían haberse producido al medir estos parámetros, se acumulan y se reflejan al calcular este índice.

Con relación a las variaciones entre las cinco semanas del experimento se encontró que pese a la tendencia creciente de los índices de conversión, fue en la semana 4 cuando se registró el mayor valor numérico, sin que éste se diferencie estadísticamente del promedio de la semana 5. Los resultados obtenidos también permiten apreciar que los índices de conversión alimenticia no variaron significativamente durante las tres primeras semanas del estudio, lo cual discrepa de la concepción generalizada de que la eficiencia de conversión se reduce con el tiempo o, lo que es lo mismo, que los índices de conversión son mayores a medida que los animales crecen.

Al comparar los valores obtenidos, se encuentra que el mejor índice de conversión, correspondiente al tratamiento testigo (3.15g), fue apreciablemente mayor que el reportado por Varkoohi et al., [13] de 2.61 gramos en codornices de 1 a 4 semanas de edad, aunque los resultados en los tratamientos 2 y 3 fueron bastante semejantes a los índices de 6.73 a 7.87 gramos encontrados en el ensayo referido en el punto anterior, empleando una dieta a base de bagazo de grano de sorgo [10]. Así mismo, según Terán [8], evaluando en codornices dietas basadas en harina de amaranto y quinua obtuvo como resultado índices de conversión de alimento de 4.13 a 4.59 gramos, mientras que Muirragui [14] en su experimento utilizando sachinchi en sustitución de soya encontró índices de 1.70 a 3.35 gramos, ligeramente mayores que los índices de Ayala [15] de 1.9 gramos y Vega [16] de 1.78 a 2.09 gramos, en pollos parrilleros. La baja eficiencia de conversión del presente experimento, caracterizada por índices que aumentan a medida que disminuye el contenido de pasta de soya en la dieta podría deberse, en primer lugar, a la reducción del contenido de saponinas presentes en este ingrediente, pero ausentes en la pasta de ajonjolí, toda vez que se conoce que estos compuestos mejoran los índices de productividad, incluyendo la ganancia de peso y la conversión alimenticia, reduciendo al mismo tiempo los riesgos en la salud de los animales [17]. En segundo lugar, la pasta de ajonjolí es un producto naturalmente alto en el contenido del aminoácido metionina, pero pobre en el contenido del aminoácido lisina [18], opuesto a lo que ocurre en la soya; por ello, al formular una dieta con pasta de soya, la deficiencia de metionina se suple agregando metionina sintética a la mezcla, pero las tres dietas que contenían pasta de ajonjolí en el presente ensayo no corrigieron la

| Semanas | TRATAMIENTOS | | | | Total |
|--------------|--------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | T1 Testigo | T2 25 % | T3 50 % | T4 75 % | |
| 1 | 4 | 2 | 2 | 4 | 12 |
| 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 14 |
| 3 | 0 | 2 | 3 | 1 | 6 |
| 4 | 1 | 1 | 2 | 2 | 6 |
| 5 | 2 | 1 | 0 | 1 | 4 |
| Total | 10 | 9 | 11 | 12 | 42 |

Tabla 6: Mortalidad (No. de aves muertas).

deficiencia de lisina, pudiendo ser ésta la causa más importante para el bajo desempeño de las codornices, en especial de aquellas alimentadas con el nivel más alto de pasta de ajonjolí.

Mortalidad: La pérdida de animales durante el experimento (21 %) fue mayor que el índice de mortalidad que debería esperarse en una explotación comercial y obedeció principalmente a accidentes: ahogamiento en los bebederos durante los primeros días, lesiones causadas por impactos al volar dentro de las jaulas o quemaduras en las lámparas de calor. No se evidenciaron diferencias en mortalidad asociada a los tratamientos, pero sí diferencias entre semanas ($P < .05$) con mayor número de codornices muertas durante las dos primeras semanas (Tabla 6).

Conclusiones

La dieta del tratamiento 4 con 75 % pasta de ajonjolí fue la menos consumida por las codornices a lo largo de todo el experimento, fue además la que produjo el menor incremento de peso de las aves y, consecuentemente, la que se tradujo en la menor eficiencia de conversión alimenticia con el índice más alto, mientras en el otro extremo, la dieta testigo acusó la mayor ganancia de peso y la mejor conversión de alimento con el índice más bajo.

La dieta correspondiente al tratamiento 2, con 25 % pasta de ajonjolí, fue la que registró el mayor consumo de alimento, pero ésta fue inferior a la dieta testigo en ganancia de peso, aunque no en conversión alimenticia. Fue, además, estadísticamente similar a la dieta del tratamiento 3 (75 % pasta de ajonjolí), tanto en el incremento de peso como en la conversión de alimento.

El índice de conversión alimenticia, que combina el consumo de alimento y el incremento de peso, amerita mayor atención puesto que es el indicador que mejor refleja la eficiencia de producción y, por ende, el que mejor ilustra la productividad de los animales y la rentabilidad del negocio. En el presente estudio, la eficiencia de conversión alimenticia fue considerablemente baja y el índice de conversión de 11.8 gramos obtenido con la dieta del tratamiento 4, constituye una clara evidencia de que el alto contenido de pasta de ajonjolí de esta dieta ejerció un efecto depresor sobre el comportamiento de las codornices o, dicho en otras palabras, que las aves alimentadas con la dieta que contenía el mayor porcentaje de pasta de ajonjolí fueron las menos eficientes para

convertir el alimento en peso vivo porque necesitaron consumir cantidades significativamente mayores de alimento que las aves de los demás grupos para incrementar una misma unidad de peso corporal. Por otra parte y en vista de que el índice de conversión obtenido con la dieta del tratamiento testigo, pese a ser el más bajo, no difirió estadísticamente del correspondiente a la dieta del tratamiento 2, pero si del promedio del tratamiento 3, demuestra que la conversión alimenticia fue afectada negativamente por el contenido de pasta de ajonjolí de la dieta cuando su nivel superó el 25 % de sustitución de la pasta de soya, lo cual sugeriría no utilizar pasta de ajonjolí en dietas para codornices en niveles mayores a este porcentaje. Sin embargo, considerando que las dietas que contenían pasta de ajonjolí debieron presentar deficiencias de lisina y que esta insuficiencia nutricional podría explicar el menor desempeño de las codornices alimentadas con estas dietas, una evaluación más confiable y concluyente de la pasta de ajonjolí en futuros experimentos debería tomar en cuenta este particular y enmendar la deficiencia mediante la adición de este amino ácido esencial al alimento.

La mortalidad de las aves fue un tanto mayor que la normal y no estuvo influenciada por los tratamientos, puesto que la pérdida de aves fue similar en todos los grupos.

Es importante recalcar, que no se realizó el sexado o separación de las aves por sexo; pero, debido a que en el experimento los animales fueron asignados al azar, se supone que cada grupo tuvo el mismo número de machos y de hembras.

Referencias

- [1] Nicaraoop, R. 2005. "Ajonjolí". *Revista de Comercio Exterior Nicaragua*. Disponible en: <http://www.bcn.gob.ni/publicaciones/periodicidad/historico/sinopsis/5.pdf>.
- [2] Abbott Laboratories. 1992. "Proceso para la obtención de un aislado proteico de ajonjolí mediante solubilización, ultra filtrado y precipitación". *Estados Unidos*.
- [3] National Research Council. 1982. "United States-Canadian Tables of Feed Composition". *Nutritional Data for United States and Canadian Feeds. Third edition. Subcommittee on Feed Composition. National Academy Press, Washington*.
- [4] Balderrama, V. 2010. "Digestibilidad ideal estandarizada de la proteína de pastas de ajonjolí y de soya en lechones". *Veracruz - México*, 11.
- [5] Andrade, V. 2010. "Presente y Futuro de las Oleaginosas en el Ecuador". *Cultivos energéticos alternativos. Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra. Proyecto Centro Iberoamericano de Investigación y Transferencia de Tecnología en oleaginosas. Ibarra, Ecuador*.
- [6] INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2012. "Sistema agroalimentario de la soya". *Análisis del Sistema Agroalimentario de la Soya en el Ecuador*.
- [7] FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura). 2014. "FAOSTAT, Estadísticas de producción de cultivos: Ajonjolí". Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.
- [8] Terán, S. 2008. "Alimentación de codornices en fase de postura en base a tres harinas andinas: Amaranto, Quinoa y Maíz". *Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrícolas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ibarra- Ecuador*.
- [9] Duncan, D. 1955. "Multiple Ranges and multiple F test". *Biometrics*, 11:1.
- [10] Ngele, M.; Egho, M.; Jonathan, J. 2011. "Performance of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) fed varying levels of spent sorghum residue based diets". *Continental J. Animal and Veterinary Research*, 3:16.
- [11] Rostagno, H.; Texeira, L.; Donzele, J.; Gomes, P.; Oliveira, R.; Lopes, D.; Ferreira, A.; Barreto, S.; Euclides, R. 2011. "Tablas Brasileñas para Aves y Cerdos". *Requerimientos Nutricionales de codornices japonesas. Universidad Federal de Visosa. Brasil*: 159.
- [12] Díaz, C.; Doraida, R.; Briceño, R.; Rosa, V.; Cabrera, H. 2008. "Factibilidad y edad de engorde en codornices (*Coturnix coturnix* japónica) suplementadas con harina de lombriz". *Agricultura Andina*, 14:23.
- [13] Varkoohi, S.; Moradl Shahr, B.; Patel, A.; Nejati, J.; Zaghari, M.; Kause, A. 2010. "Response to selection of feed conversion ratio in Japanese quail". *Poultry Sci*, 90:259.
- [14] Muirragui, C. 2013. "Estudio de factibilidad del uso de la pasta de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) en dietas para aves". *Tesis de grado para la obtención del título de Ingeniero en Agroempresas. Universidad San Francisco de Quito. Ecuador*.
- [15] Ayala, M. 1997. "Utilización de diferentes niveles de harina de semilla de retama en las etapas de inicio y acabado de broilers". *Tesis de grado. Facultad de Ciencia Pecuarias. ESPOCH. Riobamba, Ecuador*.
- [16] Vega, J. 2000. "Uso de la enzima Allzyme Vegpro en dietas para pollos parrilleros". *Tesis de Maestría en Producción Animal. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH. Riobamba, Ecuador*.
- [17] Ruales, D. 2007. "Efecto de la adición de saponinas esteroidales en la alimentación de la codorniz". *Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador*.
- [18] Cuca, G.; Ávila, G. 1978. "Fuentes de energía y proteínas para la alimentación de las aves". *Ciencia Veterinaria (México)*, 2:326.

Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Ecuadorian fermented foods

Caracterización de las bacterias ácido lácticas aisladas de alimentos fermentados tradicionales del Ecuador

Linda Guamán¹, Sonia Zapata^{1*}, Mariela Serrano² y Gabriel Trueba¹

¹Universidad San Francisco de Quito, Instituto de Microbiología, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica, Campus Cumbayá, Edif. Darwin. Casilla Postal 17-1200-841, Quito, Ecuador.

²CSK Food Enrichment, Ede, The Netherlands

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: szapata@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 02/02/2014. Aceptado/Accepted: 01/04/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

Ninety one samples of traditional fermented foods were collected from 20 Ecuadorian provinces. In order to identify strains with potential use as starter cultures in fermented foods, 119 lactic acid bacteria (LAB) strains were isolated and characterized by phenotypic tests and 16S ribosomal DNA (rDNA) sequencing. Forty seven percent of isolates were identified as facultative heterofermentative *Lactobacillus sp.* the next predominant groups (31%) were homofermentative cocci belonging to the genera *Pediococcus*, *Lactococcus* and *Enterococcus*; Finally, 11% were obligate heterofermentative *Lactobacillus sp.* and 11% heterofermentative cocci (*Weissella* and *Leuconostoc*). Several isolates showed Exopolysaccharide and bacteriocin production as well as caseinolytic activity. These properties could have interesting applications in food industry.

Keywords. Lactic Acid Bacteria, 16S ribosomal DNA, Artisanal Fermented foods.

Resumen

En 20 provincias ecuatorianas, se colectaron 91 muestras de alimentos fermentados preparados de forma artesanal con el objetivo de identificar cepas con uso potencial en la producción de alimentos fermentados. Se aislaron 119 cepas que fueron caracterizadas a través de pruebas fenotípicas y secuenciamiento del ADN ribosomal 16S. Del total de cepas aisladas, 47 % fueron *Lactobacillus sp.* heterofermentadores facultativos, 31% fueron cocos homofermentadores pertenecientes a los géneros *Pediococcus*, *Lactococcus* y *Enterococcus*, 11% fueron *Lactobacillus sp.* heterofermentadores obligados y el 11% restante cocos heterofermentadores de los géneros *Weissella* y *Leuconostoc*. Algunas cepas presentaron ciertas propiedades con posible aplicación en la industria alimentaria como actividad caseinolítica y la producción exopolisacárido y bacteriocinas.

Palabras Clave. Bacterias Ácido Lácticas, ADNr 16S, Alimentos fermentados artesanales

Introduction

Lactic acid bacteria (LAB) are fermenting gram-positive, non-sporulating, cocci or rods, which produce lactic acid in their fermentation [1]. Most common LAB species used in food fermentation belong to the genera *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* or *Streptococcus* [2].

The consumption of LAB's in fermented foods is ubiquitous and ancient part of the human culture because it helps to preserve food and provides variety of sensorial and rheological characteristics that make them unique

[3]. Food fermentation is also known to enhance digestibility of some substances such as lactose, cyanogenic glycosides such as linamarin [4] and may reduce undesirable substances present in raw foods such as phytochemicals, tannins, and polyphenols [5]. Some reports claim that fermented foods may increase mineral bioavailability, production of antioxidants and omega-3 polyunsaturated fatty acids, and even improvements in immune functions [6, 7] Majority of fermented foods consumed are still produced traditionally in Ecuador and at small-scale where the fermentation occurs without the addition of starter cultures [8] and with no control over patho-

genic microorganisms [9].

Ecuador has more than 15 culturally different ethnic groups resulting in a diverse range of culinary traditions, including fermented products. This report characterizes LAB species from some of the most popular traditional fermented foods in Ecuador such as, cheeses, spicy sauces, sausages, vinegar and alcoholic beverages (Chichas).

Materials and Methods

Sample collection

A total of 91 samples from fermented foods were collected in three geographical regions distributed in 20 provinces of Ecuador, Coast region (n=31), Andean region (n=32), and Amazon region (n=35). Samples of traditional beers known as chicha prepared with corn (n=3), a fruit of the palm *Bactris gasipaes* locally known as chonta (n=4) or cassava (n=4) were collected. Additionally, we collected samples from other traditional products such as vinegar (n=3), eggnog (n=1) cheeses (n=69), and sausages (n=7). All the samples were transported and preserved to 4°C.

Cultivation and isolation of LAB species

Twenty grams of each sample were homogenized with 180 ml sterile 2% trisodium citrate solution ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) and each homogenate was diluted (10^{-2} to 10^{-7}) using sterile 0.85% NaCl and 1ml of each dilution was plated on 1 MRS agar plates pH 5.7 (Merck, Germany) and M17 agar supplemented with 0.5% glucose pH 7.2 (Merck, Germany), cultures were carried out in duplicates. Dilutions 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , and 10^{-7} were incubated at 37°C, and dilutions 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , and 10^{-5} were incubated at 45°C for 3-5 days under aerobic and anaerobic conditions. One millilitre of 10^{-1} dilution was inoculated in 9 ml of three different culture media: MRS, M17 supplemented with 0.5% glucose (GM17) and sterile skimmed milk. All tubes were incubated anaerobically at 30°C and 45°C for 24 h, plated on MRS and GM17 agar and incubated anaerobically at 30°C and 45°C for 3 to 5 days. Twenty to 100 colonies were randomly selected from each plate and further characterized. A total of 119 gram positive and catalase negative isolates were transferred to MRS or GM17 broth containing 15% of sterile glycerol and stored at -80°C.

Biochemical activities

To test for acidification activity, one millilitre of overnight culture was transferred to 9 ml of sterile milk and incubated at 37°C and 45°C for 18 hours and pH of sterile milk was assessed using pH strips (Macherey-Nagel-Düren) before and after incubation.

To characterize bacterial growth curves at 25°C, 37°C and 45°C, 3 tubes containing 5ml of either MRS or GM17 were inoculated with 1ml of overnight culture

and optical densities were monitored every hour for 10 hours using a spectrophotometer ($\lambda=600$ nm).

Caseinolytic activity was performed using a modified version of the procedure describe by [10]. Bacteria were collected from the Milk Citrate Agar (MCA) plates and resuspended in ammonium acetate buffer (100 mM, pH 6.8) to obtain a density of 3×10^8 cells per ml. Cell suspensions were mixed with the same volume of β -casein solution (5 mg/ml) in ammonium acetate buffer (100 mM, pH 6.8) (Sigma Chemie GmbH, Deisenhofen, Germany). The suspensions of cells and β -casein were incubated for 3 hrs. at 37°C or 45°C and then centrifuged to remove the cells.

Degradation of β -casein was analysed by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) [11]. The supernatants were taken and mixed with the sample loading buffer (125 mM TrisHCl, pH 6.8, 10 mM EDTA, 4% SDS, 25% glycerol, 5% 2-mercaptoethanol and 0.07% bromophenol blue) in a 1:1 volume ratio. Prior to loading, samples were heated at 100°C for 2 min and analyzed on 15% acrylamide gels. Gels were stained with Coomassie brilliant blue R250 (Serva, Heidelberg, Germany) and destained in a mix of methanol (20%) and acetic acid (7%).

Exopolysaccharide production (EPS) was performed as [12], bacterial strains were cultivated in MSE (Mayeux Sandino Ellik) agar with 2% w/v glucose at 37°C for 18h and EPS was detected as an elastic and slim y texture of the colonies.

Detection of bacteriocin activity was carried out using agar-well diffusion assay [13]. Semisolid GM17 or MRS (0.7% agar w/v), containing lactococci or lactobacilli indicator strains (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGMN1-596 and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGBUK2-16/K4), was overlaid on solid GM17 and MRS (1.5% agar w/v) plates, respectively. Wells were made in the lawn of hardened semisolid agar. Aliquots (50 μ l) of supernatant from overnight cultures (16 h) were poured in the wells and plates were incubated overnight at 30°C. A clear zone of inhibition around the well was recorded as positive signal for antimicrobial activity.

Genotypic characterization

Genomic DNA was released from cells using the heat shock/boiled-cell method [14], 5 isolated colonies from an axenic culture were resuspended in 300 μ l of sterile water and heated at 100°C for 10 min. Suspension was centrifuged at 13,000 rpm for 3 min and stored immediately at -20°C overnight. Amplification of 16S rRNA gene was performed using universal primers 27F (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') and 1492R (5'-G GTTACCTTGTACGACTT-3') [15]. PCR mixture consisted of 1X PCR Buffer (Promega), 0.25 mM of each dNTP, 0.2 μ M of each primer, 0.6 U GoTaq DNA polymerase (Promega, Madison USA), 5 μ l of DNA extracts, and Milli-Q water to a total volume of 25 μ l. PCR conditions were as follows: denaturation step at 94°C for

1 min followed by 30 amplification cycles (94°C for 30 s, 50°C for 30 s, 72°C for 30 s) and a final extension at 72°C for 10 min.

Amplicons were analyzed by electrophoresis in 1% agarose gel. PCR products were directly sequenced in both directions by Functional Biosciences USA. The sequences were treated using Pregap and Gap softwares included in the Staden Package [16] and were compared to entries of homologous sequences in the GenBank and Ribosomal Database Project. Sequence alignments were done utilizing ClustalW software [17]. Neighbour-Joining analysis was performed using MEGA version 4.0 software [18] with the Kimura-2 parameter model and using uniform rates among sites.

Results and Discussion

A total of 114 isolates were obtained from Ecuadorian traditional fermented products (Table 1). Majority of the isolates belonged to genus *Lactobacillus* (n=68) followed by *Enterococcus* (n=15), *Pediococcus* (n=13), *Lactococcus* (n=10), *Leuconostoc* (n=7) and *Weissella* (n=6) accession numbers: JQ446453-JQ446571 (Figure 1-6). These results are in agreement with previous reports indicating that *L. plantarum* is the dominant species in vegetal and milk fermented foods [19–22]. *L. plantarum* strains occur in late phases of fermentation [20] these bacteria are found at the end of many spontaneous lactic fermentations such as silage and vegetable fermentations [23]. *L. plantarum* has been associated to desirable biochemical properties [24] and it is the most frequent species found in different foods and silages [25–27]. In our study *Pediococcus* was mainly isolated from sausages; this bacterium has been used starter culture for the production of sausages thanks to its ability to grow under reduced water activity [28, 29]. *Pediococcus* was also isolated from cheese (Table 1) however this bacterium is not common in dairy products [30].

On the other hand, *Leuconostoc* was isolated mainly from traditional beers prepared with corn, cassava, and chonta. This bacterium has been found in kimchi and sauerkraut [30]. Members of the genus *Weissella* were isolated from cheese (Table 1), however these bacteria have been reported in fresh vegetables, sugar cane, meat samples, and also from clinical samples from animals and humans [31]. *Lactococcus* was isolated from cheese and sausage and it has been reported in plants, vegetables, and cereals products [32, 33]. *Enterococcus* species were isolated from six products suggesting fecal contamination. However, enterococci largely occur in many cheeses, and are considered to be part of their typical microbiome [34].

Three *Lactobacillus* strains *L. curvatus* (n=1), *L. rhamnosus* (n=2), and two *Lc. lactis* strains were identified as high acid producers (Δ pH>2), a *Lc. lactis* strain isolated from cheese had the highest acidifying activity (Δ pH>2.5 in 18 hrs of incubation). Acidification to

pH levels lower than 4.2 constitutes a major food safety factor [35].

All *Pediococcus* strains, 92% of *Lactobacillus* spp. strains, 50% of *Weissella* strains, and 80% of *Lactococcus* and *Enterococcus* sp. were found to produce proteinases. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria is essential for the bacterial growth in milk and it is also responsible for the development of organoleptic properties of different fermented milk products [36, 37]. In this study, 83% of strains were found to produce proteinases indicating that most of these isolates could be used in fermented dairy foods. Proteinase activity is a characteristic widely found between lactic acid bacteria, particular lythose isolated from milk products [38]. In contrast, none *Leuconostoc* isolates was proteinase positive.

Eight percent of isolates produced EPS in MSE agar: *Ln.mesenteroides* (4), *L. fermentum* (2), *L. plantarum* (2), and *Enterococcus lactis*. (1) *Leuconostoc mesenteroides* has been previously reported to increase viscosity in Mexican alcoholic beverage called pulque [39, 40] another fermented products [41].

Two bacterial species isolated from cheese *Lactobacillus* (QX2) and *Leuconostoc* (QX5an) isolate produced bacteriocins. Bacterial growth inhibition due to low pH was rule out by neutralizing the media to pH 6.5 before testing against the organisms. Various bacteriocins produced by *L. plantarum* have been described, i.e. plantaricin A [42] and plantaricin B [43]. Several plantaricins have been reported to inhibit *Listeria* spp. and other gram positive bacteria [44, 45].

On average, isolates incubated at 37°C and 45°C reached the stationary phase within 10 and 8 h respectively (\approx 0.7 OD at 600 nm). While isolates incubated at room temperature were still in exponential after 10 h incubation.

Conclusions

This study showed that culturable microbiota associated to some Ecuadorian traditional acidic fermented foods encompassed *Lactobacillus* 57%, *Enterococcus* 13%, *Pediococcus* 11%, *Lactococcus* 8%, *Leuconostoc* 6%, and *Weissella* 5%. Most LAB strains were facultative heterofermentative *Lactobacillus* showing 99% nucleotide identity to either *L. plantarum* or *L. fermentum*. Other dominant bacteria were *Pediococcus*, *Lactococcus* and *Weissella* which belonged to homofermentative cocci group.

Nucleotide sequences from Ecuadorian isolates did not show any tendency to group with Andean or Latin - American isolates. This suggests that the origin of these bacteria may be broad, however this may not rule out local metabolic diversity due to acquisition of laterally transferred genes.

There is limited information about Ecuadorian traditional fermented foods except for two studies carried out in

| Product | Identified Species | Number of Isolates |
|---------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Vinegar | <i>Lb. fermentum</i> | 1 |
| | <i>Lb. plantarum</i> | 2 |
| Traditional beer (Chicha) | <i>Lb. plantarum</i> | 10 |
| | <i>Lb. fermentum</i> | 5 |
| | <i>Lb. paracasei</i> | 1 |
| | <i>E. lactis</i> | 1 |
| Sausage | <i>Lb. sakei</i> | 1 |
| | <i>Lc. garviae</i> | 2 |
| | <i>P. pentosaceus</i> | 4 |
| | <i>Lc. lactis</i> | 2 |
| Traditional Cheeses | <i>Lb. plantarum</i> | 21 |
| | <i>Lb. rhamnosus</i> | 7 |
| | <i>Lb. fermentum</i> | 7 |
| | <i>Ln. mesenteroides</i> | 6 |
| | <i>Lc. lactis</i> | 6 |
| | <i>W. paramesenteroides</i> | 6 |
| | <i>E. faecalis</i> | 5 |
| | <i>P. pentosaceus</i> | 5 |
| | <i>Lb. casei</i> | 4 |
| | <i>E. italicus</i> | 3 |
| | <i>P. acidilactici</i> | 3 |
| | <i>E. durans</i> | 3 |
| | <i>E. faecium</i> | 2 |
| | <i>Lb. Paraplantarum</i> | 2 |
| | <i>P. stilesii</i> | 1 |
| <i>Lb. zeae</i> | 1 | |
| <i>E. casseliflavus</i> | 1 | |
| <i>Lb. pentosaceus</i> | 1 | |
| <i>Lb. curvatus</i> | 1 | |

Table 1: Ecuadorian fermented products and bacterial species cultured from them.

yellow rice [46, 47] and a recent one on cocoa beans [48]. This report provides important information about fermenting microorganisms in some of the most popular fermented products elaborated according to Ecuadorian folk traditions.

Acknowledgments

We thank Rosita Bayas for her support in sample collection and Elizabeth Bolaños for their technical assistance. This work was supported by CSK Food Netherlands.

References

- [1] Carr, F.; Chill, D.; Maida, N. 2002. "The lactic acid bacteria: A literature survey". *Cr. Rev. Microbiol*, 28: 281–370.
- [2] Jin, Y.; Ai, H.; Cheng, J.; Wu, M. 2009. "First description of a novel *Weissella* species as an opportunistic pathogen for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in China". *Vet. Microbiol*, 136:314–320.
- [3] Jashbhai, B.; Prajapati, M.; Baboo, M. 2008. "The history of fermented foods". *CRC Press Taylor & Francis Group. New York*.
- [4] Simango, C. 1997. "Potential use of traditional fermented foods for weaning in Zimbabwe". *Soc. Sci. Med*, 44:1065–1068.
- [5] Gadaga, T.; Mutukumira, A.; Narvhus, J.; Feresu, S. 1999. "A review of traditional fermented foods and beverages of Zimbabwe". *Int. J. of Food Microbiol*, 53:1–11.
- [6] Liong, M. 2008. "Safety of probiotics: Translocation and infection". *Nutr. Rev*, 66:192–202.
- [7] Tamang, J. 2007. "Fermented foods for human life". *In Microbes for Human Life, International Publishing House Pvt. Limited.eds. New Delhi, India*.
- [8] Valyasevi, R.; Rolle, R. 2002. "An overview of small-scale food fermentation technologies in developing countries with special reference to Thailand: scope for their improvement". *Int. J. of Food Microbiol*, 25: 231–239.
- [9] Hassa¹ine, O.; Zadi-Karam, H.; Karam, N. 2008. "Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from three breeds dromedary raw milks in south Algeria". *EJFA*, 20:46–59.
- [10] Hill, S.; Gasson, M. 1986. "A qualitative screening procedure for the detection of casein hydrolysis by bacteria, using sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis". *J. Dairy Res*, 53:625–629.

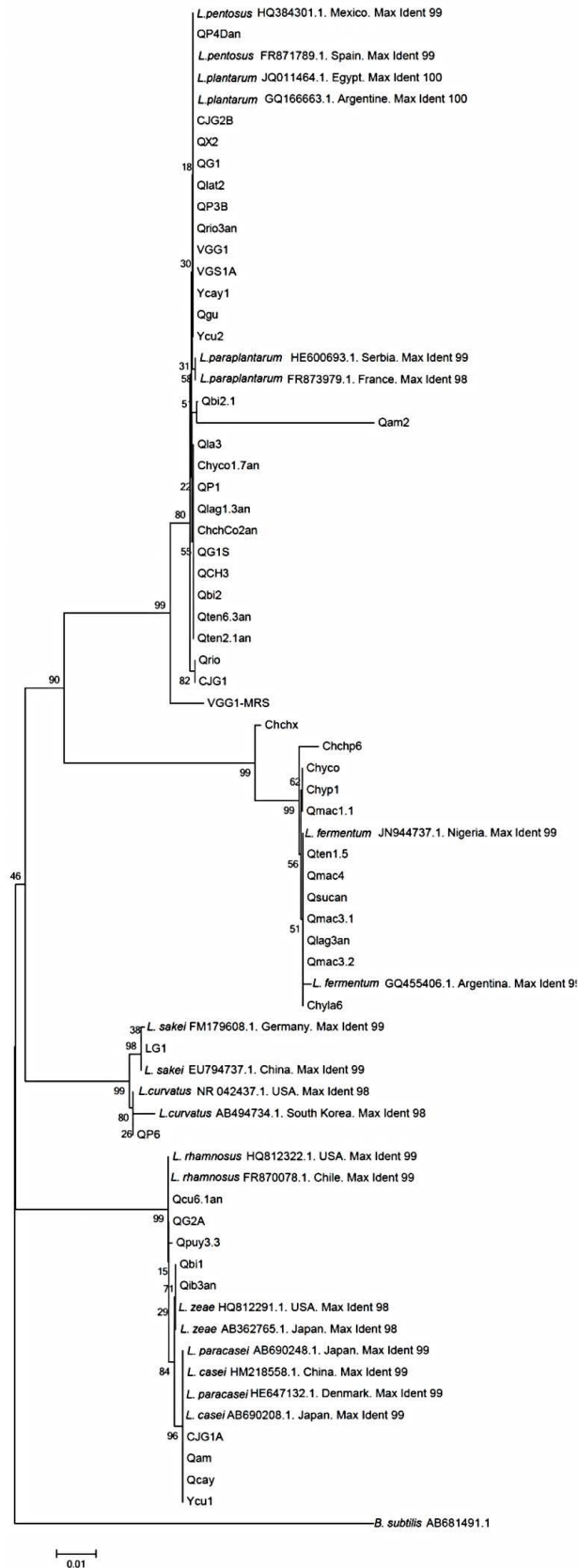


Figure 1: Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences *Lactobacillus* strains using Neighbor-joining method. QP4Dan, CJG2B, QG1, QX2, Qlat2, QP3B, VGG1, QRio3an, VGS1A, Ycay1, Qgu, Ycu2, Qbi2.1, Qla3, Chyco1.7an, QP1, Qlag1.3an, ChchCo2an, QG1S, QCh3, QBi2, Qten6.3an, QTen2.1an, QRio, CJG1, VGG1, Chchx, Chchp6, Chyco, Chyp1, Qmac1.1, Qten1.5, Qmac4, QSuc an, Qmac3.1, Qlag3an, Qmac3.2, Chyla6, LG1, QP6, Qcu6.1an, QG2A, Qpuy3.3, Qbi1, Qib3an, CJG1A, QAm, Qcay, YCu1, are isolates described in this paper, other sequences were obtained from GenBank. The corresponding bootstrap values (100 replications) are shown on each branch.

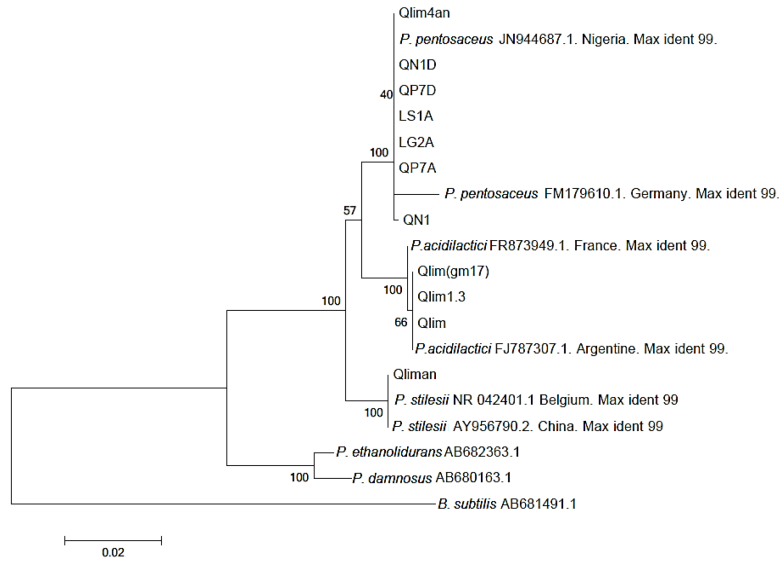


Figure 2: Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences *Pediococcus* strains using Neighbor-joining method. QN1D, Qlim4an, QP7D, LS1A, LG2A, QP7A, Qlim (gm17), Qlim 1.3, Qlim, Qliman are isolates described in this paper, other sequences were obtained from GenBank. The corresponding bootstrap values (100 replications) are shown on each branch.

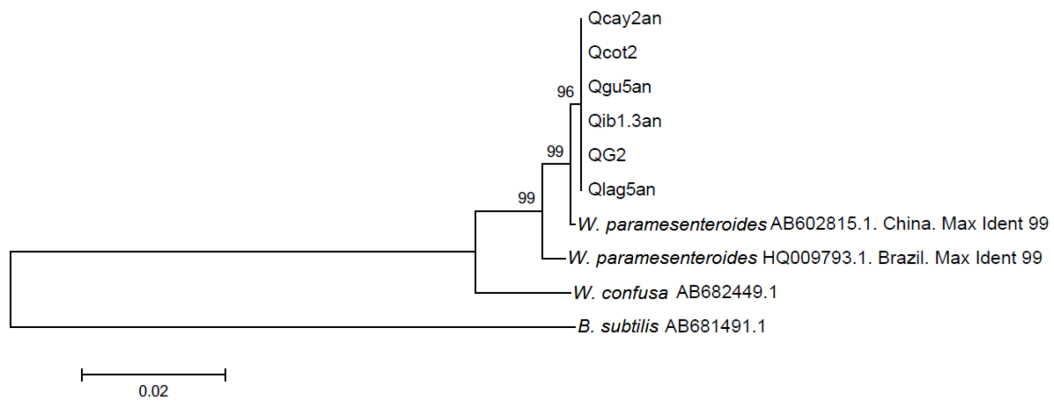


Figure 3: Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences *Weissella* strains using Neighbor-joining method. Qcay2an, Qcot2, Qgu5an, Qib1.3an, QG2, Qlag5an are isolates described in this paper, other sequences were obtained from GenBank. The corresponding bootstrap values (100 replications) are shown on each branch.

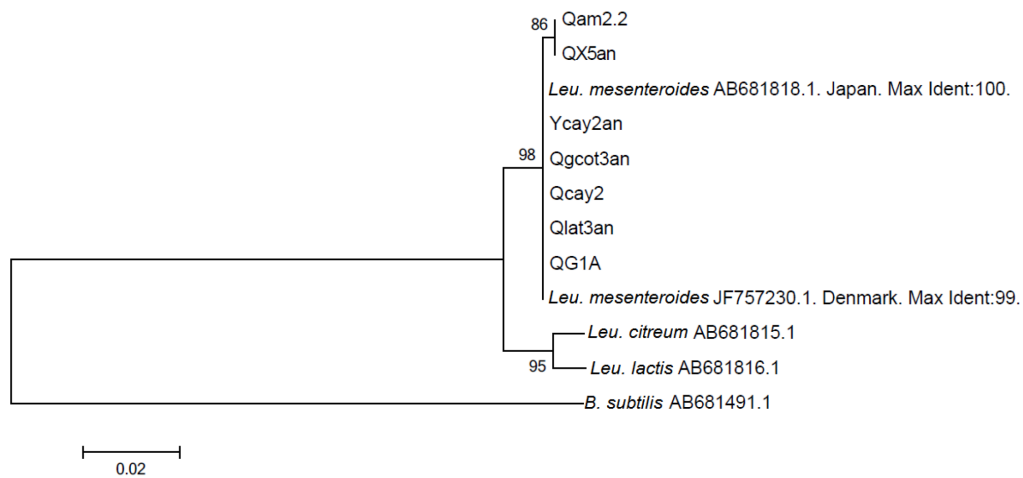


Figure 4: Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences *Leuconostoc* strains using Neighbor-joining method. Qam2,2, QX5an, Ycay2an, Qgcot3an, Qcay2, Qlat3an, QG1A, are isolates described in this paper, other sequences were obtained from GenBank. The corresponding bootstrap values (100 replications) are shown on each branch.

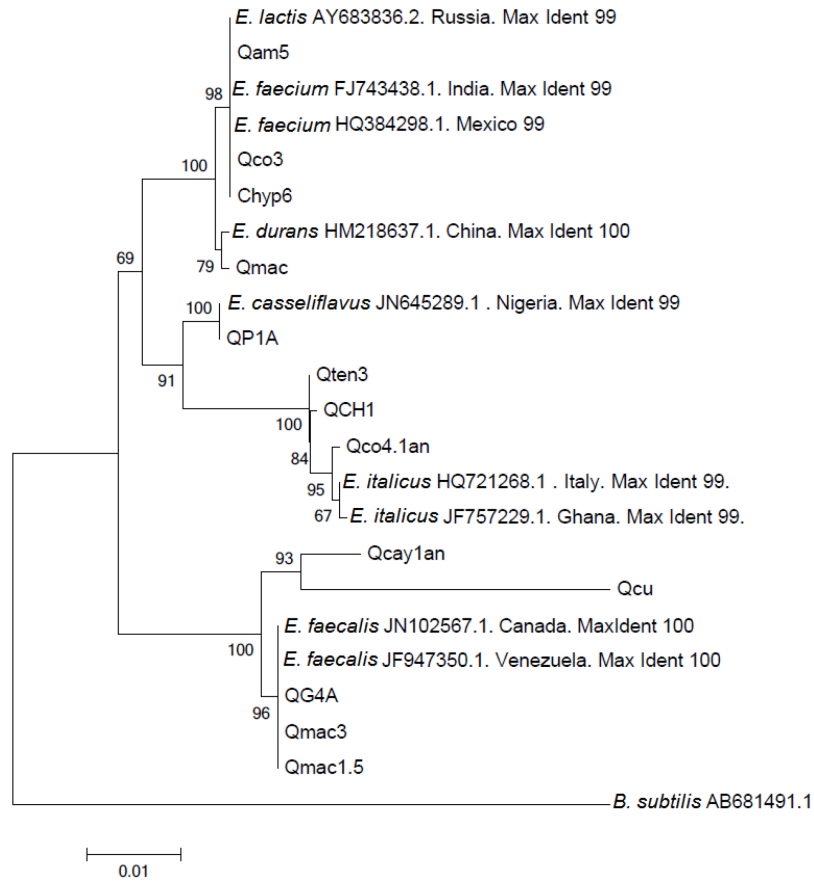


Figure 5: Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences *Enterococcus* strains using Neighbor-joining method. Qam5, Qco3, Chyp6, Qmac, QP1A, Qten3, QCh1, QCo4.1an, QG4A, Qmac3, Qmac1.5 are isolates described in this paper, other sequences were obtained from GenBank. The corresponding bootstrap values (100 replications) are shown on each branch.

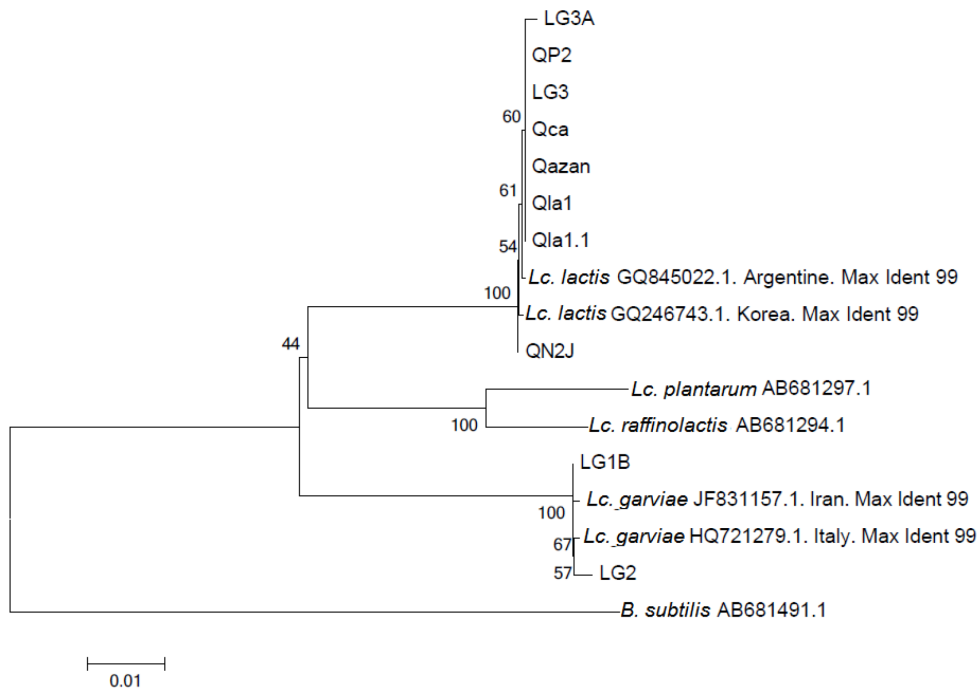


Figure 6: Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences *Lactococcus*, strains using Neighbor-joining method. LG3A, QP2, LG3, QCa, Qazan, Qla1, Qla1.1, QN2J, LG1B, LG1, are isolates described in this paper, other sequences were obtained from GenBank. The corresponding bootstrap values (100 replications) are shown on each branch.

- [11] Laemmli, U.; Molbert, E.; Showe, M.; Kelenberger, E. 1970. "Form-determining function of genes required for the assembly of the head of bacteriophage T4". *J. Mol. Biol.*, 49:99–113.
- [12] Mayeux, J.; Sandine, W.; Elliker, P. 1962. "A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed isolate starter cultures". *J. Dairy Sci.*, 45:655–656.
- [13] Tagg, J.; McGiven, A. 1971. "Assay system for bacteriocins". *Appl. Microbiol.*, 21:943.
- [14] Pandey, G.; Yoshikawa, K.; Hirasawa, T.; Nagahisa, K.; Katakura, Y. 2007. "Extracting the hidden features in saline osmotic tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* from DNA microarray data using the self-organizing map: Biosynthesis of amino acids". *Applied Microbiol. Biotechnol.*, 75:415–426.
- [15] Martin, F.; Philippot, L.; Hallet, S.; Chaussod, R.; Germon, J.; Soulas, G.; Catroux, G. 2001. "DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods". *Appl. Environ. Microbiol.*, 67:2354–2359.
- [16] Bonfield, J.; Staden, R. 1996. "Experiment files and their application during large scale sequencing projects". *DNA Sequence*, 6:109–117.
- [17] Thompson, J.; Higgins, D.; Gibson, T. 1994. "CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice". *Nucleic Acids Res.*, 22:4673–4680.
- [18] Kumar, S.; Tamura, K.; Nei, M. 2004. "MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment". *Brief Bioinform.*, 5: 150–163.
- [19] Amoa-Awua, W.; Appoh, F.; Jakobsen, M. 1996. "Lactic acid fermentation of cassava dough into agbelima". *Int. J. of Food Microbiol.*, 31:87–98.
- [20] Ben Omar, N.; Ampe, F.; Raimbault, M.; Guyot, J.; Taillez, P. 2000. "Molecular diversity of lactic acid bacteria from cassava sour starch (Colombia)". *Syst. Appl. Microbiol.*, 23:285–291.
- [21] Ngaba, P.; Lee, J. 1979. "A research note: fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz)". *J. Food. Sci.*, 44: 1570–1571.
- [22] Watabe, J.; Ikeda, N.; Mizutani, J.; Sato, N.; Jin, S.; Hirai, T.; Ariga, H. 1998. "Comparison of microbiological and chemical characteristics among types of traditionally fermented milk in Inner Mongolia in China and Calpis sour milk (Sannyuu)". *Milk Sci.*, 47:1–7.
- [23] Daeschel, M.; Andersson, R.; Fleming, H. 1987. "Microbial ecology of fermenting plant materials". *FEMS Microbiol. Rev.*, 46:91–98.
- [24] Kostinek, M.; Specht, I.; Edward, V.; Pinto, C.; Egounlety, M.; Sossa, C.; Mbugua, S.; Dortu, C.; Thonart, P.; Taljaard, L.; Mengu, M.; Franz, M.; Holzapfel, W. 2007. "Characterization and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures". *Int. J. Food Microbiol.*, 114:342–351.
- [25] Cai, Y.; Ohmomo, S.; Ogawa, M.; Kumai, S. 1999. "Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage". *J. Dairy Sci.*, 82:520–526.
- [26] Rantsiou, K.; Urso, R.; Dolci, P.; Comi, G.; Coccolin, L. 2008. "Microflora of Feta cheese from four Greek manufacturers". *Int. J. of Food Microbiol.*, 126:36–42.
- [27] Tzanetakis, N.; Litopoulou-Tzanetaki, E. 1992. "Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria in Feta and Teleme, two Greek cheeses from Ewes' milk". *J. of Dairy Sci.*, 75:1389–1393.
- [28] Everson, C.; Danner, W.; Hammes, P. 1970. "Bacterial starters in sausage products". *J. Agr. Food Chem.*, 18: 570–571.
- [29] Everson, C.; Danner, W.; Hammes, P. 1970. "Improved starter culture for semidry sausage". *Food Tech.*, 24:42–44.
- [30] Beukes, E.; Bester, B.; Mostert, J. 2001. "The microbiology of South African traditional fermented milks". *Int. J. of Food Microbiol.*, 63:189–197.
- [31] Björkroth, K.; Schillinger, U.; Geisen, R.; Weiss, N.; Hoste, B.; Holzapfel, W.; Korkeala, H.; Vandamme, P. 2002. "Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples". *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 52:141–148.
- [32] De Vuyst, L.; Vandamme, E. 1994. "Antimicrobial potential of lactic acid bacteria". In *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic and Professional. UK.
- [33] Salama, M.; Musafija-Jeknic, T.; Sandine, W.; Giovannoni, S. 1995. "An ecological study of lactic acid bacteria: isolation of new strains of *Lactococcus* including *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris*". *J. of Dairy Sci.*, 78:1004–1017.
- [34] Franz, C.; Holzapfel, W.; Stiles, M. 1999. "Enterococci at the crossroads of food safety". *Int. J. of Food Microbiol.*, 47:1–24.
- [35] Holzapfel, W. 1997. "Use of starter cultures in fermentation on a household scale". *Food Control*, 8:241–258.
- [36] Axelsson, L. 1998. "Lactic acid bacteria: classification and physiology". In *Salminen, S. Von Wright, A. (Eds.). Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker. New York, : 19–54.
- [37] Christensen, J.; Dudley, E.; Pederson, J.; Steelz, L. 1999. "Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria". *Antonie van Leeuwenhoek*, 76:217–246.
- [38] Bockelmann, W. 1995. "The proteolytic system of starter and non-starter bacteria: Components and their importance for cheese ripening". *Int. Dairy J.*, 5:977–994.
- [39] Sánchez-Marroquín, A.; Larios, C.; Vierna, L. 1967. "Estudios sobre la microbiología del pulque XIX. Elaboración de la bebida mediante cultivos puros". *Rev. Latinoam. Microbiol.*, 9:83–85.

- [40] Ulloa, M.; Herrera, T. 1976. "Estado actual del conocimiento sobre la microbiología de bebidas fermentadas indígenas de México: pozol, tesgüino, pulque, colonche y tepache". *A. Inst. Biol. Mex*, 47:145–163.
- [41] Kim, D.; Robyt, J. 2014. "Production, Selection and Characteristic of mutants of *Leuconostoc mesenteroides* B-742 constitutive for dextran". *Enzyme Microb. Tech*, 17:689–695.
- [42] Daeschel, M.; McKenney, M.; McDonald, L. 1990. "Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C11". *Food Microbiol*, 7:91–98.
- [43] West, C.; Warner, P. 1988. "Plantacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193". *FEMS Microbiol. Lett*, 49:163–165.
- [44] Atrih, A.; Rekhif, N.; Milliere, J.; Levebvre, G. 1993. "Detection and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19". *Can. J. of Microbiol*, 39:1173–1179.
- [45] Garriga, M.; Hugas, M.; Aymerich, T.; Monfort, J. 1993. "Bacteriocinogenic activity of lactobacilli from fermented sausages". *J. Appl. Bacteriol*, 75:142–148.
- [46] Herbert, C. 1957. "Rice Fermentation in Ecuador". *Economic Botany*, 11:267–270.
- [47] Van Veen, A.; Graham, D.; Steinkraus, K. 1968. "Fermented rice, a food from Ecuador". *Arch. Latinoam. Nutr*, 18:363.
- [48] Papalexandratou, Z.; Falony, G.; Romanens, E.; Jimenez, J.; Amores, F.; Daniel, H.; De Vuyst, L. 2011. "Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of the microbiota associated with traditional Ecuadorian spontaneous cocoa bean fermentations". *Appl. Environ. Microbiol*, 77:7698–7714.

Analysis of the site fidelity between male and female humpback whales, visiting the Esmeraldas coasts (Ecuador)

Análisis de la fidelidad de sitio entre machos y hembras de ballenas jorobadas que visitan las costas de Esmeraldas (Ecuador)

Karla Rojas¹, Judith Denkinger², Venancio Arahana¹, Denisse Dalgo¹ y María de Lourdes Torres^{1,2*}

¹Universidad San Francisco de Quito USFQ, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Campus Cumbayá, Casilla Postal 17-1200-841, Quito, Ecuador.

²Universidad San Francisco de Quito USFQ, extensión USFQ Galápagos, Galápagos Science Center, Isla San Cristóbal, Galápagos, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: ltorres@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 05/03/2014. Aceptado/Accepted: 09/04/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

Humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) migrate across the world's oceans from feeding grounds in polar waters in high latitudes to breeding grounds in tropical waters. Although this species is predictable in its areas of occurrence, there are several poorly understood aspects of its migration patterns. This study aims to evaluate the differences between site fidelity of male and female humpback whales off the coast of Esmeraldas (Ecuador) for the years 2010, 2011 and 2012. A total of 57 whale skin samples were obtained using a biopsy system. For sex determination, primers SFY1204 and SFY0097 were used. A variable section of the mitochondrial DNA control region (D-loop) was amplified by PCR and sequenced to identify haplotypes. Of the humpback whale samples analyzed, it was found that 12 corresponded to females and 44 to males, and a total of 23 different haplotypes were identified. Molecular variance analysis (AMOVA) showed that males had higher site fidelity, although a significant difference was found in the haplotype frequency and nucleotide composition between males within the 2010 and 2011 seasons. These differences were not found within the seasons of 2010-2012 and 2011-2012, which can be attributed to the fact that samples of 2010 were collected in August, when males are in resident groups, while samples of 2011 were collected in July when most males can be in transit to breeding areas further north in Costa Rica and Panama. In addition, females showed no significant differences in haplotype frequency and nucleotide composition, although between female humpback whales of the 2010 and 2012 seasons, only one haplotype was shared. These results may be due to the relatively small number of female samples. These findings may suggest that although male humpback whales disperse in the tropical breeding ground from Southern Ecuador to Northern Costa Rica, they return each year to their native breeding ground. On the other hand, females probably remain in feeding sites during alternate years, to recover from the energy expenditure of gestation and lactation.

Keywords. Humpback whale, mitochondrial DNA (mtDNA), reproduction areas, site fidelity.

Resumen

La ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) migra en todos los océanos del mundo desde sus zonas de alimentación en aguas polares a zonas de reproducción en aguas tropicales. Aunque esta especie es predecible en sus áreas de ocurrencia, son aún poco conocidos varios aspectos de la migración de la ballena jorobada. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las diferencias de fidelidad de sitio entre machos y hembras de ballenas jorobadas que visitaron las costas de Esmeraldas (Ecuador) durante las temporadas 2010, 2011 y 2012. Un total de 57 muestras de piel de ballena se obtuvieron mediante un sistema de toma de biopsias. Para la determinación del sexo se utilizó los primers SFY1204 y SFY0097. Una sección variable de la región control del ADN mitocondrial (D-loop) se amplificó mediante PCR y secuenció para analizar los haplotipos presentes. De las muestras de ballenas jorobadas analizadas se determinó que 12 correspondieron a hembras y 44 a machos, y se identificó un total de 23 haplotipos diferentes. Al realizar un análisis de varianza molecular (AMOVA), se encontró que los machos presentaban una mayor fidelidad de sitio, a pesar de una diferencia notable en la frecuencia de haplotipos y composición de nucleótidos entre machos de las temporadas 2010 y 2011. Esta diferencia no se encontró entre las temporadas 2010 - 2012 ni 2011 - 2012, posiblemente porque las muestras del 2010 fueron recolectadas en Agosto, cuando los machos se quedan en grupos residentes, mientras que las muestras del 2011 fueron recolectados en Julio cuando la mayoría de machos están en tránsito hacia áreas de reproducción en el norte como Panamá y Costa Rica. Las hembras no mostraron diferencias significativas en la frecuencia de haplotipos y composición de nucleótidos, a pesar de que en las hembras de las temporadas 2010 y 2012 se compartió un solo haplotipo. Estos resultados, pueden deberse al limitado número de muestras de ballenas jorobadas hembras. Estos hallazgos pueden sugerir que a pesar de que las ballenas jorobadas machos se dispersan desde las zonas de reproducción al sur del Ecuador hasta el norte de Costa Rica, regresan cada año a su zona de reproducción originaria. Por otro lado, las hembras posiblemente permanecen en años alternos en los sitios de alimentación para recuperarse de los gastos energéticos de la gestación y lactancia.

Palabras Clave. Ballena jorobada, ADN mitocondrial (DNAm), zonas de reproducción, fidelidad de sitio.

Introducción

La ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) vive en las tres principales cuencas oceánicas: Océano Austral, Atlántico Norte y Pacífico Norte [1–3]. Según las conexiones migratorias entre las zonas de distribución invernal y de verano, cada población se divide en subpoblaciones [4]. Durante la época de reproducción, en invierno, las ballenas jorobadas permanecen en regiones tropicales y subtropicales, mientras que en la época de alimentación, durante el verano, permanecen en zonas de latitudes altas [5].

La fidelidad hacia las áreas de alimentación es dirigida maternalmente, ya que las madres les enseñan las rutas migratorias a sus crías durante el primer año de vida, luego de lo cual, los ballenatos regresan por sí mismos a las áreas de alimentación maternas [5, 6]. Por otro lado, en estudios realizados con ADN mitocondrial, se encontró que la fidelidad dirigida maternalmente a las zonas de alimentación y rutas migratorias es una de las posibles razones por las cuales se han mantenido hasta la actualidad las estructuras poblacionales de las ballenas jorobadas [7–9].

El flujo migratorio de las ballenas jorobadas se da por la sincronización de movimiento de hembras adultas según su estado reproductivo [10]. Este patrón migratorio parece influir en el éxito reproductivo de la especie. Las hembras pueden aumentar su éxito reproductivo, maximizando el tiempo empleado en la alimentación en latitudes altas, de tal manera que se puedan cubrir los costos energéticos de la gestación y lactancia [11]. En algunas poblaciones, los machos constituyen la mayoría de los animales migratorios, lo que indica que las hembras no migran cada año [10, 11]. Según Opzeeland *et al.* (2013) [12], ballenas jorobadas en la Península Antártica, específicamente al sur del Mar de Weddell, se quedan invernando en esta zona, en vez de completar su ciclo migratorio anual hacia el área de reproducción en la costa de África Occidental.

Las ballenas jorobadas visitan las costas ecuatorianas entre finales de Mayo y Octubre con picos de abundancia en los meses de Julio y Agosto [13–15]. La mayoría de los ballenatos nace a mediados de Agosto, y a partir de entonces las madres comienzan a buscar zonas de poca profundidad [15]. Por esta razón cuando las madres con crías comienzan su viaje a la Antártida al final de la temporada de reproducción (fines de septiembre y octubre), lo hacen bordeando la costa y es posible observarlas en muchos sitios desde la orilla [16].

En el sur y centro de Ecuador, las ballenas jorobadas muestran una fidelidad de sitio muy baja [13, 16–18]. Sin embargo en el área de reproducción de Esmeraldas y el Parque Nacional Machalilla, existe una tasa anual de retorno promedio de 49 %, lo cual demuestra una alta fidelidad de sitio [19].

El presente estudio tuvo como objetivo determinar las diferencias de fidelidad de sitio entre machos y hembras de ballenas jorobadas en las costas de Esmeraldas

(Ecuador), durante las temporadas 2010, 2011 y 2012, mediante el análisis de la región control del ADN mitocondrial (D-loop).

Materiales y Métodos

Área de estudio y recolección de muestras

La recolección de muestras se realizó en Agosto del 2010, Julio del 2011, y entre Julio y Agosto del 2012, en los Bajos de Atacames en la provincia de Esmeraldas (Figura 1). Esta área de reproducción se extiende desde la desembocadura del río Esmeraldas (N 0°59'54,1"–W 79°38'37,7"), hasta la desembocadura del río Muisne (N 0°37'3,9"- W 80°02'01,9"), donde la temperatura promedio del agua de mar es de 26°C [20]. Los análisis moleculares fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad San Francisco de Quito.

Se recolectaron muestras de piel de 20 individuos en Agosto del 2010, 15 individuos en Julio del 2011 y 22 individuos entre Julio y Agosto del 2012, utilizando el sistema de biopsias Paxarm [21]. A fin de incrementar la representación de las hembras para la temporada 2012, el muestreo se centró al animal nuclear (hembra) en grupos competitivos. Para evitar duplicados, los individuos fueron foto- identificados. Las muestras fueron almacenadas en tubos eppendorf con etanol al 70 % a -20°C para su preservación a largo plazo.

Determinación del sexo de las ballenas jorobadas por métodos moleculares

Se extrajo ADN genómico siguiendo el protocolo de Kieleczawa (2006) [22]. La amplificación de las regiones ZFY/ZFX del genoma de ballenas jorobadas se la hizo por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) [23], usando los primers: SFY1204 (5' CATTATGTGCTGGTTCTTTCTG-3') y SFY0097 (5' CATCCTTTGACTGTCTATCCTTG-3') [24]. El producto amplificado fue digerido con la enzima Taq I, que generó fragmentos de 439 pares de bases (pb) para las hembras y de 439 pb y 621 pb para los machos [24].

Análisis de la región control de ADN mitocondrial de ballenas jorobadas

A partir del ADN extraído, se amplificó un fragmento de aproximadamente 500 pb de longitud de la región control del ADN mitocondrial mediante PCR, utilizando los primers: t-Pro-whale Dlp1.5 (5' TCACCCAAAGCTGRARTTCTA-3') y Dlp8 (5' CCATCGWGATGTCTTATTAAAGRGGAA-3') [25–27]. Los productos de PCR fueron enviados a Functional Biosciences, Inc. (Madison EE.UU.), donde fueron limpiados utilizando el protocolo de Exo/Sap (Affymetrix, Inc.) y secuenciados en ambas direcciones con un secuenciador de ADN ABI 3730xl.

Las secuencias amplificadas por el primer DIP 1.5 (light strand) fueron editadas y alineadas manualmente con el

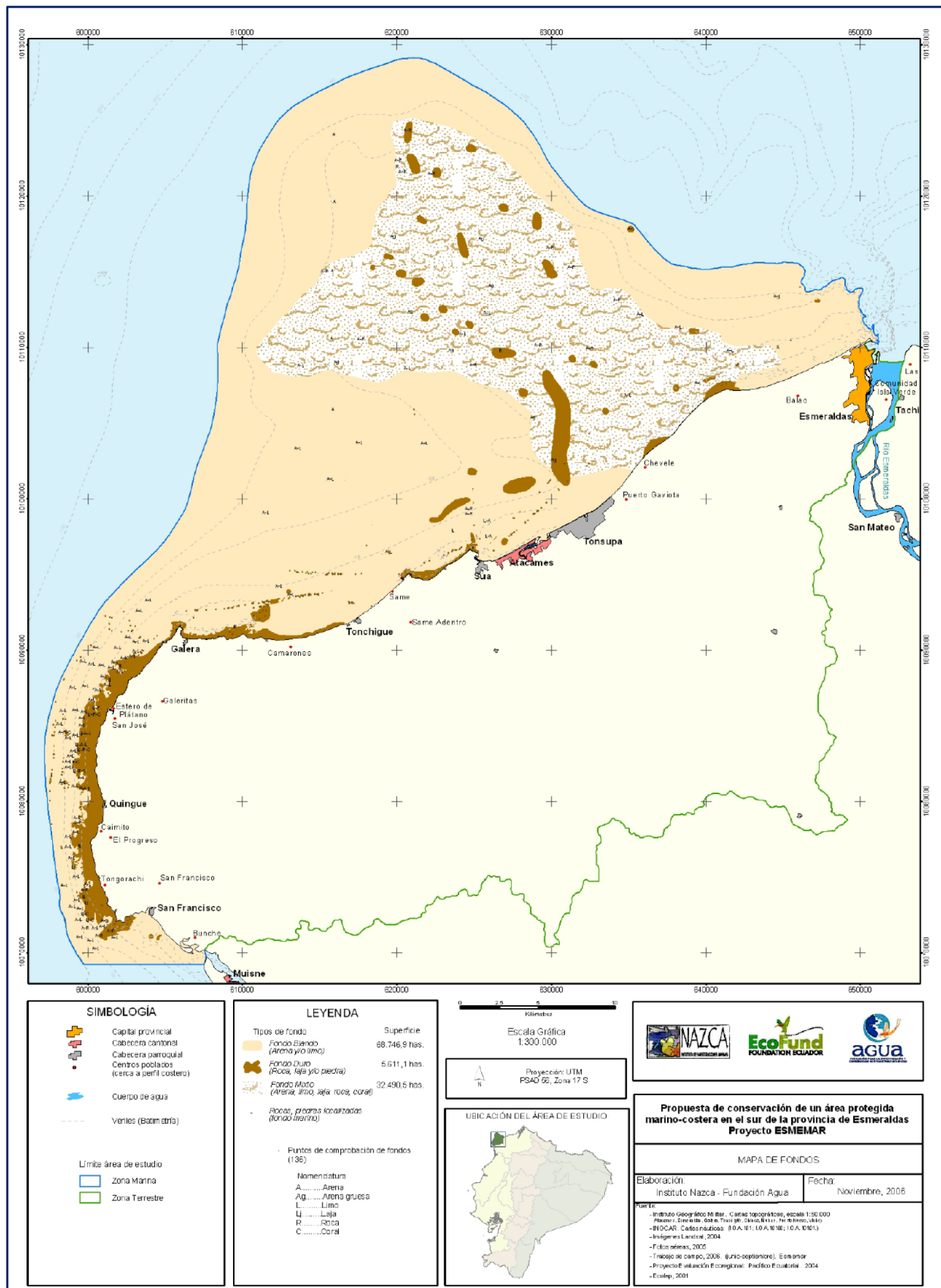


Figura 1: Mapa del área de estudio en “Bajos de Atacame” ubicado en la provincia de Esmeraldas, Ecuador. La línea azul representa los límites del área de estudio [47].

programa Mega 5 [28]. Luego fueron recortadas a 469 pb, comenzando desde la posición 6 de la secuencia referencial de la región control de la ballena jorobada (número de accesoión X72202), con el fin de coincidir con una región consenso analizada en estudios previos como el de Olavarría *et al.* (2006, 2007), Félix *et al.* (2012) y Dalgo (2013) [25, 26, 29, 30]. Con las secuencias recortadas se realizó una búsqueda en el GenBank con la opción Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) proporcionada por la página web del Centro Nacional de Información sobre Biotecnología (NCBI). Se seleccionó el algoritmo megablast para secuencias muy similares, con el fin de identificar los haplotipos presentes en las secuencias de las ballenas jorobadas de este estudio.

Análisis estadísticos

La estratificación por sexo y años se realizó usando un análisis de varianza molecular implementado en el programa Arlequin 3.5 [31]. Con esta opción se calcularon las diferencias en las frecuencias de haplotipos (FST) y la diferenciación de nucleótidos (Φ ST). La significancia de los valores obtenidos se comprobó usando 5000 permutaciones aleatorias de la matriz de datos.

Resultados y Discusión

Relación machos/hembras

De las 57 muestras de piel de ballenas jorobadas que se analizaron, 12 fueron de hembras, 44 de machos y en 1 muestra no se pudo identificar el sexo, debido a la poca cantidad de ADN disponible. La proporción de sexos fue de 3,7:1 (machos: hembras) ($\chi^2 = 18,28$ $p < 0,001$).

Como se ha reportado anteriormente para otras áreas de reproducción de las ballenas jorobadas, la proporción de sexos en este estudio fue sesgada hacia los machos (Tabla 1) [25, 26, 32, 33]. Debido a que la conformación y estructura del sistema de apareamiento de las ballenas jorobadas se basa en que varios machos adultos compiten por el acceso sexual a una sola hembra madura, es más fácil obtener muestras de machos que de hembras [34].

Existen diferentes patrones temporales y espaciales de migración entre hembras y machos de ballenas jorobadas [33]. En un estudio realizado por Brown *et al.* (1995) [32], se encontró que alrededor de 50 % de las hembras de la Zona Antártica V no migraban a sus zonas de reproducción cada año. Por lo que se sugiere que ciertas hembras permanecen en las zonas de alimentación durante todo el invierno. Se han observado ballenas jorobadas en zonas de alimentación durante el invierno en el Golfo de Maine [35] y en el norte de la Patagonia [36]. Puede ser ventajoso para algunas hembras no realizar este largo viaje a las zonas de reproducción, debido a los costos energéticos de la gestación y la lactancia añadido a la migración. De esta manera, algunas hembras optan por realizar la migración en años alternos para recuperarse de los costos energéticos de la reproduc-

ción. Además, las hembras inmaduras pueden maximizar su crecimiento, permaneciendo en las áreas de alimentación de la Antártida durante todo el año [32]. Por el contrario, los machos exhiben una mayor dispersión en cuanto a sus áreas de reproducción, ya que tratan de maximizar sus oportunidades de apareamiento. Por esta razón, es más común encontrar a machos en diferentes zonas de reproducción lejanas a sus zonas originarias de apareamiento [7, 11, 32, 33, 37–40]. Por ejemplo, en un estudio por Craig & Herman (2000) [41], los machos tendían a moverse más entre las diferentes islas de Hawaii mientras que las hembras preferían quedarse en una misma isla durante todo el período de reproducción.

Se ha reportado la predominancia de los machos entre las ballenas que migran [32, 33]. Por ejemplo, Brown *et al.* (1995) [32] encontraron una proporción de sexos 2,6:1 (machos: hembras) en la migración hacia la zona de reproducción del este de Australia. De esta manera, si algunas hembras se quedan en las áreas de alimentación, esto puede explicar por qué más machos son muestreados en las zonas de reproducción en los primeros meses del período de reproducción [33].

Fidelidad de sitio por años y sexo

Se realizó una comparación de la composición de haplotipos por sexo y años para comprender si existe diferencia en los patrones migratorios entre machos y hembras de ballenas jorobadas que visitan las costas de Esmeraldas (Ecuador). Para las hembras se encontraron 2 haplotipos diferentes en 2010, 2 en el 2011 y 7 para el 2012, mientras que en los machos se encontraron 10 haplotipos diferentes para el 2010, 6 para el 2011 y 10 en el 2012 (Tabla 2).

La mayoría de los haplotipos encontrados en las hembras estaban también presentes entre los haplotipos de los machos (SP1, SP14, SP25, SP32, SP50, SP90 SP98). Sin embargo, algunos haplotipos estuvieron más representados en machos que en hembras. Por ejemplo, los haplotipos SP90 y SP32 fueron más comunes en machos que en hembras con 88,9 y 50 % respectivamente.

En diferentes estudios realizados en el Ecuador, se ha encontrado que algunas ballenas jorobadas no se quedan durante todo el período de reproducción en la misma área. Scheidat *et al.* (2000) [14] encontró, en el Parque Nacional Machalilla, que varias ballenas pasan solo hasta 5 días en la misma zona y que sólo alrededor del 10 % de ellas se quedan más de 2 semanas. Por lo que se sugirió que varios individuos sólo están en tránsito en esta región. En otro estudio realizado por Félix & Haase (2001) [17], en la misma zona, a pesar de tener pocos avistamientos interanuales, los mismos mostraban sincronía, por lo que se sugirió que había un uso cíclico mas no residente por parte de algunas ballenas jorobadas que visitan las costas ecuatorianas. Sin embargo Gladek *et al.* (2013) [19], determinaron que en las áreas de reproducción de Esmeraldas y el Parque Nacional Machalilla el 31,84 % de las ballenas son reavistadas

| Referencia | Sitio de recolección de muestras | Individuos muestreados | Machos | Hembras | Sexo sin determinar | Proporción |
|-----------------------|----------------------------------|------------------------|--------|---------|---------------------|------------|
| Brown et al. 1995 | Australia Este | 180 | 127 | 53 | 0 | 2.4 : 1 |
| Olavarría et al. 2007 | Aus O, NC, PF, Tg, IC, Col | 1112 | 705 | 361 | 46 | 1.9 : 1 |
| Valsecchi et al. 2010 | Australia Este | 135 | 91 | 44 | 0 | 2.1 : 1 |
| Félix et al. 2012 | Santa Elena - Ecuador | 103 | 66 | 25 | 12 | 2.6 : 1 |
| Proyecto Cetacea USFQ | Esmeraldas - Ecuador | 57 | 44 | 12 | 1 | 3.7 : 1 |

Tabla 1: Cuadro resumen de la proporción de sexos encontrada en diferentes estudios de ballenas jorobadas realizados en el Hemisferio Sur. Aus O= Australia Oeste, NC= Nueva Caledonia, PF= Polinesia Francesa, Tg= Tonga, IC= Islas Cook, Col= Colombia.

| Haplotipo | Hembras | | | | Machos | | | | Sexo sin identificar | Total N (machos & hembras) |
|--------------|-------------|------------|---------------------|-------------------|-------------|------------|---------------------|-------------------|----------------------|-------------------------------|
| | Agosto 2010 | Julio 2011 | Julio y Agosto 2012 | 2010, 2011 y 2012 | Agosto 2010 | Julio 2011 | Julio y Agosto 2012 | 2010, 2011 y 2012 | | |
| SP1 | | 1 | | 1 | | 1 | 1 | 2 | | 3 |
| SP6 | | | | 0 | | | 1 | 1 | | 1 |
| SP8 | | | | 0 | 1 | | | 1 | | 1 |
| SP10 | | | | 0 | 2 | | | 2 | | 2 |
| SP14 | | | 1 | 1 | | 2 | | 2 | | 3 |
| SP25 | | 1 | | 1 | 1 | | | 1 | | 2 |
| SP32 | | | 2 | 2 | 2 | 2 | | 4 | 1 | 7 |
| SP33 | | | | 0 | | | 1 | 1 | | 1 |
| SP43 | | | | 0 | | | 1 | 1 | | 1 |
| SP50 | 1 | | | 1 | | | 1 | 1 | | 2 |
| SP52 | | | | 0 | 1 | | 1 | 2 | | 2 |
| SP60 | | | 1 | 1 | | | | | | 1 |
| SP62 | | | | 0 | 5 | | 1 | 6 | | 6 |
| SP63 | | | | 0 | | | 2 | 2 | | 2 |
| SP66 | | | 1 | 1 | | | | | | 1 |
| SP68 | 1 | | 1 | 2 | | | | | | 2 |
| SP73 | | | | 0 | 3 | | | 3 | | 3 |
| SP89 | | | | 0 | 1 | | | 1 | | 1 |
| SP90 | | | 1 | 1 | 1 | 5 | 3 | 9 | | 10 |
| SP98 | | | 1 | 1 | | 2 | | 2 | | 3 |
| SP100 | | | | 0 | | | 1 | 1 | | 1 |
| Mno03Ma02 | | | | 0 | 1 | | | 1 | | 1 |
| Nuevo033 | | | | 0 | | 1 | | 1 | | 1 |
| TOTAL | 2 | 2 | 8 | 12 | 18 | 13 | 13 | 44 | | 57 |

Tabla 2: Haplotipos de las ballenas jorobadas de la costa de Esmeraldas para las temporadas 2010, 2011 y 2012. La frecuencia de cada haplotipo (ADNmt) se muestra por sexo y año. La N corresponde al total de individuos (machos y hembras) de cada haplotipo.

más de una vez, mientras que 68,16 % de las ballenas jorobadas han sido observadas una sola vez, sugiriendo que la mayor cantidad de ballenas están en tránsito por esta área de reproducción.

Al comparar los haplotipos entre los machos, se encontró que entre los machos del 2010 y 2011 se compartieron 2 haplotipos (SP32 y SP90), mientras que entre los del 2010 y 2012 se compartieron 3 haplotipos (SP52, SP62 y SP90), y finalmente para los machos del 2011 y 2012 se compartieron 2 haplotipos (SP1 y SP90). Al realizar el AMOVA, se encontraron diferencias significativas tanto en la frecuencia de haplotipos así como la composición de nucleótidos sólo entre los machos del 2010 con los del 2011 (FST= 0.0969, ΦST= 0.0969, p=0.0230) (Tablas 3 y 4). Las diferencias encontradas

tanto en la frecuencia de haplotipos así como la composición de nucleótidos para los años de estudio del 2010 y 2011, pueden deberse principalmente a que las muestras del 2010 fueron recolectadas en Agosto, cuando los machos ya no están en tránsito y se quedan como grupos residentes [17]. Mientras que las muestras del 2011 fueron tomadas en Julio, cuando la mayoría de machos posiblemente se encontraban aún en tránsito hacia las áreas de reproducción en el norte como Colombia, Panamá y Costa Rica [42]. Según Félix et al. (2009) [43], 4 individuos registrados en Ecuador en 4 años diferentes (1996, 2002, 2005 y 2008) fueron avistados en Costa Rica-Panamá en el 2007 y sugiere que están en tránsito [26, 44].

Ninguno de los haplotipos de las hembras del 2010 es-

| | H 2010 | | H 2011 | | |
|--------|---------|-----------------|---------|-----------------|--|
| | Fst | valor-p | Fst | valor-p | |
| H 2011 | 0.0000 | 0.6667 ± 0.0061 | | | |
| H 2012 | -0.0002 | 0.5578 ± 0.0073 | -0.1800 | 0.8675 ± 0.0053 | |
| | | M 2010 | | M 2011 | |
| M 2011 | 0.0969 | 0.0240 ± 0.0021 | | | |
| M 2012 | 0.0093 | 0.3053 ± 0.0056 | 0.0432 | 0.1238 ± 0.0046 | |

Tabla 3: Valores del análisis de varianza molecular entre años y por sexo, se muestra la diferencia a nivel de frecuencias de haplotipos (FST), así como la significancia estadística (p). La significancia de los valores obtenidos se comprobó usando 5000 permutaciones aleatorias de la matriz de datos. La M corresponde a machos y la H a hembras.

| | H 2010 | | H 2011 | | |
|--------|---------|---------|---------|---------|--|
| | Φst | valor-p | Φst | valor-p | |
| H 2011 | 0.0000 | 0.6760 | | | |
| H 2012 | -0.0002 | 0.5470 | -0.1800 | 0.8611 | |
| | | M 2010 | | M 2011 | |
| M 2011 | 0.0969 | 0.0230 | | | |
| M 2012 | 0.0093 | 0.3052 | 0.0432 | 0.1276 | |

Tabla 4: Valores del análisis de varianza molecular entre años y por sexo, se muestra la diferencia a nivel de la composición de nucleótidos (Φst), así como la significancia estadística (p). La significancia de los valores obtenidos se comprobó usando 5000 permutaciones aleatorias de la matriz de datos. La M corresponde a machos y la H a hembras.

tuvo presente en los haplotipos de las hembras del 2011, lo cual se repitió en la comparación de las hembras del 2011 y 2012. Las hembras del 2010 y 2012 compartieron un haplotipo (SP68). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los valores de FST y Φst entre los diferentes años de estudio (AMOVA, Tablas 3 y 4), posiblemente debido a las pocas muestras de hembras en los primeros años de estudio (2010 y 2011). Al comparar los haplotipos correspondientes para cada año usando el software Arlequin, no se encontró diferencias, debido a que los mismos difieren principalmente en uno o dos nucleótidos [45], y a que el programa toma en cuenta la frecuencia con la que se presenta cada haplotipo para comparar las poblaciones correspondientes y en el presente estudio, la frecuencia fue igual a 1.

En la Península de Santa Elena, Ecuador, en estudios similares se encontró que entre los años del 2006, 2007 y 2008 las diferencias más altas tanto en la frecuencia de haplotipos así como la composición de nucleótidos fueron entre las hembras, mientras que los machos compartieron la mayoría de haplotipos y sus frecuencias por lo que mostraron diferencias menores [26]. En un estudio realizado en el Atlántico Sudeste y Océano Índico, se sugirió que debido al reducido número de muestras de hembras, los haplotipos más comunes aumentan en frecuencia, reduciendo el número de haplotipos raros o poco frecuentes, lo que resulta en distancias significativamente más bajas entre los haplotipos disponibles [46]. Lo reportado en el estudio de Rosenbaum *et al.* (2006) [46] es similar a lo encontrado en esta investigación.

En conclusión, se encontró que las ballenas jorobadas macho mostraron mayor fidelidad de sitio que las hembras, aunque se propone que varios individuos pueden estar en tránsito hacia las áreas de reproducción más hacia el norte en Panamá y Costa Rica. Por otro lado, las pocas diferencias en la frecuencia de haplotipos y composición de nucleótidos al comparar las muestras de

hembras pueden deberse al limitado número de muestras. Para futuros estudios de fidelidad de sitio y proporción de individuos por sexo y año, se deberían tomar un número equitativo de muestras tanto de machos como de hembras entre los diferentes años y en la misma temporada para poder entender claramente cuál es el comportamiento de los individuos de ambos sexos.

[47]

Agradecimientos

Este estudio fue realizado como parte del proyecto CE-TACEA, Ecuador. Queremos agradecer a Javier Oña, Ljudmila Gladek, y nuestros voluntarios por las observaciones en el campo. A nuestro capitán Jose Mojarrango por hacer posible el exitoso muestreo y a la Hosteria El Acantilado por darnos hospedaje. Un especial agradecimiento a Gabriel Muñoz por su apoyo en la identificación de sexo de ballenas de las temporadas 2010 y 2011, y a Bernardo Gutiérrez por revisiones en el manuscrito. El proyecto fue financiado por la Universidad San Francisco de Quito USFQ (Ecuador)-Galápagos Academic Institute for the Arts and Sciences (GAIAS) (2010, 2011, 2012 Grants) y el Rufford Grant 2011 de Javier Oña.

Referencias

- [1] Flórez-González, L.; Ávila, I.; Capella, J.; Falk, P.; Félix, F.; Gibbons, J.; Guzmán, H.; Haase, B.; Herrera, J.; Peña, V.; Santillán, L.; Tobón, I.; Van Warebeek, K. 2007. "Estrategia para la conservación de la ballena jorobada del Pacífico Sudeste. Lineamientos de un plan de acción regional e iniciativas nacionales". *Fundación Yubarta. Cali. Colombia*: 106.
- [2] Baker, C.; Perry, A.; Bannister, J.; Weinrich, M.; Abernethy, R.; Calambokidis, J.; Lien, J.; Lambertsen, R.;

- Vasquez, O.; Clapham, P.; Alling, A.; O'Brien, S.; Palumbi, S. 1993. "Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:8239 – 8243.
- [3] González, L. 2002. "Programa de acción para la conservación de especies: ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*)". *Universidad Nacional Autónoma de México. Coyoacán, México*: 60.
- [4] Baker, C.; L., H.; Perry, A.; Lawton, W.; Straley, J.; Wolman, A.; Kaufman, G.; Winn, H.; Hall, J.; Reinke, J.; Ostman, J. 1986. "Migratory movement and population structure of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) in the central and eastern North Pacific". *Marine Ecology Progress Series*, 31:105 – 119.
- [5] Baker, C.; Perry, A.; L., H. 1987. "Reproductive histories of female humpback whales *Megaptera novaeangliae* in the North Pacific". *Marine Ecology Progress Series*, 41:103 – 114.
- [6] Olavarría, C. 2008. "Population structure of Southern Hemisphere humpback whales". *PhD Thesis. The University of Auckland. New Zealand*.
- [7] Pomilla, C.; Rosenbaum, H. 2005. "Against the current: an inter-oceanic whale migration event". *Biol. Lett.*, 1: 476 – 479.
- [8] Baker, C.; Clapham, P. 2004. "Modelling the past and future of whales and whaling". *Trends in Ecology and Evolution*, 19:365 – 371.
- [9] Baker, C.; Palumbi, S.; Lambertsemm, R.; Weinrichj, M.; Calambokidis, J.; OŠBrien, S. 1990. "The influence of seasonal migration on the distribution of mitochondrial DNA haplotypes in humpback whales". *Nature*, 344:238 – 240.
- [10] Stevick, P.; Neves, M.; Johansen, F.; Engel, M.; Allen, J.; Marcondes, M.; Carlson, C. 2010. "A quarter of a world away: female humpback whale moves 10 000 km between breeding areas". *Biol. Lett.*, 7:299 – 302.
- [11] Craig, A.; Herman, L.; Gabriele, C.; Pack, A. 2003. "Migratory timing of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) in the central north pacific varies with age, sex and reproductive status". *Behaviour*, 140:981 – 1001.
- [12] Opzeeland, I.; Parijs, S.; Kindermann, L.; Burkhardt, E.; Boebel, O. 2013. "Calling in the Cold: Pervasive Acoustic Presence of Humpback Whales (*Megaptera novaeangliae*) in Antarctic Coastal Waters". *PLoS ONE*, 8:1 – 7.
- [13] Pairoa-Riofrio, C. 2003. "Estudio poblacional de ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) en Esmeraldas, Ecuador". *Educación y capacitación. Organización para la Conservación de Mamíferos Acuáticos en Sudamérica, Yaqu Pacha*.
- [14] Scheidat, M.; C., C.; Denkinge, J.; González, J.; Adlung, D. 2000. "A breeding area for humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) off Ecuador". *J. Cetacean Res. Manage*, 2(3):165 – 171.
- [15] Félix, F.; Haase, B. 2005. "Distribution of humpback whales along the coast of Ecuador and management implications". *J. Cetacean Res. Manage*, 7(1):21 – 31.
- [16] Félix, F. 2003. "Guía de campo para la observación de ballenas jorobadas en la costa de Ecuador". *Fundación Ecuatoriana para el Estudio de Mamíferos Marinos (FEMM). Guayaquil, Ecuador*: 28.
- [17] Félix, F.; Haase, B. 2001. "The humpback whale off the Coast of Ecuador, population parameters and behavior". *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 36(1):61 – 74.
- [18] Félix, F.; Haase, B. 1998. "La investigación de la ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) alrededor de la isla de la Plata, Manabí, durante 1995". *Acta Oceanográfica del Pacífico. INOCAR, Ecuador*, 9(1).
- [19] Gladek, L. 2013. "Abundance and site fidelity of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) population in Esmeraldas, Ecuador". *Tesis de Maestría. University of Kiel/Universidad San Francisco de Quito*.
- [20] Fernández, S. 2009. "Preferencia de Hábitat de la Ballena Jorobada (*Megaptera novaeangliae*) en la costa de Esmeraldas, Ecuador". *Tesis de Pregrado, Universidad San Francisco de Quito*.
- [21] Krützen, M.; Barré, L.; Möller, L.; Heithaus, M.; Simms, C.; Shenrin, W. 2002. "A biopsy system for small cetaceans: darling success and wound healing in lursiopsspp". *Marine Mammal Science*, 18:863 – 878.
- [22] Kieleczawa, J. 2006. "DNA sequencing II: optimizing, preparation and cleanup". *Ontario: Jones and Bartlett Publishers*: 49 – 53.
- [23] Saiki, R.; Gelfand, D.; Stoffel, S.; Scharf, S.; Higuchi, R.; Horn, G.; Mullis, K.; Erlich, H. 1988. "Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase". *Science*, 239:487 – 491.
- [24] Palsboll, P.; Vader, A.; Bakke, I.; El-Gewely, R. 1992. "Determination of gender in cetaceans by the polymerase chain reaction". *Canadian Journal of Zoology*, 70: 2166 – 2170.
- [25] Olavarría, C.; Baker, C.; Garrigue, C.; Poole, M.; Hauser, N.; Caballero, S.; Florez-González, L.; Brasseur, M.; Bannister, J.; Capella, J.; Clapham, P.; Dodemont, R.; Donoghue, M.; Jenner, C.; Jenner, M.; Moro, D.; Oremus, M.; Paton, D.; Rosenbaum, H.; Russell, K. 2007. "Population structure of South Pacific humpback whales and the origin of the eastern Polynesian breeding grounds". *MarEcolProgSer*, 330:257 – 268.
- [26] Félix, F.; Caballero, S.; Olavarría, C. 2012. "Genetic diversity and population structure of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) from Ecuador based on mitochondrial DNA analyses". *J. Cetacean Res. Manage*, 12 (1):71 – 77.
- [27] Baker, C.; Flórez-González, L.; Abernethy, B.; Rosenbaum, H.; Slade, R.; Capella, J.; Bannister, J. 1998. "Mitochondrial DNA variation and maternal gene flow among humpback whales of the Southern Hemisphere". *Marine Mammal Science*, 14(4):721 – 737.

- [28] Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M.; Kumar, S. 2011. "MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods". *Molecular Biology and Evolution*, 28:2731 – 2739.
- [29] Olavarria, C.; Aguayo, A.; Acevedo, J.; Medrano, L.; Thiele, D.; Baker, C. 2006. "Genetic differentiation between two feeding areas of the Eastern South Pacific humpback whale population". *Update on SC/57/SH3, Report SC/A06/HW29*.
- [30] Dalgo, D. 2013. "Genetic Diversity And Connectivity Of Eastern Pacific Humpback Whales (*Megaptera Novaeangliae*, Borowski, 1781) Off The Coast Of Esmeraldas, Ecuador". *Tesis de Pregrado, Universidad San Francisco de Quito*.
- [31] Excoffier, L.; Lischer, L. 2010. "Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows". *Molecular Ecology Resources*, 10:564 – 567.
- [32] Brown, M.; Corkeron, P.; Hale, P.; Schultz, K.; Bryden, M. 1995. "Evidence for a Sex-Segregated Migration in the Humpback Whale (*Megaptera novaeangliae*)". *Proc. R. Soc. Lond. B*: 259.
- [33] Valsecchi, E.; Corkeron, P.; Galli, P.; Sherwin, W.; Bertorelle, G. 2010. "Genetic evidence for sex-specific migratory behavior in western South Pacific humpback whales". *Marine Ecology Progress Series*, 398:275 – 286.
- [34] Clapham, P. 2000. "The Humpback whale: Seasonal feeding and breeding in a baleen whale. Cetacean Societies: Field studies of dolphins and whales". *University of Chicago Press*, 7:173 – 196.
- [35] Clapham, P. 1996. "The social and reproductive biology of Humpback Whales: an ecological perspective". *Mammal Review*, 26:27 – 49.
- [36] Hucke-Gaetea, B.; Harob, B.; Torres-Florez, J.; Montecinos, Y.; Viddia, F.; Bedriñana-Romano, I.; Neryb, M.; Ruiz, D. 2013. "A historical feeding ground for humpback whales in the Eastern South Pacific revisited: the case of northern Patagonia, Chile". *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst. Update on SC/65a/Forinfo01*.
- [37] Stevick, P.; Allen, J.; Berube, M.; Clapham, P.; Katona, S.; Larsen, F.; Lien, J.; Mattila, D.; Palsboll, P.; Robbins, J.; Sigurjonsson, J.; Smith, T.; Oien, N.; Hammond, P. 2003. "Segregation of migration by feeding ground origin in North Atlantic humpback whales (*Megaptera novaeangliae*)". *J. Zool. Lond.*, 259:231 – 237.
- [38] Acevedo, J.; Aguayo-Lobo, A.; Pastene, L. 2006. "Filopatría de la ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae* Borowski 1782), al área de alimentación del Estrecho de Magallanes". *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 41:11 – 19.
- [39] Stevick, P.; Allen, J.; Engel, M.; Felix, F.; Haase, B.; Neves, M. 2011. "First record of inter-oceanic movement of a humpback whale between Atlantic and Pacific breeding grounds off South America". *Updated:SC/63/SH4*: 5.
- [40] Craig, A.; Herman, L. 1997. "Sex differences in site fidelity and migration of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) to the Hawaiian Islands". *Canadian Journal of Zoology*, 75:1923 – 1933.
- [41] Craig, A.; Herman, L. 2000. "Habitat preferences of female humpback whales *Megaptera novaeangliae* in the Hawaiian Islands are associated with reproductive status". *Marine Ecology Progress series*, 193:209 – 216.
- [42] Palacios-Alfaro, J.; Martínez-Fernández, D.; Sánchez-Godínez, C.; Venegas-Li, R. 2012. "Distribution and behavior of humpback whale (*Megaptera novaeangliae* Borowski, 1781) (Breeding Stock G), in southern Pacific of Costa Rica". *Updated: SC-64-SH16. International Whale Commission (IWC)'s Scientific Committee Documents*: 8.
- [43] Félix, F.; Rasmussen, K.; Garita, F.; Haase, B.; Simonis, A. 2009. "Movements of humpback whales between Ecuador and Central America, wintering area of the Breeding Stock G". *Paper SC/61/SH18 presented to the 61 Scientific Committee of the International Whaling Commission*.
- [44] Acevedo, J.; Rasmussen, K.; Félix, F.; Castro, C.; Llano, M.; Secchi, E.; Saborio, M.; Aguayo-Lobo, A.; Haase, B.; Scheidat, M.; Dalla-Rosa, L.; Olavarria, C.; Forestell, P.; Acuña, P.; Kaufman, G.; Pastene, L. 2007. "Migratory destination of humpback whales from the Magellan Strait feeding ground, Southeast Pacific". *Marine Mammal Science*, 23:453 – 463.
- [45] Shane, S. 2005. "Shane's Simple Guide to F-statistics". *University of Auckland*: 21.
- [46] Rosenbaum, H.; Pomilla, C.; Mendez, M.; Leslie, M.; Best, P.; Findlay, K.; Minton, G.; Ersts, P.; Collins, T.; Engel, M.; Bonatto, S.; Kotze, D.; Meyer, M.; Barendse, J.; Thornton, M.; Razafindrakoto, Y.; Nguessono, S.; Vely, M.; Kiszka, J. 2009. "Population Structure of Humpback Whales from Their Breeding Grounds in the South Atlantic and Indian Oceans". *PLoS ONE*, 4:1 – 11.
- [47] Denkinger, J.; Suárez, C.; Franco, A.; Riebensahm, D. 2006. "Informe Final Componente Marino". *Proyecto Esmemar*.

Towards a shank description for Laurel *Cordia alliodora* in agroforestry systems in Bosque Protector Sumaco, Ecuador

Hacia una descripción de fuste para el Laurel *Cordia alliodora* en sistemas agroforestales en el Bosque Protector Sumaco, Ecuador

Álvaro Cañadas^{1*}, František Vilčko², Diana Rade¹, Carlos Zambrano³ y Carlos Molina³

¹Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Av. 17 de Julio 5-21 y José Córdova, Ibarra, Ecuador.

²University of Göttingen, Institute of Forest Management, Busgenweg 5, D - 37077, Göttingen, Germany.

³Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue (EETP), km 5,5 vía Quevedo-El Empalme, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: alvarogustavo.canadaslopez@alumni.uni-goettingen.de

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 28/05/2013. Aceptado/Accepted: 21/02/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

The Protected Forest Sumaco is characterized by extensive areas of secondary forests. It provides a buffer zone for the National Park Sumaco-Napo-Galeras at an altitude of 1160 m above sea level and with a precipitation of 4000 mm year⁻¹. Adequate management of secondary forest in this protected area requires basic data about growth and volume-dependent regeneration of Laurel in Agro forestry systems. Consequently, accurate and flexible methods are required to estimate the volume and taper curve. For the parameterization of the total volume and taper function, 77 trees were taken. Altogether 308 observations were used, such as DBH, the diameter at 1.3, 2, 4, 6, 8 meters, and the total height. The volume was estimated with the Smalian formula for two sections. Splein model used in this research were validated using 44 independent trees from the neighboring community of Wawa Sumaco. The stem represents an assortment of saleable timber products and, for comparing different cross-cutting options, its shape needs to be known. Stem forms can be described in great detail using taper function with a limited number of parameters. The Pain function was fitted to describe a stem taper of Laurel. The algebraically and numerically consistent tree volume and taper function gave reliable results for the determination of the total volume and taper function of Laurel.

Keywords. basal area, diameter distribution, height growth, site index, taper function, total volume.

Resumen

El Bosque Protector Sumaco esta caracterizado por extensas áreas de bosque secundario en la zona de amortiguamiento del Parque Nacional Sumaco-Napo-Galeras a una altitud de 1160 m y con una precipitación promedio de 4000 mm año⁻¹. Un adecuado manejo de estas áreas requiere información básica sobre el crecimiento y producción dependiendo de la regeneración del Laurel *Cordia alliodora* en sistemas agroforestales. El presente estudio muestra los resultados sobre diferentes modelos para determinar el coeficiente de forma, volumen, perfil de fuste y desarrolla un sistema de ecuaciones matemáticamente y numéricamente consistente para *Cordia alliodora* bajo un sistema agroforestal en la comunidad indígena de Wamaní. Para la búsqueda de los parámetros de las funciones de volumen total, el cociente de forma, la descripción del perfil de fuste y la función de conicidad, un total de 308 árboles fueron medidos el diámetro a 1, 3, 2, 4, 6, 8, metros, a la mitad del árbol y la altura total en metros. Se presenta un modelo para determinar el volumen del Laurel en base al cociente de forma, diámetro y altura total. El modelo de perfil de fuste a través de la función Pain demuestra ser un modelo muy apropiado para describir este parámetro, así como también para calcular el volumen con mayor exactitud. En este estudio la consistencia algebraica y numérica para determinar el volumen y el diámetro a una establecida altura del fuste a través de la función de conicidad fue verificada. Todos estos modelos pueden ser utilizados en la práctica, constituyéndose estos en la esencia del negocio de la madera.

Palabras Clave. consistencia numérica, consistencia matemática, factor de forma, función de perfil de fuste, función de conicidad

Introducción

El incremento de la concentración de dióxido de carbono CO_2 en la atmósfera desde la Revolución Industrial ha producido severos efectos antropogénicos sobre el ambiente global del planeta [1]. Por el incremento de gases de efecto invernadero se proyecta un aumento de la temperatura promedio entre 1 y 3,5 °C para el 2100 [2]. Los bosques son de los ecosistemas terrestres más productivos y juegan un rol muy importante en el ciclo de carbono a nivel regional y global debido a que almacenan grandes cantidades de carbono en la vegetación y sus suelos (capacidad que puede ser afectada por causas humanas o naturales). Los bosques son atractivos para la mitigación del cambio climático al actuar como sumideros de carbono, pudiendo ser manejados para secuestrar o conservar significantes cantidades de carbono [3, 4]. Se estima que los bosques del mundo almacenan cerca de 667 Gt de carbono, de las cuales 44 % se encuentran en su biomasa, 11 % como madera muerta y hojarasca, y 45 % en el suelo [5]. La contribución de los ecosistemas forestales al balance global de carbono se está estudiando a través de tres criterios generales a) la cantidad de carbono almacenado a largo plazo en los ecosistemas, b) el rango neto anual de la fijación de carbono por producción primaria y c) almacenamiento a largo plazo en productos forestales. Dentro de este contexto, los bosques amazónicos son un inmenso y diverso reservorio de carbono, el cual se ha ido liberando gradualmente a la atmósfera por cambios en los hábitats por la deforestación y los cambios en el uso del suelo, hecho que tiene un impacto climático [6]. El rango de posibles emisiones de carbono por la deforestación y degradación de los bosques tropicales es muy amplio debido a que los cálculos del stock de carbono en los bosques tropicales son inciertos [7, 8]. Una de las fuentes de controversia en el cálculo del balance del carbono es hasta qué punto el carbono liberado por el cambio de cobertura boscosa es atenuado por la captura y fijación de carbono atmosférico por el crecimiento de bosques secundarios en sitios deforestados [9]. La tasa de fijación de carbono en la biomasa de los bosques secundarios varía temporalmente, de ahí que la edad a la cual los bosques secundarios son nuevamente cortados es importante para proporcionar información sobre el ciclo total del carbono (incluyendo el periodo de uso como agricultura o pastura). El carbón de la leña formado por quema es la única vía para que el carbono salga del ciclo [10]. Por otro lado, la quema del bosque secundario no solo libera más dióxido de carbono sino también metano (CH_4) y otras trazas de gases que no forman parte de los procesos fotosintéticos. Globalmente, la quema de los bosques secundarios libera bajo escenarios altos y bajos de emisión: $3,1-3,7 \times 10^6$ Mg CH_4 , $73-92 \times 10^6$ Mg CO, $0,2-1,6 \times 10^6$ Mg N_2O y $2,4 \times 10^6$ Mg NO_x [11]. Usando los 100 años del potencial global de calentamiento adoptado para el primer período 2008–2012 de compromiso del protocolo de Kyoto [12], la emisión de estos gases es equivalente entre $34-156 \times 10^6$ Mg de car-

bono anual.

Literatura económica relevante ha discutido largamente sobre el potencial de las plantaciones forestales como sumidero de carbón. Estos estudios mostraron que las plantaciones pueden proveer producciones maderas y fijación de carbono, pero tiene una alta desventaja de altos costos de inversión y la necesidad de acceso a financiamientos a largo plazo [13]. Una alternativa a las plantaciones forestales en los trópicos húmedos es la regeneración natural de los bosques secundarios. No obstante, esta alternativa no ha sido incluido en los Mecanismos de Desarrollo Limpio [14], este uso del suelo podría tener un atractivo potencial económico debido a la combinación del bajo costo de inversión y el alto potencial de secuestro de carbón, mientras que la producción de madera podría ser cosechada regularmente a niveles sostenibles. El Bosque Protector Sumaco se caracteriza por extensas áreas de bosque secundario y es una zona de amortiguamiento del Parque Nacional Sumaco Napo-Galeras. El adecuado manejo de esta área protegida requiere información básica sobre condiciones de crecimiento, calidad de fuste y volumen -dependiente de regeneración natural del bosque secundario, para implementar sistemas agroforestales [15]. La estimación de productos forestales es una tarea central en la investigación sobre el crecimiento y producción, en especial la valoración de la biomasa del árbol y volumen de madera. Un requerimiento básico en la estimación de productos forestales es la posibilidad de predecir la forma de fuste con la finalidad de simular la calidad de los árboles en pie [16], de ahí la necesidad de desarrollar métodos flexibles y exactos para estimar volumen y producción de estos sistemas agroforestales. Desde la introducción de los métodos de regresión en las ciencias forestales, la selección de modelos para determinar volumen, perfil de fuste y producción en base a la toma de datos es una práctica común, basados en el criterio de selección de un modelo determinado y la estimación de los parámetros de una ecuación para datos específicos [17]. Propiedades matemáticas tales como la consistencia algebraica están siendo aplicadas para mejorar la especificación de los modelos. Un sistema de ecuaciones es algebraicamente y numéricamente consistente cuando una ecuación en el sistema puede ser expresada en términos de otra ecuación(es) [18]. Por ejemplo, si una ecuación de volumen puede ser expresada en términos de una ecuación que determina el diámetro a una establecida altura del fuste (función de conicidad) o viceversa [19].

El presente estudio muestra los resultados sobre diferentes modelos de volumen, cociente de forma, y descripción del perfil de fuste a través de la función Pain. También, se desarrolla un sistema de ecuaciones con la finalidad de determinar el volumen y el diámetro a una determinada altura del fuste, que sean matemáticamente y numéricamente consistente para el Laurel *Cordia alliodora* bajo un sistema agroforestal dentro del Bosque Protector Sumaco, zona de amortiguamiento del Parque Nacional Sumaco-Napo-Galeras, Ecuador.

Materiales y Métodos

Área de Estudio

El estudio fue conducido en el Bosque Protector Sumaco, parroquia de Wamaní, comunidad de Wamaní, provincia de Napo (coordenadas UTM 9920000 y 2150000, 1160 m de elevación, 21 °C de temperatura promedio, Figura 1). La zona de estudio pertenece a la zona de vida de Bosque Húmedo Tropical [20]. La estación pluviométrica representativa para el área de estudio es la estación de Challua Yacu, la cual registra una precipitación media anual de 4000 mm/año y su distribución durante el año es representada en la Figura 2 [21].

En la región del Sumaco, en el mes de diciembre se establece un sistema predominante de vientos Alisios, que por efecto de la rotación terrestre son desviados en dirección NE. Estos vientos se manifiestan en forma de fuertes vientos, provocando la disminución de vapor de agua y por ende la baja de la pluviosidad en la región. En los meses de abril y marzo, donde la corriente de El Niño (cálida y húmeda) se encuentra en su apogeo, se suma la presencia en la región Amazónica de los vientos Alisios monzónicos en dirección NO cargados de vapor de agua, que da como resultado el primer pico de lluvias en la región. Entre junio y julio mientras todo el Ecuador se encuentra un periodo seco, en la Cordillera Oriental se presenta el período de máxima lluvia. La causa de este fenómeno es la presencia de los vientos Alisios en dirección SE, los cuales están relacionados con una corriente fría proveniente del hemisferio sur. Cuando la Tierra va hacia el hemisferio sur después del equinoccio (octubre), la región oriental se ve influenciada por las corrientes de los vientos Alisios en dirección NO y la desviación de los mismos en dirección NE del hemisferio norte, provocando en la región el segundo pico de lluvias [22].

Los suelos del Bosque Protector Sumaco pertenecen al gran grupo de suelos denominados Hydrandepts. Estos suelos son generalmente negros en su horizonte superficial y pardo amarillo en los horizontes subsiguientes. Su capacidad de retención de humedad es mayor a la

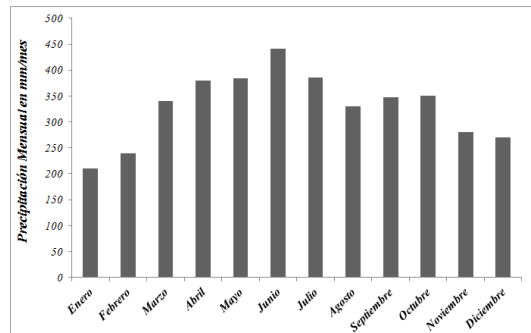


Figura 2: Distribución de la precipitación mensual en el área de Chalua Yacu.

capacidad de campo. Los procesos de lixiviación (lavado) son continuos y la meteorización de los minerales primarios es casi completa, liberando cationes de Al⁺ y cationes H⁺, los cuales contribuyen a la acidificación del suelo. La acidez del suelo va disminuyendo conforme se aumenta la profundidad del perfil del suelo, esto se debe principalmente a la poca actividad radicular de la vegetación en esta área [23].

Cociente de forma y determinación del volumen

Para determinar el cociente de forma se midió el diámetro a la altura del pecho (DAP) a 1,30 m, y a la mitad de la altura total del árbol de un total de 43 árboles. Un modelo de regresión no lineal fue aplicado para establecer la relación entre volumen, DAP y la altura total. La estimación de los parámetros fueron realizados con el programa STATISTICA [24] en base al método de la diferencia mínima de la suma de cuadrados entre los valores medidos y calculados.

Perfil de fuste (Función Pain)

Con la finalidad de construir el perfil de fuste del Laurel, el diámetro a la altura a 1,3, 2, 4, 6 y 8 metros de la altura total en metros fueron medidos para 308 árboles. La función Pain desarrollada por Pain y Boyer [25] fue aplicada (Ecuación 1 y 2) y es descrita de la siguiente manera:

$$r(h_{rel}) = \alpha \cdot (1 - h_{rel}^3) + \beta \cdot (\ln(h_{rel})) \quad (1)$$

Donde $r(h_{rel})$ = Radio a una altura relativa del árbol h_{rel} .
 α, β = Parámetros de dimensión y forma.

con:

$$\alpha = a_0 + a_1 \cdot \left(\frac{1}{\ln\left(\frac{1}{D}\right)} \right) + a_2 \cdot \left(\frac{1}{\left(\frac{H}{D}\right)^2} \right) \quad (2)$$

$$\beta = b_0 + b_1 \cdot \left(\frac{1}{\ln\left(\frac{1}{D}\right)} \right) + b_2 \cdot \left(\frac{1}{\left(\frac{H}{D}\right)^2} \right)$$

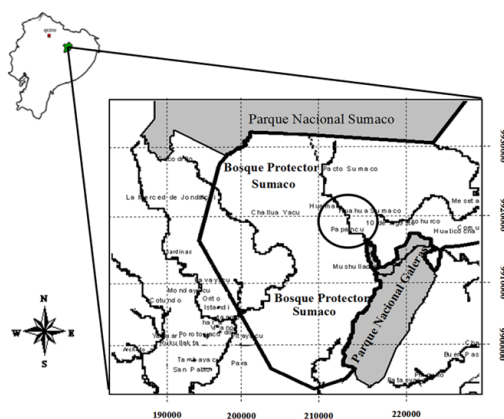


Figura 1: Vista general de la parcela agroforestal después del raleo en Wamaní.

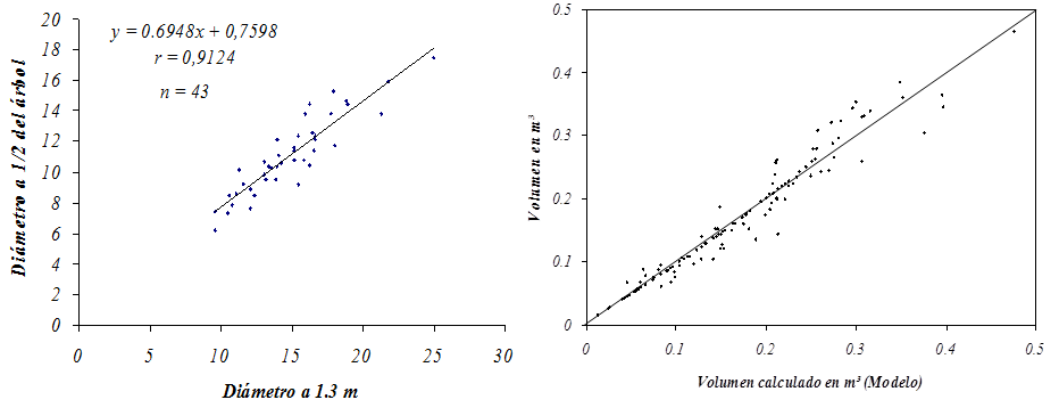


Figura 3: Izquierda: Relación entre diámetro a la altura del pecho y a la mitad del árbol. Derecha: Volúmenes observados plotados sobre los valores predichos por el modelo de volumen.

Donde $a_0, a_1, a_2,$ = Parámetros.
 b_0, b_1, b_2
 α, β = Parámetros de dimensión y descripción de forma.
 H = Altura total del árbol.
 D = Diámetro a la altura del pecho (cm).

La función Pain fue ajustada de acuerdo al método Gauss-Newton provisto por el programa STATISTICA (Ordinary Least Squares).

Consistente algebraicamente entre la función de volumen total y la función de conicidad

Datos para determinar los parámetros de los modelos

Para la determinación de los parámetros de la función de volumen total y de conicidad, un total de 308 árboles observados fueron determinados el diámetro a 1, 3, 2, 4, 6 y 8 metros y la altura total en metros en la comunidad de Wamaní. Setenta y siete árboles fueron seleccionados para la obtención de los parámetros. Los dos modelos utilizados en este estudio fueron validados usando 44 árboles independientes de la comunidad vecina de Wawa Sumaco. Las características generales de los árboles utilizados para este análisis están resumidas en la Tabla 1.

Volumen total y función de conicidad En este estudio, la consistencia algebraica y numérica de las ecuaciones de volumen y la función de conicidad fue utilizada para el Laurel [19]. Ec (3) representa la fórmula de volumen total y Ec (4) la fórmula de la función de conicidad.

$$V_t = \alpha D^\beta H^{3-\beta} \quad (3)$$

$$d^2 = D^\beta \gamma \left(1 - \frac{h}{H}\right) h^{2-\beta} \quad (4)$$

Donde V_t es el volumen total, D representa el DAP, H la altura total del árbol, α, β los parámetros que son compartidas en la ecuaciones de volumen y la función de conicidad, d el diámetro a una determina altura del árbol h y γ una constante y su valor puede ser obtenido de la Ec. (2), cuando $d = D, h = k$ donde $k = 1,30$ m.

Entonces,

$$D^2 = D^\beta \gamma \left(1 - \frac{k}{H}\right) k^{2-\beta} \quad (5)$$

De ahí que,

$$\gamma = \frac{(D/k)^{2-\beta}}{1 - (k/H)} \quad (6)$$

Sustituyendo este valor de γ en la ecuación (4) y agrupando los términos, la ecuación final (Ecuación 7) de la función de conicidad es especificada de la siguiente manera:

$$d^2 = D^2 \left(\frac{h}{k}\right)^{2-\beta} \left(\frac{H-h}{H-k}\right) \Rightarrow d = \sqrt{D^2 \left(\frac{h}{k}\right)^{2-\beta} \left(\frac{H-h}{H-k}\right)} \quad (7)$$

Para la obtención de los parámetros, las ecuaciones 1 y 5 fueron tomadas para la simultánea búsqueda de parámetros del total volumen y función conicidad. El método FIML fue empleado (full information maximum likelihood estimation). Los parámetros fueron estimados utilizando el programa SAS [26]. La Tabla 2, muestra las formulas que fueron utilizadas para estimar la validación de los modelos. Estos criterios de evaluación fueron propuestos por Pretzsch y Durský [27] y Sterba et. al, [28].

Resultados y Discusión

Cociente de forma y volumen total

Para describir la forma de los troncos en detalle es necesario medir el diámetro a varias alturas de los árboles, de tal forma que la curva de conicidad puede ser derivada para describir y modelar la forma de los troncos. Con el conocimiento de un diámetro superior y con una curva de conicidad se puede obtener mayor exactitud en el cálculo de los volúmenes y optimizar los surtimientos. La obtención de un diámetro superior es más fácil

| | Datos del Modelo | | | Datos de Validación | | |
|---------------|------------------|------|-------|---------------------|------|-------|
| | (N = 77) | | | (N = 44) | | |
| | Min. | Max. | Prom. | Min. | Max. | Prom. |
| DAP | 6,7 | 33,4 | 22,4 | 9,6 | 24,9 | 14,9 |
| Altura total | 14,6 | 32,9 | 25,2 | 18,2 | 34,7 | 27,1 |
| Volumen total | 0,04 | 1,9 | 0,8 | 0,08 | 1,1 | 0,3 |

Tabla 1: Datos generales de los árboles utilizados para este análisis (N = número de árboles; Min. = mínimo valor; Max. = máximo valor; Prom. = valor promedio).

| Criterio | Fórmulas | | Valor Ideal | |
|--|---|---------------------------------|-------------|----------|
| | Absoluto | Relativo | Absoluto | Relativo |
| Distorsión (\bar{e} , \bar{e} %) | $\frac{\sum_{i=1}^n e_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - X_i)}{n}$ | $(\bar{e} \cdot 100) / \bar{X}$ | 0 | 0 % |
| Precisión (s_e , s_e %) | $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{e} - X_i)^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (e_i - \bar{e})^2}{n-1}}$ | $(s_e \cdot 100) / \bar{X}$ | 0 | 0 % |
| Exactitud (m_x , m_x %) | $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - X_i)^2}{n-1}} = \sqrt{s_x^2 + \bar{e}^2}$ | $(s_e \cdot 100) / \bar{X}$ | 0 | 0 % |
| Eficiencia (E , E %) | $1 - \frac{\sum (X_i - x_i)^2}{\sum (X_i - \bar{X}_i)^2}$ | $E \cdot 100$ | 1 | 100 % |

Tabla 2: Criterios para la evaluación del modelo (x_i = valor predicho; X_i = valor observado; n = número de observaciones).

obtener de árboles caídos, no obstante, existen situaciones en las que es necesario medir diámetros superiores aún con árboles en pie. Esta medición puede ser facilitada por el denominado Finn caliper. El volumen de fuste, puede ser modelado con el DAP como una variable predictora exclusivamente. Sin embargo, los modelos de volumen son más precisos si se dispone de información sobre la forma de fuste y es incorporado a un modelo [29, 30]. La obtención de un diámetro superior requiere del empleo de tiempo y por ende implica un costo, por lo que esta es una decisión de optimización, donde la precisión adicional ganada se justifica por el costo adicional. La relación entre el DAP y el diámetro a la mitad de árbol para el Laurel es presentada en la Figura 3 y sirvió de base para estimar el volumen total del Laurel. Se ajustó un modelo para la predicción del volumen total del Laurel a través de variables que pueden ser fácilmente estimadas en el campo, tales como la altura y DAP (Figura 3). El modelo para establecer el volumen (Ecuación 8) es el siguiente:

$$V = 0,000071 * DAP^{1,958} * H^{0,959} \quad (8)$$

La evaluación visual del modelo propuesto demuestran una bondad de ajuste muy alta ($n = 140$, cuadrado medio del error del residuo RMSE = 0,0789 y $r = 0,97$) y por lo tanto este modelo puede ser utilizado en la práctica para determinar el volumen del Laurel.

Perfil de fuste (Función Pain)

El perfil de fuste proporciona el radio o diámetro como una función de la altura. Una vez que el perfil es conocido matemáticamente, el volumen de fuste puede ser fácilmente calculado por una rotación integral de dicha

curva. Esto hace que los perfiles de fuste sean una herramienta muy útil para establecer el surtimiento [29]. Para una interpolación de la forma de fuste y describir el perfil se puede emplear las funciones Spline. Una función Spline es un conjunto de polinomios de un cierto grado k que se unen entre si manteniendo condiciones de continuidad, y que permiten definir el perfil de una determinada figura, en este caso el fuste de un árbol. Su aplicación requiere que se conozcan una serie de valores (n valores) de los diámetros del fuste a diferentes alturas (algunos autores recomiendan un mínimo de cuatro mediciones aunque el número y su situación óptima sobre el fuste son aún objeto de investigación). Para poder representar el perfil del fuste es necesario calcular por interpolación todas las coordenadas en el intervalo entre mediciones sobre el tronco (h_i, h_{i+1}) [30]. Estudios conducidos por Kleinn [31], después de realizar simulaciones empíricas, mostraron que de 4 a 6 puntos (medición de diámetros) bien distribuidos a lo largo del fuste dan muy buenos resultados de las interpolaciones de la función Spline. El perfil de fuste para el Laurel pudo ser descrito con gran detalle usando la función no lineal Pain con un limitado número de parámetros. El ajuste de esta función fue apropiada para el Laurel ($r = 0,98$, error estándar = 0,23, $F = 35321,55^{****}$) y los parámetros para función Pain son presentados en la Tabla 3.

En la Figura 4 se puede apreciar el análisis de residuos del modelo propuesto, estableciéndose que ellos tienden a localizarse en una banda alrededor del eje X cero, sin mostrar ninguna tendencia, la cual corrobora la distribución normal de los residuos. Este modelo puede ser utilizado también para determinar el perfil de fuste, con un alto grado de exactitud.

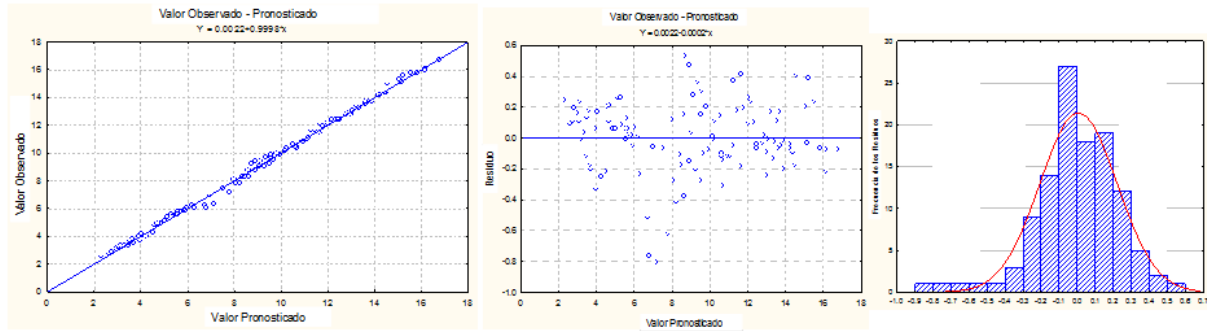


Figura 4: Análisis visual de los residuos de la función de conicidad. Izquierda: valores observados (y) ploteados sobre los valores predichos (\hat{y}). Mitad: residuos ($y - \hat{y}$) ploteados sobre los valores predichos (\hat{y}). Derecha: Frecuencia de los residuos ($y - \hat{y}$).

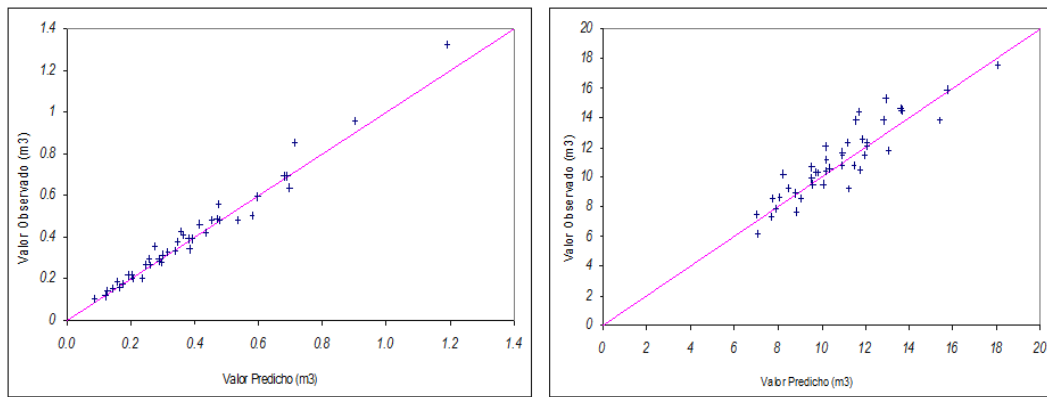


Figura 5: Análisis visual entre los valores observados y predichos (izquierda del volumen total y derecha la función de conicidad).

| Parámetro | Valor | Valores de T | Pr > t |
|-----------|----------|--------------|--------|
| a_0 | -0,84834 | 2,90668 | <,0001 |
| a_1 | 1,578191 | 7,36639 | <,0001 |
| a_2 | -2,24296 | -1,39619 | <,0001 |
| b_0 | 0,270980 | 1,95313 | <,0001 |
| b_1 | -0,21005 | -2,13397 | <,0001 |
| b_2 | 0,230957 | 0,31043 | <,0001 |

Tabla 3: Parámetros calculados para describir el perfil de fuste del Laurel a través de la función Pain.

Determinación del volumen total y de conicidad

Los coeficientes mórficos permiten realizar estimaciones generales sobre la forma del fuste en función de la edad y de la densidad del rodal, pero no permiten describir su perfil del mismo. Si el objetivo es conocer el perfil, se pueden emplear las series de curvatura o las funciones Spline. Sin embargo, con estas metodologías se puede reconstruir exactamente el perfil de un árbol pero no permiten realizar afirmaciones generales sobre la influencia de la estación y la silvicultura en la forma del fuste [16]. Una alternativa es el empleo de las funciones de perfil, que son un compromiso entre la simplicidad de los coeficientes mórficos y la excesiva especificidad de las series de curvatura o las funciones Spline. La consistencia algebraica entre la función de volumen total y la función de conicidad propuesta por Sharma y Oderwald [19] y Demaerschalk [32] son una alternativa. La determinación de los parámetros y el nivel de significancia pueden ser vista en la Tabla 4. Ambos parámetros α y β usados para la determinación del volumen total y

| Parámetros | Estimación Aproximada | Valor de t | Pr > t |
|------------|-----------------------|------------|--------|
| α | 0,000061 | 49154,2 | <,0001 |
| β | 1,999435 | 16296,6 | <,0001 |

Tabla 4: Parámetros calculados para el volumen total y la función de conicidad.

| Criterio | Modelos | | | |
|----------------------|-------------------------|--------|-----------------------------|--------|
| | Modelo de Volumen Total | | Modelo de Función Conicidad | |
| $\bar{e}/\bar{e} \%$ | -0,016 | -4,2 % | 0,29 | 2,6 % |
| $s_e/s_e \%$ | 0,043 | 10,9 % | 1,04 | 9,4 % |
| $m_x/m_x \%$ | 0,046 | 11,7 % | 1,08 | 9,7 % |
| $E/E \%$ | 0,958 | 95,8 % | 0,81 | 81,2 % |

Tabla 5: Criterio para la evaluación de los modelos dentro del sistema Agroforestal de Wamaní con los datos obtenidos en la Comuna de Wawa Sumaco (\bar{e} distorsión; $\bar{e} \%$ distorsión relativa; s_e precisión; $s_e \%$ precisión relativa; m_x exactitud; $m_x \%$ exactitud relativa; E eficiencia; $E \%$ eficiencia relativa).

la función de conicidad mostraron una alta significación estadística, así como también un buen ajuste con un coeficiente de regresión (r) de 0,989 para el volumen total y un r de 0,981 para la función de conicidad. La Tabla 5, muestra la evaluación de ambos modelos. La exactitud de los valores predichos fue alta. El valor de distorsión y precisión de los dos modelos están cercanos al valor ideal de cero.

La precisión expresada a través del coeficiente de varianza alcanzó un máximo del 12,0 % y la eficiencia de ambos modelos fue de 81,2 %.

En la Figura 5, se confirman los datos obtenidos en la validación de los modelos, la dispersión de los residuos de los valores predichos y los observados son muy bajos en ambos casos. Así la consistencia algebraica y numérica para determinar el volumen y el diámetro a una determinada altura del fuste para el Laurel queda establecida. De esta manera ambos modelos pueden ser utilizados para determinar el volumen total y el diámetro a una determinada altura del fuste.

Conclusiones

La Ley Forestal, en su Título II de Aprovechamiento Forestal, Capítulo I. Programa de Aprovechamiento Forestal Sustentable, Art. 10, inciso a) Inventario y censo comercial, Anexo IV, proporciona un Factor de Forma de 0,7. Es decir que el volumen de fuste de acuerdo a la ley puede ser estimada mediante un solo predictor el Diámetro a la Altura del Pecho para el cálculo del volumen de cualquier especie forestal. No obstante, los modelos de volumen son más precisos, si se mide el diámetro a niveles superiores y estos son incorporados plenamente dentro del modelo seleccionado, debido a que se proporciona alguna información sobre la forma de ahumamiento del fuste. Es necesario resaltar que la medida de diámetros superiores consume tiempo y dinero, de tal manera que es una pregunta de optimización, si se quiere elevar el nivel de precisión de este parámetro forestal. Sin embargo, esta adición de costo está plenamente justificada como se demuestra en esta investigación. El modelo de perfil de fuste a través de la función Pain demuestra ser un modelo muy apropiado para describir este parámetro forestal, así como también para calcular el volumen con mayor exactitud. En este estudio la consistencia algebraica y numérica para determinar el volumen y el diámetro a una establecida altura del fuste a través de la función de conicidad fue verificada. De tal manera que se puede estimar los diámetros a cualquier altura del tronco o la altura a las cuales se alcanza un cierto diámetro para el Laurel. Los modelos desarrollados cumplen con todos los supuestos estadísticos, y además entrega las mejores predicciones para *Cordia alliodora*.

La parametarización de los modelos propuestos en esta investigación para todas las especies forestales en el Ecuador es una necesidad imperiosa con la finalidad de mejorar sustancialmente las estadísticas forestales y corrigiendo con esto los ingresos del MAE por la recaudación por concepto de madera en pie, Art. 262 de la Ley Forestal.

Referencias

- [1] Malhi, Y.; Baldocchi, D.; Jarvis, P. 1999. "The carbon balance of tropical, temperate and boreal forests". *Plant Cell Environment*, 22:712-740.
- [2] IPCC. 1996. "Climate Change 1995 Impacts, Adaptations and Mitigation of Climate: Scientific-Technical Analyses". en: "Contribution of II to the Second Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change", Cambridge University Press: Cambridge.
- [3] Brown, S.; Sathaye, J.; Cannell, M.; Kauppi, P. 1996. "Mitigation of carbon emission to the atmosphere by forest management". *Forest Review*, 75(1):80-91.
- [4] Nabuurs, G.; Masera, O.; Andrasco, K.; Benitez-Ponce, P.; Boer, R.; Dutschke, M.; Elsiddig, E.; Ford-Robertson, J.; Frumhoff, P.; Karjalainen, T.; Kurz, W.; Matsumoto, M.; Oyhantcabal, W.; Ravindranath, N.; Sanz Sanchez, M.; Zhang, X. 2007. "Forestry". en: "Mitigation. Contribution of III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change 2007", B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave, L.A. Meyer (Eds.), Cambridge University Press: Cambridge, New York: 541-584.
- [5] FAO. 2010. "Global Forest Resource Assessment 2010". *Food and Agriculture Organisation Forestry Paper, Rome*, 163.
- [6] IPCC. 2007. "Climate Change 2007: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change". *WMO/UNEP: Paris*.
- [7] Fearnside, P. 2000. "Global warming and tropical land-use change: greenhouse gas emissions from biomass burning, decomposition and soils in forest conversion, shifting cultivation and secondary vegetation". *Climate Change*, 46(1-2):115-158.
- [8] Houghton, R. 2005. "Aboveground forest biomass and the global carbon balance". *Global Change Biology*, 11: 945-958.
- [9] Achard, F.; Eva, H.; Stibig, H.; Mayaux, P.; Gallego, J.; Richards, T.; Malingreau, J. 2002. "Determination of deforestation rates of the world's humid tropical forests". *Science*, 297:999-1002.
- [10] Neeff, T.; de Alencastro, P.; Vieira, L.; da Costa Freitas, C. 2005. "Carbon budget estimation in Central Amazonia: Successional forest modeling from remote sensing data". *Remote Sensing of Environment*, 94:508-552.
- [11] Fearnside, P.; Laurance, W. 2003. "Comment on: Determination of deforestation rates of the world's humid tropical forests". *Science*, 229:1015.
- [12] Schimel, D. 1996. "Radiative forcing of climate change". en: "Climate Change 1995: The Science of Climate Change", J.T. Houghton, L.G. Meira Filho, B.A. Callander, N. Harris, A. Kattenberg, K. Maskell (Eds.), Cambridge University Press: Cambridge: 65-131.
- [13] Knoke, T. 2008. "Mixed forests and finance - Methodological approaches". *Ecological Economics*, 65:590-601.
- [14] UNFCCC. 2003. "Report of the subsidiary body for scientific and technological advice. Adeendum-methodological issues (FCCC/SUBSTA/10/Add.3)". Enlace: <http://www.unfccc.int>, United Nations Framework Convention on Climate Change: Bonn, Fecha de Consulta: 1 Enero 2014.

- [15] Cañadas, A. 2005. "Providing information about natural resources as a base to support the decentralization of the forest sector in Canton Loreto". *Research Centre of Forest Ecology: Göttingen*.
- [16] Gadow, K. 2004. "Forsteinrichtung, Steuerung und Analyse der Waldentwicklung". *Universitätsverlag Göttingen: Göttingen*.
- [17] Cañadas, A.; Vilčko, F.; Gadow, K. 2003. "Management of Laurel (*Cordia alliodora*) within Agro forestry System in the Canton Loreto, Ecuador". en: "*Technological and Institutional Innovations for Sustainable Rural Development*", C. Wollny, A. Deininger, N. Bhandari, B. Maass, W. Manig, U. Muuss, F. Brodbeck, I. Howe (Eds.), *Deutscher Tropentag, Göttingen*: 288.
- [18] Cañadas, A.; Vilčko, F. 2004. "Tree volume and taper function for *Cordia alliodora* in agroforestry system, Protected Forest Sumaco". en: "*Rural Poverty Reduction through Research for Development and Transformation*", K.J. Peters, D. Kirschke, W. Manig, A. Bürker, R. Schultze-Kraft, L. Bharati, C. Bonte-Friedheim, A. Deininger, N. Bhandari, H. Weitkamp (Eds.), *Deutscher Tropentag, Berlin*: 384.
- [19] Sharma, M.; Oderwald, R. 2001. "Dimensionally compatible volume and taper equations". *Canadian Journal of Forest Research*, 31:797–803.
- [20] Cañadas, L. 1983. "Mapa bio climático y ecológico del Ecuador". *Editores Asociados Cia. Ltd.: Quito*.
- [21] Cañadas, A.; Korol, M.; Zambrano, C.; Camacho, B. 2012. "Modelos descriptivos de corona para Laurel (*Cordia alliodora*) bajo sistemas agroforestales en el Bosque Protector Sumaco, Ecuador". *Avances en Ciencia e Ingenierías*, 4(2):39–46.
- [22] Bendix, J.; Lauer, W. 1992. "Die Niederschlagsjahreszeiten in Ecuador und ihre Klimadynamische Interpretation". *Erkunde*, 46:118–134.
- [23] Cañadas, L. 1978. "Identificación de sistemas ecológicos en la Región Amazónica Ecuatoriana". *INCRAE-MAG: Quito*.
- [24] STATISTICA. 2004. "User's guide". *STATISTICA Version 5.0*.
- [25] Pain, O.; Boyer, E. 1996. "A whole individual tree growth model for Norway Spruce". en: "*Proceedings of the Second Workshop, Connection between Silviculture and Wood Quality through Modelling Approaches and Simulation software's*", *Publication Equipe de Recherches sur la Qualité des Bois INRA: Nancy*: 13–23.
- [26] SAS INSTITUTE INC. 1999. "SAS/STATTM User's guide Release 8.0". *Edn. Cary. NC. USA*.
- [27] Pretzsch, H.; Durský, J. 2001. "Evaluierung von Waldwachstumssimulatoren auf Baum - und Bestandesebene". *Allgemeine Forst und Jagdzeitung*, 172(8-9):146–150.
- [28] Sterba, H.; Korol, M.; Rössler, G. 2001. "Ein Ansatz zur Evaluierung eines Einzelbaumwachstumssimulators für Fichtenreinbestände". *Forstwissenschaftliches Centralblatt*, 120:406–421.
- [29] Kleinn, C. 2007. "Lectures notes for the Teaching Module Forest Inventory". *Universitätsverlag Göttingen: Göttingen*.
- [30] Akça, A.; Gadow, K.; Mench, A.; Mann, P.; Pahl, A.; Setje-Eilers, U. 1994. "Überprüfung des Formquotienten q_7 (d7/BHD) in der Bundeswaldinventur für die Hauptbaumarten Buche, Eiche, Fichte und Kiefer im landeseigenen Wald Nordrhein-Westfalens". *Universitätsverlag Göttingen: Göttingen*.
- [31] Kleinn, C. 1989. "Überlegungen zur Berechnung von Einzelbaumvolumen mittels kubischer Spline Interpolation". *Allgemeine Forst und Jagdzeitung*: 1246–1247.
- [32] Demaerschalk, J. 1973. "Integrated systems for the estimation of tree taper and volume". *Canadian Journal of Forest Research*, 3(1):90–94.

Determination of the level of tolerance to salinity in *in vitro* conditions of the plants of tomate de árbol (*Solanum betaceum*) from different localities of the ecuatorian highlands

Determinación del nivel de tolerancia a salinidad en condiciones *in vitro* de plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) provenientes de distintas localidades de la Sierra ecuatoriana

Viviana Jaramillo¹, Venancio Arahana¹ y María de Lourdes Torres¹

¹Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad San Francisco de Quito.
Diego de Robles s/n y Vía Interoceánica, Quito- Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: ltorres@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 05/03/2014. Aceptado/Accepted: 21/04/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

Soil salinity constitutes one of the main causes for crop yield reduction. A significant part of the Ecuadorian highland soils are considered as high-salinity because of their pyroclastic nature, the effects of erosion and the poor use of irrigation water. The tree tomato (*Solanum betaceum*) grows all across the highlands and in many cases is subject to high-salinity stress. The objective of the present study was to determine the level of tolerance to sodium chloride (NaCl) for *in vitro* cultured tree tomato. Plants were obtained from seven or eight locations depending on the essay performed. Seed germination, plantlet development from simple-node culture and *in vitro* plant growth were evaluated, using different NaCl concentrations. For the seed germination assays, an average of 62 % of germination was obtained in a concentration of 50mM NaCl for the seven locations evaluated, and an average of 57 % germination in a concentration of 75mM. For plant growth from single node culture, seven locations were evaluated and growth was observed in concentrations of up to 100mM NaCl for plants from all locations except Quero. Finally, the analysis of salinity stress tolerance limits for plantlet growth showed different responses in individuals from eight sampling locations, where plantlets from Chaltura tolerated up to 175 mM NaCl. These results confirm a difference in salinity tolerance from individuals between locations. The highest tolerance level was observed in plants from Chaltura, while the lowest tolerance level was observed in plants from Quero. This information is basic for future transcriptome studies, where genes involved with salinity tolerance can be identify in this interesting Andean crop.

Keywords. *Solanum betaceum*, salinity stress, tolerance, *in vitro* culture.

Resumen

La salinidad de los suelos constituye una de las causas más importantes para la disminución de la productividad en cultivos agrícolas. Gran parte de los suelos de la Sierra ecuatoriana son considerados salinos, tanto por su naturaleza piroclástica como por la erosión y el mal uso del agua de riego. El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) crece en la región interandina y en muchos casos se ve sometido al estrés salino. El objetivo del presente estudio fue determinar el grado de tolerancia del tomate de árbol a cloruro de sodio (NaCl) en cultivo *in vitro*. Se utilizó plantas de tomate de árbol provenientes de siete u ocho localidades dependiendo del ensayo realizado. Se evaluó la germinación de semillas, el desarrollo de plántulas a partir de nudo simple y el crecimiento de plántulas cultivadas *in vitro* en diferentes concentraciones de NaCl. En los ensayos de germinación de semillas se obtuvo un promedio de 62 % de germinación para siete localidades analizadas en una concentración de 50mM de NaCl, y un promedio de 57 % en una concentración de 75mM. En cuanto al cultivo de tomate de árbol a partir de nudo simple, se evaluó plantas de siete localidades de las cuales todas, con excepción de Quero, crecieron hasta en una concentración de 100mM de NaCl. Finalmente, en el ensayo para determinar el límite de tolerancia a NaCl en el crecimiento de plántulas, se observó diferentes respuestas al estrés salino en individuos de tomate de árbol de ocho localidades estudiadas, siendo las plántulas de Chaltura las que toleraron hasta 175 mM de NaCl. Estos resultados permiten afirmar que hubo variaciones en el grado de tolerancia a salinidad entre plantas de tomate de árbol de las diferentes localidades. La mayor tolerancia se encontró en las plantas provenientes de Chaltura, y la menor tolerancia en plantas provenientes de Quero. La información obtenida en este estudio es la base para posteriores análisis del transcriptoma donde se pueda identificar genes involucrados en la respuesta a la tolerancia a la salinidad en este interesante cultivo andino.

Palabras Clave. *Solanum betaceum*, estrés salino, tolerancia, cultivo *in vitro*.

Introducción

La salinidad del suelo es uno de los principales factores de estrés abiótico que reduce el rendimiento de los cultivos hasta en un 50 % [1]. Entre las principales causas de salinización de los suelos están la meteorización de rocas volcánicas, la acumulación de sales por el ascenso capilar de agua freática y el acarreo de sales por agua de riego [2]. De acuerdo a los últimos datos de la FAO (2005), el 6 % del total del suelo cultivable a nivel mundial, es decir, 800 millones de hectáreas de tierra están afectadas por salinidad o sodicidad [3]. Un suelo se clasifica como salino cuando posee una conductividad eléctrica mayor a 4dS/m. En la Tabla 1 se presenta un resumen de la clasificación de los suelos por su salinidad según datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos [2].

La salinidad del suelo tiene un efecto muy importante sobre los cultivos agrícolas. El incremento de sales dificulta la capacidad de las raíces para absorber agua, lo que conduce a un progresivo decrecimiento en el desarrollo y rendimiento. Los principales efectos de la salinidad en las plantas se deben a un desbalance osmótico, toxicidad, oxidación y finalmente muerte celular [3]. Ciertas especies tienen tolerancia a la salinidad, es decir, una mejor capacidad de sobrevivencia frente al estrés salino. De acuerdo a la FAO, los cultivos altamente tolerantes resisten concentraciones de sal en el extracto de saturación mayores a 10g/L. Los moderadamente tolerantes mayores a 5g/L y las sensitivas menores a 2.5g/L [4].

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) es un frutal andino que en Ecuador se cultiva solamente para consumo interno pero que tiene un gran potencial económico y comercial debido a su exótico sabor y su alto contenido de vitaminas A, C y antioxidantes. El desarrollo de este cultivo está limitado, entre otros factores, por estreses bióticos y abióticos que afectan su producción. El cultivo no requiere condiciones agroecológicas muy exigentes. Crece en clima templado seco y sub cálido húmedo, temperatura entre 13 y 24°C, humedad entre 70 y 80 %, pluviosidad entre 600 y 1500mm, altitud entre 1800 y 2800msnm, en bosques húmedos montano bajo y secos montano bajo. En cuanto a los requerimientos edáficos, se lo encuentra en suelos francos, franco arenosos, con buen drenaje, aireación y que sean ricos en materia orgánica [5]. Este cultivo se extiende en todo el callejón interandino, cuyos suelos tienen diferentes niveles de material piroclástico y algunos de ellos pueden ser catalogados como salinos [6]. Se puede suponer entonces, que las variedades de tomate de árbol que crecen en suelos con elevados niveles de salinidad tienen activados mecanismos de tolerancia para sobrevivir en dichas condiciones. Esto, vuelve al tomate de árbol un candidato interesante para estudiar sus mecanismos de respuesta frente al estrés salino.

El objetivo del presente estudio fue determinar la tolerancia a salinidad de individuos de tomate de árbol reco-

lectados de varias localidades de la Sierra ecuatoriana. El conocimiento de la tolerancia a salinidad en este cultivo permitirá utilizarlo como un candidato para la identificación de genes responsables de dicha tolerancia, lo cual constituye un primer paso para futuros ensayos de mejoramiento genético en esta especie y otras relacionadas.

Materiales y Métodos

Material Vegetal

Para los diferentes ensayos realizados, se recolectó frutos de tomate de árbol de la variedad puntón común de ocho localidades en tres provincias de la Sierra ecuatoriana. Santiago del Rey, Imbaya, Violeta y Chaltura en Imbabura; ciudad de Ambato, Cevallos y Quero en Tungurahua, y Tumbaco en Pichincha.

Germinación in vitro de semillas de tomate de árbol en presencia de NaCl

Las semillas extraídas de frutos colectados de siete localidades (Santiago del Rey, Imbaya, Violeta, Chaltura, Ambato, Cevallos y Quero) fueron sembradas in vitro después de un proceso de esterilización que consistió en un lavado con alcohol al 70 % por 3 minutos, seguido de una inmersión en una solución de hipoclorito de sodio 2.5 % + tween 20 durante 15 minutos con agitación constante y varios enjuagues con agua destilada estéril. La siembra se realizó en medio MS [7] con 30gL⁻¹ de sacarosa, 7gL⁻¹ de Bacto Agar, pH 5.8 y cloruro de sodio en concentraciones de 50mM, 75mM, 100mM, 150mM y 200mM, y sin NaCl como control. La selección de las concentraciones de NaCl utilizadas se realizó a partir del estudio de Lui y Baird (2003) realizado en girasol [8]. Se sembró 4 frascos de cada localidad para cada concentración de NaCl. Las semillas sembradas se cultivaron en un fotoperiodo de 16 horas luz- 8 horas oscuridad a una temperatura promedio de 22°C.

Cultivo de plántulas de tomate de árbol a partir de nudo simple en presencia de NaCl

Segmentos nodales de plántulas de tomate de árbol de siete localidades (Santiago del Rey, Imbaya, Violeta, Chaltura, Ambato, Cevallos y Quero) propagadas previamente in vitro se cultivaron mediante la técnica de nudo simple. Los cultivos se realizaron en medio MS con distintas concentraciones de NaCl (50mM, 75mM, 100mM, 120mM, 150mM y 200mM) seleccionadas a partir del estudio de Lui y Baird (2003) realizado en girasol [8]. De cada localidad se cultivó 4 frascos para cada concentración de NaCl con 4 segmentos nodales en cada uno. El material vegetal se mantuvo en un fotoperiodo de 16 horas luz- 8 horas oscuridad a una temperatura promedio de 22°C.

| CE a 25° C (dS/m) | Efecto sobre la cosecha | Clasificación del suelo |
|-------------------|---|-------------------------|
| 0-2 | Comúnmente despreciable | No salino |
| 2-4 | Cultivos muy sensibles afectados | Poco Salino |
| 4-8 | Muchos cultivos afectados | Medianamente salino |
| 8-16 | Solamente cultivos tolerantes crecen bien | Muy salino |
| >16 | Solamente crecen cultivos muy tolerantes | Extremadamente salino |

Tomado de Fassbender y Bornemisza, 1987. CE: conductividad eléctrica.

Tabla 1: Resumen elaborado por la USDA que indica la clasificación de los suelos de acuerdo a su salinidad medida en base a su conductividad eléctrica.

| Provincia | Localidad | Concentración NaCl | Tiempo de germinación |
|------------|------------------|---------------------|-----------------------|
| Imbabura | Santiago del Rey | 50mM | 29 días |
| | | 75mM | 30 días |
| | | 100mM | No hubo germinación |
| | | 150mM | No hubo germinación |
| | | 200mM | No hubo germinación |
| | Imbaya | 50mM | 28 días |
| | | 75mM | 30 días |
| | | 100mM | No hubo germinación |
| | | 150mM | No hubo germinación |
| | | 200mM | No hubo germinación |
| | Violeta | 50mM | 28 días |
| | | 75mM | 31 días |
| | | 100mM | No hubo germinación |
| | | 150mM | No hubo germinación |
| | | 200mM | No hubo germinación |
| Chaltura | 50mM | 22 días | |
| | 75mM | 25 días | |
| | 100mM | No hubo germinación | |
| | 150mM | No hubo germinación | |
| | 200mM | No hubo germinación | |
| Ambato | 50mM | 31 días | |
| | 75mM | 31 días | |
| | 100mM | No hubo germinación | |
| | 150mM | No hubo germinación | |
| | 200mM | No hubo germinación | |
| Tungurahua | Quero | 50mM | 30 días |
| | | 75mM | 33 días |
| | | 100mM | No hubo germinación |
| | | 150mM | No hubo germinación |
| | | 200mM | No hubo germinación |
| Cevallos | | 50mM | 29 días |
| | | 75mM | 31 días |
| | | 100mM | No hubo germinación |
| | | 150mM | No hubo germinación |
| | | 200mM | No hubo germinación |

Tabla 2: Tiempo de germinación de semillas de tomate de árbol en diversas concentraciones de NaCl.

Crecimiento de plántulas de tomate de árbol en presencia de NaCl

Plántulas de tomate de árbol de aproximadamente 3cm cultivadas in vitro se trasplantaron a medio MS con diferentes concentraciones de NaCl: 75mM, 100mM, 120mM, 150mM, 175mM, 200mM y 250mM seleccionadas a partir del estudio de Lui y Baird (2003) realizado en girasol [8]. De cada localidad se cultivó 2 frascos con 3 plántulas en cada uno para cada concentración de sal. Las plántulas se cultivaron en un fotoperiodo de 16 horas luz- 8 horas oscuridad a una temperatura promedio

de 22°C.

Parámetros considerados para evaluar la tolerancia a salinidad de las plántulas

Para evaluar la tolerancia de las plántulas a salinidad en los tres ensayos realizados (germinación de semillas, crecimiento de segmentos nodales y crecimiento de plántulas) se tomó datos cada 10 días. Para la germinación de semillas el parámetro evaluado fue el tiempo que tardó la germinación. Para el crecimiento de segmentos nodales se consideró la velocidad de crecimiento de los segmentos y características morfológicas de las

| Provincia | Localidad | Máxima concentración de NaCl a la cual se observó crecimiento | Tiempo en el que las plántulas alcanzaron un promedio de 6cm de altura | Características de las plántulas en diferentes concentraciones de NaCl |
|------------|------------------|---|--|--|
| Imbabura | Santiago del Rey | 100mM | 30 días | Puntos amarillos en hojas Hojas color verde pálido Pocas raíces |
| | Imbaya | 100mM | 30 días | Puntos amarillos en hojas Hojas color verde pálido Pocas raíces |
| | Violeta | 100mM | 30 días | Puntos amarillos en hojas Hojas color verde pálido Pocas raíces |
| | Chaltura | 120mM | 35 días | Hojas color verde pálido Puntos amarillos en hojas Pocas raíces |
| Tungurahua | Ambato | 100mM | No se alcanzó crecimiento mayor a 3cm | Ausencia de raíces Hojas color amarillo |
| | Cevallos | 100mM | No se alcanzó crecimiento mayor a 3cm | Ausencia de raíces Hojas color amarillo |
| | Quero | 75mM | 47 días | Hojas color verde pálido Pocas raíces |

Tabla 3: Comparación del crecimiento de plántulas de tomate de árbol a partir de nudo simple provenientes de siete localidades de la Sierra ecuatoriana.

plántulas desarrolladas (tamaño de las plántulas, color de los segmentos, color de hojas, tiempo de aparición de raíces y oxidación de las plántulas). Para el crecimiento de las plántulas se observó las mismas características morfológicas descritas anteriormente y se midió el crecimiento de las plántulas por un período de dos meses.

Resultados y Discusión

Germinación in vitro de semillas de tomate de árbol en presencia de NaCl

El porcentaje de germinación de semillas provenientes de las siete localidades estudiadas en medio MS sin NaCl fue del 94 % entre los 16 y 21 días. Con respecto a la germinación en presencia de NaCl, los resultados fueron variables (Tabla 2). En 50mM de NaCl (menor concentración analizada), el porcentaje de germinación promedio se redujo al 62 % y tardó entre 22 y 31 días. El menor tiempo de germinación se obtuvo para las semillas de Chaltura (Imbabura) y el mayor para las de Ambato (Tungurahua). A una concentración de 75mM de NaCl, el promedio de germinación fue del 57 %, el tiempo varió entre 25 y 33 días, siendo el menor para semillas de Chaltura y el mayor para semillas de Quero (Tungurahua). En medio MS con concentraciones altas de NaCl (100, 150 y 200mM), la germinación fue inhibida por completo. Durante la fase inicial del proceso de germinación de la semilla se produce un ingreso de agua al interior, proceso conocido como imbibición [9]. El desbalance osmótico generado por la presencia de sal justifica la reducción de la eficiencia de germinación a medida que se incrementa la concentración de sal.

Cultivo de plántulas de tomate de árbol a partir de nudo simple en presencia de NaCl

La tolerancia a salinidad de plantas de tomate de árbol provenientes de siete localidades de la Sierra ecuatoriana se evaluó también realizando cultivo de nudo simple. Los segmentos nodales aislados de estas plantas no crecieron en concentraciones de 150mM y 200mM de NaCl. La oxidación y muerte de estos segmentos nodales se observó aproximadamente 20 días después de iniciado el cultivo. En general, en las restantes concentraciones de NaCl, se observó menor crecimiento de los segmentos nodales en comparación con los controles sin sal para las siete localidades evaluadas. A pesar de esto se pudo observar diferencias en el crecimiento de plántulas entre localidades (Tabla 3). Las plántulas más tolerantes correspondieron a la localidad Chaltura (provincia de Imbabura) y las menos tolerantes a Quero (provincia de Tungurahua). Para las plántulas de Chaltura, el crecimiento promedio en medio MS sin NaCl fue de 9cm en 22 días, mientras que en la máxima concentración de NaCl tolerada (120mM) se observó un crecimiento reducido de 6cm alcanzado en un promedio de 35 días. En cuanto a las plántulas de Quero, el máximo crecimiento se observó en MS + 75mM de NaCl, donde se obtuvo plantas de 6cm en un periodo promedio de 47 días. Las plántulas del resto de localidades también se vieron afectadas por la presencia de NaCl. Los segmentos nodales que no crecieron se ennegrecieron y oxidaron aproximadamente 20 días después de iniciado el cultivo. En las plántulas que crecieron en presencia de NaCl, se pudo observar diferencias morfológicas en comparación con el crecimiento de plántulas control. La principal diferencia fue el color de las plántulas que

| Provincia | Localidad | Concentración de NaCl a la cual se observó síntomas de estrés salino | Concentración de NaCl a la cual no se observó crecimiento | Tiempo en el cual se observó el efecto del estrés salino en plántulas | Características de las plántulas en diferentes concentraciones de NaCl |
|------------|------------------|--|---|---|---|
| | Ambato | 100mM | 175mM | 30 días | Pérdida de hojas Amarillamiento de hojas y tallos Raíces secas |
| Tungurahua | Quero | 75mM | 150mM | 15 días | Raíces secas Hojas caídas Muerte de plántulas |
| | Cevallos | 150mM | 175mM | 15 días | Pérdida de hojas Raíces secas Plántulas de color verde pálido |
| | Santiago del Rey | 100mM | 120mM | 45 días | Crecimiento reducido Amarillamiento de hojas Raíces secas |
| Imbabura | Imbaya | 150mM | 175mM | 30 días | Raíces y yemas secas Amarillamiento de hojas |
| | Violeta | 150mM | 175mM | 45 días | Raíces secas Puntos amarillos en hojas |
| | Chaltura | 175mM | 200mM | 30 días | Plántulas de color verde pálido Hojas secas |
| Pichincha | Tumbaco | 150mM | 175mM | 30 días | Raíces y yemas secas Crecimiento reducido Plántulas de color verde pálido |

Tabla 4: Comparación del crecimiento de plántulas de tomate de árbol en diferentes concentraciones de NaCl.

lucían de un verde pálido, algunas hojas amarillas, en algunos casos puntos amarillos en las hojas y con muy pocas o sin raíces. La presencia de manchas amarillas y el color pálido de las plantas han sido explicadas en función de la toxicidad generada por la sal y, adicionalmente, a que uno de los principales efectos del NaCl es que limita el ingreso de nutrientes a las células [10].

La máxima concentración de NaCl a la cual se obtuvo crecimiento de plántulas de todas las localidades analizadas con excepción de Quero, fue de 100mM. Esta concentración de sal en el medio de cultivo equivaldría a una conductividad eléctrica en el suelo de 9.5948dS/m [11]. De acuerdo a la clasificación de la FAO, las plántulas que pueden crecer en suelos con esta conductividad eléctrica se clasifican como moderadamente tolerantes a la salinidad [4]. En muchos estudios se utiliza la concentración de 100mM de NaCl como tratamiento de estrés salino en plantas [12, 13]. Esta información sumada al crecimiento observado de las plántulas de tomate de árbol a diferentes concentraciones de sal determinó que se seleccione la concentración de NaCl 100mM para ensayos posteriores relacionados con la identificación de genes que participan en la respuesta a salinidad en esta

especie.

Crecimiento de plántulas de tomate de árbol en presencia de NaCl

El último ensayo realizado para evaluar la tolerancia a salinidad de las plántulas de tomate de árbol provenientes de ocho localidades (Santiago del Rey, Imbaya, Violeta, Chaltura, Ambato, Quero, Cevallos y Tumbaco), consistió en cultivar plántulas de aproximadamente 3cm, desarrolladas previamente en condiciones in vitro, en un medio MS con distintas concentraciones de NaCl (75mM, 100mM, 120mM, 150mM, 175mM, 200mM y 250mM). Los principales resultados observados frente al estrés salino fueron: reducción en la velocidad de crecimiento de las plántulas, pérdida de intensidad en el color verde de las plántulas, amarillamiento de las hojas, caída de hojas y yemas, y raíces secas. Estos cambios coinciden con los reportados previamente por otros estudios de los efectos del estrés salino en cultivos agrícolas [3, 7, 14]. Muchos de los síntomas que se observan en las plantas expuestas a NaCl se deben a la toxicidad generada por la sal y la limitación en el ingreso de nutrientes a las células [3, 7]. Adicionalmente la pérdida

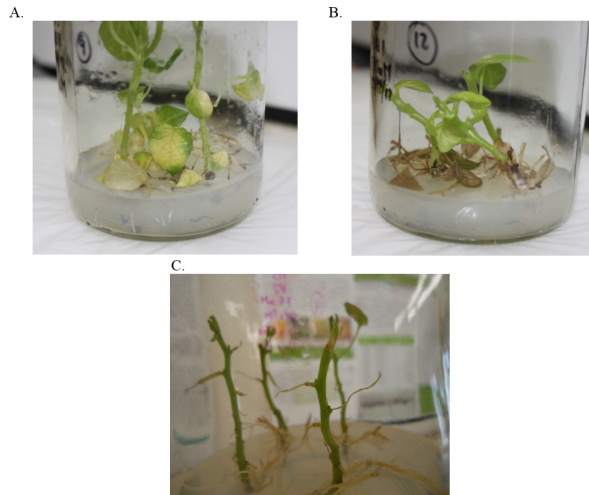


Figura 1: Características de plántulas de tomate de árbol en presencia de NaCl. A) Plántulas de Pichincha, localidad Tumbaco expuestas a una concentración de 150mM de NaCl. Se observa plántulas de color pálido, amarillamiento de hojas, caída de hojas, raíces secas. B) Plántulas de la misma localidad (Tumbaco, Pichincha) expuestas a una concentración de 175mM de NaCl. Se observa raíces secas, hojas caídas, y disminución del crecimiento. C) Plántulas de Imbaya, Imbabura, en una concentración de 150mM de NaCl. Se observa poco crecimiento, caída de hojas, yemas secas, raíces secas. Fotos tomadas 1 mes después de iniciado el cultivo in vitro en presencia de NaCl.

de coloración y amarillamiento están relacionados con un efecto adicional generado por el NaCl que es la reducción de la capacidad fotosintética de las células. Esta reducción se debe al cierre de estomas y al fuerte daño que causa el cloruro de sodio a la enzima rubisco. En presencia de NaCl se reduce la actividad catalítica de rubisco principalmente debido a la acción de radicales libres que aparecen por efecto del estrés y que alteran la estructura química de esta enzima [14]. La sintomatología observada se presenta en la Figura 1. Entre las plántulas provenientes de las ocho diferentes localidades fue posible observar claras diferencias de crecimiento (Tabla 4). Ninguna plántula creció en las concentraciones de 200mM y 250mM de NaCl. La menor tolerancia se observó en plántulas provenientes de Quero (Tungurahua). Estas plántulas crecieron hasta una concentración de 75mM de NaCl; en el resto de concentraciones de NaCl las plántulas murieron en un tiempo aproximado de 15 días con todos los síntomas de respuesta al estrés salino previamente mencionados. Por el contrario, la mayor tolerancia se observó en las plántulas provenientes de Chaltura (Imbabura). En estas plántulas el crecimiento ocurrió hasta una concentración de NaCl de 175mM (Figura 2). Los resultados de este ensayo coinciden con los obtenidos en la germinación de semillas y en el cultivo de segmentos nodales. En el país se conoce muy poco acerca del impacto real que tiene la salinización de los suelos en la productividad de los cultivos, y se ha reportado previamente la necesidad de llevar a cabo estos estudios con la finalidad de conocer mejor las condiciones edáficas de la Sierra ecuatoriana. Adicionalmente, la Dirección Nacional de Biodiversidad ha desarrollado programas con el fin de mejorar los

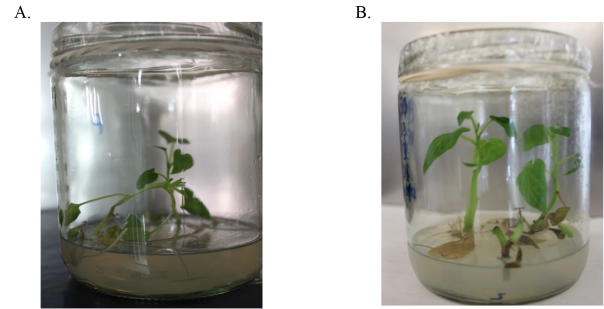


Figura 2: Crecimiento de plántulas de tomate de árbol provenientes de la localidad más y menos tolerante a salinidad. A) Plántulas de Quero en 75mM de NaCl, se observa crecimiento reducido B) Plántulas de Chaltura en 175mM de NaCl. Se observa hojas y raíces secas, crecimiento reducido. Fotos tomadas 1 mes después de iniciado el cultivo in vitro en presencia de NaCl.

sistemas de agua de riego en los territorios agrícolas del país. El objetivo de estos programas es la reducción de la desertificación de ciertas zonas, evitar problemas de salinización de suelos y así mejorar la productividad de los cultivos [15, 16]. A pesar de que existen muy pocos estudios sobre el grado de salinización de las zonas agrícolas de nuestro país, se conoce que muchos sectores de la provincia de Imbabura, incluyendo la localidad de Chaltura, está gravemente afectados por estrés salino [17]. Por esta razón, haber encontrado la mayor tolerancia a estrés salino en plántulas provenientes de esta zona es consecuente con la información existente sobre esta temática en el país.

Conclusiones

Como resultado del presente estudio se obtuvo información importante acerca de la respuesta del tomate de árbol a estrés salino en condiciones de cultivo in vitro. Se pudo identificar los individuos más y menos tolerantes a salinidad dentro de las siete u ocho localidades evaluadas en los diferentes ensayos realizados. Las plantas de tomate de árbol más tolerantes provinieron de Chaltura (provincia de Imbabura) y las menos tolerantes de Quero (provincia de Tungurahua). Este resultado fue consistente al evaluar el tiempo que demoraron las semillas en germinar, el crecimiento de segmentos nodales y el crecimiento de plántulas transferidas a medio MS con diferentes concentraciones de NaCl. El promedio de germinación de semillas fue de 62 % en 50mM de NaCl y 57 % en 75mM de NaCl, en comparación con un 94 % en MS sin NaCl. Al cultivar segmentos nodales, la máxima concentración de NaCl a la cual se observó crecimiento en los individuos de Chaltura fue de 120mM mientras que en individuos de Quero fue de 75mM. En el cultivo de plántulas de tomate de árbol en diferentes concentraciones de NaCl, la máxima concentración tolerada por plántulas de Chaltura fue 175mM y 75 mM por plántulas de Quero. Adicionalmente, en este estudio se identificó que la máxima concentración de NaCl a la cual crecieron plántulas a partir de segmentos nodales fue de 100mM en las siete localidades analizadas. Esta concentración permite clasificar a esta especie como

moderadamente tolerante a salinidad de acuerdo a datos de la FAO. Los resultados obtenidos en esta investigación son la base para realizar estudios futuros de la respuesta a salinidad del tomate de árbol a nivel genético. Entender los mecanismos y los genes que se activan en plantas tolerantes a este tipo de estrés abiótico es el primer paso para utilizar estos recursos en programas de mejoramiento de ésta u otras especies. Haber identificado al tomate de árbol como un cultivo moderadamente tolerante a la salinidad, lo convierte en un buen candidato para la identificación potencial de nuevos genes.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad San Francisco de Quito por el financiamiento para esta investigación a través del Small Grant 2008-2009, a Mario Caviedes, por sus comentarios a lo largo de la ejecución de este proyecto y a Bernardo Gutiérrez por la revisión del manuscrito.

Referencias

- [1] Wang, W.; Vinocur, B.; Altman, A. 2003. "Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance". *Planta*, 18:1–14.
- [2] Fassbender, H.; Bornemisza, E. 1987. "Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina". 2da Edición. San José, C.R.: IICA, 1994.
- [3] Munns, R. 2005. "Genes and salt tolerance: bringing them together". *New Phytologist*, 167:645–663.
- [4] Brouwer, C.; Goffeau, A.; Heibloem, M. 1985. "Irrigation water management: Training Manual No. 1- Introduction to Irrigation". *FAO Corporate Document Repository* <<http://www.fao.org/docrep/R4082E/r4082e00.htm#Contents>>.
- [5] Prohens, J.; Nuez, F. 2000. "The Tamarillo (*Cyphomandra betacea*); A Review of a Promising Small Fruit Crop". *Small Fruits Review*, 1(2).
- [6] Feicán, C.; Encalada, C.; Larriva, W. 1999. "El Cultivo del Tomate de Árbol". *Estación Chuquipata Granja Experimental Bullcay*. INIAP. Cuenca.
- [7] Murashige, T.; Skoog, F. 1962. "A revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures". *Physiologia Plantarum*, 15(3):473–497.
- [8] Liu, X.; Baird, V. 2003. "Differential Expression of Genes Regulated in Response to Drought or Salinity Stress in Sunflower". *Crop Science*, 43:678–687.
- [9] Nabors, M. 2006. "Introducción a la botánica". 1era Edición. Addison-Wisley Iberoamericana. Madrid-España.
- [10] Padilla, W. 2007. "El suelo componente importante del ecosistema". *Grupo Clínica Agrícola. Quito-Ecuador*.
- [11] Bagley, C.; Kotuby-Amacher, J.; Farrell-Poe, K. 2004. "Análisis de la Calidad del Agua para el Ganado". *Estern Beef Resource Committee. Edición Español*.
- [12] Umezawa, T.; Sakurai, T.; Totoki, Y.; Toyoda, A.; Seki, M.; Ishiwata, A.; Akiyama, K.; Kurotani, A.; Yoshida, T.; Mochida, K.; Kasuga, M.; Todaka, D.; Maruyama, K.; Nakashima, K.; Enju, A.; Mizukado, S.; Ahmed, S.; Yoshiwara, K.; Harada, K.; Tsubokura, Y.; Hayashi, M.; Sato, S.; Anai, T.; Ishimoto, M.; Funatusuki, H.; Teraishi, M.; Osaki, M.; Shinano, T.; Akashi, R.; Sasaki, Y.; Yamaguchi-Shinozaki, K.; Shinozaki, K. 2008. "Sequencing and Analysis of Approximately 40 000 soybean ADNc clones from a full-length-enriched ADNc Library". *DNA Research*, 15:333–346.
- [13] Aoki, K.; Yano, K.; Suzuki, A.; Kawamura, S.; Sakurai, N.; Suda, K.; Kurabayashi, A.; Suzuki, T.; Tsugane, T.; Watanabe, M.; Ooga, K.; Torii, M.; Narita, T.; Shin-I, T.; Kohara, Y.; Yamamoto, N.; Takahashi, H.; Watanabe, Y.; Egusa, M.; Kodama, M.; Ichinose, Y.; Kikuche, M.; Fukushima, S.; Okabe, A.; Arie, T.; Sato, Y.; Yazawa, K.; Satoh, S.; Omura, T.; Ezura, H.; Shibata, D. 2010. "Large-scale analysis of full-length ADNc from the tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivar Micro-Tom, a reference system for the Solanaceae genomics". *BMC Genomics*, 11:210.
- [14] Seeman, J.; Sharkey, T. 1986. "Salinity and Nitrogen Effects on Photosynthesis, Ribulose-1,5- Biphosphate Carboxylase and Metabolite Pool Sizes in *Phaseolus vulgaris L*". *Plant Physiol*, 82:555–560.
- [15] Dirección Nacional de Biodiversidad y Áreas Protegidas - Ministerio del Ambiente de la República del Ecuador. 2004. "Programa de acción nacional de lucha contra la desertificación y mitigación de la sequía". <<http://www.unccd.int/ActionProgrammes/ecuador-spa2004.pdf>>.
- [16] Zebrowski, C. 1996. "Los suelos con cangahua en el Ecuador". *Memorias del III Simposio Internacional sobre Suelos Volcánicos endurecidos*. 128:128–137.
- [17] Barriga, S. 2003. "Diagnóstico de la Salinidad de los Suelos Cultivados en las Principales Áreas Bajo Riego en el Ecuador". *Universidad Central del Ecuador. Tesis de Pregado. Quito*.

Terrestrial frogs in southern Andean ecosystems of Ecuador I: Two new species of *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) of the eastern versant
Ranas terrestres en los ecosistemas surandinos de Ecuador I: Dos nuevas especies de *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) de la ladera oriental

Verónica L. Urgilés¹, Juan Carlos Sánchez-Nivicela^{1,2}, Cristian Nieves¹ y Mario H. Yáñez-Muñoz^{2,3*}

¹Museo de Zoología de la Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador.

²Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, División de Herpetología, Quito, Ecuador.

³Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Ciencias Biológicas, Museo de Zoología QCAZ, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: mayamu@hotmail.com

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 03/03/2014. Aceptado/Accepted: 04/05/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

ZooBank: <http://zoobank.org/4D848E85-4D1C-45FA-BB5F-E35618334AA1>

Abstract

We describe two new species of *Pristimantis* from the cloud forest and paramo highlands protected by the Reserva Municipal Tinajillas-Gualaceño, province of Morona-Santiago, southeast versant of the Andes of Ecuador. The first species inhabits cloud forests at 2250 m and its diagnosed by the presence of spatulated digital discs and dark brown coloration (males with orange groin). The second species inhabits paramo highlands at 3200 m and exhibits a distinctive inguinal coloration with black marks on yellow background, a subconical tubercle on the snout and tympanum present.

Keywords. Terrarana, Andes, cloud forests, paramo, Morona-Santiago, *Pristimantis tinajillas* sp. nov., *Pristimantis gualaceno* sp. nov.

Resumen

Se describen dos especies nuevas de *Pristimantis* de los bosques nublados y páramos protegidos por la Reserva Municipal Tinajillas-Gualaceño, provincia de Morona-Santiago, vertiente suroriental de los Andes de Ecuador. La primera especie habita los bosques nublados entre 1900 a 2250 m y se diagnostica por la presencia de los discos digitales espatulados y coloración marrón oscuro (machos con ingles naranja). La segunda especie habita páramos a 3200 m y exhibe una distintiva coloración inguinal con fondo amarillo y manchas negras, un tubérculo subcónico en el hocico y tímpano presente.

Palabras Clave. Terrarana, Andes, bosques nublados, páramos, Morona-Santiago, *Pristimantis tinajillas* sp. nov., *Pristimantis gualaceno* sp. nov.

Introducción

Las ranas terrestres del género *Pristimantis* son el grupo de vertebrados más diversos del Neotrópico [1]. En Ecuador, la diversidad de este grupo es tan elevada que abarca a una de cada tres especies de anuros del país, porcentaje que se incrementa marcadamente en los bosques montanos orientales de los Andes [2]. Estudios en sitios inexplorados de las laderas surorientales de los Andes han generado el descubrimiento de nuevas especies [3–12]. En este artículo describimos dos nuevas especies de *Pristimantis* colectadas en el Área Ecológica de Conservación Municipal Tinajillas-Río Gualaceño, una zona recientemente protegida y en proceso de incluirse dentro del Sistema Nacional de Áreas Protegidas, SNAP.

Materiales y métodos

Las descripciones de las nuevas especies siguen el formato estandarizado propuesto por Lynch & Duellman [1] y la revisión de caracteres de Duellman y Lehr [13]. Los especímenes colectados fueron sacrificados en una solución de benzocaína, fijados en formol al 10 % y preservados en etanol al 75 %. El sexo y la edad de los especímenes se determinó por características sexuales secundarias (almohadillas nupciales y tamaño) y por inspección directa de las gónadas a través de incisiones dorso-laterales. Las siguientes abreviaturas son usadas para describir la morfometría de la especie: ON, distancia órbita-narina desde el margen anterior de la órbita hasta el margen posterior de la narina; LC, longitud cefálica desde el margen posterior de la mandíbula hasta el

ISSN 1390-5384



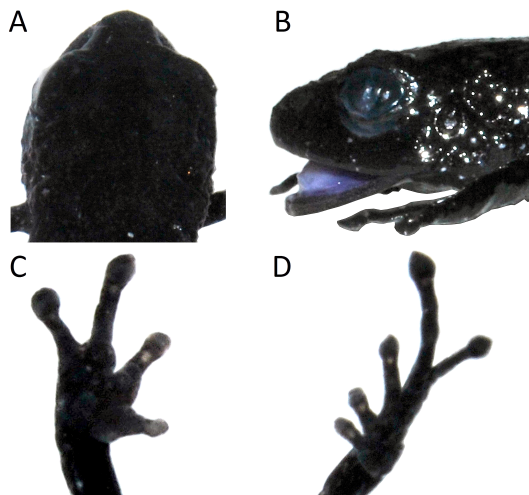


Figura 1: *Pristimantis tinajillas* sp. nov. (DHMECN 10745) (A) Cabeza en vista dorsal, (B) cabeza en vista de perfil, (C) detalle de mano, (D) detalle del pie.

extremo del rostro; AC, ancho cefálico entre la comisura de la boca; DIO, distancia interorbital; DIN, distancia internarinal; LRC, longitud rostro-cloacal; LT, longitud de la tibia; LP, longitud del pie desde el margen proximal del tubérculo metatarsal interno hasta la punta del dedo IV; LM, longitud de la mano desde la base del tubérculo tenar hasta la punta del dedo III; DT, diámetro del tímpano; DO: diámetro del ojo; AP, ancho del párpado. Las medidas fueron tomadas con un calibrador de precisión y aproximadas al 0,1 mm más cercano. Los patrones de coloración en vida fueron tomados de las notas de campo de los autores y fotografías a color. Para realizar comparaciones se examinaron especímenes de *Diasporus gularis*, *P. chalceus*, *P. scolodiscus*, *P. esmeraldas*, *P. hectus*, *P. galdi*, *P. eriphus*, *P. apendiculatus*, *P. inusitatus* y *P. bellae*. El material examinado está depositado en las siguientes colecciones ecuatorianas: DHMECN, División de Herpetología del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales, Quito; QCAZ, Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito; ZOOA, Museo de Zoología de Vertebrados, Universidad del Azuay, Cuenca.

Resultados

Pristimantis tinajillas sp. nov.

Holotipo

DHMECN 10745 (número de campo ZOOA.V.AN.0725), una hembra adulta colectada el 9 de Octubre de 2013 en el Área Ecológica de Conservación Municipal Tinajillas – Río Gualaceno (03°01'13.8"S, 78°32'51.9"W, 2550 m de elevación), parroquia General Leonidas Plaza, cantón Limón-Indanza, provincia de Morona Santiago, República del Ecuador, por Verónica L. Urgilés y Cristian Nieves.

Paratopotipos

DHMECN 10746, macho juvenil, con los mismos datos del holotipo; ZOOA.V.AN.0728, macho adulto, con los

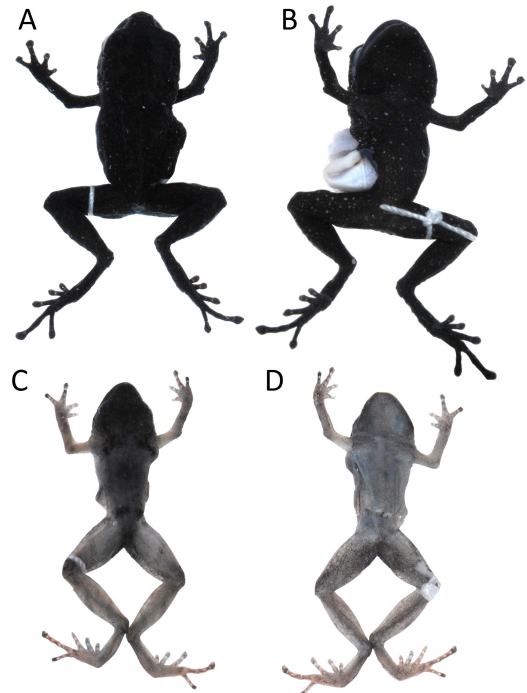


Figura 2: Aspecto dorsal y ventral en preservado de *Pristimantis tinajillas* sp. nov. (A, B) DHMECN 10745 Holotipo. (C, D) DHMECN 10746 Paratipo.

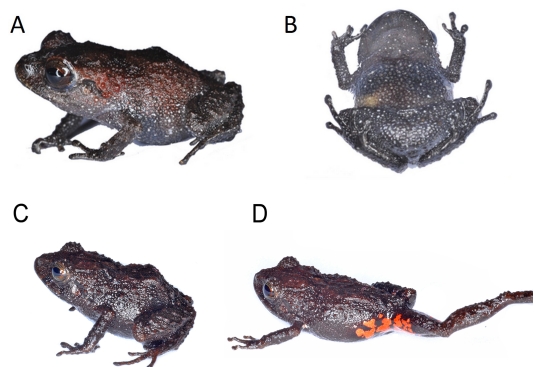


Figura 3: Variación de la coloración dorsal y ventral en vida de *Pristimantis tinajillas* sp. nov. (A, B) DHMECN 10745 Holotipo, (C, D) ZOOA.V.AN.0728 Paratipo.

mismos datos del holotipo, colectados el 5 de enero de 2014.

Etimología

El epíteto específico hace referencia de la localidad tipo, el sector montano de Tinajillas.

Diagnosis

Pristimantis tinajillas se diferencia de otras especies de *Pristimantis* por la combinación de los siguientes caracteres: (1) piel del dorso finamente granular con pequeños tubérculos redondeados esparcidos a lo largo del dorso; sin pliegues dorsolaterales; vientre fuertemente granular; pliegue discoidal débilmente definido; (2) tímpano presente, anillo timpánico redondeado equivale al

| | SVL (mm) | Piel del dorso | Piel del vientre | Coloración dorsal | Coloración ventral | Coloración de la garganta | Tubérculos en el párpado superior | Hocico vista dorsal | Elevación (mm) | Fuente |
|-----------------------|---|---|-----------------------|--|---|--|---|---------------------|----------------|----------------|
| <i>P. tinajillas</i> | Hembra: 18.6 Macho: 13.3 | Finamente granular con pequeños tubérculos esparcidos | Fuertemente aereolada | Café oscuro a café rojizo claro | Café rojizo oscuro a gris oscuro con manchas gris claro | Café oscuro a café grisáceo finalmente puntado de blanco | Dos tubérculos subcónicos y varios tubérculos aplanados | Redondeado | 2250 | Este documento |
| <i>P. chalceus</i> | Hembra: 27.7 - 31.2 Macho: 17.5 - 26.9 | Aereolado o reticulado | Aereolado | Crema a café con o sin puntos café rojizos | Blanco | Blanco | Carece de tubérculos | Acuminado | 2000 | [1, 14] |
| <i>P. esmeraldas</i> | Hembra: 22.6 Macho: 17.5 | Levemente granular | Finamente aereolado | Café oscuro con mancha en forma de W | Café con marcas crema | Café con marcas crema | Tubérculos pequeños dispersos | Redondeado | 600 | [15] |
| <i>P. scolodiscus</i> | Hembra: 18.4 Macho: 22.3 Macho: 17.9 - 20.4 | Finamente granular | Aereolado | Rosado o anaranjado | Blanco | Blanco | Pequeños tubérculos esparcidos | Subacuminado | 1200 - 1780 | [1, 14] |
| <i>P. hectus</i> | Hembra: 19.4 - 22.5 Macho: 13.6 - 16.8 | Tubercular o granular | Aereolado | Café a café rojizo con marcas blancas negras o cafés | Café con marcas crema a amarillo suave con marcas cafés | Café opaco con manchas pálidas | Dos o tres tubérculos subcónicos | Acuminado | 1200 - 1780 | [1, 14] |
| <i>D. gularis</i> | Hembra: 23.3 - 24.8 Macho: 20.2 - 21.6 | Lisa | Aereolado | Desde naranja intenso a amarillo con manchas oscuras | Blanco | Blanco | Carece de tubérculos | Subacuminado | 400 - (1200) | [1, 14] |

Tabla 1: Caracteres morfológicos usados para distinguir a *Pristimantis tinajillas* sp. nov. de especies similares.

| | SVL (mm) | Piel del dorso | Piel del vientre | Coloración dorsal | Coloración ventral | Coloración de la garganta | Tubérculos en el párpado superior | Hocico vista dorsal | Elevación (mm) | Fuente |
|--------------------------|---|--|---|---|--|---|--|--|----------------|-------------------------|
| <i>P. gualaceno</i> | Hembra: 23.8 | Finamente granular con tubérculos subcónicos esparcidos en todo el cuerpo | Fuertemente aereolado | Desde café oliváceo oscuro, verde oliva cremoso claro con manchas crema, a tomate claro con manchas rojas | Amarillo, crema amarillento tomate rojizo y gris negruzco | Amarillo claro, gris negruzco o tomate rojizo con manchas continuas negras y crema en la base | Tres tubérculos subcónicos prominentes y con varios tubérculos subcónicos pequeños | Redondeado con tubérculo subcónico en la punta | 3200 | Este documento |
| <i>P. appendiculatus</i> | Hembra: 30.0 - 35.0 Macho: 18.8 - 21.0 | Lisa | Fuertemente aereolado | Desde verde a rojizo con marcas café rojizas, hasta café con marcas café oscuras | Gris azulado con marcas negras | Gris azulado con café | Un tubérculo cónico largo | Acuminado | 1460 - 2800 | Lynch y Duellman (1997) |
| <i>P. eriphus</i> | Hembra: 25.8 - 29.0 Macho: 18.1 - 25.2 | Con espinulas | Aereolado | Verde pálido con marcas oliva oscuras | Blanco verdoso fuertemente bañado con negro | Café salpicada con manchas crema | Un tubérculo prominente | Redondeado | 2160 - 2630 | [16] |
| <i>P. bellae</i> | Hembra: 25.85 Macho: 22.13 - 23.93 | Finamente granular con numerosos tubérculos redondeados | Granular con bajos tubérculos | Verde variable hasta vino y plomo | Negras con manchas blancas | Moteada. Gris con blanco con una raya media | Uno o dos cónicos prominentes con otros pequeños a su alrededor | Subacuminado | 1800 - 2300 | [9] |
| <i>P. inusitatus</i> | Hembra: 22.2 - 26.0 Macho: 13.1 - 17.5 | Finamente granular | Fuertemente aereolado | Verde con marcas café tenue en las piernas | Blanco | Crema salpicado con verde | Un tubérculo cónico | Subacuminado | 1460 - 2800 | [16] |
| <i>P. bustamante</i> | Hembra: 21.9 Macho: 14.4 - 15.7 | Tubercular con bajos tubérculos redondeados queratinizados, densa o escasamente, a veces formando un pliegue dorsolateral incompleto | Tóscamente aereolado, con algunas verrugas agrandadas | Amarillo sucio, verde, marrón, morado oscuro, o rojo | Rosado, crema, crema sucio o gris negruzco, con manchas negras dispersas | Rosado, crema grisáceo, negro, café oscuro o gris negruzco, con manchas negras dispersas | Dos largos tubérculos cónicos y pequeños tubérculos dispersos | Ampliamente redondeado | 2745 - 3016 | [17] |

Tabla 2: Caracteres morfológicos usados para distinguir a *Pristimantis gualaceno* sp. nov. de especies similares

38 % del diámetro del ojo; (3) hocico corto, redondeado en vista dorsal, ligeramente redondeado de perfil; (4) párpado superior con dos tubérculos subcónicos y con varios tubérculos aplanados en el borde externo; párpado más corto que la distancia interorbital; cresta craneal ausente; (5) odontóforos vomerinos presentes, pequeños, oblicuos de contorno, tres y cuatro dientes vomerinos; (6) hendiduras vocales presentes y almohadillas nupciales ausentes; (7) dedo I más corto que el II, discos anchos; dedos I, II y III espatulados; (8) dedos ma-

nuales con rebordes cutáneos laterales; (9) tubérculos ulnares ausentes; (10) talón y borde extremo del tarso con tubérculos redondeados y aplanados; pliegue tarsal interno presente; (11) tubérculos metatarsal interno ovalado, de dos a tres veces más grande que el tubérculo metatarsal externo ovalado; tubérculos supernumerarios presentes; (12) dedos del pie con rebordes cutáneos laterales, membranas interdigitales ausentes, los dedos del pie del I al V espatulados, el dedo V del pie más largo que el III, y alcanza al tubérculo subarticular del dedo

IV, discos del pie ligeramente más grandes que los de la mano; (13) dorsal homogéneamente café oscuro o café grisáceo (café rojizo oscuro en vida); vientre, garganta y superficies anteriores de las extremidades café con fino punteado blanco; ingles y superficies anteriores de los muslos negros en hembras, con manchas distintivas color naranjas en machos; iris café cobrizo en parte superior e inferior y rojizo en medio, (14) LRC de la hembra adulta: 18,6 mm; machos adultos desconocidos.

Comparaciones

Pristimantis tinajillas es la única especie de los Andes surorientales del Ecuador con una coloración dorsal café oscura y las terminaciones digitales espatuladas. Cinco especies en Ecuador presentan los dedos espatulados, pero todas se distribuyen en las estribaciones y tierras bajas del occidente de Ecuador (*Diasporos gularis*, *Pristimantis chalceus*, *Pristimantis esmeraldas*, *Pristimantis hectus* y *Pristimantis scolodiscus*). *Diasporos gularis* y *Pristimantis chalceus* se diferencian de *P. tinajillas* por sus llamativas coloraciones naranja o café rojizo (homogéneamente café oscuro a café grisáceo en *P. tinajillas*). *Pristimantis esmeraldas* tiene marcas distintivas amarillas en el región inguinal (región inguinal negra en *P. tinajillas*). *Pristimantis hectus* tiene pliegues dorsolaterales y las superficies ocultas de la ingle y las extremidades naranja (pliegues dorsolaterales ausentes e ingles de coloración oscura en *P. tinajillas*). *Pristimantis scolodiscus* presenta una coloración del iris distintivamente azul (café cobrizo/rojo en *P. tinajillas*). En ninguna especie del grupo *Pristimantis* orestes de Ecuador se ha reportado dedos espatulados con ingles naranjas en machos.

Descripción del holotipo

Cabeza ligeramente más ancha que larga, hocico corto (8 % de la longitud rostro cloacal), redondeado en vista dorsal y de perfil, fosas nasales protuberantes y dirigidas dorsolateralmente; *canthus rostralis* cóncavo; región loreal cóncava con pequeños tubérculos esparcidos que se extienden hacia la parte del labio superior; cresta craneal ausente; párpado superior con dos tubérculos subcónicos y con varios tuberculos aplanados en el borde externo; pliegue supratimpánico presente; varios tubérculos subcónicos postrictales inferiores y posteriores al tímpano; membrana timpánica y anillo timpánico diferenciados, dirigidos lateralmente; anillo timpánico redondeado, borde superior cubierto por el pliegue supratimpánico, tamaño del tímpano 38 % del diámetro del ojo; coanas grandes y redondeadas, no están cubiertas por el piso palatal o el arco maxilar; dientes vomerinos presentes, oblicuos en su contorno, agrupados postero-medialmente con respecto a las coanas; lengua más ancha que larga, más ancha en la región posterior, aproximadamente el 25 % está adherida al piso de la boca.

Piel del dorso finamente granular con pequeños tubérculos redondeados esparcidos a lo largo del dorso; pliegues dorsolaterales ausentes; superficie ventral granular.

| | DHMECN | | \bar{x} | \pm |
|------------|----------|--------------|-----------|-------|
| | 10745 | 10746 | | |
| | Holotipo | Paratopotipo | | |
| | ♀ | ♂ | | |
| LRC | 18,6 | 13.31 | 13.31 | 9.41 |
| ON | 1.51 | 1.1 | 1.305 | 0.29 |
| LC | 6.93 | 4.46 | 5.695 | 1.75 |
| AC | 7.06 | 4.69 | 5.875 | 1.68 |
| DIO | 2.76 | 1.94 | 2.35 | 0.58 |
| DIN | 1.82 | 1.14 | 1.48 | 0.48 |
| LT | 8.41 | 6.84 | 7.625 | 1.11 |
| LP | 6.75 | 5.04 | 5.895 | 1.21 |
| LM | 3.98 | 2.91 | 3.445 | 0.76 |
| DT | 0.71 | 0.67 | 0.69 | 0.03 |
| DO | 1.86 | 1.36 | 1.61 | 0.35 |
| AP | 1.43 | 1.09 | 1.26 | 0.24 |

Tabla 3: Medidas morfométricas de la serie *Pristimantis tinajillas* sp nov.

Pliegue discoidal débilmente definido; cubierta cloacal corta rodeada por pequeñas verrugas elevadas. Sin tubérculos cónicos en el antebrazo; sin tubérculos ulnares; tubérculos palmares grandes, tubérculo palmar externo acorazonado, ligeramente más grande que el interno, tubérculo palmar interno oval; tubérculos supernumerarios grandes; tubérculos subarticulares aplanados en vista dorsal y lateral; dedos manuales con rebordes cutáneos laterales, sin membranas interdigitales; dedo I más corto que el dedo II, discos de los dedos anteriores espatulados, todos los dedos manuales con cojinetes ventrales bien definidos por hendiduras circunferenciales.

Extremidades posteriores esbeltas, longitud de la tibia 45 % la longitud rostro cloacal; talón y borde extremo del tarso con tubérculos redondeados y aplanados; pliegue tarsal interno presente expandiéndose un cuarto del largo del tarso; tubérculo metatarsal interno ovalado, de dos a tres veces más grande que el tubérculo metatarsal externo ovalado; tubérculos supernumerarios presentes, redondeados y aplanados; dedos del pie con rebordes cutáneos laterales; sin membrana basal entre los dedos del pie; discos del pie ligeramente más grandes que los de la mano, espatulados, definidos por hendiduras circunferenciales; longitud relativa de los dedos posteriores 1<2<3<4>5, la punta del dedo V alcanza el tubérculo subarticular del dedo IV.

Coloración en preservado

Dorso café oscuro, flancos finamente punteados con manchas blancas y café rojizas; superficies de los antebrazos, manos y pies finamente punteados de blanco, banda supratimpánica café oscuro, superficie del vientre, garganta y extremidades anteriores y posteriores finamente punteado de blanco.

Coloración en vida

Borde superior e inferior del iris cobre, con barra transversal rojo cobriza en la mitad; superficies dorsales café obscuras hasta café rojizas claras. Bandas supratimpánicas negras marcadas. En los machos la superficie del

rostro y labios tiene una tonalidad rojiza con manchas dispersas negras, mientras que en las hembras estas superficies tienen tonalidades café rojizas oscuras. Las ingles son negras en hembras, con marcas naranjas en machos; las zonas internas de los muslos son negras continuas. Los flancos son café oscuro en las hembras y café claro en los machos, en ambos casos presentan manchas gris claro dispersas en flancos y parte interna de piernas y brazos. El dorso de manos y pies, es café negruzco en las hembras y tomate obscuro en los machos. La parte externa de las extremidades es café negruzca en las hembras y café rojizo claro en los machos. El vientre y garganta son café rojizo obscuro en los machos, con manchas gris claro dispersas, en las hembras estas manchas se mantienen pero el vientre y garganta adquieren una tonalidad gris obscuro. Superficies plantares y palmares son café negruzco en hembras y café rojizo obscuro en machos.

Medidas del holotipo (en mm)

LRC= 18.6, LT= 8.41, LP=6.75, LC=6.93, AC= 7.06, AP= 1.43, DIO= 2.76, DIN= 1.82, ON= 1.51, DO= 1.86, DT= 0.71, LM= 3.98.

Variación

La coloración dorsal varía desde homogéneamente café oscura a café grisácea. Las ingles de la hembra presentan tonalidades negras, mientras que son gris con puntos blancos en el macho juvenil. El macho juvenil además presenta manchas escapulares pélvicas y un triángulo anal oscuro. Machos adultos presentan una distintiva coloración naranja intenso en las ingles.

Distribución e historia natural

Pristimantis tinajillas se conoce solamente de la localidad tipo en la parte sur de la Cordillera Oriental de Ecuador, en bosques de neblina montanos entre los 1900 a 2500 m de elevación. La hembra fue capturada en el interior del bosque sobre vegetación arbustiva alrededor de un humedal y el macho juvenil fue colectado en el piso del bosque entre hojarasca.

Comentarios taxonómicos

La condición de discos con forma de espátula está presente tanto en el género *Diasporus* como en diferentes especies de los grupos-de-especies *Pristimantis myersi*, *P. chaldeus* y *P. unistrigatus*. Hasta contar con otras líneas de evidencia para tomar un criterio acertado sobre sus relaciones filogenéticas, no asociaremos a *Pristimantis tinajillas* con ninguno de estos grupos. La morfología de *P. tinajillas* sugiere que podría estar asociado con los grupos-de-especies *P. myersi* o *P. orestes*, pero al menos el grupo *P. myersi* no se conoce que ocurra en las estribaciones surorientales de los Andes, siendo sustituido latitudinalmente por el grupo *P. orestes*.

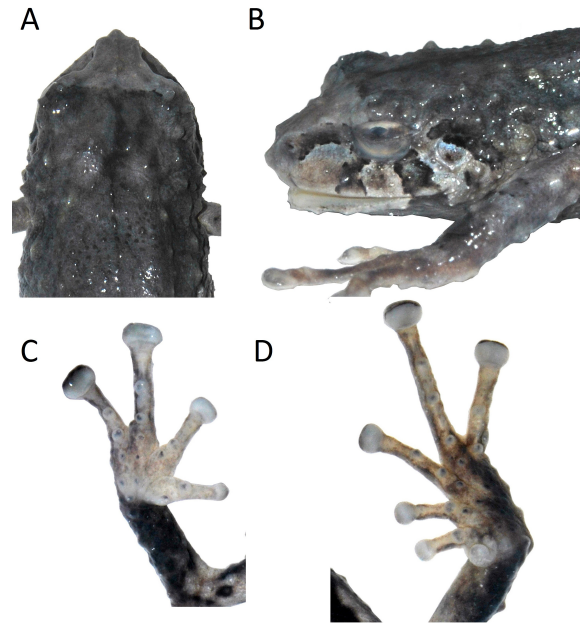


Figura 4: *Pristimantis gualaceno* sp. nov. (DHMECN 10745) (A) Cabeza en vista dorsal, (B) cabeza en vista de perfil, (C) detalle de mano, (D) detalle del pie.

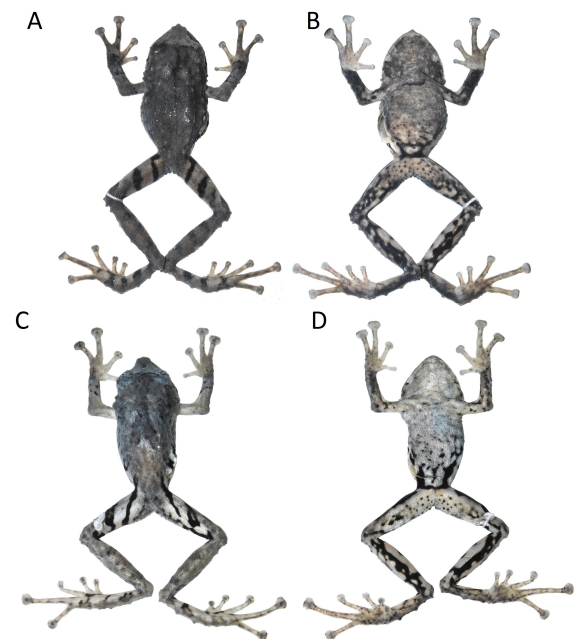


Figura 5: Aspecto dorsal y ventral en preservado de *Pristimantis gualaceno* sp. nov. (A, B) DHMECN 10747 Holotipo. (C, D) DHMECN 10749 Paratipo.

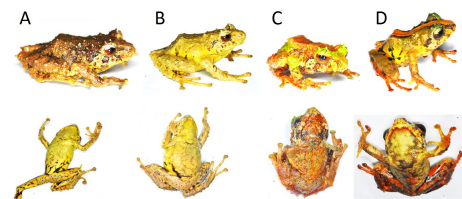


Figura 6: Variación de la coloración dorsal y ventral en vida de *Pristimantis gualaceno* sp. nov. (A) DHMECN 10745 Holotipo, (B) DHMECN 10748 Paratopotipo. (C) DHMECN 10752 Paratopotipo (D) DHMECN 10751 Paratipo.

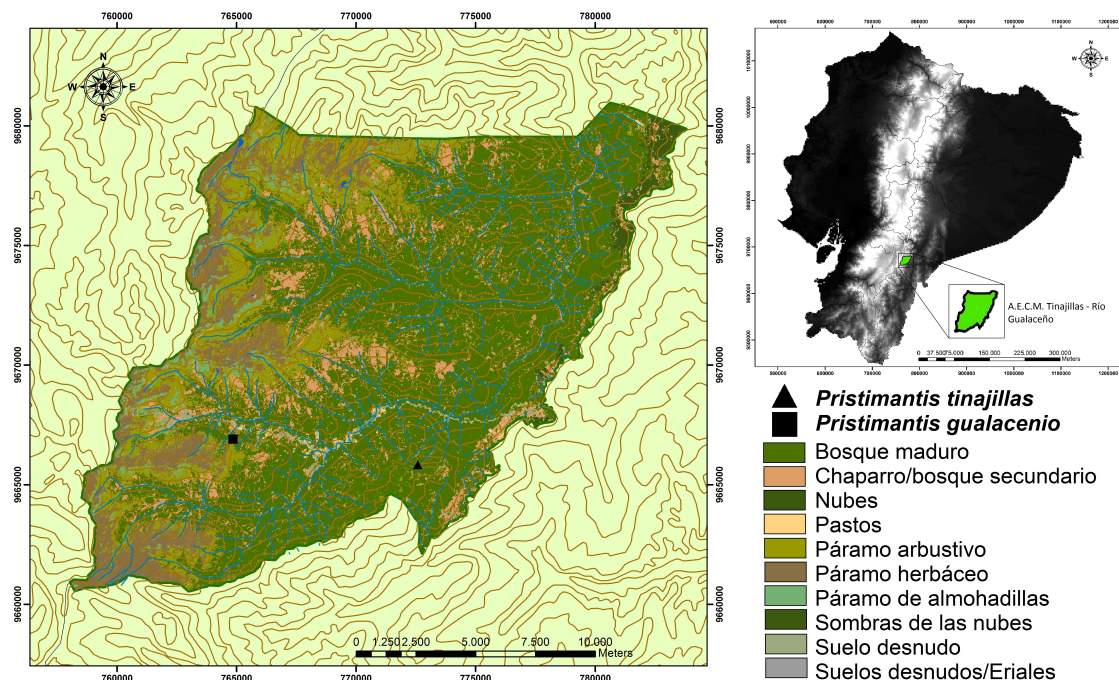


Figura 7: Zona delimitada del Área Ecológica de Conservación Municipal Tinajillas – Río Gualaceño con las localidades tipo de *Pristimantis tinajillas* (triángulo) y *Pristimantis gualacenio* (cuadrado).

***Pristimantis gualacenio* sp. nov.**

Holotipo

DHMECN 10747 (número de campo ZOOA.V.AN. 0596), una hembra adulta colectada el 4 de Octubre de 2013 en el Área Ecológica de Conservación Municipal Tinajillas–Río Gualaceño (3°01'13.8"S, 78°32'51."W, 3200 m de elevación.), parroquia General Leonidas Plaza, cantón Limón–Indanza, provincia de Morona-Santiago, República del Ecuador, por Verónica L. Urgilés y Cristian Nieves.

Paratipos

DHMECN 10748–9, hembras adultas, con los mismos datos del holotipo.

Paratopotipos

DHMECN 10751–3, 10756, juveniles, DHMECN 10750, 10754–5, neonatos, todos con los mismos datos del holotipo.

Etimología

El epíteto específico hace referencia a la localidad tipo, en los páramos y bosques montanos de la cuenca del Río Gualaceño.

Diagnosis

Pristimantis gualacenio se diferencia de otras especies del género por la combinación de los siguientes caracteres: (1) piel del dorso finamente granular con tubérculos subcónicos esparcidos en todo el cuerpo; sin pliegues dorsolaterales; vientre fuertemente granular; pliegue discoidal presente, bien definido; (2) tímpano presente, anillo timpánico redondeado equivale al 57 % del

diámetro del ojo; (3) hocico corto, redondeado con tubérculo subcónico en la punta en vista dorsal, ligeramente redondeado de perfil; (4) párpado superior con tres tubérculos subcónicos prominentes y con varios tubérculos subcónicos pequeños en superficie del párpado; párpado más corto que la distancia interorbital; cresta craneal ausente; (5) odontóforos vomerinos ausentes; (6) hendiduras vocales y almohadillas nupciales en machos desconocidas; (7) dedo I más corto que el II, discos anchos y truncados en los dedos II, III y IV; (8) dedos manuales con rebordes cutáneos laterales; (9) tubérculos ulnares presentes, subcónicos y redondeados a lo largo del borde externo del antebrazo; (10) talón y borde extremo del tarso con tubérculos grandes subcónicos; pliegue tarsal interno indistinto; (11) tubérculos metatarsales presentes, interno, redondeado, de dos a tres veces más grande que el tubérculo metatarsal externo subcónico; tubérculos supernumerarios presentes; (12) dedos del pie, con rebordes cutáneos laterales, membranas interdigitales ausentes, los discos de los dedos posteriores truncados, dedo V del pie más largo que el III y alcanzando al tubérculo subarticular del dedo IV, discos del pie ligeramente más pequeños que los de la mano; (13) dorso desde pardo a gris claro (desde verde-crema hasta café oscuro en vida) y ventralmente desde crema finamente manchado con gris hasta crema-parduzco, la región inferior del vientre conspicuamente manchado con negro y blanco (desde verde-cremoso, naranja, cenizo y amarillo en vida); ingles y superficies anteriores de los muslos con líneas negras separados por espacios blancos (amarillo y negro en vida); iris bicolor parte superior gris-azulado con finas reticulaciones, parte inferior cobre-rojizo, (14) LRC de hembras adultas 22,2–24,7 mm; machos desconocidos.

| | DHMECN 10747 Holotipo ♀ | DHMECN 10749 Paratopotipo ♀ | DHMECN 10748 Paratopotipo ♀ | DHMECN 10753 Paratopotipo Juvenil | DHMECN 10752 Paratopotipo Juvenil | DHMECN 10756 Paratopotipo Juvenil | \bar{x} | \pm | \bar{x} | \pm |
|-----|----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|--|--|-----------|-------|-----------|-------|
| LRC | 24.45 | 22.24 | 24.71 | 16.22 | 16.5 | 14.58 | 23.80 | 1.4 | 1.36 | 1.0 |
| ON | 3.12 | 2.81 | 2.66 | 2.18 | 2.21 | 1.77 | 2.86 | 0.2 | 2.05 | 0.2 |
| LC | 8.26 | 7.31 | 7.55 | 6.1 | 6.17 | 4.87 | 7.71 | 0.5 | 5.71 | 0.7 |
| AC | 9.64 | 8.52 | 9.42 | 6.43 | 6.38 | 5.67 | 9.19 | 0.6 | 6.16 | 0.4 |
| DIO | 4.06 | 3.64 | 3.22 | 2.47 | 2.44 | 1.81 | 3.64 | 0.4 | 2.24 | 0.4 |
| DIN | 2.22 | 2.38 | 1.99 | 1.47 | 1.61 | 1.13 | 2.20 | 0.2 | 1.40 | 0.2 |
| LT | 14.26 | 13.55 | 13.73 | 9.7 | 9.3 | 1.63 | 13.85 | 0.4 | 6.88 | 4.5 |
| LP | 12.75 | 11.84 | 13.02 | 7.84 | 8.58 | 6.91 | 12.54 | 0.6 | 7.78 | 0.8 |
| LM | 9.13 | 7.76 | 8.47 | 5.38 | 5.85 | 4.6 | 8.45 | 0.7 | 5.28 | 0.6 |
| DT | 1.47 | 1.35 | 1.4 | 1.06 | 0.75 | 0.75 | 1.41 | 0.1 | 0.85 | 0.2 |
| DO | 2.56 | 2.39 | 2.33 | 2.2 | 2.55 | 1.98 | 2.43 | 0.1 | 2.24 | 0.3 |
| AP | 2.05 | 2.11 | 2.15 | 1.9 | 2 | 1.6 | 2.10 | 0.1 | 1.83 | 0.2 |

Tabla 4: Medidas morfométricas de la serie *Pristimantis gualaceno* sp nov.

Comparaciones

Pristimantis gualaceno se diferencia de las otras cinco especies de ranas espinosas de los bosques andinos del Ecuador por su distintiva coloración inguinal amarilla con negro y la presencia de un tubérculo subcónico en la punta del hocico. *Pristimantis appendiculatus* de las estribaciones occidentales se diferencia por tener mayor tamaño corporal y la presencia de una protuberancia en la punta del hocico. *Pristimantis bellae* de la cuenca alta del Pastaza es similar a la nueva especie por tener tubérculos subcónicos sobre los párpados y extremidades y una coloración llamativa en las ingles, pero se diferencia por presentar un pliegue dorsolateral en forma de V invertida (ausente en *P. gualaceno*), punta del hocico sin tubérculo subcónico (presente en *P. gualaceno*) y coloración inguinal negro con manchas blancas (amarillo con negro en *P. gualaceno*). *Pristimantis eriphus* y *P. inusitatus* tienen patrones de coloración predominantemente verde en dorso con vientres crema-blanquecinos y carecen de distintivas marcas inguinales. *Pristimantis bustamante* tiene una coloración distintiva en los flancos compuesta principalmente por el patrón de bandas laterales (ausentes en *P. gualaceno*) e iris uniforme de color rojo-cobrizo (bicolor gris-azulado y rojo-cobrizo en *P. gualaceno*).

Descripción del holotipo

Cabeza más larga que ancha, hocico corto, 10 % de la distancia interorbital, redondeado con tubérculo subcónico en la punta en vista dorsal, ligeramente redondeado de perfil, fosetas nasales pronunciadas, dirigidas lateralmente, *canthus rostralis* cóncavo; región loreal agudamente cóncava con pequeños tubérculos aplanados; cresta craneal ausente; párpado superior con tres tubérculos subcónicos prominentes y con varios tubérculos subcónicos pequeños en superficie del párpado; membrana y anillo timpánico presentes, redondeados, su tamaño 57 % del diámetro del ojo; coanas redondas no adheridas al piso palatal; sin dientes vomerinos; lengua más larga que ancha, más ancha en la región posterior, aproximadamente el 25 % está adherida a la base de la boca.

Piel del dorso finamente granular con tubérculos subcónicos esparcidos en todo el cuerpo; sin pliegues dorso-

laterales; vientre fuertemente granular; pliegue discoidal presente, bien definido. Tubérculos subcónicos esparcidos en el antebrazo; tubérculos ulnares subcónicos; tubérculos palmares subcónicos desarrollados, tubérculo palmar externo ovoide, igual en tamaño y forma que tubérculo palmar interno; tubérculos supernumerarios presentes; tubérculos subarticulares grandes y redondeados en vista dorsal y lateral; dedos manuales con rebordes cutáneos laterales, sin membranas interdigitales; dedo I más corto que el dedo II, discos truncados expandidos, dedos II–IV del doble de ancho que el dígito externo, con almohadillas y bordes circunferenciales.

Extremidades posteriores largas, esbeltas, longitud de la tibia 58 % de la longitud rostro cloacal; talón y borde extremo del tarso con tubérculos subcónicos grandes; pliegue tarsal interno indistinto; tubérculo metatarsal interno redondo, de dos a tres veces más grande que el tubérculo metatarsal externo subcónico; tubérculos supernumerarios presentes, redondeados y elevados; dedos del pie con rebordes cutáneos laterales; sin membrana basal entre los dedos del pie; discos del pie de similar tamaño que los de la mano, truncados del I–V y definidos por hendiduras circunferenciales; longitud relativa de los dedos del pie 1<2<3<4>5; la punta del dedo V alcanza el tubérculo subarticular del dedo IV.

Coloración en preservado

Dorso desde pardo a gris claro, dos de los ejemplares presentan un patrón tenue en forma de V invertida. Ventralmente presentan patrones desde crema finamente manchado con gris hasta crema-parduzco, la región inferior del vientre conspicuamente manchado con negro y blanco. Los muslos y pies presentan bandas de color negro separados por interespacios blancos, los interespacios más amplios que las bandas. Bandas oscuras en la región cantal, supratimpanica, inclinadas debajo del ojo y transversales en los antebrazos.

Coloración en vida

Dorso variable entre café oliváceo oscuro, verde oliva cremoso con manchas crema, y tomate claro con manchas rojas en el medio dorso; banda supratimpanica negra irregular. Sobre la mandíbula superior se encuentran bandas labiales verticales que llegan hasta la base

del ojo, café oscuro, crema claro, o verde. Coloración en los flancos presenta patrones café, amarillentos o verdosos; extremidades adoptan los patrones de coloración del dorso con manchas transversales rojizas, crema oscuro o café oscuro. Dorso de manos y pies desde crema oscuro, verde oliva cremoso claro, tomate rojizo con verde, a verde con crema tenue. Las superficies palmares de pies y manos pueden ser crema claro o tomate rojizo con tubérculos negruzcos. Las zonas posteriores de los muslos presentan tubérculos negruzcos. Las ingles presentan patrones amarillos con marcas negras. Las partes no visibles de las extremidades inferiores pueden ser amarillas con marcas negras y en algunos casos pueden presentar coloración tomate rojizo con marcas negras. El vientre presenta una coloración variable que oscila entre amarillo, crema amarillento, tomate rojizo y crema negruzco. La garganta presenta una coloración que pueden abarcar: amarillo claro, gris negruzco o tomate rojizo con manchas continuas negras y crema en la base. Iris bicolor gris-azulado y rojo-cobrizo.

Medidas del holotipo (en mm)

LRC= 24.45, LT= 14.26, LP=12.75, LC=8.26, AC= 9.64, AP= 2.05, DIO= 4.06, DIN= 2.22, ON= 3.12, DO= 2.56, DT= 1.47, LM= 39.13.

Variación

La coloración dorsal es variable y algunos individuos tienen marcas oscuras en el dorso, una línea media dorsal ancha de color crema, o marcas café rojizas.

Distribución e historia natural

Pristimantis gualaceno se conoce solamente de la localidad tipo en la parte sur de la Cordillera Oriental de Ecuador, en bosques montanos altos y páramos arbustivos. Se colectaron especímenes en el interior del bosque sobre hojas de *Chusquea*, sobre vegetación herbácea y suros, y en páramo arbustivo.

Comentarios taxonómicos

No asignamos a *Pristimantis gualaceno* a ningún grupo de especies, pero externamente la presencia de tubérculos cónicos espinosos podría indicar una relación con especies de los grupo *P. unistrigatus* y *P. galdi*. Sin embargo, es necesario contar con otras líneas de evidencia para tomar un criterio acertado sobre sus relaciones filogenéticas. El grupo de especies *P. galdi* incluye a cuatro especies (*P. delicatus*, *P. douglasi*, *P. galdi* y *P. tribulosus*) caracterizadas por presentar la condición de crestas craneales en los bordes frontoparietales y bordes irregulares en el escamosal; una característica que está ausente en *Pristimantis gualaceno* [17].

Agradecimientos

Agradecemos al Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales MECN, a la Universidad del Azuay (a su Escuela

de Biología, Ecología y Gestión) y al personal que labora en el Museo de Zoología de Vertebrados ZOOA por su apoyo para el desarrollo de este proyecto. También al Municipio del Cantón Limón-Indanza, al departamento encargado del Área Ecológica de Conservación Municipal Tinajillas-Río Gualaceno y a su cuerpo de guardaparques por las facilidades otorgadas durante la realización de la investigación. Un reconocimiento especial a Elvis Celi, Danny Villalta, Saúl Benavides y su familia por el apoyo otorgado durante las expediciones de campo.

Referencias

- [1] Lynch, J.; Duellman, W. 1997. "Frogs of the genus *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae) in western Ecuador: Systematics, Ecology, and Biogeography". *University of Kansas, Museum of Natural History, Special Publication*, 23:1-236.
- [2] Ron, S.; Guayasamín, J.; Yáñez-Muñoz, M.; Merino-Viteri, A. 2013. "AmphibiaWebEcuador. Version 2013.1". *Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador*.
- [3] Lehr, E.; Coloma, L. 2008. "A Minute New Ecuadorian Andean Frog (Anura: Strabomantidae, *Pristimantis*)". *Herpetologica*, 64(3):354-367.
- [4] Bustamante, M.; Mendelson, J. 2008. "A New Frog Species (Strabomantidae: *Pristimantis*) from the High Andes of Southeastern Ecuador". *Zootaxa*, 1820:49-59.
- [5] Reyes-Puig, J.; Yáñez-Muñoz, M.; Cisneros-Heredia, S. D. y Ramírez. 2010. "Una Nueva Especie de Rana *Pristimantis* (Terrarana: Strabomantidae) de los Bosques Nublados de la Cuenca Alta del Río Pastaza, Ecuador". *Avances En Ciencias e Ingenierías*, 2(3):B78-B82.
- [6] Terán-Valdéz, A.; Guayasamín, J. 2010. "The Smallest Terrestrial Vertebrate of Ecuador: A New Frog of the Genus *Pristimantis* (Amphibia: Strabomantidae) from the Cordillera del Condor". *Zootaxa*, 2447:53-68.
- [7] Yáñez-Muñoz, M.; Cisneros-Heredia, D.; Reyes-Puig, J. 2010. "Una Nueva Especie de Rana Terrestre *Pristimantis* (Anura: Terrarana: Strabomantidae) de la Cuenca Alta del Río Pastaza, Ecuador". *Avances en Ciencias e Ingenierías*, 2(3):B28-B32.
- [8] Arteaga, A.; Guayasamín, J. 2011. "A New Frog of the Genus *Pristimantis* (Amphibia: Strabomantidae) from the High Andes of Southeastern Ecuador, Discovered Using Morphological and Molecular Data". *Zootaxa*, 2876:17-29.
- [9] Reyes-Puig, J.; Yáñez-Muñoz, M. 2012. "Una nueva especie de *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) del corredor ecológico Llanganates - Sangay, Andes de Ecuador". *Papeís Avulsos de Zoología*, 52(2):81-91.
- [10] Brito, J.; Pozo-Zamora, G. 2013. "Una Nueva Especie de Rana Terrestre del Género *Pristimantis* (Amphibia: Craugastoridae), de la Cordillera de Kutukú, Ecuador". *Papeís Avulsos de Zoología*, 53(24):315-325.

- [11] Guayasamín, J.; Arteaga, A. 2013. "A New Species of the *Pristimantis orestes* group (Amphibia: Strabomantidae) from the High Andes of Ecuador, Reserva Mazar". *Zootaxa*, 3616(4):345–356.
- [12] Reyes-Puig, M.; Reyes-Puig, J.; Yáñez-Muñoz, M. 2013. "Ranas Terrestres del Género *Pristimantis* (Anura: Craugastoridae) de la Reserva Ecológica Río Zúñag, Tungurahua, Ecuador: Lista Anotada y Descripción de una Especie Nueva". *Avances en Ciencia e Ingenierías*, 5(2):B5–B13.
- [13] Duellman, W.; Lehr, E. 2009. "Terrestrial-Breeding Frogs (Strabomantidae) in Perú". *Naturum un Tier-Verlag GmbH: Münster, Alemania*.
- [14] MECN. 2010. "Serie Herpetofauna del Ecuador: El Chocó Esmeraldeño". *Monografía 5. Serie de Publicaciones del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales. Quito*.
- [15] Guayasamín, J. 2004. "A new species of *Eleutherodactylus* (Anura: *Leptodactylidae*) from the northwestern lowlands of Ecuador". *Herpetologica*, 60:103–116.
- [16] Lynch, J.; Duellman, W. 1980. "The *Eleutherodactylus* of the Amazonian slopes of the Ecuadorian Andes (Anura: *Leptodactylidae*)". *Miscellaneous Publication. Museum of Natural History, University of Kansas*, 69.
- [17] Chaparro, J.; Motta, A.; Gutiérrez, R.; Padial, J. 2012. "A new species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae) from Andean cloud forests of northern Perú". *Zootaxa*, 3192:39–48.

Chemical and microbiological characterization of Ecuadorian homemade water kefir Caracterización química y microbiológica del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano

Miguel Monar¹, Irene Dávalos¹, Sonia Zapata², Mario Caviedes¹, Lucía Ramírez-Cárdenas^{1,*}

¹Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias e Ingenierías - El Politécnico, Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica, Cumbayá, Casilla Postal: 17-1200-841, Quito-Ecuador.

²Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales - COCIBA, Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica, Cumbayá, Casilla Postal: 17-1200-841, Quito-Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: lramirez@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 05/03/2014. Aceptado/Accepted: 20/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

Water kefir is a homemade fermented drink, to which certain probiotic properties are attributed. In this study, changes in acidity and °Brix of Ecuadorian homemade water kefir, elaborated with three different types of sweeteners (brown sugar, honey and granulated sugar) and at different fermentation times (24, 48 and 72 hours), were determined. The treatments arranged in a completely randomized block design (factorial 3²) was applied. A focus group evaluated and selected three prototypes due to their sensory characteristics, also acidity and °Brix were measured for chemical specifications. According to the weighting of the variable of response for microbiological count, two treatments were chosen. The treatment with the greatest acceptance due to their chemical, microbiological and sensory characteristics was the sample fermented with honey at 48 h. A phenotypic and genotypic characterization (16S DNAr) of microbiota showed the presence of *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*, which could be attributed to water kefir probiotic properties.

Keywords. water kefir, 16S DNAr, fermentation, probiotics

Resumen

El kéfir de agua es una bebida fermentada elaborada de forma casera a la cual se le atribuye ciertas propiedades probióticas. En este estudio se determinaron los cambios de acidez y °Brix del Kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano, elaborado con tres tipos de endulzantes (panela, miel de abeja y azúcar blanca granulada), a diferentes tiempos de fermentación (24, 48 y 72 horas), siendo los tratamientos dispuestos en el diseño en bloques completamente al azar, con arreglo factorial 3². Un grupo focal evaluó los prototipos y seleccionó tres debido a sus características sensoriales, midiéndose también la acidez y °Brix para obtener las especificaciones químicas. De acuerdo a la ponderación de las variables de respuesta se escogieron dos tratamientos para recuento microbiano. El tratamiento con mayor aceptación debido a sus características químicas, microbiológicas y sensoriales fue el de miel de abeja a las 48 h de fermentación. La caracterización fenotípica y genotípica (ADNr 16S) de la microbiota indicó la presencia de *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Saccharomyces cerevisiae* lo que podría conferir características probióticas al kéfir de agua.

Palabras Clave. kéfir de agua, ADNr 16S, fermentación, probióticos

Introducción

El kéfir de agua o kéfir azucarado es una bebida fermentada consumida de forma casera principalmente en México y Brasil. Es elaborado a base de una solución de sacarosa, generalmente entre 3 y 10%; frutas frescas, principalmente limones; frutas secas como higos y un inóculo de microorganismos denominado “tíbcos” o

“tibi” [1]. Los tíbcos son gránulos similares a una coliflor, con un diámetro promedio de 5 a 20 mm, apariencia transparente y estructura elástica [2]. Producto de la fermentación durante uno o dos días a temperatura ambiente se obtiene una bebida carbonatada ligeramente coloreada, con sabor levemente ácido por la producción de ácido láctico y ácido acético, poca concentración de azúcar y una ligera cantidad de alcohol [3], que no llega

a superar el 2 % (v/v) [4].

El origen de los gránulos de kéfir de agua es aún incierto. Existen algunas descripciones de gránulos similares llamados “plantas de cerveza de jengibre” que soldados ingleses importaron de la guerra de Crimea en 1855 [2]. Así mismo, se reportaron “granos Tibi” de origen mexicano relacionados con el cactus (*Opuntia*) de donde los gránulos eran removidos de las hojas. Son varios los nombres con los que se les conoce a los tísticos, como: “abejas de California”, “abejas Africanas”, “nueces de cerveza”, “balm of gilead” y “semillas japonesas de cerveza”. Finalmente fueron denominados “granos de kéfir azucarado” con el fin de distinguirlos del kéfir de leche [2].

En general, la microbiota del kéfir de agua está compuesta por una estructura de polisacárido dextrinado insoluble en agua, en donde viven en simbiosis bacterias acidolácticas, bacterias ácido acéticas y levaduras. El polisacárido es un polímero de glucosa con enlaces α 1-6. Se ha identificado al *Lactobacillus hilgardii* como la principal bacteria encargada de la producción del polímero, por medio de la enzima glicosiltransferasa [2]. La simbiosis entre levaduras y bacterias en los “tísticos” ocurre debido a que el crecimiento de las levaduras se produce por la acidificación del medio creado por las bacterias; mientras que el crecimiento de las bacterias es estimulado por la producción de factores de crecimiento (vitaminas) y compuestos nitrogenados solubles por parte de las levaduras [4].

Los microorganismos presentes en cada gránulo de kéfir azucarado o kéfir de agua dependen de la región, así como del país de origen. Un estudio realizado en Brasil comparó los microorganismos presentes en los gránulos de kéfir provenientes de diferentes regiones del país. Se encontraron diferencias en la composición de la microbiota del gránulo según su lugar de origen; sin embargo, el impacto del clima, medios y métodos de cultivo permanecen desconocidos [1].

Las bacterias acidolácticas (BAL) envuelven a tres géneros tradicionales *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Sin embargo, se incluye también a los géneros *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Vagococcus* [5]. Son bacilos o cocos Gram-positivos asporógenos, producen ácido láctico a partir de hexosas, en su mayoría son aerotolerantes que carecen de citocromos y porfirinas, por lo que son catalasa y oxidasa negativa [6], crecen dentro de un rango de pH de 4.0 a 4.5; y según su metabolismo se dividen en homofermentativas y heterofermentativas [5]. Algunos beneficios para la salud son atribuidos a las BAL como la inhibición de patógenos, lo cual puede ser el resultado de la producción de diferentes ácidos y metabolitos como ácido láctico y ácidos orgánicos similares, peróxido de hidrógeno y bacterosinas así como diacetil y CO_2 [6].

En un estudio se observó que las bacterias acidolácticas estimulaban el sistema inmune, aumentando el número de macrófagos, linfocitos, inmunoglobulina A (IgA) y

| Ingredientes | Cantidad |
|--------------|----------|
| Agua | 300.0 mL |
| Endulzante | 22.5 g |
| Tísticos | 18.0 g |

Tabla 1: Formulación del kéfir de agua.

la producción de interferón gamma. Estos efectos ayudaban a mejorar la resistencia del hospedador frente a la colonización de microorganismos patógenos [5].

El presente estudio tuvo como objetivos determinar las características químicas adecuadas para la posible industrialización del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano y caracterizar fenotípica y genotípicamente los microorganismos presentes en la bebida.

Elaboración del kéfir de agua

A partir de una formulación base [7] (Tabla 1), se modificó el tipo de endulzante y el tiempo de fermentación. Este experimento se ejecutó bajo un diseño en bloques completamente al azar con un arreglo factorial 3^2 correspondiente a la combinación de dos factores con tres niveles cada uno: tipo de endulzante (miel de abeja, azúcar y panela) y tiempo de fermentación (24, 48 y 72 horas), con tres repeticiones, obteniéndose nueve tratamientos, y un total de 27 unidades experimentales. Las variables de respuesta fueron: acidez y grados Brix.

Análisis Físico-Químicos

El grupo focal realizado con 6 personas (3 hombres y 3 mujeres), determinó las características requeridas para la bebida, siendo: Acidez intermedia (entre 5 % y 9 % de ácido láctico) y menor °Brix (a menor cantidad de sólidos solubles presentes en la bebida existe mayor fermentación). Acidez y °Brix fueron analizados según los métodos descritos por Lees [8].

La ponderación de las variables permitió encontrar los mejores tratamientos, asignándose 1 a la acidez y 2 a los °Brix.

Análisis Microbiológicos

Se pesó 20 g de la muestra y se diluyó en 180 mL de citrato de sodio al 2 %. A continuación se preparó una serie de diluciones decimales adicionales [9], para lo cual se tomó 1 mL de la primera dilución y se transfirió a un tubo de ensayo que contenía 9 mL de solución de citrato de sodio al 2 %, se obtuvo la dilución de 10^{-2} , repitiéndose este procedimiento hasta obtener a una dilución de 10^{-6} .

Recuento de Bacterias ácido lácticas (BAL)

Se colocó 0.1 mL de cada dilución en los medios MRS (Man. Rogosa y Sharpe) que es un agar selectivo para *Lactobacillus spp.* y medio M17 que promueve el crecimiento de cocos Gram positivos (*Pediococcus*, *Lactococcus* y *Leuconostoc*) y se incubó en una atmósfera micro-aerófila (5 % de CO_2) a 37 °C por 48 horas.

| Fuentes de Variación | G.L. | Cuadrados Medios | |
|----------------------------|------|------------------------|-----------------------------|
| | | ° Brix | Acidez (% ácido láctico) |
| Total | 26 | | |
| Bloques | 2 | 0.0033 ^{n.s.} | 0.4535 ^{n.s.} |
| Tratamientos | 8 | 1.1300* | 63.8969* |
| Tiempo de fermentación (A) | 2 | 0.2211* | 65.3469* |
| Tipo de endulzante (B) | 2 | 4.2700* | 165.7454* |
| Interacción A x B | 4 | 0.0144* | 12.2477* |
| Error | 16 | 0.0033 | 0.1363 |

*Significativo al 5 % de probabilidad por la prueba F.

n.s. No significativo al 5 % de probabilidad por la prueba F.

Tabla 2: Resumen del análisis de Varianza (ANOVA) de °Brix y acidez expresada en porcentaje de ácido láctico de los tratamientos.

Se realizó el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (ufc) a las 48 horas siguiendo el método del libro "The Compendium of Methods for the Microbial Examination of Foods" [10].

Recuento e identificación de levaduras

Se extendió 0.1 mL de cada dilución en el medio Saboraud con 4 % de glucosa. La incubación se realizó en condiciones aeróbicas a temperatura ambiente. Se contaron las colonias al segundo día de incubación. La identificación de levaduras fue realizada mediante la galería API Candida (Biomérieux, Francia).

Análisis molecular

Extracción de ADN

Se aislaron algunas colonias con diferentes morfologías de los medios MRS y M17. Cada cepa se volvió a aislar en medio MRS o M17 y se trasladaron 3 a 10 colonias a tubos Eppendorf de 1.5 mL que contenían 300 μ L de agua estéril y se sometió a ebullición durante 10 min. Posteriormente se centrifugó a 12000 rpm durante 3 minutos, se mezcló con glicerol y se congeló para ser utilizado posteriormente [10].

Amplificación del ADNr 16S

Para la amplificación del ADNr 16S (1500 pb) se utilizaron primers universales 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3') [11]. Se preparó una reacción que contenía 10 μ L de ADN, Buffer 1X (Promega), MgCl₂ (0.25 mM), dNTP's (0.2 μ M) 0.2 μ M de cada primer, 0.6 U GoTaq DNA polymerase (Promega, Madison USA), y agua para completar 50 μ L. Las condiciones de amplificación fueron: después de una denaturación inicial a 94 °C por 1 minuto, 30 ciclos (94 °C por 30 s, 50 °C por 30 s, 72 °C por 30 s) y una extensión final a 72 °C por 10 min. Todos los productos de PCR fueron analizados en geles de agarosa al 1 % y 0.01 % de bromuro de etidio. Posteriormente fueron enviados para secuenciación en ambas direcciones a la empresa Functional Biosciences, Madison, Wisconsin-USA.

Análisis Químicos

Según la Tabla 2 existió una diferencia significativa entre los tratamientos para las dos variables. Igualmente tanto el tiempo de fermentación como el tipo de endulzante y su interacción afectaron significativamente a los °Brix y acidez de los tratamientos. Por otro lado, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los bloques.

El Coeficiente de Variación de los °Brix fue de 0.94 % y de la acidez 6.53 %. Según [12] para ensayos realizados en laboratorios o invernaderos se consideran valores aceptables los cercanos al 5 %.

Los tratamientos 4, 5 y 6 (miel de abeja a las 24, 48 y 72 horas) fueron estadísticamente iguales (Tabla 3) y presentaron la menor cantidad de °Brix, siendo los mejores.

En la Figura 1 se presentan los cambios en los °Brix de los tres tipos de endulzantes durante 72 horas de fermentación, observándose una disminución conforme aumentaba el tiempo de fermentación, debido a que las bacterias presentes utilizan glucosa y fructosa como fuente de energía. Un estudio sobre el kéfir de agua mostró que el contenido de sólidos solubles (°Brix) se redujo al final de la fermentación [4].

La Tabla 3, también muestra que los tratamientos 4 y 5, (miel de abeja a las 24h y 48h respectivamente), fueron

| Tratamientos | °Brix * | Acidez (% de ácido láctico)* |
|--------------|---------|---------------------------------|
| 7 | 6.80 a | 0.71 d |
| 8 | 6.77 a | 0.86 d |
| 9 | 6.63 ab | 1.71 cd |
| 1 | 6.63 cb | 3.14 cd |
| 2 | 6.40 c | 4.85 cd |
| 3 | 6.13 d | 10.83 a |
| 6 | 5.57 e | 13.11 a |
| 5 | 5.40 e | 9.89 ab |
| 4 | 5.23 e | 5.82 cb |

*Medias seguidas por las mismas letras no difieren entre sí al 5 % de probabilidad por la prueba de Tukey.

Tabla 3: Grados Brix y acidez de los tratamientos

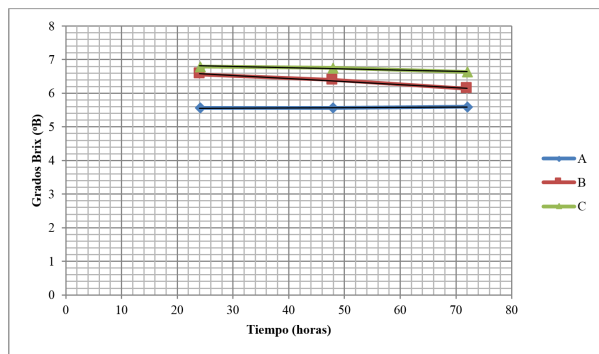


Figura 1: Cambio de los grados Brix a lo largo del tiempo (horas). A: miel de abeja. B: panela. C: azúcar.

estadísticamente iguales y tuvieron una acidez intermedia en comparación al resto de tratamientos, cumpliendo la especificación requerida.

En la Figura 2 se presentan los cambios en la acidez de los tres tipos de endulzantes durante 72 horas de fermentación, ocurriendo un incremento al transcurrir el tiempo de fermentación para los tres tipos de endulzantes. Las bacterias del género *Leuconostoc* tienen la capacidad de producir ácido láctico como metabolito principal a partir de glucosa y fructosa [13]. Este género se encontró en cantidades considerables en estudios de caracterización del kefir de agua [4, 14].

Así mismo, se observó que los tratamientos formulados a base de miel de abeja fueron los que tuvieron mayor porcentaje de ácido láctico, lo que puede ser debido a que la miel de abeja contiene 29 % de glucosa y 38 % de fructosa en su composición y solo un 4 % de sacarosa [15], de esta manera las bacterias tienen mayor disponibilidad de sustrato para la formación de ácido láctico. En el caso de la panela, el porcentaje de azúcares reductores es de 9.15 % y de sacarosa 80.91 % [16]; mientras que, el porcentaje de azúcares reductores del azúcar blanca granulada es de 0.04 % [17]. La panela como el azúcar tienen menor disponibilidad de sustrato, por lo tanto la producción de ácido láctico podría ser menor en comparación a la miel de abeja.

Con la ponderación de las variables de respuesta los mejores tratamientos fueron miel de abeja a las 24 y 48 horas de fermentación al obtener el mayor puntaje. En estos dos tratamientos se realizaron recuentos de bacterias ácidolácticas y levaduras. El tratamiento con un número mayor a 10^6 ufc/mL fue seleccionado para la caracterización microbiológica [18–20].

Análisis Microbiológicos

Para determinar las condiciones óptimas de crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) se cultivó en los medios MRS y M17 bajo condiciones aeróbicas y microaerofílicas (5 % de CO_2) a 37°C (Tabla 4). Los recuentos mostraron que las condiciones óptimas para el crecimiento de BAL en los dos medios fueron en ambiente micro-aerofílico a 37°C . La Condición 2 fue seleccionada como mejor tratamiento debido a que mostró los recuentos más altos.

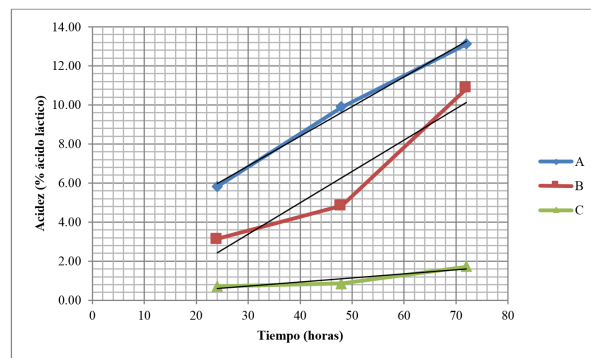


Figura 2: Cambio de la acidez (% de ácido láctico) a lo largo del tiempo (horas). A: miel de abeja. B: panela. C: azúcar.

Los recuentos de bacterias ácido lácticas y levaduras realizados por triplicado indicaron que el tratamiento 2 contenía entre $3,2 \times 10^9$ y $4,1 \times 10^9$ ufc BAL/mL, siendo recuentos superiores a la cantidad mínima requerida para que un alimento sea considerado probiótico (10^6 ufc/mL) [18, 19]. Por otro lado, el recuento de levaduras (2.8×10^7 ufc/mL) estuvo por debajo de lo recomendado para alimentos probióticos 1×10^{10} ufc/mL) (Tabla 5).

Las secuencias analizadas mostraron niveles altos de homología con *Leuconostoc citreum* JQ712017.1, *Leuconostoc holzapfelii* NR_042620.1, *Leuconostoc pseudomesenteroides* AB598984.1 y *Leuconostoc mesenteroides* JQ712026.1. El árbol obtenido por el método de Neighbor-joining (Figura 3), permitió identificar las secuencias obtenidas como *Leuconostoc holzapfelii* (5 cepas) y *Leuconostoc pseudomesenteroides* (1 cepa).

La identificación fenotípica de las levaduras indicó que se trata de *Saccharomyces cerevisiae*.

Leuconostoc holzapfelii es un cocobacilo Gram-positivo que produce ácido láctico y CO_2 a partir de glucosa y fructosa y se le ha encontrado asociado con la microbiota de la fermentación del café etíope y en masas fermentadas a partir de harina de trigo sarraceno (planta originaria de Asia central) y Teff (herbácea cultivada principalmente en Etiopía) [13, 21]. Adicionalmente, un estudio identificó a *Leuconostoc pseudomesenteroides* en pozol (bebida fermentada, ácida, no alcohólica a base de maíz de origen Maya) a la cual se le atribuye beneficios como el control de diarreas, disminución de fiebre, entre otros [22]. Por otro lado, se determinó la presencia de *L. pseudomesenteroides* en alimentos fermentados como cassava fermentada elaborada en Benin, queso elaborado en India, leche fermentada elaborada en Kenia [23], Nukadoko (tipo de arroz utilizado para la elaboración de Nukazuke, encurtido elaborado en Japón) [24], jugo de caña [25] y quesos artesanales elaborados a partir de leche no pasteurizada [26].

El género *Leuconostoc* es uno de los microorganismos utilizados como probiótico en conjunto con otras bacterias ácido lácticas de los géneros: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* y levaduras del género *Saccharomyces* [27, 28]. En un estudio sobre el Pulque (bebida fermentada mexicana, no

| Condición | Recuento de BAL en MRS | | Recuento de BAL en M17 | |
|-----------|------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| | ufc/mL | | ufc/mL | |
| | Aeróbico | Micro-aerofílico | Aeróbico | Micro-aerofílico |
| 1 | 1.5×10^4 | 2.1×10^4 | 1.0×10^4 | $>2.5 \times 10^5$ |
| 2 | 2.1×10^4 | $>2.0 \times 10^5$ | 2.0×10^4 | $>2.5 \times 10^5$ |

Tabla 4: Recuentos de bacterias ácido lácticas en condiciones aeróbicas y anaeróbicas a 37 °C para los tratamientos 1 y 2

| Número de ensayos | Recuento de BAL | Recuento de BAL | Recuento de levaduras |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|
| | <i>Lactobacillus spp</i> | <i>Lactobacillus spp</i> | |
| | ufc/mL | ufc/mL | ufc/mL |
| 1 | 3.2×10^9 | 4.1×10^9 | 2.8×10^7 |
| 2 | 3.2×10^9 | 4.2×10^9 | 2.8×10^7 |
| 3 | 3.3×10^9 | 4.1×10^9 | 2.8×10^7 |
| Promedio | 3.2×10^9 | 4.1×10^9 | 2.8×10^7 |

Tabla 5: Recuentos de bacterias ácido lácticas y levaduras del kefir de agua artesanal

alcohólica, no destilada y elaborada a partir de la fermentación de varias especies de Agave) se encontró la presencia de *Leuconostoc spp.* con importante actividad antimicrobiana *in vitro* en contra de *Escherichia coli* EPEC 2348/69, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* serovar Typhi y *S. enterica* serovar Typhimurium. Mientras que *in vivo*, disminuyó la capacidad de infección de *S. enterica* serovar Typhimurium L1334 lo que podría sugerir propiedades antimicrobianas. Sin embargo, se recomienda realizar ensayos *in vivo*, así como estudios clínicos y epidemiológicos con el fin de establecer la capacidad de colonización, adherencia al intestino, resistencia a pH bajo y sales biliares de las cepas de *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Leuconostoc hozapfeli* indentificadas en el kefir de agua.

Saccharomyces cerevisiae ha sido aislado de varios alimentos, bebidas alcohólicas y leches fermentadas de África tales como; “kenkey” (Ghana), “Mawe” (Benin), “Masa” (Nigeria), “Munkoyo” (Zambia), “Busaa” (Kenya), “Chikokivana” (Zimbabwe), “Amasi” (Zimbabwe) “Mbanik” (Senegal), “Nono” (Nigeria), entre otros [29]. Produce alcohol y otros componentes aromáticos como ésteres y ácidos orgánicos a partir de carbohidratos. Además se identificó que cinco cepas de *S. cerevisiae* fueron capaces de sobrevivir al bajo pH del estómago y al pH del tracto intestinal lo que les convierte en posibles probióticos [30]. Por otro lado, aporta “flavor” a los productos fermentados y puede coexistir con otros tipos de microorganismos como bacterias ácido lácticas. Es posible que esta levadura además aporte al valor nutricional de alimentos fermentados, al estar asociada con producción de vitamina B12 y algunos aminoácidos [29]. En otro estudio realizado en Pulque, se aislaron grupos microbianos de los géneros: *Zymomonas*, *Lactobacillus* y *Saccharomyces* que han sido reportados como microorganismos con posible efecto probiótico [31]. Asimismo, se ha reportado el uso de cepas de *S. cerevisiae* y *S. bulgardii* en la prevención de varios tipos de diarrea y colitis en humanos [30].

Conclusiones

Se logró establecer las características químicas adecuadas para la industrialización y comercialización del kefir de agua. Al utilizar miel de abeja como sustrato para la fermentación se obtuvieron valores de acidez apropiados según la preferencia de los consumidores, además se redujo el contenido de grados Brix inicial, lo que es un indicador de fermentación.

La concentración de bacterias acidolácticas presentes en el kefir de agua ecuatoriano fue de 4×10^9 ufc/mL, y el recuento de levaduras fue de 3×10^7 ufc/mL. Por lo tanto, la bebida podría ser considerada probiótico debido a que excede la cantidad mínima de bacterias ácido lácticas requeridas (10^6 ufc/mL). Sin embargo, la cantidad de levaduras fue menor a la cantidad requerida para ejercer el efecto probiótico.

La caracterización fenotípica y molecular de la microbiota del Kefir mostró la presencia de *Leuconostoc Hozapfelii*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Saccharomyces cerevisiae*.

De acuerdo con algunos estudios, tanto *Leuconostoc* como *Saccharomyces* aportan con propiedades benéficas para la salud por tanto, es posible que esta bebida pueda ejercer un efecto probiótico en los consumidores [27, 28, 30, 31].

Agradecimientos

Al Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Universidad San Francisco de Quito, por el uso de sus instalaciones, equipos, materiales y reactivos, y particularmente a Javier Garrido y Carolina Andino. A su vez, al Laboratorio de Microbiología por la prestación de materiales y reactivos, y la colaboración de Carolina Proaño. Finalmente un agradecimiento a Paola Carrillo y Juan Daniel Mosquera por la revisión de la bibliografía.

Referencias

- [1] Miguel, M.; Cardoso, P.; Magalhães, K.; Schwan, R. 2011. “Profile of microbial communities present in ti-

- bico (sugary kefir) grains from different Brazilian States". *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 27(1):1875–1884.
- [2] Waldherr, F.; Doll, V.; Meissner, D.; Vogel, R. 2010. "Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir". *Food Microbiology*, 27(5):672–678.
- [3] Gulitz, A.; Stadie, J.; Wenning, M.; Ehrmann, M.; Vogel, R. 2011. "The microbial diversity of water kefir". *International Journal of Food*, 151(3):284–288.
- [4] Teixeira, M.; Pereira, G.; Dias, D.; Freitas, R. 2010. "Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir". *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 26(7):1241–1250.
- [5] Jay, J. 1994. "Microbiología moderna de los alimentos". *Acribia S.A.: Zaragoza*.
- [6] Adams, M.; Moss, M. 1997. "Microbiología de los alimentos". *Acribia S.A.: Zaragoza*.
- [7] Ebookbrowse. s.f. 2011. "Kéfir de agua". *Enlace: <http://ebookbrowse.com/kefir-de-agua-pdf-d53056391>*. Fecha de consulta: 31 de Octubre de 2011.
- [8] Lees, R. 1982. "Análisis de los alimentos". *Acribia S.A.: Zaragoza*.
- [9] Camacho, A.; Giles, M.; Ortegón, A.; Ortegón, M.; Serrano, B.; Velázquez, O. 2009. "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis". *Facultad de Química, UNAM*.
- [10] Merck. "Microbiology Manual".
- [11] Martin-Laurent, F.; Philippot, L.; Hallet, S.; Chaussod, R.; Germon, J.; Soulas, G.; Catroux, G. 2011. "DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods". *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5):2354–2359.
- [12] Sanchez-Otero, J. 2008. "Introducción al Diseño Experimental". *Quito: INGELSI*.
- [13] De Bruyne, K.; Schillinger, U.; Caroline, L.; Boehringer, B.; Cleenwerck, I.; Vancanneyt, M.; De Vuyst, L.; Franz, C.; Vandamme, P. 2007. "*Leuconostoc holzapfelii* sp. nov., isolated from Ethiopian coffee fermentation and assessment of sequence analysis of housekeeping genes for delineation of *Leuconostoc* species". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(12):2952–2959.
- [14] Waldherr, F.; Doll, V.; Meissner, D.; Vogel, R. 2010. "Identification and characterization of a glucan-reducing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir". *Food Microbiol*, 27(5):672–678.
- [15] Zandamela, E. 2008. "Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique". *Universidad Autónoma de Barcelona, Tesis Doctoral: Barcelona*.
- [16] Bressani, R. 2012. *Instituto de Nutricion de Centro América y Panamá INCAPI*.
- [17] Kirk, R.; Sawyer, R.; Egan, M. 2004. "Composición y análisis de los alimentos de Pearson". *Editorial Continental: Mexico D.F.*
- [18] Sanz, Y.; Collado, M.; Dalmau, J. 2003. "Probióticos: Criterios de Calidad y Orientaciones para el Consumo". *Acta Pediátrica Española*, 61(9):58–64.
- [19] Olagnero, G.; Abad, A.; Bendersky, S.; Genevois, C.; Granzella, L.; Montonati, M. 2007. "Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos". *DIAETA: Buenos Aires*.
- [20] Shobharani, P.; Renu, A. 2011. "A Potent Probiotic Strain from Cheddar Cheese". *Indian Journal of Microbiology*, 3(51):251–258.
- [21] Moroni, A.; Arendt, E.; Dal Bello, F. 2011. "Biodiversity of lactic acid bacteria and yeasts in spontaneously-fermented buckwheat and teff sourdoughs". *Food Microbiology*, 3(28):497–502.
- [22] Rodríguez, A. 2011. "XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería".
- [23] Oguntoyinbo, F.; Huch, M.; Cho, G.; Schillinger, U.; Holzapfel, W.; Sanni, A.; Franz, C. 2010. "Diversity of bacillus species isolated from okpehe, a traditional fermented soup condiment from Nigeria". *Journal of Food Protection*, 73(5):870–878.
- [24] Sawa, N.; Okamura, K.; Zendo, T.; Himeno, K.; Nakayama, J.; Sonomoto, K. 2009. "Identification and characterization of novel multiple bacteriocins produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* QU 15". *Journal of Applied Microbiology*, 109(1):282–291.
- [25] Dong-Wook, K.; Sang-Haeng, C.; Aram, K.; Seong-Hyeuk, N.; Ryong, N.; Aeri, K.; Dae-Soo, K.; Hong-Seog, P. 2011. "Genome Sequence of *Leuconostoc pseudomesenteroides* KCTC 3652". *Journal of Bacteriology*, 193(16):4299.
- [26] Van Hoorde, K.; Van Leuven, I.; Dirinckx, P.; Heyndrickx, M.; Coudijzerd, K.; Vandamme, P. 2010. "Selection, application and monitoring of *Lactobacillus paracasei* strains as adjunct cultures in the production of Gouda-type cheeses". *International Journal of Food Microbiology*, 2(144):226–235.
- [27] Amores, R.; Calvo, A.; Maestre, J.; Martínez-Hernández, D. 2004. "Probióticos". *Revista Española de Quimioterapia*, 2(17):131–139.
- [28] Ramírez, J.; Ulloa, P.; Velázquez González, M.; Ulloa, J.; Arce Romero, F. 2011. "Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud". *Revista Fuente Año*, 7:1–16.
- [29] Jespersen, L. 2003. "Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages". *FEMS, Yeast Research*, 3(2):191–200.

- [30] Pennacchia, C.; Blaiotta, G.; Pepe, O.; Villani, F. 2008. "Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics". *Journal of Applied Microbiology*, 6(105):1919–1928.
- [31] Cervantes-Contreras, M.; Pedroza-Rodríguez, A. 2007. "El pulque: características microbiológicas y contenido alcohólico mediante espectroscopia". *Raman. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 5(8):101–212.

Universidad San Francisco de Quito Faculty CO₂ emissions due to transportation during the Spring Semester 2014

Cálculo de las emisiones de CO₂ perteneciente al rubro de transporte del personal docente y administrativo de la Universidad San Francisco de Quito durante el Segundo Semestre 2013-2014

Laura Rivadeneira¹, Julieta Juncosa¹, Karen Naciph¹ y María Cazorla^{1*}

¹Universidad San Francisco de Quito - Instituto de Investigaciones Atmosféricas - Colegio de Ciencias e Ingeniería.
Diego de Robles S/N, Cumbayá.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: cazorla.chem@gmail.com

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 28/02/2014. Aceptado/Accepted: 20/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

This study presents an estimation of the CO₂ emission generation caused by transportation of faculty and administrative personnel during the Spring Semester 2014 at Universidad San Francisco de Quito. Data was obtained from an electronic survey applied to 491 people. The mass of CO₂ generated was obtained using two independent methods: the principle of conservation of mass applied to complete combustion of fossil fuels and an emission factors method. Results indicate an agreement better than 1 % between the two methods. Emissions due to faculty air travel were also taken into account. Results indicate that every faculty member at USFQ generates approximately 833.76 kg of CO₂ per semester. Air travel contributes with a 60 % of the total faculty emissions. This study is complementary to a previous calculation of CO₂ emissions generated by student transportation. Results show that students, professors and administrative personnel generate collectively 1904.6 Ton of CO₂ per semester.

Keywords. CO₂ emissions, transportation, USFQ.

Resumen

En este estudio se presenta una estimación de las emisiones de CO₂ causadas por el rubro de transporte del personal docente y administrativo de la Universidad San Francisco de Quito durante el Segundo Semestre 2013-2014. Los datos fueron obtenidos a través de una encuesta electrónica aplicada a 491 personas. La masa de CO₂ generada fue obtenida mediante dos métodos independientes: el principio de conservación de la materia aplicado a la combustión completa de combustibles fósiles y el método de factores de emisión. Los resultados indican una concordancia en un rango del 1 % entre los dos métodos. Los resultados indican que cada miembro docente de la USFQ genera 833.76 kg de CO₂ al semestre, siendo la contribución del transporte aéreo de un 60 %. Este estudio es complementario a un estudio previo en el que se presentaron las emisiones de CO₂ debidas al transporte estudiantil. Los resultados finales indican que, en conjunto, la población de la USFQ genera 1904.6 Ton de CO₂ al semestre.

Palabras Clave. Emisiones de CO₂, transporte, USFQ.

En este estudio se presenta un cálculo de las emisiones máxicas de CO₂, generadas por el rubro de transporte de la población docente y administrativa de la Universidad San Francisco de Quito, en el Segundo Semestre del año académico 2013-2014; es decir, entre los meses de Enero a Mayo. Los rubros considerados fueron: el transporte diario desde y hacia la Universidad y los viajes aéreos, realizados por la población mencionada, para cumplir con sus actividades de trabajo en la Universi-

dad. Este estudio se realizó siguiendo la misma metodología utilizada para el cálculo de las emisiones de CO₂ generadas por el transporte de la población estudiantil de la USFQ durante el Primer Semestre 2013-2014; esto es entre los meses de Agosto y Diciembre [1].

Los datos utilizados en este cálculo provienen de una encuesta electrónica aplicada a toda la población docente de la Universidad a inicios de Enero de 2013. De esta manera, se obtuvo información sobre los medios

de transporte utilizados y se determinó el porcentaje de profesores que se desplazan desde y hacia la Universidad en automóvil, bus, motocicleta, bicicleta o a pie.

Asimismo, de la información de las encuestas, se extrajo datos sobre la marca, modelo y año de los vehículos de los profesores; esto es, automóviles y motocicletas. Con esta información se procedió a tabular la eficiencia del motor en MPG (millas por galón) de cada vehículo, según el fabricante reportado [2]. Adicionalmente, la encuesta aplicada arrojó datos sobre la distancia recorrida por los viajantes, el número de días a la semana que se desplazan a la Universidad y el número de personas que se transportan en el vehículo.

Sobre la base de estos datos, se calculó la masa de CO₂ generada por la población de profesores que conducen vehículos propios, mediante dos métodos: 1) un balance de materia y 2) el método de factores de emisión y la capacidad calorífica del combustible, tal como se describe en [1].

Brevemente, el primer método asume la combustión completa de la gasolina y el diesel lo que permite calcular la masa de CO₂ generada, aplicando el principio de conservación de la materia. Así, con la eficiencia del motor, la distancia recorrida y la densidad de la gasolina y el diesel, se determina la masa de combustible consumido. Inmediatamente, se aplica la estequiometría de las reacciones de combustión. Los detalles, consideraciones, limitaciones y simplificaciones asumidas en este cálculo, se pueden encontrar en [1].

El segundo método, utiliza el poder calorífico de la gasolina y el diesel y factores de emisión de CO₂ por unidad de energía del combustible, obtenidos en la literatura [3, 4]. Con estos factores y la masa del combustible consumido, se obtiene la masa de CO₂ generada. Los detalles de este cálculo, también están explicados en [1].

En este trabajo, el porcentaje de concordancia entre los dos métodos está en un rango del 1 %.

Respecto del rubro de generación de CO₂ por el transporte de las personas que se desplazan por bus, se tomó en cuenta la distancia recorrida para llegar a la Universidad y el número de días que asisten, según información de las encuestas. Al igual que en el estudio de las emisiones generadas por la población estudiantil [1], se tomó una eficiencia estándar para los motores de buses de 13.8 MPG [1]. Con esta eficiencia del motor se determinó la masa de diesel consumida por los viajantes que utilizan bus. Se procedió a realizar el cálculo por los dos métodos descritos. La concordancia también fue mejor que el 1 %.

La Tabla 1 muestra los resultados de generación de CO₂, obtenidos mediante los dos métodos, correspondientes al transporte del personal docente y administrativo de la USFQ, desde sus hogares hasta la Universidad y de regreso. El 73.15 % de la población se moviliza en autos, el 19.14 % se moviliza en buses y el 7.73 % utiliza

| Origen | Cantidad | Ton CO ₂ /Semana | Ton CO ₂ /Semestre |
|--------|----------|-----------------------------|-------------------------------|
| Autos | 359 | 7.95 | 159.06 |
| Buses | 94 | 0.17 | 3.48 |
| Otros | 38 | 0.00 | 0 |
| Total | 491 | 8.12 | 162.54 |

Tabla 1: Masa de CO₂ generada por la población docente y administrativa de la USFQ que se transporta desde sus hogares hacia la Universidad y de retorno.

otras formas de movilización. Es importante mencionar que de un total de 491 encuestas se descartó un 25 % por presentar información contradictoria. Los cálculos se realizaron, entonces, con la información del 75 % de las encuestas válidas. Los resultados que se presentan en la Tabla 1, se encuentran extrapolados al número total del personal docente y administrativo que respondió a las encuestas.

Los resultados indican que el 98 % de la masa de CO₂ generada durante el semestre, proviene de la población que se moviliza conduciendo sus automóviles. En la Tabla 1, el ítem "Otros" se refiere al número de personas que se desplazan en bicicleta y a pie.

Adicionalmente, se hizo un cálculo para determinar la cantidad de CO₂ generada por el personal de la USFQ, por motivo de viajes aéreos, dentro y fuera del país, relacionados con actividades inherentes a su trabajo en la Universidad.

Primero, se realizó el balance de materia tomando como referencia de avión comercial, el Airbus A380, el cual viaja con una eficiencia promedio de 65 MPG [3]. El modelo utilizado para este cálculo es la combustión del octano, como modelo para la combustión del jet fuel [1]. A partir de datos proporcionados por la USFQ, sobre viajes de su personal, se obtuvo el número total de kilómetros recorridos. Con la eficiencia del motor, la densidad del combustible y el modelo estequiométrico descrito, se obtuvo la masa de CO₂ producida.

A fin de contrastar estos resultados, se aplicó un segundo método: la calculadora de emisiones de CO₂ del ICAO (International Civil Aviation Organization) [5], en forma similar al método aplicado en [1]. Se observó que los valores obtenidos por ambos métodos son muy cercanos: el porcentaje de concordancia es mejor que el 2 %. Los resultados de este cálculo indican que la generación de CO₂ por transporte aéreo es de 246.83 Ton/semestre.

La Tabla 2 resume los resultados obtenidos. La generación total de CO₂ por el rubro de transporte terrestre y

| Producción de CO ₂ Ton totales / Semestre | |
|---|--------|
| Carros, buses | 162.54 |
| Avión | 246.83 |
| Total | 409.38 |

Tabla 2: Producción Total de CO₂ generada por el personal docente y administrativo por rubros de transporte terrestre y aéreo.

aéreo del personal docente y administrativo de la USFQ es de 409.38 Ton/semestre, siendo la contribución del transporte aéreo el 60 % del total.

Se concluye, por lo tanto, que la huella generada por el rubro de transporte considerado, es de 833.76 kg de CO₂ por persona. Esta cantidad de emisiones es tres veces más alta que la cantidad generada por la población estudiantil de la Universidad, que es de aproximadamente 299 kg de CO₂ por estudiante, según los resultados de [1]. La explicación yace en el hecho de que el 73 % del profesorado se moviliza en vehículo propio y el volumen de viajes aéreos contribuye sustancialmente al total de la generación de emisiones.

Finalmente, los resultados de este estudio, complementarios a los resultados presentados en [1], indican que la generación de emisiones de CO₂ por el rubro transporte de profesores, estudiantes y personal administrativo de la Universidad San Francisco, es de 1904.6 Ton por semestre.

Referencias

- [1] Naciph, K.; Rivadeneira, L.; Cazorla, M. 2013. "Cálculo de las emisiones de CO₂ de la Universidad San Francisco de Quito pertenecientes al rubro de transporte estudiantil del Segundo Semestre 2012 - 2013". *Avances*, 5(2):C1 – C4.
- [2] U.S. Department of Energy. 2013. "Energy Efficiency and Renewable Energy". <http://www.fueleconomy.gov/feg/make.shtml>. Fecha de consulta: 20 Junio de 2013.
- [3] IPCC. 2006. "2006 IPCC guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme". Eggleston H. S., Buendía L., Miwa K., Ngara T., and Tanabe K. (eds). Published: IGES, Japan.
- [4] Parra, R. 2013. "Factor de emisión de CO₂ debido a la generación de electricidad en el Ecuador durante el periodo 2001-2011". *Avances*, 5(1):C39 – C42.
- [5] International Civil Aviation Organization. 2012. "Carbon Emissions Calculation. Version 5, June 2012". http://www.icao.int/environmental-protection/CarbonOffset/Documents/Methodology%20I CAO%20Carbon%20Calculator_v5-2012.Revised.pdf, Fecha de consulta: 1 Marzo 2014.

Design of high performance concrete: high compressive strength, adequate workability and high resistance to erosion - abrasion for hydraulic works

Diseño de hormigones de alto desempeño: alta resistencia a la compresión, trabajabilidad adecuada y alta resistencia a la erosión - abrasión para obras hidráulicas

Fabrizio Yépez^{1*} y Francisco X. Calderón¹

¹Departamento de Ingeniería Civil, Universidad San Francisco de Quito - Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica S/N, Cumbayá, Distrito Metropolitano de Quito - Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: fypez@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 01/03/2014. Aceptado/Accepted: 21/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

Development and production of High Performance Concrete –HPC– have shown slow progress in Ecuador. This study is focused on the definition of a volumetric design of a concrete mix fulfilling the following performance objectives: to have very high compression strength (over 90 MPa) without losing adequate workability and to get high abrasion erosion resistance of concrete. All those objectives are required for the construction of the spillways in some hydropower projects in Ecuador. At the same time, a guideline to develop the design of a HPC concrete mix using materials available locally is presented. Economic considerations, materials availability in the local market and a cost/resistance ratio of the final product are discussed. For this purpose, several concrete mixtures were produced using ASTM C1240 silica fume and a full range water reducer admixture complying ASTM C494 (polycarboxylate based). The final result was a high workability concrete mixture with 98 MPa compression resistance at 7 days and a maximum compression resistance of 138 MPa at 28 days, being the mixture with the highest strength ever produced in Ecuador, and presenting less than 0.8 % abrasion erosion losses, according to ASTM C1138 test procedure.

Keywords. High performance concrete, Silica fume, Volumetric concrete mix design, Compression strength, Erosion abrasion resistance of concrete, full range water reducer admixture.

Resumen

El desarrollo y producción de hormigones de alto desempeño o HPC (High Performance Concrete) por sus siglas en inglés, han evidenciado un avance lento en el Ecuador. En este artículo se reportan los resultados de una investigación que tuvo como objetivo la obtención de una dosificación volumétrica de hormigón capaz de cumplir tres requerimientos de desempeño: proporcionar una resistencia a la compresión mayor a los 90 MPa en conjunto con una adecuada trabajabilidad de mezcla y, a su vez, presentar una alta resistencia a la erosión abrasión, requerimientos necesarios para el revestimiento de los desagües de fondo de algunos proyectos hidroeléctricos en el Ecuador. Asimismo, este artículo pretende servir como una guía y punto de partida para el desarrollo de hormigones de alto y extra alto desempeño. La investigación toma en cuenta consideraciones económicas, así como disponibilidad de los materiales en el mercado local y relación resistencia/costo del producto final. Para estos fines, se desarrollaron varios diseños de mezclas distintas utilizando microsílíce conforme a las especificaciones ASTM C1240 y un aditivo reductor de agua de alto rango de última generación acorde con ASTM C494. Como resultado final se obtuvo una mezcla de alta trabajabilidad con una resistencia última a la compresión de 98 MPa a una edad temprana de 7 días, con resistencia máxima 138 MPa a los 28 días, siendo hasta hoy, el hormigón de mayor resistencia producido en Ecuador, y con porcentajes de desgaste en relación al peso según ensayo ASTM C1138 que no superan el 0.8 %.

Palabras Clave. Hormigón alto desempeño, Microsílíce, Diseño volumétrico de mezcla, Resistencia a la compresión, Resistencia a la erosión – abrasión, Aditivos reductores de agua de alto rango.

Introducción

Siendo el hormigón uno de los materiales más utilizados a nivel mundial y, observando las limitaciones de esta industria en el Ecuador, surge la motivación de presentar un método coherente y seguro que lleve al desarrollo consistente de mezclas de hormigones de alto desempe-

ño, capaces de superar los 55 MPa [1]. Por otro lado, la ejecución de diversos proyectos hidroeléctricos en el Ecuador requiere la utilización de un material altamente resistente a la erosión-abrasión, a ser utilizado como recubrimiento de los desagües de fondo de las presas. En tal sentido, se requiere diseñar un hormigón de alto

desempeño, que presente alta resistencia a la compresión, buena trabajabilidad de la mezcla y alta resistencia a la erosión – abrasión, a través de una metodología consistente para la obtención de una dosificación volumétrica mediante el uso de materiales y métodos disponibles en el Ecuador.

El desarrollo del diseño de mezcla utilizará humo de sílice ASTM C1240 y un aditivo reductor de agua de alto rango de última generación, acorde a ASTM C494, cuidando de cerca la relación agua/cementante de la mezcla debido a los buenos resultados de estas prácticas reportados alrededor del mundo. Para desarrollar la mezcla se ha utilizado como base la guía ACI 211.4R-08 [1] y las recomendaciones de Willie, K. et al. [2].

Se discuten luego los procedimientos seguidos para el desarrollo de varias mezclas distintas, los resultados obtenidos, y los costos estimados para una producción industrial acorde a precios del mercado ecuatoriano del 2014.

Materiales y Metodología

Materiales

Cada una de las mezclas preparadas utilizó como materiales una combinación específica de un tipo de cemento, agregados finos y gruesos, microsíllice, agua, y un aditivo reductor de agua de alto rango. La razón para las variaciones en el uso de materiales se debe a que cambios en sus composiciones químicas y propiedades físicas impactan las características finales del hormigón, tales como su resistencia última, permeabilidad, trabajabilidad, resistencia a la erosión-abrasión, durabilidad, etc. [1].

Cemento: El cemento utilizado es uno de los factores más influyentes en el desarrollo de hormigones de alto desempeño [1]. En la investigación se ha prestado especial atención al efecto que los distintos tipos de cemento pueden tener en la demanda de agua de la mezcla,

| Composición Química | % |
|--------------------------------|------|
| SiO ₂ | 21.9 |
| Al ₂ O ₃ | 5.1 |
| Fe ₂ O ₃ | 3.7 |
| CaO | 64.4 |
| MgO | 0.8 |
| SO ₃ | 1.8 |
| Na ₂ O | 0.23 |
| K ₂ O | 0.19 |
| TiO ₂ | 0.36 |
| Total | 100 |
| Cal Libre | 0.75 |
| Residuo Insoluble | 0.7 |
| Álcalis Equivalente (%) | 0.36 |
| Potencial | % |
| C3A | 7.2 |
| C3S + 4.75 C3A | 79.3 |

Tabla 1: Composición química del cemento CP-II, contenido de C3A limitado 7.2 %

| | |
|---|----------|
| SiO ₂ (%) (min.) | 94.05 |
| Fe ₂ O ₃ (%) | 0.2 |
| Al ₂ O ₃ (%) | 0.2 |
| CaO (%) | 0.21 |
| K ₂ O+ Na ₂ O (%) | 2.00E-01 |
| Humedad (%) | 1.03 |
| Perdida al Fuego | 1.5 |
| Densidad Aparente (kg/m ³) | 500-700 |

Tabla 2: Composición química y propiedades de la microsíllice utilizada

el comportamiento del aditivo reductor de agua de alto rango y la microsíllice, y la ganancia de resistencia del hormigón en función del tiempo.

Es conocido que una presencia mayor al 8 % de C3A en la composición química del cemento no es recomendable para el desarrollo de hormigones de alta resistencia, pues la rápida reacción de este compuesto durante el proceso de hidratación produce un aumento del área superficial de la partículas, aumentando la demanda de agua necesaria para rodearlas y produciéndose un aumento en la viscosidad de la mezcla. Los resultados de la investigación de Willie, K. et al. [2] muestran que cementos con un contenido bajo de C3A facilitan la obtención de relaciones agua/cementante bajas y llevan a alcanzar resistencias finales mayores.

Otro punto al que se ha prestado atención, es el hecho de que uno de los mecanismos por los cuales la microsíllice aporta al aumento de resistencia en la mezcla es reaccionando con hidróxido de calcio (Ca(OH)₂ denotado también como CH) para producir silicato cálcico hidratado (CSH) y otros cementantes adicionales [3]. De esta información se concluye que la composición química del cemento, que limita los productos de su hidratación, va a afectar la acción de la microsíllice en la mezcla. Con estas ideas en mente, se ha optado por utilizar, a manera de comparación, dos tipos de cementos distintos disponibles en el Ecuador: el primero es un cemento portland tipo II (CP-II), de bajo contenido de C3A (Tabla 1) y el segundo, un cemento hidráulico de alta resistencia temprana que cumple la norma ASTM C1157 de desempeño (CH-HE).

Microsíllice: la microsíllice es definida como un puzolánico producto de desecho de la industria de metales silicoferrosos, utilizada en el desarrollo de hormigones principalmente para mejorar las propiedades mecánicas y durabilidad del producto final. Este material es un cementante adicional que, mediante mecanismos físicos y químicos, es capaz de aumentar la resistencia a la compresión del hormigón, pero reduce la trabajabilidad del hormigón fresco [1, 3]. Pese a que actualmente se cuenta con especificaciones suficientes para garantizar su utilización adecuada, se debe tener en cuenta la variabilidad en sus propiedades. La composición química y propiedades físicas de la microsíllice dependen de un número alto de variables, tales como el tipo de aleación del que se deriva, los métodos utilizados para su producción, densificación y recolección, y el estado general de

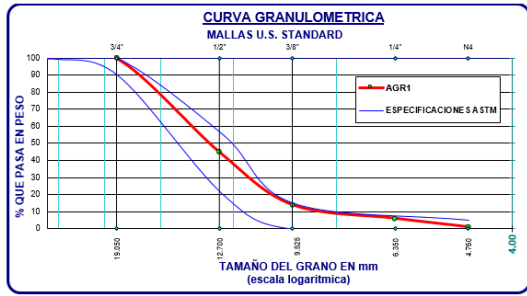


Figura 1: Granulometría del agregado grueso AGR1 (3/4").

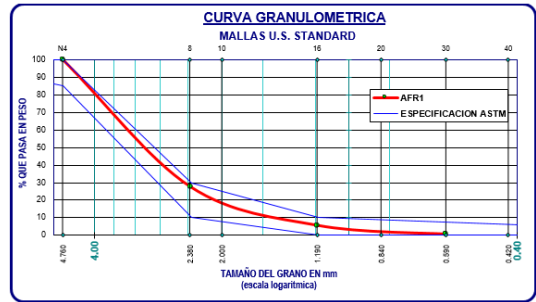


Figura 3: Granulometría del agregado fino (arena gruesa) AFR1 (#4).

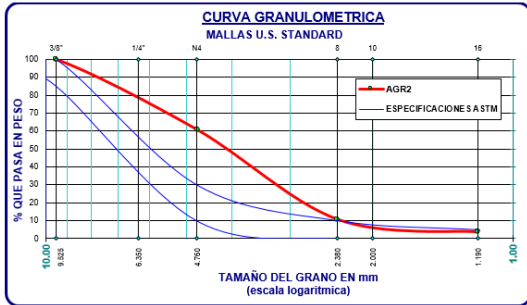


Figura 2: Granulometría del agregado grueso AGR2 (3/8").

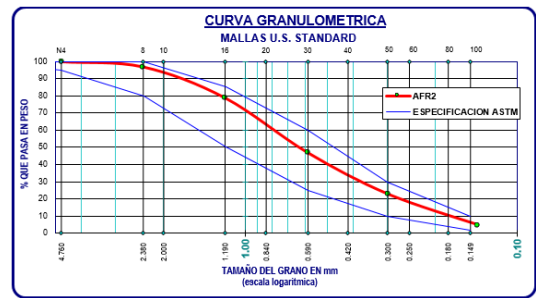


Figura 4: Granulometría del agregado fino (arena fina) AFR2.

la maquinaria utilizada durante todo el proceso [4]. Los estudios consultados [2, 3] no han podido establecer una relación clara entre diferentes tipos de microsilíce (todas acorde con ASTM C1240) y la calidad, resistencia y propiedades finales del hormigón producido. Por este motivo, en la presente investigación se ha decidido realizar todas las mezclas con un único tipo de microsilíce, con el fin de no introducir una cantidad excesiva de variables que pueden escapar al control del productor y tener un impacto desconocido. Se utilizó microsilíce con un contenido del 95 % de SiO₂, que cumple con la norma ASTM C1240 y cuyas propiedades se detallan en la Tabla 2.

Aditivo Reductor de Agua de Alto Rango (HRWR): En el desarrollo de hormigones de alta resistencia uno de los parámetros más críticos de la mezcla es la relación w/c (agua/cementante) [1, 2]. La microsilíce produce un aumento en la demanda de agua de la mezcla debido a su alta área superficial, además de proporcionar viscosidad al hormigón, lo cual disminuye su trabajabilidad [1, 3, 4]. Por ello, el desarrollo de hormigones de alto desempeño necesita de la incorporación de un HRWR (high range water reducer). Estos aditivos son capaces de reducir el agua de la mezcla incluso en un porcentaje superior al 30 % [5]; de otra manera, el agua adicional necesaria para proporcionar al hormigón la trabajabilidad adecuada, acarrearía un aumento en la relación w/c y con esto una disminución de la resistencia [1, 3].

Se utilizaron dos aditivos distintos, ambos acorde a la norma ASTM 494 para aditivos reductores de agua de alto rango. El primero (ADTV1), denominado de última generación, que trabaja con policarboxilato como agente activo; estos aditivos son reconocidos hasta la fecha como los más apropiados para el desarrollo de hormigones

de alto desempeño [2]. El segundo (ADTV2) es un aditivo de segunda generación, utilizado para la producción de concreto reoplástico, utilizado por motivos de comparación. Ambos aditivos se encuentran en estado diluido, desconociéndose su concentración exacta, por lo que, siguiendo el método de Willie et. al. [2], se asumió un 40 % de contenido sólido con el fin de tomar en cuenta la incorporación de agua adicional a la mezcla.

Agregados gruesos: El desarrollo de hormigones de alta resistencia requiere una selección cuidadosa de agregados, debido a que éstos son los que ocuparán mayor volumen en la mezcla final y tendrán un impacto significativo en las propiedades del hormigón [1]. En hormigones de alto desempeño, aún cuando la matriz del cementante tenga buenas cualidades, es posible que la máxima resistencia del hormigón esté limitada por la resistencia del agregado. Por ello, se recomienda utilizar agregados resistentes, limpios, sin fisuras y tomar en cuenta que su forma, tamaño, granulometría y composición mineralógica afectarán las características finales del hormigón y la demanda de agua de la mezcla [1].

Para las mezclas desarrolladas se utilizaron varios tipos de agregados distintos, terminándose por seleccionar los agregados provenientes de procesos de trituración y clasificación del material pétreo del Río Pilatón, cercano a uno de los proyectos hidroeléctricos para los cuales se diseñó la mezcla de hormigón de alto desempeño. El proceso permite obtener agregados de superficie angular y con baja presencia de partículas alargadas y planas. La granulometría de estos agregados, de tamaño nominal máximo 3/4 (AGR1) y de tamaño nominal máximo 3/8 (AGR2) se detallan en las Figuras 1 y 2.

Agregados Finos: Las características del agregado fino



Figura 5: Revenimiento típico en muestras de la mezcla 4.

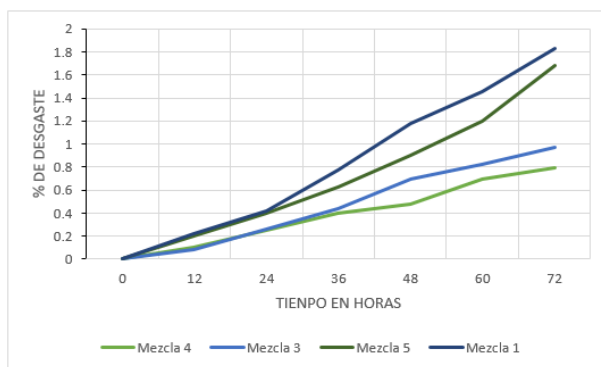


Figura 6: Resultados de pruebas de desgaste según ensayo ASTM C1138.

utilizado pueden tener efectos de similar importancia a las del agregado grueso, por lo que se utilizan los requerimientos ASTM C33 y se recomienda un módulo de finura (MF) entre 2.5 y 3.2, o incluso mayor, con el fin de evitar problemas de trabajabilidad y un aumento excesivo de la demanda de agua [1]. En el presente trabajo se utilizaron agregados finos (AFR1 y AFR2) provenientes de la misma fuente de producción del agregado grueso, cuyas granulometrías se muestran en las Figura 3 y 4.

Agua: Se utilizó agua proveniente del sistema de suministro de la ciudad de Quito, práctica aceptable por la buena calidad de la misma. De sospechar algún problema debido a la calidad del agua utilizada, ACI-211 recomienda referirse a la norma ASTM C1603 para agua utilizada en mezclas de hormigón [1].

Requerimientos

Esta investigación se concentra en tres requerimientos de desempeño: alta resistencia a la compresión, trabajabilidad de mezcla y resistencia a la erosión abrasión. El primer requerimiento es obtener resistencias a la compresión de alrededor de 90MPa, evaluadas mediante ensayos de resistencia a la compresión acorde a ASTM C31 y C39. El segundo requerimiento considerado fue la obtención de una trabajabilidad adecuada en la etapa fresca del hormigón evaluada mediante ensayos de revenimiento acorde a ASTM C143, con un mínimo de 5". No se estableció un asentamiento máximo puesto que,



Figura 7: Equipo utilizado para pruebas de erosión abrasión.

aunque un asentamiento alto puede ser un indicador de posible segregación [5], la adición de microsílíce hace al hormigón resistente a este fenómeno [3, 4] y niveles altos de asentamiento pueden deberse a efectos de los aditivos reductores de agua. Finalmente, se requiere un hormigón que presente bajos índices de desgaste a la erosión – abrasión, de no más de un 2 % de desgaste según norma ASTM C1138.

Dosificación inicial

Se tomaron en cuenta tres parámetros principales para la dosificación de las diferentes mezclas: la cantidad de cemento y las relaciones microsílíce/cemento (SF/C) y agua/cementante (w/c). El ACI recomienda mantener el contenido de microsílíce entre un 5 y 15 % de la masa de cemento y relaciones w/c tan bajas como 0.20 [1]. Para obtener una dosificación inicial se analizaron aquellas propuestas por los comités ACI consultados [1, 3] y por Holland T. [4]. La predosificación 1 fue extraída del “Silica Fume User’s Manual” [4] y la predosificación 2 del comité ACI211.4R-08 [1]. Ambas se muestran en la Tabla 3 junto con los parámetros calculados. Ambas predosificaciones utilizan cementantes adicionales que se escapan del alcance de esta investigación (cemento de escoria y cenizas volantes) por lo que el procedimiento seguido fue reemplazar estos cementantes por un peso similar del cemento utilizado en la mezcla (CP-II o CH-HE).

A partir de las pruebas iniciales con las predosificaciones, se escogieron 5 dosificaciones volumétricas con los 2 cementos estudiados, las cuales se detallan en la Tabla 4. Las mezclas 1 y 2 se diseñaron acorde a la predosificación 1 variando únicamente el tipo de cemento. Las mezclas 3, 4 y 5 siguen los lineamientos de la predosificación dos; entre las mezclas 3 y 4 la diferencia se establece en el procedimiento seguido para la preparación de las muestras, como se describe a continuación.



Figura 8: Probeta de mezcla 4 luego del ensayo erosión abrasión.

Preparación de muestras

Para cada una de las dosificaciones propuestas se fabricaron muestras a escala, siguiendo dos procedimientos distintos, uno para las muestras 1-3 y otro para las muestras 4 y 5. La preparación de muestras incluye las correcciones necesarias en la cantidad de agua de mezcla, con la intención de obtener una trabajabilidad adecuada y una mezcla homogénea de los componentes del hormigón. Para todas las mezclas se utilizó una mezcladora de 1/3 de saco que fue previamente limpiada y llevada a un estado de saturación de su superficie de modo que no extraiga o aporte agua a la mezcla. Para las mezclas 1-3 se inició por verter el agua en la mezcladora, seguida del agregado grueso. Posteriormente se añadieron los cementantes y el aditivo, seguidos por los agregados finos. Se mezcló durante 4 minutos seguidos de 4 minutos de reposo y 4 minutos de mezclado finales. Durante el reposo se evaluó la apariencia física de la mezcla buscando que esta sea fluida y que los cementantes hayan formado una pasta que recubra a los agregados. Durante los últimos 4 minutos de mezclado se añadió agua en pequeñas cantidades de ser necesario con la intención de que el hormigón llegue a tener al aspecto deseado.

Para las mezclas 4 y 5 se inició de igual manera saturando la superficie de la mezcladora y colocando el agregado grueso. Posteriormente los cementantes junto con el agua y el aditivo fueron pre-mezclados aparte utilizando una batidora, la pasta formada fue luego añadida a la mezcladora seguida de los agregados finos. Este procedimiento pareció ser más efectivo en facilitar la reacción del cemento con el aditivo y permitir la obtención de una mezcla fluida. La mezcladora se mantuvo en funcionamiento durante 4 minutos, seguidos de 4 minutos de descanso y 4 minutos finales de mezclado durante los cuales se añadió agua de ser necesario, al igual que en las mezclas 1-3. La variación en estos procedimientos es necesaria, conforme se gana experiencia en la manera cómo interactúan el cemento, la microsílíce y el aditivo reductor de alto rango. Las variaciones en el agua de mezcla han sido tomadas en cuenta en la Tabla 5 que muestra las dosificaciones finales para cada una de las 5 mezclas realizadas.



Figura 9: Superficie de falla de cilindro de prueba a compresión (mezcla 4).

Finalizados los tiempos de mezclado de cada una de las dosificaciones, se procedió a realizar pruebas de revenimiento, acorde con la norma ASTM C143, en la cual todas las muestras mostraron asentamientos mayores a las 5 pulgadas fijadas como requerimiento mínimo (Figura 5). Finalmente, se procedió a la fabricación de muestras cilíndricas y a su posterior curado acorde con la norma ASTM C31. Las pruebas a compresión se realizaron a los 7 y 28 días siguiendo las recomendaciones de la norma ASTM C39.

Resultados

Resistencia a la compresión

Las resistencias obtenidas en las pruebas a compresión a los 28 días se consideran resistencias características F_{cr} , conforme lo especifica el comité ACI-211 [1]. Siguiendo la misma especificación, la resistencia a la compresión a los 28 días $f'c$, definida como requisito de aceptación del hormigón, es menor, basada en las variaciones estadísticas de los resultados de los ensayos. Los resultados de la resistencia $f'c$ se muestran en la Tabla 6. Como puede observarse, la mezcla 4 correspondiente al cemento portland tipo II dio como resultado una resistencia última a la compresión $f'c$ de 109.88 MPa calculada a partir de una resistencia media F_{cr} de 126.51 MPa según ACI318 5.3.2 [6]. Algunas probetas de dicha mezcla alcanzaron incluso valores extremos de 138MPa (1407 kgf/cm²), siendo éste el hormigón de mayor resistencia producido en el Ecuador del que se tenga información, sea en publicaciones o en la práctica profesional, hasta la fecha, con una gran trabajabilidad, medida en 9" de revenimiento en promedio.

Resistencia a la erosión - abrasión

Para la evaluación de la resistencia a la erosión – abrasión de las mezclas preparadas, se realizaron ensayos según norma ASTM C1138, la cual evalúa porcentajes

| No. | Fuente | Resistencia 28 días [MPa] | Cemento Portland [Kg/m ³] | Ceniza Volante [Kg/m ³] | Cemento de Escoria [Kg/m ³] | Microsilíce (SF) [Kg/m ³] | Tot. Cementantes (C) [Kg/m ³] | SF/C | W/C |
|-----|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|---|---------|-----|
| 1 | Silica Fume User's Manual | 83 | 406 | 0 | 169 | 47 | 622 | 7.56 % | 0.2 |
| 2 | ACI211.4R-08 | 107.00 | 473.68 | 103.62 | 0.00 | 74.01 | 651.32 | 11.36 % | 0.2 |

Tabla 3: Pre - dosificaciones iniciales adoptadas.

| No. | CP-II [Kg] | HE-HE [Kg] | Microsilíce [Kg] | ADTV1* [Kg] | ADTV2* [Kg] | AGR1 ^I [Kg] | AGR2 ^I [Kg] | AFR1 ^I [Kg] | AFR2 ^I [Kg] | Agua** [Kg] | SF/C | W/C ^{II} |
|-----|------------|------------|------------------|-------------|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------|------|-------------------|
| 1 | 585.19 | 0.00 | 47.43 | 0.00 | 8.90 | 427.04 | 284.66 | 158.15 | 711.70 | 188.45 | 0.07 | 0.23 |
| 2 | 0.00 | 585.19 | 47.43 | 0.00 | 8.90 | 427.04 | 284.66 | 158.15 | 711.70 | 188.45 | 0.07 | 0.23 |
| 3 | 634.42 | 0.00 | 70.49 | 3.17 | 0.00 | 0.00 | 688.90 | 229.25 | 609.54 | 186.35 | 0.10 | 0.22 |
| 4 | 634.42 | 0.00 | 70.49 | 3.17 | 0.00 | 0.00 | 688.90 | 229.25 | 609.54 | 186.35 | 0.10 | 0.22 |
| 5 | 0.00 | 634.42 | 70.49 | 3.17 | 0.00 | 0.00 | 688.90 | 229.25 | 609.54 | 186.35 | 0.10 | 0.22 |

* Valores correspondientes al peso total de aditivo sustrayendo el porcentaje de agua.

** Valores incluyen el aporte de agua por parte del aditivo.

^I Pesos secos.^{II} Calculados tomando en cuenta los % de absorción de los agregados.Tabla 4: Dosificaciones iniciales para producir 1m³ de hormigón.

| No. | CP-II [Kg] | HE-HE [Kg] | Microsilíce [Kg] | ADTV1* [Kg] | ADTV2* [Kg] | AGR1 ^I [Kg] | AGR2 ^I [Kg] | AFR1 ^I [Kg] | AFR2 ^I [Kg] | Agua añadida [Kg] | Agua** [Kg] | SF/C | W/C ^{II} |
|-----|------------|------------|------------------|-------------|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|-------------|------|-------------------|
| 1 | 585.19 | 0.00 | 47.43 | 0.00 | 8.90 | 427.04 | 284.66 | 158.15 | 711.70 | 5.49 | 193.94 | 0.07 | 0.24 |
| 2 | 0.00 | 585.19 | 47.43 | 0.00 | 8.90 | 427.04 | 284.66 | 158.15 | 711.70 | 30.95 | 219.40 | 0.07 | 0.28 |
| 3 | 634.42 | 0.00 | 70.49 | 3.17 | 0.00 | 0.00 | 688.90 | 229.25 | 609.54 | 3.02 | 189.37 | 0.10 | 0.23 |
| 4 | 634.42 | 0.00 | 70.49 | 3.17 | 0.00 | 0.00 | 688.90 | 229.25 | 609.54 | -10.07 | 176.28 | 0.10 | 0.21 |
| 5 | 0.00 | 634.42 | 70.49 | 3.17 | 0.00 | 0.00 | 688.90 | 229.25 | 609.54 | 25.18 | 211.52 | 0.10 | 0.26 |

* Valores correspondientes al peso total de aditivo sustrayendo el porcentaje de agua.

** Valores incluyen el aporte de agua por parte del aditivo y agua extra añadida durante la preparación de las muestras.

^I Pesos secos.^{II} Calculados tomando en cuenta los % de absorción de los agregados.Tabla 5: Dosificaciones finales para producir 1m³ de hormigón.

| Mezcla No. | Resistencia a la compresión f'c [MPa] |
|------------|---------------------------------------|
| 1 | 70.33 |
| 2 | 76.80 |
| 3 | 98.90 |
| 4 | 109.92 |
| 5 | 77.91 |

Tabla 6: Resistencia final a la compresión f'c de las mezclas finales.

| Material | Precio [US\$] | Unidad | Precio por 1 Kg [US\$] |
|-------------|---------------|----------------|------------------------|
| Cemento | 7.80 | Saco 50Kg | 0.156 |
| Microsilíce | 900.00 | Ton | 0.90 |
| ADTV1 | 5.30 | Kg | 5.30 |
| ADTV2 | 2.45 | Kg | 2.45 |
| Agregados | 36.00 | m ³ | 0.013 |

Tabla 7: Precios unitarios.

de pérdida de masa de probetas cilíndricas de aproximadamente 30 cm de diámetro y 10 cm de espesor, sometidas a la abrasión por rotación de bolas de acero en la superficie de la probeta, a velocidades de rotación de 1260 rpm, y a diferentes tiempos de ensayo.

Los resultados de los desgastes de las muestras se indican en la Figura 6, mostrando un desgaste máximo 0.79 % a las 72 horas, valor mucho menor que el de diseño, de 2 %. El equipo utilizado junto con la característica del hormigón sometido a erosión abrasión puede observarse en las Figuras 7 y 8.

| Mezcla No. | Resistencia a la compresión f'c [MPa] | Precio por m ³ [US\$] | Relación Resistencia/Costo |
|------------|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| 1 | 70.33 | 227.55 | 0.31 |
| 2 | 76.80 | 227.89 | 0.34 |
| 3 | 98.90 | 238.64 | 0.41 |
| 4 | 109.92 | 238.46 | 0.46 |
| 5 | 77.91 | 238.93 | 0.33 |

Tabla 8: Relación resistencia/costo.

Relación resistencia/costo

Los costos de producción de las mezclas se obtuvieron en base a un análisis de precios unitarios, utilizando datos del mercado ecuatoriano. Los costos indicados incluyen el transporte de los materiales y se muestran en la Tabla 7. Los costos por metro cúbico de producción y las relaciones resistencia/costo de cada una de las mezclas se indican en la Tabla 8, observándose nuevamente a la mezcla No. 4 destacándose con la mayor relación resistencia costo. De manera interesante, el costo de la mejor mezcla resultó ser también la más económica y la más eficiente de todas.

Discusión

En general, el procedimiento adoptado para obtener las predosificaciones ha demostrado ser efectivo. El comparar las resistencias esperadas de la Tabla 3 con las resistencias finales de la Tabla 6, parece indicar que el sustituir cementantes adicionales propuestos por las predosificaciones 1 y 2 (cemento de escoria y ceniza volante)

por los cementos CH-HE y CP-II, acarrea una disminución de la resistencia final esperada, pero no impide el desarrollo de hormigones de alta resistencia. Sin embargo, la mezcla 4 ha logrado superar la resistencia esperada por la predosificación 2, sin la incorporación de ceniza volante (probablemente debido al método de mezclado más efectivo y a una actitud conservadora de las fuentes consultadas y descritas en la Tabla 3, al especificar las resistencias esperadas). Los resultados muestran que el cemento CH-HE alcanzó una resistencia mayor al cemento CP-II al utilizar como base la predosificación 1. Sin embargo, al utilizar los parámetros de la predosificación 2, el cemento CP-II es el más apropiado.

Observando los datos de corrección de agua se puede notar, que el cemento CH-HE produce consistentemente una demanda de agua mayor al cemento CP-II y por tanto dificulta la consecución de relaciones w/c bajas. El procedimiento utilizado para mezclar los materiales también demostró tener un impacto considerable en la demanda de agua. Comparando las mezclas 3 y 4 puede observarse, que el cambio total en el agua requerida fue de 260 kg y llevó a un cambio en la relación w/c de 0.23 a 0.21, factor que explica un aumento en la resistencia final de casi 11 MPa.

Por otro lado, todos los tipos de agregados utilizados demostraron ser aptos para el desarrollo de hormigones de alta resistencia. La efectividad de su granulometría y el buen empaquetamiento obtenido se puede observar en la Figura 9, que muestra la superficie de fallo de uno de los cilindros de prueba. El hormigón de alta resistencia resultó también tener excelente resistencia a la erosión abrasión con una adecuada trabajabilidad para su producción, lográndose los objetivos de desempeño buscados.

Acerca de los aditivos utilizados, los resultados parecen indicar que el reductor de agua de última generación en base a policarboxilatos fue el más eficaz, lográndose relaciones w/c más bajas para cada tipo de cemento, que las alcanzadas con el aditivo de segunda generación.

Para los fines perseguidos en esta investigación, se considera que los datos obtenidos son suficientes. Sin embargo, para una producción industrial, es necesario obtener la resistencia característica y su relación con $f'c$ con base a las desviaciones estándar de producción. Es fundamental mantener un control de calidad muy exigente en la producción de este tipo de hormigones, pues pequeñas variaciones en las propiedades de los materiales utilizados generan variaciones en los resultados del producto final y requiere de ajustes de dosificación rutinarios.

Agradecimientos

Los autores dejan constancia de su agradecimiento a la empresa Proyectos y Construcciones Hidroenergéticas PCH Cía. Ltda. por facilitar el acceso a su laboratorio de materiales y hormigones y a su personal técnico.

Referencias

- [1] ACI 211.4R-08. 2008. "Guide for Selecting Proportions for High-Strength Concrete Using Portland Cement and Other Cementitious Materials". *American Concrete Institute*: 29.
- [2] Willie, K.; Naamany, A.; Parra-Montesinos, G. 2011. "Ultra-High Performance Concrete with Compressive Strength Exceeding 150 MPa (22ksi): A Simpler Way". *ACI Materials Journal*, 108(M06):46-54.
- [3] ACI 234R-06. 2006. "Guide for the Use of Silica Fume in Concrete". *American Concrete Institute*: 63.
- [4] Holland, T. 2005. "Silica Fume User's Manual". *Silica Fume Association, Lovettsville, VA, Rep. FHWA-IF-05-016*: 1-77.
- [5] Philips, W. et al. 2005. "Capítulo 2: La mezcla del concreto". *Guía del Contratista Para la Construcción en Concreto de Calidad, 3ra ed. USA, ACI & ASCC*, 2:14-27.
- [6] ACI 318M-11. 2011. "Building Code Requirements for Structural Concrete". *American Concrete Institute*: 503.

TCAD Simulation for ultrathin body and buried oxide fully depleted silicon-on-insulator MOSFET: a comparison between COMSOL and Sentaurus

Simulación TCAD para un MOSFET de silicio en aislante, ultra fino con óxido enterrado y completamente agotado: una comparación entre COMSOL y Sentaurus

Luis Miguel Prócel^{1*} and Lionel Trojman¹

¹Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias e Ingeniería - El Politécnico. Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica, Campus Cumbayá, Edif. Maxwell. Casilla Postal 17-1200-841, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: lprocel@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 07/03/2014. Aceptado/Accepted: 18/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

In the present work, we develop a model for simulating an ultrathin body (10nm) and buried oxide (20nm) fully-depleted silicon-on-insulator MOSFET with SiO₂ gate oxide (5nm) by using TCAD-Sentaurus software. We performed DC-simulations for studying the behavior of the threshold voltage and the transconductance. Furthermore, AC-simulations were performed for studying the inversion capacitance and the inversion charge. We compare our results with similar simulations carried out in a previous work in which COMSOL-Multiphysics software was used. We have obtained similar results in both works. However, Sentaurus features more interesting details like introducing a more realistic picture of the physical mechanisms of such complex devices.

Keywords. SOI-MOSFET, TCAD-simulation, Sentaurus, Poisson's equation, drift-diffusion equations.

Resumen

En el presente trabajo, se desarrolla un modelo para simular un dispositivo MOSFET de silicio en aislante, ultra delgados con óxido enterrado (20m) y agotados completamente con SiO₂ (5nm) como compuerta. El software que se usa es TCAD-Sentaurus. Se desarrollaron simulaciones DC para estudiar el comportamiento del voltaje de encendido y la transconductancia. Además, se desarrollaron simulaciones AC para estudiar la capacitancia y carga de inversión. Los resultados fueron comparados con un trabajo previo en el que se usó como simulador al programa COMSOL-Multiphysics. Los resultados obtenidos son muy similares entre ambos trabajos. Sin embargo, Sentaurus ofrece características más interesantes como introducir modelos más reales para los mecanismos físicos de dispositivos complejos.

Palabras Clave. SOI-MOSFET, simulación TCAD, Sentaurus, ecuación de Poisson, ecuaciones de difusión y deriva.

Introduction

Complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) technology is the base of actual electronics. The scaling of the metal-oxide-semiconductor field effect transistor (MOSFET) has allowed great advances in the semiconductor industry related to the increase of the transistor density and the development of high performance systems that consumes less power [1–6]. However, short channel effects (SCE) related to transistor scaling have detrimental effects on the overall performance. The most serious effects are the variation of the threshold voltage (V_{th}) with the length channel and the drain induced

barrier lowering (DIBL) [1–6]. That is the reason why it was developed CMOS with novel architecture such as the Fully Depleted Silicon-on-Insulator (FD-SOI) MOSFET.

Indeed, the presence of SCE on SOI technology are reduced. Further, this technology features interesting advantage such as higher speed, lower power consumption, advanced scalability and less parasitic effects [2–4]. However, such devices are based on coupling effects between the front and back channels. This produces a high degree of complexity for understanding SOI devices. That is the reason why it is necessary to inter-

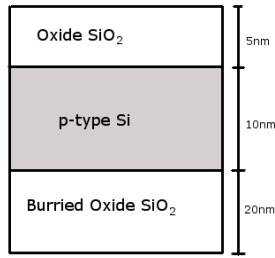


Figure 1: Transversal structure of the simulated UTFD-SOI-MOSFET device.

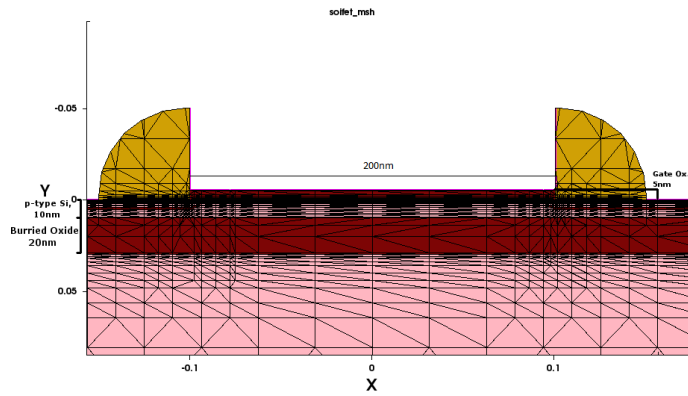


Figure 2: Gate and channel structure with the mesh.

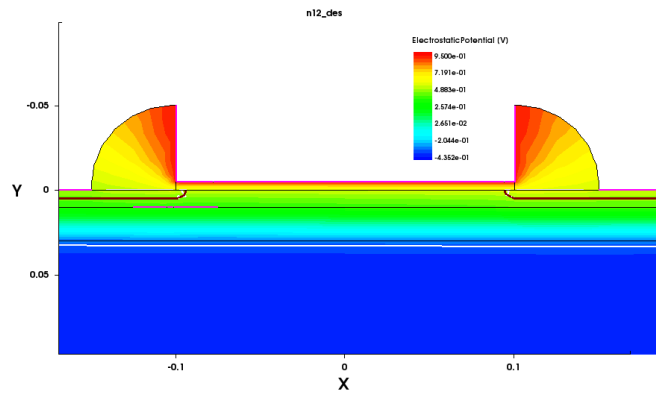


Figure 3: Electrostatic potential for the configuration: $V_G=0V$ and $V_D=50mV$. No channel is formed.

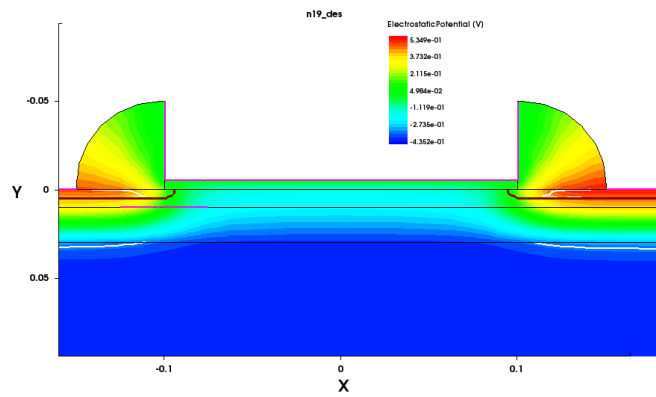


Figure 4: Electrostatic potential for the configuration: $V_G=0.95V$ and $V_D=50mV$. A channel is formed.

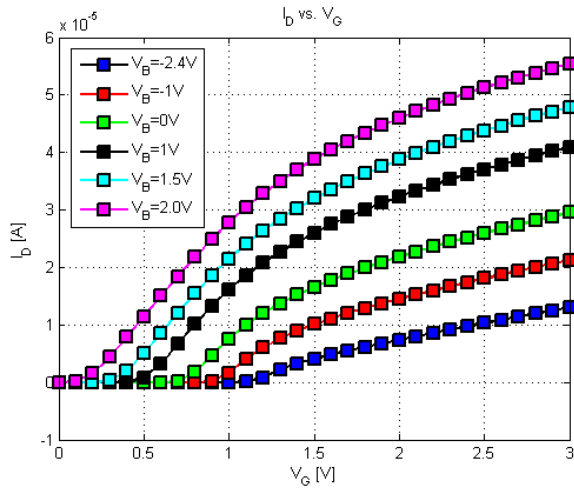


Figure 5: I_D - V_G curves for different V_{BG} voltages.

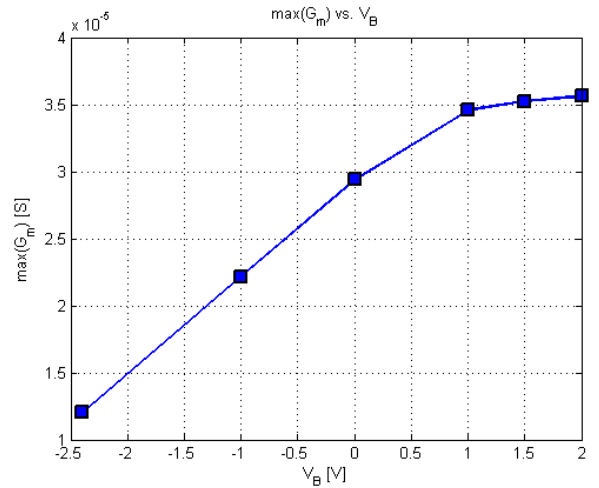


Figure 8: Peak of G_m vs. V_{BG} . The curve seems to stabilize around 2.0V.

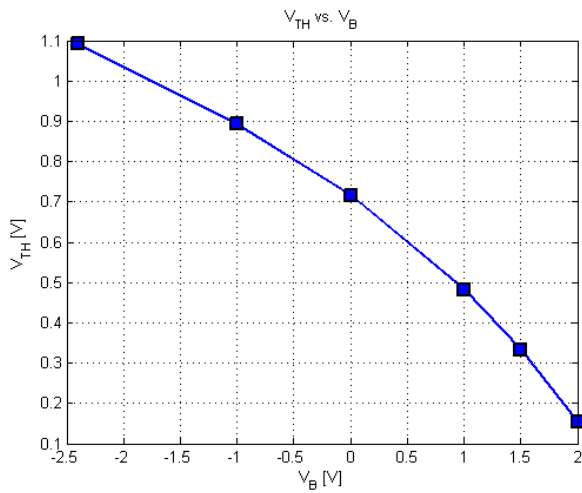


Figure 6: V_{th} vs. V_{BG} . We can see a clear dependency and an inverse correlation.

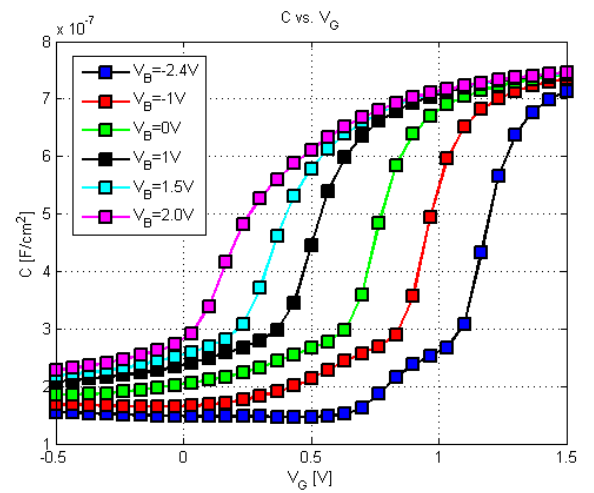


Figure 9: Inversion capacitance vs. V_G for different V_{BG} voltages.

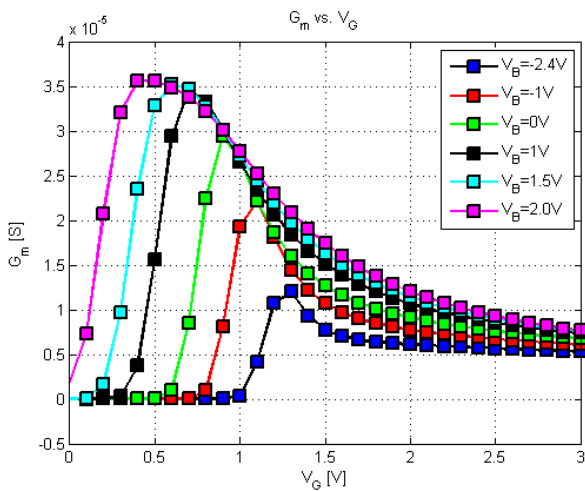


Figure 7: G_m vs. V_G for different V_{BG} voltages.

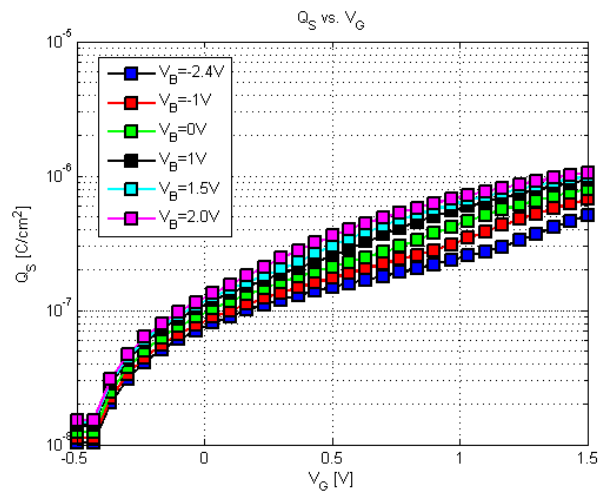


Figure 10: Surface charge vs. V_G for different V_{BG} voltages.

pret the experimental data with simulation. The usual software for this kind of work is a TCAD (Technology Computer Aided Design) simulator.

In a previous work, we already made a model of a FD-SOI MOSFET by using *COMSOL-Multiphysics*. In this work, we aim to make a similar model using *Sentaurus* and compare the results in order to show that *Sentaurus* give a more realistic picture of a FD-SOI MOSFET. Therefore, we simulate a FD-SOI MOSFET by using *Sentaurus* with the same structural model developed in [5] and we perform DC and AC studies. Particularly, we analyze the drain current, the transconductance, and the capacitance for different back-gate voltages. As well, we study the electrostatic potential for different gate voltages in order to analyze the channel formation. Finally, we discuss the results with our previous works already presented in [5, 6].

Methodology

The transversal structure of the studied FD-SOI-MOSFET consists of SiO₂ (5nm)/p-type Si (10nm)/SiO₂ (20nm) as we can see in Figure 1. A 2D model was developed for the device with an effective channel length of 200nm. The doping concentration of the source and drain regions is $N_D=1E19 \text{ cm}^3$ (phosphor) and the substrate concentration is $N_A=5E17 \text{ cm}^3$ (boron). A Gaussian distribution is used for the transition between the drain (or source) region and the p-type-Si region. *Sentaurus-Structure-Editor* [7] was used for creating the geometry, concentrations and the mesh of the device (Figure 2). The simulations were performed by using *Sentaurus-Device* which solve the Poisson's equation [8]:

$$\nabla(\varepsilon \nabla \phi) = -e(p - n + N_D - N_A) \quad (1)$$

where ϕ is the electrostatic potential, ε is the electrical permittivity, e is the elementary electron charge, p is the hole density, n is the electron density, N_D is the concentration of the ionized donors and N_A is the concentration of the ionized acceptors. Poisson's equation is coupled with the drift-diffusion equations [8]:

$$J_n = \mu_n (n \nabla E_C - 1.5nKT \nabla \ln m_n^*) + D_n (\nabla n - n \nabla \ln \gamma_n) \quad (2)$$

$$J_p = \mu_p (p \nabla E_C - 1.5pKT \nabla \ln m_p^*) + D_p (\nabla p - p \nabla \ln \gamma_p) \quad (3)$$

where E_C and E_V are the conduction and valence bands edges, μ_n and μ_p are respectively the electron and hole mobilities, m_n^* and m_p^* are the electron and hole effective masses, D_n and D_p are the electron and hole diffusion coefficients, p and n are the hole and electron densities, γ_n and γ_p are coefficients related to the Fermi statistics and T is the temperature [8].

Moreover, the Shockley-Read-Hall model is used for electrons and holes recombinations [8]. Since we perform a 2D simulation, an area factor equal to $1\mu\text{m}$ was used as transistor width. For mobility models, we have used the Philips unified model [7, 9] together with the Lombardi's model for thin layers [7, 10, 11]. Finally, quantum corrections are taken in to account in these simulations [7].

Results

The electrostatic potential is showed in Figures 3 and 4 for several gate and drain biases. In Figure 3 ($V_G=0\text{V}$ and $V_D=50\text{mV}$), the channel is not formed while it is in Figure 4 ($V_G=0.95\text{V}$ and $V_D=50\text{mV}$) consistent with the biasing. In Figure 5, we show the DC-analysis (I_D-V_G simulations) for different back-gate voltages (V_{BG}). The variation of the I_D-V_G curves agrees with our previous work presented in [5]. In the same way, the variation of the threshold voltage (V_{th}) with respect to V_{GB} (Figure 6) is consistent with works presented in [5, 12, 13]. Note that V_{th} was extracted by using the method of the maximum of the transconductance explained in [14]. In Figure 7, the transconductance, G_m , is plotted in function of V_G and in Figure 8 the maximum of G_m is plotted as a function of V_{BG} . We can clearly see that G_m depends on V_{GB} which agrees with [5, 6, 15]. Further, in all these simulations, both TCAD softwares: *Sentaurus* and *COMSOL* have very similar results.

However, a great difference between *COMSOL* and *Sentaurus* is the possibility of performing AC-analyses such as C-V simulations, in which a small-signal in a specific (or variable) frequency is connected to one of the transistor's terminals and then, the admittance matrix is measured [8]. Figure 10 shows the capacitance as a function of V_G for different V_{BG} which agree with an experimental previous work presented in [6]. We can also observe that the oxide capacitance (C_{OX}) is consistent with the dielectric thickness. Further, the capacitance clearly depends on V_{BG} . By using the C-V curves, we can easily obtain the inversion charge, Q_S , as we show in Figure 11. Note that in [5], the inversion charge was extracted by using the integration of the local value of the inversion charge in the channel.

Conclusions

The simulation of a FD-SOI-MOSFET was accomplished successfully by using *Sentaurus*. This model solves the Poisson's equation coupled with the drift-diffusion equations. We have obtained I_D-V_G curves for different V_{GB} voltages. From these curves, the values of V_{th} were extracted and its tendency with respect to V_{BG} agrees well with experimental results. The peak of G_m was studied and its behavior with respect to V_{BG} also agrees with experimental results. Although *COMSOL* and *Sentaurus* renders really similar results, *Sentaurus* enables a more precise extraction of the capacitance by

using an AC analysis. The validity of this extraction was confirmed by the behavior of the capacitance in function of V_G for different V_{BG} and the Cox value. Finally, this model produces successful simulations and can be used for future works in complement with experimental studies. Moreover, *Sentaurus* enables to simulate a device from the manufacturing process (*Sentaurus-Process*), a useful tool that will be explored in future works.

References

- [1] Cristoloveanu, S. 2001. "Silicon on insulator technologies and devices: from present to future". *Solid-State Electronics*, 85:1403.
- [2] Cristoloveanu, S.; Ghibaudo, G.; Ouisse, T.; Horiguchi, S.; Ono, Y.; Takahashi, Y.; Murase, K. 2003. "Ultimately Thin Double-Gate SOI MOSFETs". *IEEE Transactions on Electron Devices*, 50:830.
- [3] Ernst, T.; Tinella, C.; Raynaud, C.; Cristoloveanu, S. 2002. "Fringing fields in sub-0.1 μ m FD SOI MOSFETs: Optimization of the device architecture". *Solid State Electron.*, 46:373.
- [4] Naveh, Y.; Likharev, K. 2000. "Modeling of 10-nm-scale ballistic MOSFETs". *IEEE Electron Device Letter*, 21:242.
- [5] Bustamante, J.; Trojman, L. 2012. "Ultra-Thin Depleted Silicon on Insulator MOSFET: a simulation based on COMSOL Multiphysics". *Avances en Ciencias e Ingenierías*, 4:C42.
- [6] Procel, L.; Moreno, J.; Crupi, F.; Trojman, L. 2013. "Mobility extraction in ultrathin, body buried oxide and fully depleted silicon-on-insulator MOSFET". *Avances en Ciencias e Ingenierías*, 5:C1.
- [7] Sentaurus Manual. 2013. "Sentarus Device, Using Guide".
- [8] Sentaurus Manual. 2013. "Sentarus Structure Editor, Using Guide".
- [9] Klaasen, D. 1992. "A Unified Mobility Model for Device Simulation I. Model, Equations and Concentration Dependence". *Solid-State Electronics*, 35:953.
- [10] Lombardi, C.; Manzini, S.; Saporito, A.; Vanzi, M. 1988. "A physically based mobility model for numerical simulation of nonplanar devices". *IEEE Transaction on Computer-Aided Design*, 7:1164.
- [11] Reggiani, S.; Valdinoci, M.; Colalongo, L.; Rudan, M.; Baccarani, G.; Stricker, A.; Illien, F.; Felber, N.; Fichtner, W.; Zullino, L. 1997. "Electron and hole mobility in silicon at large operating temperatures. Part I. Bulk mobility". *IEEE Transactions on Electron Devices*, 44: 1529.
- [12] Ohata, A.; Cass, M.; Cristoloveanu, S. 2007. "Front and back-channel mobility in ultrathin SOI-MOSFETs by front-gate split CV method". *Solid State Electronics*: 5484–5492.
- [13] Hyung-Kyu, L.; Fossum, J. 1983. "Threshold voltage of thin-film silicon-on-insulator (SOI) MOSFETs". *IEEE Transactions on Electron Devices*, 30:1244.
- [14] Liou, J.; Cerdeira, A.; Estrada, M.; Yue, Y.; Ortiz-Conde, A.; Garcia, F. 2002. "A review of recent MOSFET threshold voltage extraction methods". *Microelectronics Reliability*, 42:583.
- [15] Colinge, J. 1985. "Transconductance of silicon-on-insulator (SOI) MOSFETs". *IEEE Electron Device Letters*.

Study of the use of modified atmospheres on the storage of “Sweetcrust pastry” (precooked mass)

Estudio del uso de atmósferas modificadas en el almacenamiento de “masa quebrada de dulce” (masa precocida)

Paola Carrilo¹, Roberto Maldonado¹, Alexandra Palomeque¹, Joselyn Yugsi¹ y Lucía Ramírez-Cárdenas^{1,*}

¹Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias e Ingenierías - El Politécnico, Departamento de Ingeniería de Alimentos
Diego de Robles y Vía Interoceánica, Campus Cumbayá, Edif. Newton. Casilla Postal: 17-1200-841, Quito, Ecuador.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: lramirez@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 31/01/2014. Aceptado/Accepted: 20/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

The use of modified atmospheres for bakery products has increased in recent years highlighting the use of gases such as carbon dioxide (CO₂) and nitrogen (N₂). Products such as short pastry have great importance due to its wide application in the preparation of salty and sweet meals. This study evaluated the change in physicochemical, organoleptic and microbiological characteristics of a precooked sweet pastry using different storage atmospheres (air, vacuum, 60 % CO₂/40 % N₂, 70 % CO₂/30 % N₂ and 100 % CO₂) at different storage periods (1, 2 and 4 weeks). Treatments were arranged in a completely randomized design with a 5x3 factorial arrangement. It was determined that there is no significant difference in the physicochemical and microbiological characteristics for all types of atmospheres, as well as, for the storage periods. However, through sensory analysis, it was determined that the atmospheres that kept the initial organoleptic characteristics of the product were the samples stored in air, 70 % CO₂/30 % N₂ and 100 % CO₂. Considering the economic factor, it was concluded that the best storage atmosphere for this is air.

Keywords. modified atmospheres, sweet short pastry, precooked mass, shelf life, sensory analysis

Resumen

El uso de atmósferas modificadas para los productos de panadería y pastelería ha incrementado en los últimos años destacándose el uso de gases como el dióxido de carbono (CO₂) y nitrógeno (N₂). Productos como la masa quebrada son de gran importancia en el área pastelería debido a su amplia aplicación en la preparación de comidas de sal y de dulce. En este estudio se evaluó el cambio en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una masa quebrada de dulce precocida empleando diferentes atmósferas de almacenamiento (aire, vacío, 60 % CO₂/40 % N₂, 70 % CO₂/30 % N₂, y 100 % CO₂) durante diferentes tiempos de almacenamiento (1, 2 y 4 semanas). Los tratamientos fueron dispuestos en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 5x3. Se determinó que no existió diferencia significativa entre los tratamientos en relación a las características fisicoquímicas y microbiológicas. Sin embargo, en el análisis sensorial, solo las muestras almacenadas en aire, 70 % CO₂/30 % N₂ y 100 % CO₂ mantuvieron las características organolépticas iniciales del producto. Considerando además el factor económico, el almacenamiento en aire fue la mejor atmósfera de almacenamiento para este producto.

Palabras Clave. atmósferas modificadas, masa quebrada de dulce, masa precocida, vida útil, análisis sensorial.

Introducción

El uso de atmósferas modificadas para los productos de panadería y pastelería ha incrementado en los últimos años. Esta tecnología implica el uso de concentraciones de oxígeno menores a los niveles atmosféricos, concentraciones de CO₂ relativamente altas (20 % o más) y ni-

trógeno como un gas inerte de relleno, que contribuyen a mantener la frescura y seguridad del producto [1].

Los productos horneados están caracterizados por su estabilidad a corto plazo y limitada vida útil debido a su envejecimiento [2]. Dentro de las alteraciones que sufren los productos de panadería se encuentran el enran-

| FV | Fc Acidez | Fc Compuestos Volátiles | Fc Mohos y Levaduras | Ft ($\alpha=0.05$ %) |
|------------------------------|------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|
| Tratamientos | 0,67 <i>n.s.</i> | 0,52 <i>n.s.</i> | 0,52 <i>n.s.</i> | 2,43 |
| Composición atmósfera (A) | 0,47 <i>n.s.</i> | 0,18 <i>n.s.</i> | 0,18 <i>n.s.</i> | 3,06 |
| Tiempo de almacenamiento (B) | 0,01 <i>n.s.</i> | 0,47 <i>n.s.</i> | 0,47 <i>n.s.</i> | 3,68 |
| Interacción AXB | 0,94 <i>n.s.</i> | 0,70 <i>n.s.</i> | 0,70 <i>n.s.</i> | 2,64 |

n.s. no significativo al 5 % de probabilidad por la prueba F.

Tabla 1: Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) de Acidez, Compuestos Volátiles y Recuento de Mohos y Levaduras de los tratamientos.

ciamiento, envejecimiento físico, alteración del contenido de agua y deterioro microbiológico [3]. Los principales microorganismos que han sido aislados en productos horneados corresponden a especies de *Eurotium*, *Aspergillus*, y *Penicillium*. Por otro lado, otras especies del género *Cladosporium*, *Rhizopus* y *Mucor* se han encontrado con menor frecuencia [4].

Para la conservación de estos productos destaca el uso del dióxido de carbono (CO₂) y nitrógeno (N₂) en atmósferas modificadas. El CO₂ es el gas más importante en la mezcla, por sus funciones tanto bacteriostáticas como fungistáticas [1]. Por otro lado el nitrógeno puede evitar el colapso de paquetes en productos que pueden absorber CO₂ [5]. Además se considera que al ser los mohos estrictamente aerobios, para prolongar la vida útil del producto, el nivel de oxígeno residual debe ser menor al 1 % [6]. Contradictoriamente, otros estudios han demostrado que los mohos pueden crecer en presencia de elevadas concentraciones de CO₂ solo si hay oxígeno presente [7]. Además de que los hongos pueden tolerar y crecer con concentraciones de oxígeno bajas del 1 al 2 % [8]. Sin embargo, también se ha reportado que a concentraciones puras de CO₂ los mohos son inhibidos en gran medida aunque haya oxígeno residual en el paquete [8].

En general, la combinación recomendada de gases para los productos horneados varía de un 20 a 50 % de CO₂, y de 80 a 50 % de N₂ [9] respectivamente. Sanguinetti et al. [10] reportaron que en una tarta de queso las proporciones N₂/CO₂ (70/30 y 20/80) extendieron su vida útil hasta 14 y 34 días respectivamente. No obstante se requiere más investigación dependiendo del tipo de producto.

Por otro lado, la masa quebrada de dulce es una masa grasa muy versátil y útil para hacer tartas o quiches, además de tartaletas tanto dulces para postres como saladas para aperitivos o entrantes [11]. Es por esto que su importancia en el área de pastelería es muy amplia constituyendo un mercado creciente a nivel nacional. No hay estudios conocidos de conservación de estas masas en atmósferas modificadas. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de atmósferas modificadas durante el almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, organolépticas así como microbiológicas y sensoriales de una masa quebrada de dulce precocida.

Materiales y Métodos

Elaboración de la masa precocida

Se elaboró la masa quebrada de dulce con la siguiente formulación en base a 1kg de harina de trigo (100 %): mantequilla (65,11 %), azúcar blanca (32,56 %), huevos enteros (23,26 %), sal (0.23 %). Toda la materia prima se adquirió en locales comerciales de Quito-Ecuador.

Los ingredientes secos fueron mezclados, añadiéndose la mantequilla y los huevos hasta obtener una masa uniforme que se almacenó en refrigeración por 30 minutos; continuando con un proceso de laminación manual, utilizando laminadora Marcato, hasta obtener un grosor de 3 a 5mm. Se colocó la masa en moldes de 10cm de diámetro que fueron horneados por 15 minutos a 180°C.

Cada una de las muestras de masa fue almacenada en fundas de polietileno de alta densidad (PEAD) en los diferentes tipos de atmósferas planteadas en el diseño experimental y en una cámara de 15°C simulando condiciones ambientales de manera controlada.

Diseño experimental

El estudio se realizó bajo el diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 5x3 con dos repeticiones. Los factores a estudiar fueron: composición de la atmósfera en el empaque (100 % CO₂; 75 % CO₂, 25 % N₂; 60 % CO₂, 40 % N₂; vacío (763 mbar) y aire) y tiempo de almacenamiento (1, 2 y 4 semanas). Se analizaron cuatro variables de respuesta: acidez, pérdida de compuestos volátiles, recuento de hongos y levaduras y evaluación sensorial.

Análisis de las variables

La acidez se determinó en base a la norma NTE INEN 0095:79 [12]. Para la pérdida de compuestos volátiles se utilizó una lámpara halógena. El análisis microbiológico siguió el método oficial AOAC 997.02 y se establecieron los límites de conteo en base a la norma NTE INEN 2085:2005 [13].

La evaluación sensorial tuvo lugar en el aula de análisis sensorial de la Universidad San Francisco de Quito, y consistió en una prueba de aceptación empleando una escala hedónica de 10 puntos. Los atributos que se evaluaron fueron: sabor, olor, apariencia y textura. La suma conjunta de estos atributos permitió obtener una calificación general de cada muestra.

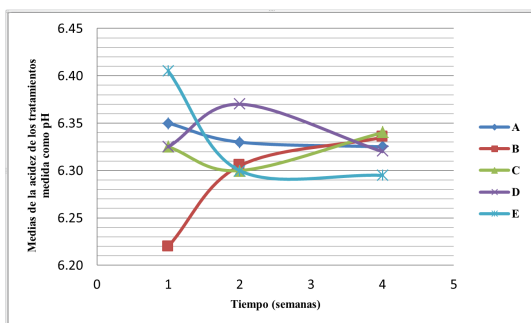


Figura 1: Cambio de la acidez de los tratamientos. A: Aire. B: Vacío. C: 60 % CO₂-40 % N₂. D: 70 % CO₂-30 % N₂. E: 100 % CO₂.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un $\alpha=0,05\%$. Para las variables: acidez, pérdida de compuestos volátiles y recuento de hongos y levaduras se empleó la transformación logarítmica de datos para obtener una distribución normal [14]. Los resultados de la evaluación sensorial se analizaron bajo la prueba *t* de Student empleando un $\alpha=0,05\%$ de dos vías.

Resultados y Discusión

Análisis fisicoquímico

La acidez de todos los tratamientos (Figura 1), se mantuvo entre 6,2 a 6,41 estando dentro del rango exigido por la norma NTE INEN 2085:2005 para galletas (5,5 a 9,5) [13], siendo la formulación de galletas entre varios productos la que más se asemejó a la masa quebrada de dulce.

Varios factores pueden afectar el pH de un producto (definido como acidez según la norma INEN 0095:79), como el enranciamiento de lípidos, que se producen por reacciones de hidrólisis y oxidación [15].

El enranciamiento hidrolítico se debe principalmente a la acción de enzimas lipolíticas (lipasas) presentes en el producto o producidas por ciertos microorganismos [15]. En este estudio es poco probable un enranciamiento con enzimas lipolíticas propias del producto, por lo que si esto se presentara sería por microorganismos presentes en la masa precocida.

El enranciamiento oxidativo se debe a la oxidación de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados y ocurre en presencia de oxígeno [16], esperándose que el tratamiento envasado en la atmósfera ambiental presente rancidez oxidativa. Además podría existir producción de ácido láctico u otros metabolitos provenientes de la acción microbiana que tendrían influencia sobre la acidez [17].

Después de los 28 días de almacenamiento (cuarta semana) como se observa en la Tabla 1 tanto el factor A (composición de la atmósfera en el empaque) como el

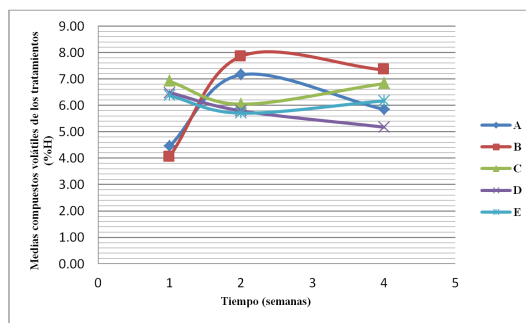


Figura 2: Cambio de los compuestos volátiles de los tratamientos a lo largo del tiempo. A: Aire. B: Vacío. C: 60 % CO₂-40 % N₂. D: 70 % CO₂-30 % N₂. E: 100 % CO₂.

factor B (tiempo de almacenamiento) y su interacción no presentaron ningún efecto significativo sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas de los tratamientos. La acidez se mantuvo estable durante los 28 días en los 5 tipos de atmósferas sin haber diferencias significativas entre los tratamientos. Si bien esta acidez fue determinada siguiendo el procedimiento de la norma INEN 0095:79, coincide también con los datos obtenidos en los estudios realizados en galletas (6,4-6,5) con formulaciones similares a las empleadas en este estudio [18].

La gran mayoría de los compuestos volátiles se originan de los lípidos susceptibles a diferentes reacciones de deterioro (enranciamiento oxidativo o hidrolítico) y al agua presente en el producto [15, 16]. Como la acidez se mantuvo estable no sería la responsable de ningún tipo de proceso de enranciamiento de los lípidos. La Tabla 1 muestra que el factor A, el factor B y su interacción no influyeron en la concentración de compuestos volátiles. Estos resultados también indican que no ingresó agua a través del polietileno de alta densidad, confirmando que este material presenta muy baja permeabilidad al agua [19] y el producto mantuvo una humedad constante durante las cuatro semanas de almacenamiento. En la Figura 2 se observa el comportamiento de los compuestos volátiles a lo largo del tiempo en cada una de las atmósferas.

Análisis microbiológico

De acuerdo a la Tabla 1 no hubo diferencia significativa en el recuento de mohos y levaduras de los tratamientos, además de que tampoco estuvo influenciado por los factores ni su interacción. Durante el tiempo de almacenamiento no hubo un incremento significativo en el recuento de mohos y levaduras, contrario a lo esperado debido a las características de la masa (humedad baja, sometido a un proceso de cocción previo, con una temperatura de almacenamiento de 15°C, 50 % de HR). Al final de las cuatro semanas los recuentos finales para mohos y levaduras cumplieron con la norma NTE INEN 2 085:2005 [13]. Otros autores encontraron especies del género *Eurotium*, *Aspergillus*, y *Penicillium* durante el almacenamiento prolongado de productos horneados [4].

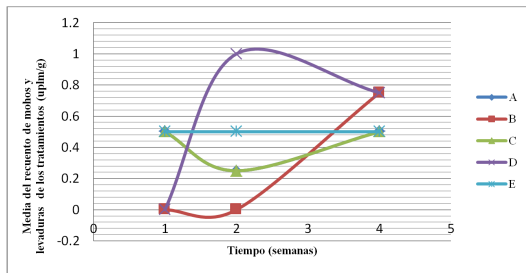


Figura 3: Crecimiento de mohos y levaduras en los tratamientos. A: Aire. B: Vacío. C: 60 % CO₂-40 % N₂. D: 70 % CO₂-30 % N₂. E: 100 % CO₂.

La tendencia de un ligero incremento del recuento de mohos y levaduras se observó en todos los tipos de atmósfera conforme avanzó el tiempo de almacenamiento. Las medias del recuento de mohos y levaduras para las atmósferas de vacío y 70 % CO₂/30 % N₂ mostraron un mayor recuento a la semana 4 de almacenamiento. Por otro lado, para los tratamientos de 100 % CO₂, aire, y 60 % CO₂ 40 % N₂, la medias mostraron una tendencia en el incremento más constante con un valor menor para la semana cuatro.

A pesar de ser los mohos estrictamente aerobios, los resultados del almacenamiento del producto en condiciones de vacío muestra una contradicción al observarse una tendencia de crecimiento como se presenta en la Figura 3, sin embargo, la misma no es significativa. No obstante, Ellis et al. [8] encontraron que a concentraciones puras de CO₂ el crecimiento de mohos se inhibe en gran medida a pesar de haber oxígeno residual en el paquete (Figura 4), lo que concuerda con la tendencia constante de crecimiento observada, al igual que con la media del recuento de los tratamientos. Al no existir diferencia significativa entre los tratamientos, la mejor opción sería el almacenamiento en aire por costo inferior.

Evaluación sensorial

Mediante la prueba t de Student ($\alpha=0,05$ %, dos vías) se observó que las calificaciones obtenidas para las muestras almacenadas tanto en vacío como en atmósfera modificada con 60 % CO₂ y 40 % N₂ diferían significativamente al transcurrir las semanas siendo el tiempo de vida útil sensorial de una y dos semanas respectivamente.

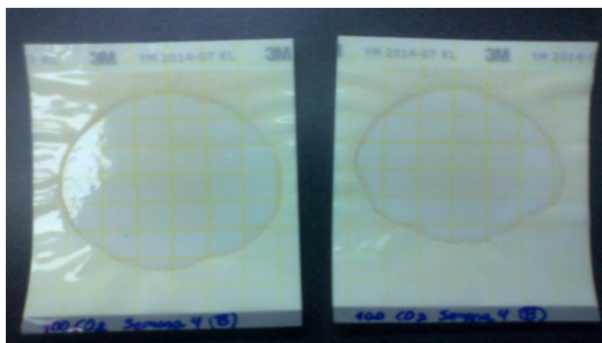


Figura 4: Petrifilm Semana 4 de 100 % CO₂.

| Codificación | a | b | c |
|--------------|------|-------|-----|
| Atmósfera | AIRE | 70/30 | 100 |
| Juez 1 | 27 | 27 | 31 |
| Juez 2 | 25 | 27 | 27 |
| Σ | 52 | 54 | 58 |

n.s. no significativo al 5 % de probabilidad por la prueba F.

Tabla 2: Evaluación sensorial de los tratamientos Aire-Semana 4, 70 % CO₂/30 % N₂-Semana 4 y 100 % CO₂-Semana 4

| Codificación | a y b | a y c | b y c |
|---------------|------------|----------|-----------|
| Atmósfera | AIRE-70/30 | AIRE-100 | 70/30-100 |
| Diferencia J1 | 0 | 4 | 4 |
| Diferencia J2 | 2 | 2 | 0 |
| ΣD | 2 | 6 | 4 |
| ΣD^2 | 4 | 36 | 16 |
| T | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| t crítico | | 12,71 | |

n.s. no significativo al 5 % de probabilidad por la prueba F.

Tabla 3: Diferencias obtenidas de los tratamientos Aire-Semana 4, 70 % CO₂/30 % N₂-Semana 4 y 100 % CO₂-Semana 4 y análisis por t de Student

Sin embargo, para las muestras almacenadas en aire y atmósferas modificadas con 70 % CO₂ y 30 % N₂, y 100 % CO₂, no se observó una diferencia significativa en las calificaciones obtenidas a lo largo de la primera, segunda y cuarta semana a pesar de que la tendencia de aceptación disminuía al pasar el tiempo como se observa en la Figura 5. Es decir que el producto se mantenía fresco conservando sus características organolépticas iniciales, muy importante para que el producto permanezca en percha por más tiempo y sea adquirido por el consumidor [20, 21].

Por lo tanto, estas muestras fueron analizadas utilizando las calificaciones obtenidas a la cuarta semana de almacenamiento (Tabla 2) por comparación pareada para encontrar el mayor tiempo de vida útil del producto. La Tabla 3 mostró que no existió diferencia significativa entre los tres tipos de atmósferas por lo que cualquiera de éstas sería una buena opción para el almacenamiento del producto a temperatura ambiente (15°C).

Sin embargo, se debe evaluar otros factores como rentabilidad, debido a que los tratamientos con 100 % CO₂ o 70 % CO₂/30 % N₂ implican una mayor inversión en la industria; recomendándose el almacenamiento en aire ya que mantiene las características organolépticas del producto de igual forma que lo hacen el uso de atmósferas modificadas. Un estudio realizado en galletas de dulce, con similar formulación a la planteada en este estudio, demostró que mantienen sus características organolépticas hasta 60 días después de su elaboración empleando fundas de polietileno de alta densidad, composición de la atmósfera a condiciones ambientales normales y temperatura ambiente [18] como se plantea finalmente en este estudio.

Conclusiones

No hubo diferencia significativa en las características físico-químicas analizadas (acidez, y pérdida de compuestos volátiles) entre los tratamientos, al variar tanto las atmósferas como el tiempo almacenamiento.

El análisis microbiológico mostró una tendencia al incremento en el recuento de mohos y levaduras conforme al paso de las semanas de almacenamiento, sin embargo no fue estadísticamente significativo. Se esperaría que al almacenarse por un periodo más prolongado existiera un crecimiento más significativo.

Por otro lado, el análisis sensorial mostró que el aire y atmósferas modificadas con 70 % CO₂ y 30 % N₂, y 100 % CO₂, no presentaron diferencia significativa en las calificaciones obtenidas a lo largo de la primera, segunda y cuarta semana, siendo todas las anteriormente mencionadas las de mejor conservación de las características sensoriales.

Considerando la menor inversión en la industria, el almacenamiento en aire durante 28 días a 15°C resultó ser el mejor según el alcance de esta investigación.

Agradecimientos

Al Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Universidad San Francisco de Quito, por el uso de sus instalaciones, equipos, materiales y reactivos, además de la importante ayuda del personal docente y técnico para realizar la presente investigación.

A su vez, al Laboratorio de Microbiología por la prestación de materiales y reactivos, y la asesoría de sus asistentes.

Referencias

- [1] Sanguinetti, A.; Secchi, N.; Del Caro, S.; Stara, G.; Roggio, T.; Piga, A. 2009. "Effectiveness Of Active And Modified Atmosphere Packaging On Shelf Life Extension Of A Cheese Tart". *International Journal of Food Science and Technology*, 44(6):1192–1198.
- [2] Fik, M. 2004. "Bread staling and methods of prolonging its freshness". *Zywnosc. Nauka. Technologia. Jakosc.*, 2: 5–22.
- [3] Jakosc, Z. N. T. 2004. "Nuevo tratado de panificación y bollería". *AMV Ediciones: Madrid*: 346–347.
- [4] M., A. 2014. "Caracterización de diferentes productos de bollería industrial. II. Estudio de la micoflora". *Alimentaria*, 287:51–56.
- [5] Daniels, J.; Krishnamurthi, R.; S., R. 1985. "A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality". *Journal of Food Protection*, 48:532–537.
- [6] Ortola, C.; Santacreu, C. 1998. "Principios de aplicación del envasado en atmósfera modificada a los productos de panificación y bollería". *Alimentación, equipos y tecnología.*, 17(5):111–117.
- [7] Ellis, W.; Smith, J.; Simpson, B.; Khanizadeh, S.; Oldham, J. 1993. "Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* under modified atmosphere packaging (MAP) conditions". *Food Microbiology.*, 10(1):9–21.
- [8] Ellis, W.; Smith, J.; Simpson, B.; Ramaswamy, H.; Doyon, G. 1994. "Growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts stored under modified atmosphere packaging (MAP) conditions". *International Journal of Food Microbiology*, 22(2-3):173–187.
- [9] Kotsianis, I.; Giannou, V.; Tzia, C. 2002. "Production and packaging of bakery products using". *Trends in Food Science & Technology*, 13:319–324.
- [10] Sanguinetti, A.; Secchi, N.; Del Caro, A.; Stara, G.; Roggio, T.; Piga, A. 2009. "Effectiveness of active and modified atmosphere packaging on shelf life extension of a cheese tart". *International Journal of Food Science and Technology.*, 44(6):1192–1198.
- [11] G&Cia. 2008. "Masa quebrada". *Enlace* : <http://www.gastronomiaycia.com/2008/08/17/masa-quebrada/>.
- [12] Instituto Ecuatoriano de Normalización. 1979. "Pan Común Requisitos NTE INEN 0095:79".
- [13] Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2005. "Galletas. Requisitos. NTE INEN 2085:2005".
- [14] Sánchez, J. 2012. "Capítulo 9. Transformación de datos o cambios de escala". en "*Introducción al Diseño Experimental*". *Innovación Digital: Quito*.
- [15] Allen, J.; R., H. 1994. "Rancidity in Foods". *Springer-Verlag*.
- [16] Piergiovanni, L. 1997. "Minimizing the residual oxygen in modified atmosphere packaging of bakery products".
- [17] Zambiasi, R. 1999. "Storage stability of genetically modified canola oils". *Canberra, Australia: Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress*.
- [18] Chirinos, C.; Chirinos, F.; Aricari, L. 2001. "Elaboración de galletas utilizando harinas sucedáneas obtenidas con productos de la región". *Revista Amazónica de investigación alimentaria.*, 1(1):43–48.
- [19] Vermeiren, L. 1999. *Trends in Food Science and Technology. "Developments in the active packaging of foods"*, 10(3):77–86.
- [20] Van Trijp, H.; Schifferstein, H. 1995. "Sensory analysis in marketing practice: comparison and integration". *Journal of Sensory Studies.*, 10(2):127–147.
- [21] Rodriguez, S.; Qüesta, A. "Evaluación sensorial de vegetales frescos y mínimamente procesados". *Universidad Nacional de Santiago del Estero*. <http://www.fcrai.uncu.edu.ar/upload/29atc-rodriguez-unse.pdf>.

A daily representation of Great Britain's energy vectors: natural gas, electricity and transport fuels

Una representación diaria de los vectores energéticos de Gran Bretaña: gas natural, electricidad y combustibles para transporte

I. A. Grant Wilson^{1*}, Anthony J. R. Rennie¹, Peter J. Hall¹ and Nicolas J. Kelly²

¹Chemical and Biological Engineering, University of Sheffield, Sheffield, UK.

²Energy Systems Research Unit, Department of Mechanical Engineering, University of Strathclyde, Glasgow, UK.

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: grant.wilson@sheffield.ac.uk

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 21/04/2014. Aceptado/Accepted: 07/05/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

In much of Europe there is a strong push to decarbonize energy demands, including the largest single end-use demand, which is heat. Moving heat demands over to the electrical network poses significant challenges and the use of hybrid energy vector and storage systems (heat and electrical storage) will be a critical component in managing this transition. As an example of the challenges facing many developed countries, the scale of recently available daily energy flows through the UK's electrical, gas and transport systems are presented. When this data is expressed graphically it illustrates important differences in the demand characteristics of these different vectors; these include the quantity of energy delivered through the networks on a daily basis, and the scale of variability in the gas demand over multiple timescales (seasonal, weekly and daily). As the UK proceeds to migrate heating demands to the electrical network in its drive to cut carbon emissions, electrical demand will significantly increase. Additionally, the greater variability and uncertainty shown in the gas demand will also migrate to the electrical demand, posing significant difficulties for the maintenance of a secure and reliable electrical system in the coming decades. This paper concludes with an analysis of the different means of accommodating increasingly volatile electricity demands in future energy networks.

Keywords. decarbonizing heat, energy vector data.

Resumen

En gran parte de Europa se está dando un fuerte impulso para descarbonizar la demanda energética, incluida su gran demanda de calefacción. El transporte de energía a través de la red, plantea retos considerables; en este caso, los vectores energéticos y los sistemas de almacenamiento energético (tanto eléctrico como térmico) son críticos en dicha transición. Como ejemplo de los desafíos que enfrentan muchos de los países desarrollados, presentamos los flujos energéticos diarios a través de los sistemas eléctrico, de gas y de transporte en el Reino Unido. Un análisis gráfico de estos datos revela diferencias significativas entre los diferentes vectores considerados; incluida la cantidad diaria de energía suministrada a través de las redes, así como la demanda de gas (la cual varía con las estaciones) usualmente expresada en una base diaria, semanal o estacional. A medida que el Reino Unido, motivado por su campaña para reducir las emisiones de carbono, transfiera sus necesidades de calefacción a la red eléctrica, experimentará un aumento significativo en la demanda eléctrica. Además, la gran variabilidad y la incertidumbre en la demanda no serán exclusivos del gas sino que también se darán en el caso eléctrico. Esto plantea dificultades importantes para el mantenimiento de un sistema eléctrico seguro y confiable en las próximas décadas. Este artículo concluye con un análisis de los diferentes medios para acomodar demandas eléctricas variables en redes eléctricas futuras.

Palabras Clave. reducción de emisiones de carbono, vector energético

Introduction

This paper presents recent historical daily energy flows through Great Britain's electrical, natural gas and trans-

Artículo seleccionado del Primer Congreso Internacional y Expo Científica; Investigación Sostenible: Energías Renovables y Eficiencia Energética, ISEREE 2013 (28 de noviembre al 01 de diciembre de 2013); organizado por el Instituto Nacional de Eficiencia Energética y Energías Renovables (INER), Quito, Ecuador.

port networks to illustrate the significant differences in the demand characteristics of these main energy vectors. Of particular note are the differences in temporal variability and magnitude. On a daily basis the total natural gas demand can be approximately four times the electrical demand in winter; natural gas demand also exhibits significantly higher variability. Conversely, daily electrical demand is more predictable and less subject

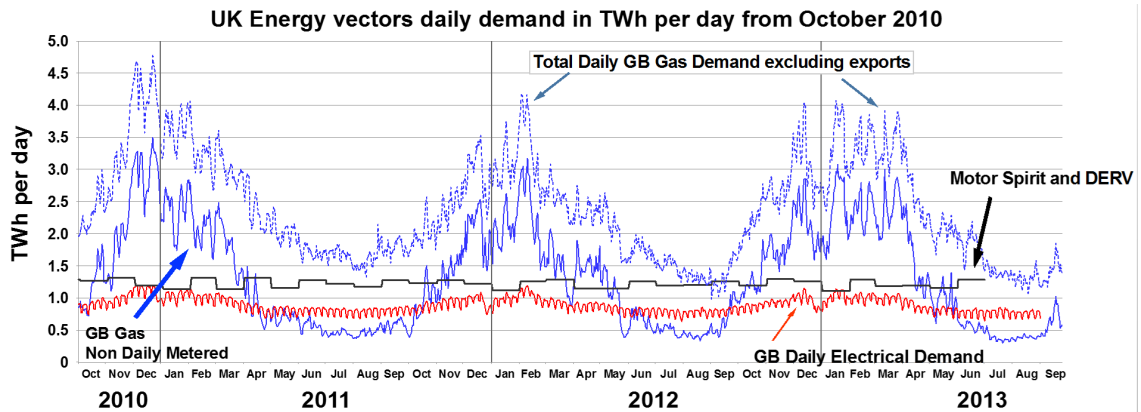


Figure 1: Daily GB Gas and Electricity and transport fuels (TWh). Data sources [7-10].

to seasonal variation. These differences have profound implications when considering the potential transfer of heat demands from the natural gas network to the electrical network in order to ‘decarbonize heat’ as envisaged in the UK Climate Change ACT [1]. The data analyzed spans the period from October 2010 to September 2013.

UK policy background

The UK Climate Change Act set forth legally binding targets to reduce UK greenhouse gas emissions to 20% of their 1990 levels by 2050. The 2011 Carbon Plan states ‘By 2050, electricity supply will need to be almost completely decarbonized’ [2]. The decarbonization of the electrical supply will be achieved by deploying a wide range of low-carbon technologies based on *inter alia* wind, solar, hydro, sustainable biomass, nuclear, and fossil-fuels with carbon capture and storage. In parallel, the UK has also adopted a range of policies aimed at reducing energy demand, including a radical strengthening of building regulations and decarbonization of the energy required for heating [3]. The area of low-carbon heat is justly receiving increased attention, as evidenced by reports from the Department of Energy and Climate Change and the Royal Academy of Engineering [4,5].

UK heating and hot water demand

UK energy consumption in 2011 for space and water heating for all sectors (domestic, service, industry and transport) was 517 TWh. Energy used for domestic space and water heating accounts for just over 70% of this total (363 TWh). By comparison, the overall total final energy consumed for all sectors for electricity in 2011 was 312 TWh *i.e.* only 86% of overall domestic space and water heating in energy consumption terms. The vast bulk of the energy needed to meet UK domestic space and water heating demands is provided by the combustion of natural gas (286 TWh), with the balance met using electricity (29 TWh), heating oil (31 TWh), solid fuels (9 TWh), bioenergy and waste (7 TWh), heat sold (1 TWh), solar thermal or indeed a combination

of these. All the values are sourced from Energy Consumption in the UK data, and although these annual data provide useful comparisons and trends, it is only when energy flows are considered on a more granular level that differences between the energy vectors become increasingly apparent [6].

Data sources

- Natural Gas data were sourced from National Grid’s data explorer due to its resolution down to a single day as well as helpful demand categorizations [7].
- Transport fuel data were sourced from the energy trends spreadsheet ‘Deliveries of petroleum products for inland consumptions (ET 3.13)’. This is available at a resolution of 1 month [8].
- Electricity Data was sourced from either the ‘Metered half-hourly electricity demands’ data from National Grid’s website or through Elexon’s Portal. This is available at a granular level of 5 minutes and a half-hour [9,10].

The various data sources were recalculated into comparable kWh/day format in order to be comparable on a daily basis.

Figure 1 uses this data to show Great Britain’s (GB) daily natural gas, electrical¹ and transport vectors in Terawatt hours. This TWh/day natural gas total includes gas to power stations, industry, storage and the daily and non-daily metered demands, but excludes exports. Figure 1 also shows the non-daily metered (NDM) component of this total daily natural gas demand, which is comprised of gas metering equipment that are not measured on a daily basis, *e.g.* domestic, small business, and a proportion of commercial, public administration, agricultural and even some industrial facilities. However, natural gas for domestic space heating, hot water and cooking is the major part of the NDM component.

¹The daily electrical data is aggregated from the half hourly demand data (termed IO14_TGSD) also from National Grid [9].

Figure 1 shows the very different characteristics of gas and electricity demand. In winter, the NDM gas demand alone can be up to three times the total electrical demand, whilst dropping below electricity in the summer. In addition to seasonal variability, the gas demand also shows striking shorter-term daily and weekly variability linked to weather conditions and the resulting requirement for heat. The NDM component is the largest source of the seasonal variation of the total gas demand, *e.g.* the 2011 daily values ranged between 0.368 TWh/day and 3.49 TWh/day. In contrast, the daily electrical demand showed a seasonal variation between 0.675 TWh/day and 1.2 TWh/day over the same period. It is also noteworthy that over two contrasting winters of 2010 and 2011 covered by Figure 1, which were cold and mild respectively, the peak values were broadly similar although their timing was not.

It is important to note that NDM gas flows are not constant throughout a day but are instead concentrated in the morning and evening, when space and water heating demands are highest [11,12]. Analysis of sub-daily gas demand data would show even greater variability of the gas demand than shown in Figure 1, and it would prove useful to further compare and contrast with sub-daily electrical data. However, national sub-daily gas demand data are not readily available for the GB natural gas network.

The extreme variation shown in Figure 1 natural gas flows is routinely catered for by existing gas infrastructure, as to-date there have been no widespread problems of availability of natural gas throughout the year to the NDM end user. The gas network is balanced throughout the day, with increased gas pressure in parts of the network (linepack) used as a buffer of energy to provide increased gas supply to meet diurnal peaks in demand. By comparison, the electrical network has to be kept in balance on a near instantaneous basis and thus is crucially different in its operation and management.

Impact of the shift to electrical heating

A wholesale transfer of the NDM gas demand seen in Figure 1 to the electrical network is highly unlikely given that space-heating demand in the domestic sector is set to fall over time due to the increase in energy efficiency of the building stock [13]. Furthermore, the electrification of heat will be a gradual process rather than a sudden switchover. However, even a partial electrification of domestic heating demand will have serious implications for the UK's ageing electrical transmission and distribution networks. To illustrate this point, Figure 2 shows part of the same data used for Figure 1, but with 30% of the NDM demand transferred over to the electrical network. Thus the NDM data has been reduced by 30% and the electrical data increased by a corresponding amount scaled by a coefficient of performance (COP)². Figure 2 shows the result of this transfer using two different electrical heating technologies.

²Coefficient of performance is the ratio of the useful heating effect of a technology to the primary energy consumption. In the case of

If this transfer of 30% of NDM heat demand was serviced by resistive elements for space and water heating, this results in the upper demand curve labeled COP1. This is equivalent to a simple shift of the heat demand from the gas network to the electrical network. Alternatively, if the transferred heat demand is met using heat pumps with an average COP of 3³ then this is equivalent to a third of the reduced heat demand from the gas network being transferred to the electrical network. The impact on the total daily electrical demand is shown on the middle demand curve labeled COP3 [14]. The original GB daily electrical demand from Figure 1 is shown as the lower curve for comparison.

Shifting 30% of NDM heat demand to purely resistive heating results in the daily electrical demand almost doubling during periods of high heating demand during the winter months. If heat pumps are used to meet this heating load then the daily electrical demand is still around 25% larger at times of high daily demand. Thermodynamically, the best option for the electrification of heat is to use ground or air source heat pumps. However, the capital and installation costs of heat pumps are significant and, for new build and retrofit dwellings with small space heating demands, developers may favour resistance heating as a low-cost alternative. So, realistically, the electrification of heat would undoubtedly involve a range of technologies including resistive storage heating, direct resistive heating, air source and ground source heat pumps. The actual impact is therefore likely to lie between these two extremes (COP-1 and COP-3) shown in Figure 2.

Whilst this basic analysis uses historical daily demand data to illustrate a future scenario, it is striking that even a partial shift of the NDM demand to the electricity system results in a substantial increase in daily electrical demand. It is worth reiterating that this study only considers the daily energy use, which will significantly understate the variability in instantaneous power demands on the electrical network. In short, electrical networks are engineered to cope with both peak power requirements and particular load factors, so the reality of changing either one of these design parameters will require upgrades to existing network infrastructure. Also when considering the potential to shift at least some of the extra demand arising from the electrification of heat to off-peak periods, this will be dependent upon the provision of *substantial* quantities of local thermal storage. For example, Arteconi *et al.* (2013) estimate that 800L of thermal storage are required to provide one hour load shifting in a heat pump serving an average UK dwelling [15]; Hong *et al.* (2012) estimate that around 500L of hot water buffering is required to shift the de-

electric resistance heating COP is 1. For ground source heat pumps the COP is approximately 4 and for air source heat pumps the COP is 2-3.

³This is an optimistic COP value, reflecting improvements in the technology and installation practice. UK field trials revealed far poorer performance in real heat pump systems, predominantly due to poor quality design and installation in buildings [14].

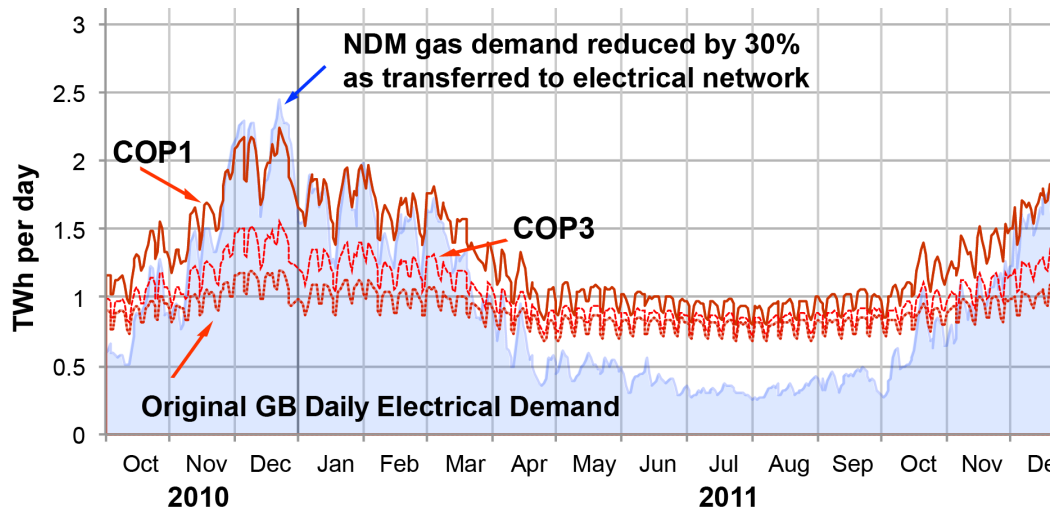


Figure 2: Transfer of heat and hot water demand from Gas to Electrical network using historical data.

mand of a heat pump to off peak periods when serving a very well-insulated UK dwelling (and only with dramatically improved insulation levels) [16]. Clearly, not all dwelling types could accommodate such substantial thermal stores. Further, the use of thermal storage itself can lead to an increase in overall heating demand due to additional parasitic heat losses from the thermal stores and reduced heat pump performance and so load shifting alone cannot be relied upon to circumvent substantially increased peak electrical demands [17].

The clear message that can be taken from Figure 2 is that without substantial investment in transmission and distribution infrastructure, the UK electricity system is unlikely to be able to accommodate even a fraction of the additional power requirements associated with the transfer of heat demands at current levels, and this is even before any consideration of the additional electrical demand from possible electrification of transport. The vector flows for the aggregated value of the motor spirit (gasoline) and DERV (diesel) is also shown in Figure 1, and although the data is only available on a monthly basis – it can be seen that the seasonal variation of this aggregate vector is clearly much less than seasonal variation seen in natural gas.

Mitigating the impacts of the electrification of heat

There is a clear need to find solutions to help lessen the impact of heat demand transfer to the electrical network (a major source of the absolute amount and seasonal variability of the NDM gas demand); perhaps deferring or even mitigating the extent of required infrastructure investment.

Domestic energy efficiency

Reducing domestic heating requirements by improving the insulation levels of dwellings is an obvious and critical place to begin, as this both reduces fuel costs for householders and improves the quality of the indoor environment. Transformational improvements are possi-

ble, for example, low carbon housing has been demonstrated to reduce heating demand by up to 90% [18]. Realistically, however, such dramatic improvements in fabric energy efficiency are achievable only with new-build housing. Whilst substantial improvements in performance in existing dwellings are also achievable by retrofitting energy efficiency measures, the trend improvement is likely to continue to be gradual as performance improvement measures are implemented over time by homeowners [13]; it is therefore likely that there will be a substantial domestic space heating demand well into the future. It is therefore unlikely that heat demand will be significantly less in the short to medium term, particularly in older and so-called ‘hard-to-treat’ houses, which form up to 40% of the housing stock, where a combination of the building fabric and location limit the scope for retrofitted energy efficiency improvements [19]. Over the long-term however, it is expected that energy efficient housing may attract a premium price over energy inefficient housing – but this is speculative due to the locational nature of housing prices.

Biomass heating

Action to reduce peak heat demand on the electrical network could also be augmented by greater use of lower-carbon fuels that can be stored (such as biomass). Consideration of policies to encourage the planting of biomass in the UK, in order to provide local biomass resources in the future may be a worthwhile addition to more technology focussed directions.

Improving heat pump performance

Improving the COP of heat pump technologies could reduce the impact of the progressive electrification of heat on the electrical network. The results of heat pump field trials undertaken in the UK indicate that there is significant scope for improvement in the performance of heat pumps integrated into buildings [14]. Advances in heat pump technology such as improved compressor

design and better performance at higher temperatures offer one potential route to higher COPs [20]. However, further improvements could also be derived from better heat pump system design and integration, and better training of installers and users [21,22].

Seasonal heat storage

The use of larger heat stores (multi MWh) with storage times into the weekly/monthly or even seasonal time-scales [23] used in conjunction with solar energy has the potential to decrease some of the variation in energy supply seen in Figure 1, as some of the winter heat demand could be met using a local heat store, rather than drawing from the gas or electrical grid. However, step changes in both unit cost and energy density compared to established materials are needed to encourage wider adoption. Thermal storage using reversible chemical reactions such as hydration or carbonation [24-26] is a promising area. Reactions producing distinct phases on the addition/removal of heat allow products to be separated and stored, which permits the storage of heat over longer periods and renders seasonal heat storage more of a possibility.

Conclusion

Regardless of the future path of primary energy supply to the UK, the domestic heat demand in winter will continue to be much greater than in summer, and as the UK moves away from the seasonal flexibility provided by natural gas (for reasons of price, availability or embedded CO₂), then suitable methods to cope with the higher winter heating demands and variations over different timescales will be necessary.

The comparison of the recent daily gas and electrical energy flows in Great Britain's electrical and gas transmission networks indicates that serious challenges arise when an increasing amount of the heat demand is met from the electrical network. Even allowing for future improvements in domestic energy efficiency and electric heating technologies such as heat pumps, the UK's ageing electrical system could still see a significant rise in daily energy flows, which would result in significant upgrading costs to cope with increased peak flows.

Some measures to mitigate the potential impact on the electricity network were highlighted including; radical demand reduction measures, electrical heating technology improvements, biomass heating and heat storage. Each measure has limitations and consequently a combination of measures should be considered desirable in order to ease the transition of domestic heat demands from the gas to the electrical network. However, reducing the overall heat demand by making the built environment increasingly energy efficient should continue to be the cornerstone of all policies.

Finally, the importance of the correct level of data cannot be overstated in order to provide insights into the

challenges ahead. The right kind of data is a prerequisite to the understanding and transition of any energy system and having hybrid data from different energy vectors provides a greater understanding than a single vector would provide. Better whole systems data should lead to better insights and therefore some hope of better choices in energy systems transitions.

Acknowledgements

This work was supported by the Engineering and Physical Sciences Research Council under the grant EP/K002252/1.

References

- [1] 2008. "UK Climate Change Act 2008". <http://www.legislation.gov.uk/ukpga/2008/27/contents>, accessed 26/9/2013.
- [2] Department for Energy and Climate Change. 2011. "Great Britain's housing energy fact file". Table 6b, https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/48195/3224-great-britains-housing-energy-fact-file-2011.pdf, accessed 26/9/2013: 89.
- [3] Department of Communities and Local Government. 2012. "Consultation on Changes to the Building Regulations in England, Section 2 Part L (Conservation of Fuel and Power)". <http://www.communities.gov.uk/documents/planningandbuilding/pdf/2077834.pdf>, accessed 26/9/2013.
- [4] Department for Energy and Climate Change. 2013. "The Future of Heating: Meeting the challenge". <https://www.gov.uk/government/publications/the-future-of-heating-meeting-the-challenge>, accessed 26/9/2013.
- [5] The Royal Academy of Engineering. 2012. "Heat: Degrees of comfort?".
- [6] Department for Energy and Climate Change. 2013. "Energy Consumption in the UK". Table 1.08: Overall energy consumption for heat and other end uses by fuel 2011. <https://www.gov.uk/government/publications/energy-consumption-in-the-uk>, accessed 26/9/2013.
- [7] National Grid. 2013. "National Grid Data Item Explorer". <http://marketinformation.natgrid.co.uk/gas/DataItemExplorer.aspx>, accessed 26/9/2013.
- [8] Department for Energy and Climate Change. 2013. "Deliveries of petroleum products for inland consumptions (ET 3.13)". <https://www.gov.uk/government/publications/oil-and-oil-products-section-3-energy-trends>, accessed 26/9/2013.
- [9] National Grid. 2013. "Metered half hourly electricity demands data". <http://www.nationalgrid.com/uk/Electricity/Data/Demand+Data/>.

- [10] Elexon Portal. 2013. "Historic Energy by fuel type". <https://www.elexonportal.co.uk/HISTORICGENERATIONBYFUELTYPE>, accessed 26/09/2013.
- [11] Buswell, R.; Thomson, M.; Webb, L.; D., M. 2013. "Determining heat use in residential buildings using high resolution gas and domestic hot water monitoring". Submitted to 13th International Conference of the International Building Performance Simulation Association.
- [12] Sansom, R. 2013. "Personal communication with Robert Sansom of Imperial College London". from: *The impact of future heat demand pathways on the economics of low carbon heating systems. BIEE - 9th Academic conference 2012, Oxford*.
- [13] Palmer, J.; Cooper, I. 2011. "Great Britain's Housing Energy Fact File". Department for Energy and Climate Change Publication URN 11D/866.
- [14] Energy Saving Trust. 2010. "Getting warmer: a field trial of heat pumps". EST Report. <http://www.heatpumps.org.uk/PdfFiles/TheEnergySavingTrust-GettingWarmerAFieldTrialOfHeatPumps.pdf>, accessed 26/9/2013.
- [15] Arteconi, A.; Hewitt, N.; Polonara, F. 2013. "Domestic demand-side management (DSM): Role of heat pumps and thermal energy storage (TES) systems". *Applied Thermal Engineering*, 51(1-2):155–165.
- [16] Hong, J.; Kelly, N.; Richardson, I.; Thomson, M. 2012. "Assessing heat pumps as flexible load". *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part A: Journal of Power and Energy*, doi:10.1177/0957650912454830.
- [17] Kelly, N.; ; Hawkes, A. 2013. "Load management of heat pumps using phase change thermal storage". *Proc. Microgen 3: 3rd International Conference of Microgeneration and Related Technologies, Naples 15-17 April*.
- [18] Feist, W.; Peper, S.; Kah, O.; von Oesen, M. 2001. "Climate Neutral Passive House Estate in Hannover Kronsberg: Construction and Measurement Results". PEP Project Report PEP 1, http://www.passivhaustagung.de/zehnte/englisch/texte/PEP-Info1_Passive_Houses_Kronsberg.pdf.
- [19] BRE Publications. 2008. "A Study of Hard-to-treat Homes Using the English House Condition Survey. Part 1". *Dwelling and Household Characteristics of Hard-to-treat Homes, Watford, UK*.
- [20] Hewitt, N.; Huang, M.; Anderson, M.; Quinn, M. 2011. "Advanced air source heat pumps for UK and European domestic buildings". *Applied Thermal Engineering*, 31(17-18):3713–3719.
- [21] Caird, S.; Roy, R.; ; Potter, S. 2012. "Domestic heat pumps in the UK: user behaviour, satisfaction and performance". *Energy Efficiency*, 5(3):283–301.
- [22] Owen, A.; Mitchell, G.; Unsworth, R. 2012. "Reducing carbon, tackling fuel poverty: adoption and performance of air-source heat pumps in East Yorkshire, UK". *Local Environment: The International Journal of Justice and Sustainability*, doi:10.1080/13549839.2012.732050.
- [23] Lund, H.; Möller, B.; Mathiesen, B.; Dyrelund, A. 2010. "The role of district heating in future renewable energy systems". *Energy*, 35(3):1381–1390.
- [24] Sharma, A.; Tyagi, V.; Chen, C.; Buddhi, D. 2009. "Review on thermal energy storage with phase change materials and applications". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(2):318–345.
- [25] Wongsuwan, W.; Kumar, S.; Neveu, P.; Meunier, F. 2001. "A review of chemical heat pump technology and applications". *Applied Thermal Engineering*, 21:1489–1519.
- [26] Cot-Gores, J.; Castell, A.; Cabeza, L. 2012. "Thermochemical energy storage and conversion: A-state-of-the-art review of the experimental research under practical conditions". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16:5207–5224.

Design and Construction of a ROV (Remotely Operated Vehicule) Submarine USFQ Diseño y Construcción de un ROV (Remotely Operated Vehicule) Submarino USFQ

Nicolás Soria^{1*}, Daniel Cabrera¹ y Paulo Guerra¹

¹Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias e Ingeniería, Diego de Robles
y Vía Interoceánica, Quito - Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: nsoria@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: Cesar Zambrano, Ph.D.

Recibido/Received: 15/10/2013. Aceptado/Accepted: 23/03/2014.

Publicado en línea/Published on Web: 13/06/2014. Impreso/Printed: 13/06/2014.

Abstract

In the present work, a motorized remotely operated underwater vehicle (ROV) was developed. The platform is capable of carrying navigation sensors, vision and control systems. The ultimate goal was to design and build an underwater vehicle operated by remote control which allows recording of audio and video. In a first stage of the project, research was conducted on existing ROVs. With this information and based on the design requirements of the USFQ marine research team, a detailed mechanical design of the vehicle was developed. The construction of the first Ecuadorian ROV was carried out at the USFQ robotics laboratory.

The USFQ ROV has an innovative design using a conical 60° thruster configuration. Two blocks of thruster are installed in the ROV one in the front and one in the back of the ROV. Each block has three Seabotix BTD - 150 thrusters which are aligned with 60° between each thruster. This conical thruster configuration allowed to the ROV five degrees of freedom.

The control, data acquisition and the Human Machine Interface (HMI) for the ROV was programmed using the software LabView. LabView allow the steady connection in real time between the control equipment inside the ROV and the laptop and joystick in surface. The ROV has the ability to record audio and video, capture photography's, data acquisition and a real time remotely control of the platform without interferences or control delays.

After checking the mechanical operation of the submarine and the tightness of the dry chambers, the electrical control components, motors, sensors, video camera and hydrophone were installed.

Finally, tests were done in a swimming pool to check for leaks, buoyancy and mobility. Open water tests were performed afterwards on the Ecuadorian coast. The final destination of the submarine is the Galapagos Science Center, GAIAS, located in San Cristobal Island, Galápagos. Where it will be used as a research tool by GAIAS investigators.

Keywords. ROV, thruster, degrees of freedom, buoyancy & HMI, data acquisition.

Resumen

En el presente trabajo se diseñó y construyó una plataforma submarina motorizada operada a control remoto. La plataforma es capaz de portar sistemas de control y visión, y sensores de navegación. Como primera etapa del proyecto, se realizó una investigación sobre los robots submarinos existentes. En base a información bibliográfica y considerando los requerimientos de la zona donde se emplearía el vehículo, se desarrolló un diseño mecánico detallado del vehículo. La construcción del primer ROV ecuatoriano se llevó a cabo en las instalaciones y con las herramientas del taller mecánico de la USFQ. A diferencia de otras plataformas existentes, el Submarino USFQ está diseñado con una configuración de motores cónica utilizando 60° de separación entre los motores. El ROV utilizara dos bloques de motores. Cada bloque estará equipado con 3 motores Seabotix BTD-150, y su alineación a 60° entre cada motor permitió a la plataforma alcanzar 5 grados de libertad.

La programación para el control, adquisición de datos y HMI se realizó con el programa LabView, que permitió conectar los componentes de control en la plataforma con el joystick y el computador en superficie. La plataforma es capaz de ver en tiempo real lo que sucede al frente de la plataforma, puede grabar audio, video, capturar fotografías y ser controlada desde superficie sin pérdidas de conexión.

Después de comprobar el funcionamiento mecánico del submarino y la hermeticidad de los compartimientos se procedió a instalar los componentes eléctricos de control, motores, sensores, cámara de video e hidrófono.

Finalmente se realizaron pruebas en piscina de hermeticidad, flotabilidad y movilidad para el submarino para posteriormente a realizar varias pruebas en aguas abiertas en la costa ecuatoriana. El destino final del submarino es apoyar a la investigación en la estación de GAIAS en la Isla San Cristóbal, Galápagos.

Palabras Clave. ROV, thrusters, grados de libertad, flotabilidad, adquisición de datos & HMI

Introducción

El submarino USFQ es una herramienta de investigación destinada a GAIAS, que facilitará el estudio e investigación de la flora y fauna submarina en las islas Galápagos, al igual que la exploración de lugares desconocidos o de difícil acceso, así como también el descubrimiento de nuevas especies de animales o plantas marinas. El vehículo submarino se sumergirá en un medio acuático, puede ser agua dulce o agua salada. Por lo tanto la plataforma deberá soportar diferentes fenómenos físicos, como son la flotabilidad, la presión y la hidrodinámica de los cuales dependerá su desempeño [1].

La flotabilidad neutra es el estado ideal para el funcionamiento del submarino, con esta flotabilidad el vehículo podrá moverse con más libertad en todas las direcciones y con menos esfuerzo para los motores [2]. A pesar de ello, por razones de seguridad se buscará una flotabilidad ligeramente positiva. Así se evitará que el vehículo se hunda hasta al fondo del mar en donde puede afectar la vida marina, y también se permitirá recuperar el submarino en la superficie en caso de una falla en su funcionamiento.

El agua es un fluido que pesa y ejerce una presión en todos los cuerpos sumergidos en ella, corresponde a un incremento de 1 atm por cada 10 m de profundidad [3]. Herramientas de exploración marina como los vehículos robotizados, son diseñadas para operar a una profundidad mayor a 30 m. Estas herramientas sumergibles permiten explorar las profundidades sin exponer a riesgos a los Investigadores.

Condiciones del vehículo

Todo ROV está diseñado con al menos un compartimiento que protege del exterior a los elementos de control del sumergible [4]. Sin embargo, los elementos de control tienen que comunicarse con los motores, los accesorios y la superficie. Estas conexiones se pueden implementar garantizando que no existan filtraciones de agua que pongan en riesgo la integridad de los equipos. El primer inconveniente se presenta al diseñar un compartimiento que permita un fácil acceso a los componentes en su interior y que los mantenga aislados del exterior [5]. El compartimiento debe permitir un fácil ensamblado y mantener una barrera impermeable. Las partes deben ensamblarse utilizando técnicas y elementos de sellado que soporten altas presiones [6]. El segundo inconveniente se presenta el momento de comunicar y alimentar los motores con su respectivo control y fuente de potencia. De igual forma el compartimiento de un ROV debe mantener una conexión directa con la superficie para la transmisión de datos [7]. La comunicación y alimentación entre dispositivos se realiza por medio de cables, y es necesario realizar una conexión hermética que proteja la integridad de los equipos y compartimientos.

| | |
|---------------------------------|--|
| Profundidad de Inmersión | 50 metros |
| Autonomía | 2 horas |
| Peso | 40 kilogramos |
| Dimensiones | Largo 1.0 m Ancho 0.50 m Alto 0.50 m |
| Flotabilidad | Positiva |
| Velocidad | 5 nudos |
| Maniobrabilidad | mínimo 5 DOF |
| Materiales | No corrosibles |
| Equipos | Cámara de video Hidrófono |
| Diseño | Ensamblaje modular |

Tabla 1: Requerimientos generales.

El submarino en el agua estará en un espacio tridimensional y tendrá 6 grados de libertad (Degree of Freedom, DOF), es decir, el submarino tendrá tres movimientos de traslación y tres rotaciones independientes e individuales en cada eje del espacio. Los movimientos básicos que un sumergible debe tener son: *desplazamiento en el eje vertical, desplazamiento en los dos ejes horizontales y al menos dos rotaciones* [8]. Con la combinación de estos movimientos básicos, un ROV es capaz de movilizarse sin problemas en el medio acuático. De acuerdo a la función que vaya a cumplir cada ROV se debe determinar la movilidad [9]; se debe definir si el ROV necesita agilidad, potencia o precisión en sus movimientos. El agua es un fluido que presentará resistencia al cuerpo que trate de desplazarse en ella. Esta resistencia reducirá la velocidad de avance o de rotación del cuerpo. Mientras más grande sea el cuerpo a desplazarse mayor será la resistencia que se genere [10]. Para compensar esta pérdida de movilidad es necesario que el sumergible presente una geometría hidrodinámica. La clave del diseño se encuentra en reducir el área de contacto del cuerpo con el fluido; cada geometría presenta un coeficiente de fricción de acuerdo a su área.

Para la construcción de un ROV se debe elegir materiales que sean resistentes, y livianos [11]. Como se mencionó anteriormente, es importante que el ROV tenga una flotabilidad positiva. Para que el sumergible pueda mantenerse a flote el peso del fluido desplazado debe ser mayor al peso del sumergible. Para la construcción del compartimiento estanco deben elegirse materiales que soporten altas presiones, tengan propiedades elásticas y que impidan el paso de agua.

La Tabla 1, resume las características que el proyecto Submarino USFQ debe presentar.

Componentes electrónicos

Audio y Video

Debido a la necesidad de investigación de vida marina, el sistema de audio y visión fue de alta prioridad para la construcción del sumergible, por lo que se necesitó utilizar un hidrófono y una cámara submarina. Estos

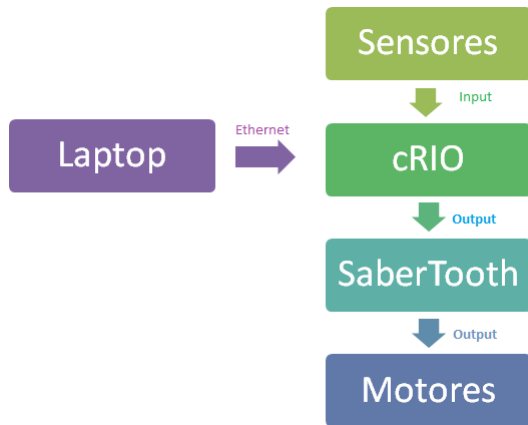


Figura 1: Esquema del Procesador.

equipos se situarán en el frente de la plataforma, para permitir al operario visualizar en tiempo real lo que está en frente del submarino [12]. Además, se requerá que el submarino tenga la capacidad de grabar videos, audio y tomar fotos durante una inmersión [13].

Motores y Controladores

Para el proyecto Submarino USFQ se eligió utilizar una combinación de 6 motores (Thrusters) Seabotix BDT-150 [14]; esta combinación permitirá realizar traslaciones verticales, horizontales, laterales y rotaciones en diferentes planos. Un thruster Seabotix BTD 150 puede generar 2.2 kgf de empuje; tiene un consumo de 4.25 amperios y trabaja con 19 Voltios dc. El thruster Seabotix BTD 150 puede trabajar a una profundidad máxima de 150 metros.

El submarino USFQ está equipado con 3 controladores Sabertooth 2x10. Un controlador Sabertooth 2x10 puede suministrar hasta 10 amperios a dos motores dc sin escobillas [15].

Procesador

Para una fácil y eficiente comunicación entre la computadora y el submarino se utilizó un sistema de control y adquisición de datos muy preciso, de alto rendimiento y fiabilidad, llamado CompactRIO (cRIO-9012) es un robusto procesador de 400MHZ y 128MB de memoria, se comunica con un puerto Ethernet 10/100 Base-T. El cRIO ejecuta LabView Real-Time lo que permite conectar y controlar a la plataforma con el computador en superficie [16].

El cRIO tiene conectado adicionalmente un módulo análogo y otro digital para recibir y procesar la señal proveniente de sensores. El modulo análogo nos permite recibir la información de los sensores de presión y temperatura, y mediante una diferencia de voltajes obtienen la información de la presión externa del vehículo y de la temperatura del agua. El procesador cRIO usa una salida digital para crear una modulación de banda amplia (*Pulse Wide Modulation, PWM*). La modulación de ancho de banda es una técnica de control para regular la

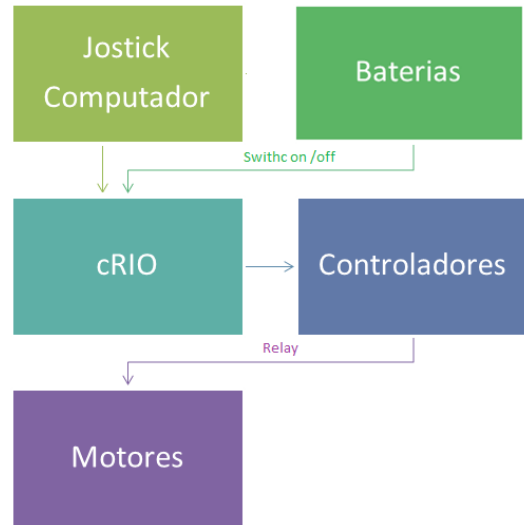


Figura 2: Comunicación de los elementos de potencia y control.

cantidad de energía que se envía a una carga; es necesario utilizar un filtro de PWM para conectar la señal al controlador Sabertooth. El filtro PWM genera una salida de voltaje análoga. Para el proyecto submarino, el procesador cRIO creará la señal PWM que entrará al filtro; la señal filtrada se conectará a una entrada del controlador Sabertooth 2x10. Cada motor Seabotix BDT-150 será controlado gracias a una señal análoga generada por el filtro PWM. Toda la información será transferida mediante comunicación de red local entre el cRIO y un computador mediante un cable de Ethernet.

En la Figura 1 se puede observar un esquema del cRIO como elemento principal de comunicación entre todos los elementos del submarino.

Cable Umbilical

La transferencia de señales y de potencia entre la superficie y el submarino se realiza mediante un cable umbilical de 50 m que tiene agrupado cuatro cables independientes más pequeños. El primero es el cable del audio que recibe la señal del hidrófono y se conecta directamente al computador. El segundo es el cable de video que recibe imágenes de la cámara y también se conecta directamente al computador. El tercer cable es el de potencia que se conecta al banco de baterías y alimenta a todos los componentes electrónicos del submarino. El cuarto es el cable de Ethernet que se conecta entre el cRIO y el computador y permite la comunicación entre el usuario y el submarino.

Dentro del compartimiento seco el cable principal se divide para alimentar por separado a cada componente: controladores y motores. Una bornera divide la energía hacia al procesador y controladores. Como elemento de seguridad se instaló un *Relay* entre la conexión del procesador y los controladores de los motores. El *Relay* impide que la alimentación llegue directamente hacia los motores; el *Relay* solo es activado cuando el cRIO se ha

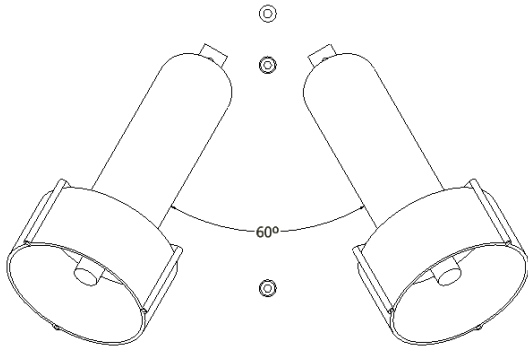


Figura 3: Ángulo de separación entre los motores superiores.

conectado con el computador en superficie y el programa de control del submarino esté funcionando. Una vez que el *Relay* es activado desde la interface del usuario, la alimentación se completa hacia a los controladores y los motores. La Figura 2 presenta como se encuentran conectados los elementos de control y potencia.

Metodología

Diseño Mecánico

El diseño de todos los elementos estructurales del submarino USFQ se realizó en el programa de diseño Autodesk Inventor 2011 y AutoCAD Mechanical 2011 [17].

Alineación de Motores

La resistencia del fluido depende principalmente de la velocidad con la que el cuerpo atraviesa el fluido, y actúa en sentido opuesto al del movimiento del cuerpo [18].

La ecuación de la fuerza de resistencia para fluidos F_D es:

$$F_D = \frac{1}{2} C_D \rho v^2 A$$

Dónde: ρ = Densidad del fluido, v = Velocidad del cuerpo, A = Área nominal del cuerpo y C_D = Coeficiente de fricción. Para el Submarino USFQ, el fluido será agua salada con una densidad de 1.028 kg/L, y el área nominal dependerá de la geometría del cuerpo. La velocidad estará dada por el fluido en movimiento y se usará una velocidad de 5 nudos como corriente de referencia. El valor del coeficiente de fricción cambia de acuerdo a la superficie que se encuentre en contacto con el fluido. Un cuerpo tendrá menor coeficiente de fricción si su geometría es más aerodinámica o hidrodinámica.

Un motor Seabotix BTD-150 tiene una fuerza de 2.2 kgf, que es equivalente a 21,57 Newton. Utilizando los 6 motores Seabotix BTD-150 en una misma dirección generarían una fuerza equivalente a 129.42 N. Sin embargo, si se alinea los 6 motores en una misma dirección el vehículo perderá maniobrabilidad. Para reducir la fuerza de fricción, se diseñó una alineación de 6 motores que permita reducir el área de contacto y el coeficiente de fricción del submarino, sin perder la maniobrabilidad y

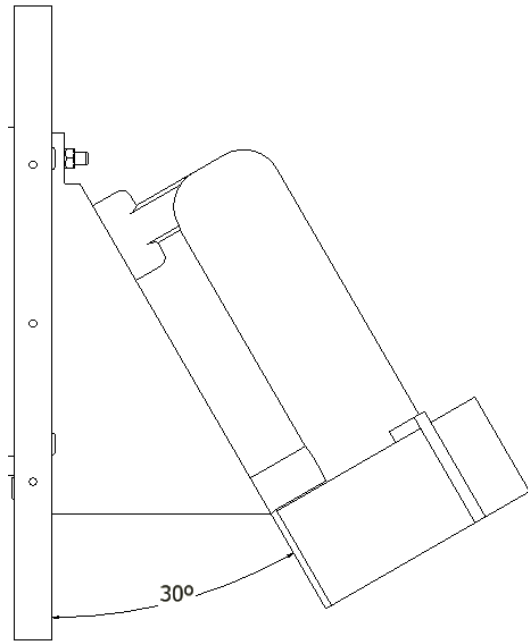


Figura 4: Ángulo de separación entre el motor inferior y la placa del módulo.

los grados de libertad. Se configuró al Submarino USFQ en dos bases de tres motores alineados en forma cónica distribuidos en la parte delantera y trasera del vehículo. Al alinear los motores en forma cónica se reduce el área frontal de contacto del cuerpo del submarino y el coeficiente de fricción disminuye. El coeficiente de fricción real de esta configuración es desconocido, pero para el modelo de las ecuaciones se usará el coeficiente de fricción de 0,82 para una geometría cilíndrica. Podemos hacer esta aproximación por la geometría cilíndrica del compartimento seco.

Cada base de motores está integrada por tres motores Seabotix BTD-150. Los motores se encuentran alineados en forma cónica, es decir, los ejes de los motores se encuentran elevados 30° sobre el eje del cono y mantienen 60° de separación entre los ejes. La alineación de motores con esta configuración no se ha documentado antes en un ROV. Dos motores se instalaron en la parte superior de la base con 60° de separación entre motores como se ilustra en la figura 3 ; los motores se encuentran elevados a 30° de separación de la base estructural. Dos motores en la parte superior optimizarán los movimientos verticales.

En la parte inferior de la base se instaló solo un motor en el medio de la placa con una elevación de 30° por debajo de la base como se presenta en la figura 4. De esta forma se mantiene una separación de 60° entre cada motor simulando una geometría cónica.

La Figura 5 presenta la base de motores ensamblados y en ella se resaltó el área frontal de contacto del vehículo.

La alineación de motores propuesta tiene un área de contacto de 0.0314 m^2 , que nos permite realizar un cálculo aproximado para la fuerza de fricción $F_D = 87,88 \text{ N}$.

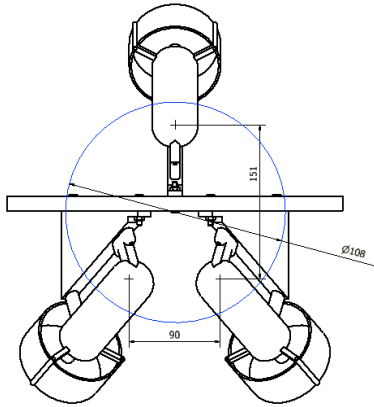


Figura 5: Base de motores vista frontal.

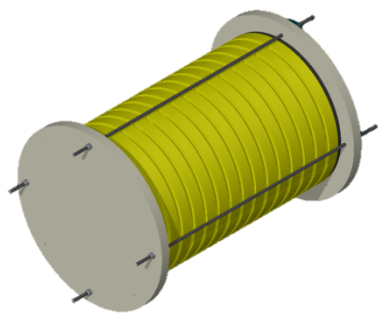


Figura 6: Compartimiento Modulo Control.

El siguiente paso fue determinar la fuerza que ejercen los motores con la alineación cónica de 60° para determinar la fuerza total del submarino [19]. Los resultados se presentan en la Tabla 2 Fuerza Motores.

La configuración y alineación cónica de motores permitirá al Submarino USFQ, tener una fuerza de empuje horizontal equivalente a 5 motores y una fuerza de empuje vertical equivalente a 3 motores. Suficiente para sumergir al ROV y vencer corrientes marinas de hasta 5 nudos.

Los bloques de motores con configuración cónica aumentarán la maniobrabilidad y agilidad del Submarino USFQ. Gracias a la programación de control, la plataforma podrá realizar combinación de movimientos horizontales, verticales y rotacionales con 5 grados de libertad como se planteó en los requisitos del proyecto.

| | Fuerza (N) | Equivalencia en motores |
|--------------------------------|------------|-------------------------|
| Resistencia al movimiento | 88 | - |
| Empuje Horizontal | 102 | 5 |
| Empuje Vertical | 65 | 3 |
| Par de giro vs el eje vertical | 37 | 1.5 |

Tabla 2: Fuerza Motores.



Figura 7: Base Motor.

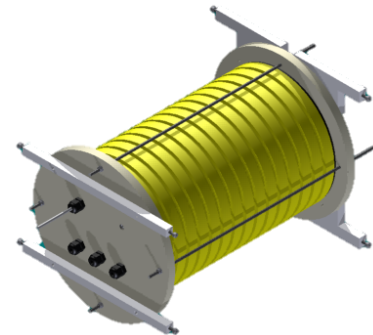


Figura 8: Compartimiento Seco.

Diseño de Compartimiento Seco

El compartimiento seco debe garantizar la integridad de los equipos de control embarcados, debe soportar la presión de una columna de agua a hasta 50 metros de altura. Los equipos de control embarcados son el procesador cRIO y tres controladores Sabertooth 2x10. Para el diseño del compartimiento se eligió la geometría cilíndrica porque tiene bajo coeficiente fricción, su manufacturara es simple [20].

Se diseñó un sistema de apriete de dos tapas para sellar el compartimiento. Las tapas para el cilindro fueron construidas en duralon y su diseño mantiene el diámetro interior del cilindro para lograr el sellado. El duralon es una poliamida de alto peso molecular que presenta una alta durabilidad y gran resistencia al impacto. El diseño de las tapas presenta dos canales en el diámetro de contacto con el cilindro. Los canales están diseñados para que un O ring pueda entrar en cada canal y aumentar el contacto entre las paredes internas del cilindro y la superficie de la tapa. El nitrilo presente en la estructura del O ring lo protege de la salinidad del mar y del desgaste de derivados de petróleo.

Para garantizar el apriete entre las tapas y el cilindro se colocó un empaque de nitrilo de 2 mm de espesor sobre cada tapa. El empaque mantuvo uniforme el contacto de superficies entre la tapa y el cilindro y optimizó el sello del compartimiento al distribuir la presión ejercida entre las dos tapas con el cilindro. La Figura 6 presenta el diseño final del compartimiento seco.

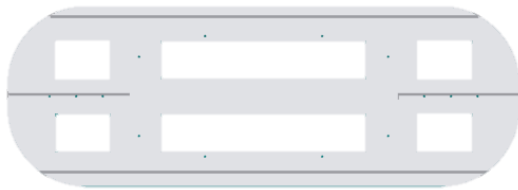


Figura 9: Perfil Estructural.

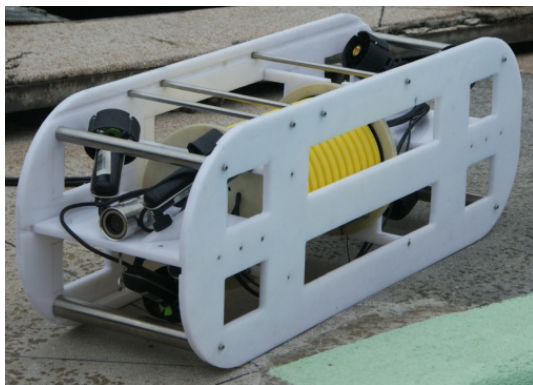


Figura 10: Submarino USFQ.

Chasis

Para el diseño y construcción de la estructura del Submarino USFQ se utilizó planchas solidas de polietileno de alta densidad HDPE (*High Density Polyethylen*). Se diseñó dos módulos; uno llamado base motor y el otro llamado compartimento seco. Cada elemento que conforma la estructura y cada módulo del submarino fueron manufacturados en el taller mecánico de la USFQ.

Para lograr los 60° de separación entre motores se diseñó un perfil triangular de HDPE con 30° de inclinación. Cada motor estuvo sujeto sobre un perfil triangular con tornillos de acero inoxidable. La cámara de video se alinea en el centro de la plancha del módulo de motores, esto permite al operador controlar los movimientos del submarino utilizando la transmisión de video desde la cámara. La figura 7 presenta el diseño de la base motor.

Se utilizaron dos barras de HDPE para sujetar el modulo en la parte delantera y dos barras en forma de T para sujetar el modulo en la parte trasera del submarino (Figura 8). Las barras alinean al compartimento en el centro de la estructura para mantener la estabilidad y flotabilidad del submarino [21].

La estructura que protege a los módulos del submarino está compuesta por dos perfiles laterales de HDPE (Figura 9) y por ejes de acero inoxidable. Los extremos del perfil presentan bordes circulares para reducir la resistencia del agua al movimiento de la estructura; en el área interior de la plancha se removió material en forma de rectángulos para reducir el peso del submarino y reducir el área de contacto del submarino con el agua.

El perfil estructural presenta 4 canales internos que son utilizados para alinear las bases de motores y los ejes

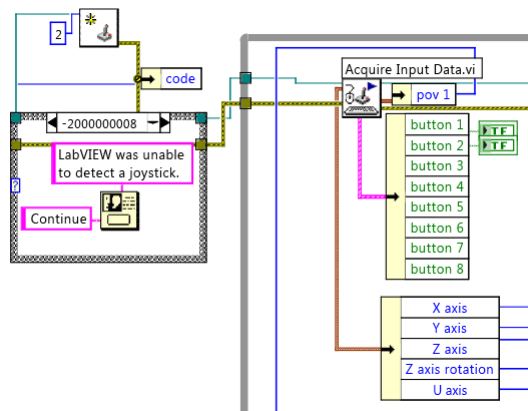


Figura 11: Programa Inicialización del Joystick.

de acero inoxidable con el perfil para armar la estructura. Los perfiles laterales presentan orificios de 6 mm de diámetro a lo largo de los canales y alrededor de los rectángulos interiores que permiten el ensamble del compartimiento seco y las barras de acero con la estructura. Los ejes de acero inoxidable cumplen varias funciones: el diámetro de los ejes también varía su peso y con esto se puede controlar la flotabilidad del submarino; igualmente aumentando o reduciendo el número de ejes.

Al ensamblar las bases de motores, el compartimento seco con los perfiles de la estructura se completó el ensamble del Submarino USFQ como se presenta en la Figura 10.

Bloque de Potencia

El banco de baterías está formado por 4 baterías recargables; dos baterías de 12 V con 12 Ah, y dos baterías de 6 V con 12Ah. Las baterías se conectaron en serie y paralelo para conseguir 18 V y 24 Ah. Esta configuración permite alimentar de forma continua al procesador, controladores y motores por dos horas. El bloque de baterías tiene un interruptor ON/OFF el cual permite pasar la corriente al cRIO, controladores y motores. Para la transmisión de potencia al submarino se instaló cables de conducción eléctrica que puedan soportar una corriente aproximada de 30 Amperios.

Flotabilidad

Para lograr una flotabilidad neutra con el submarino fue necesario aumentar el peso de la estructura en 9.3 kg utilizando varios ejes de acero inoxidable. Se distribuyeron los diferentes ejes entre los perfiles laterales de la estructura para balancear el peso de la estructura y mantener la estabilidad del submarino. Al mantener una simetría al distribuir los pesos se logró posicionar el centro de gravedad del submarino en la parte inferior de la estructura; de esta manera, el submarino mantiene

| Elementos | Consumo Máximo (amps) |
|-----------|-----------------------|
| Motores | 25.26 |
| cRIO | 0.33 |

Tabla 3: Consumo máximo de componentes.

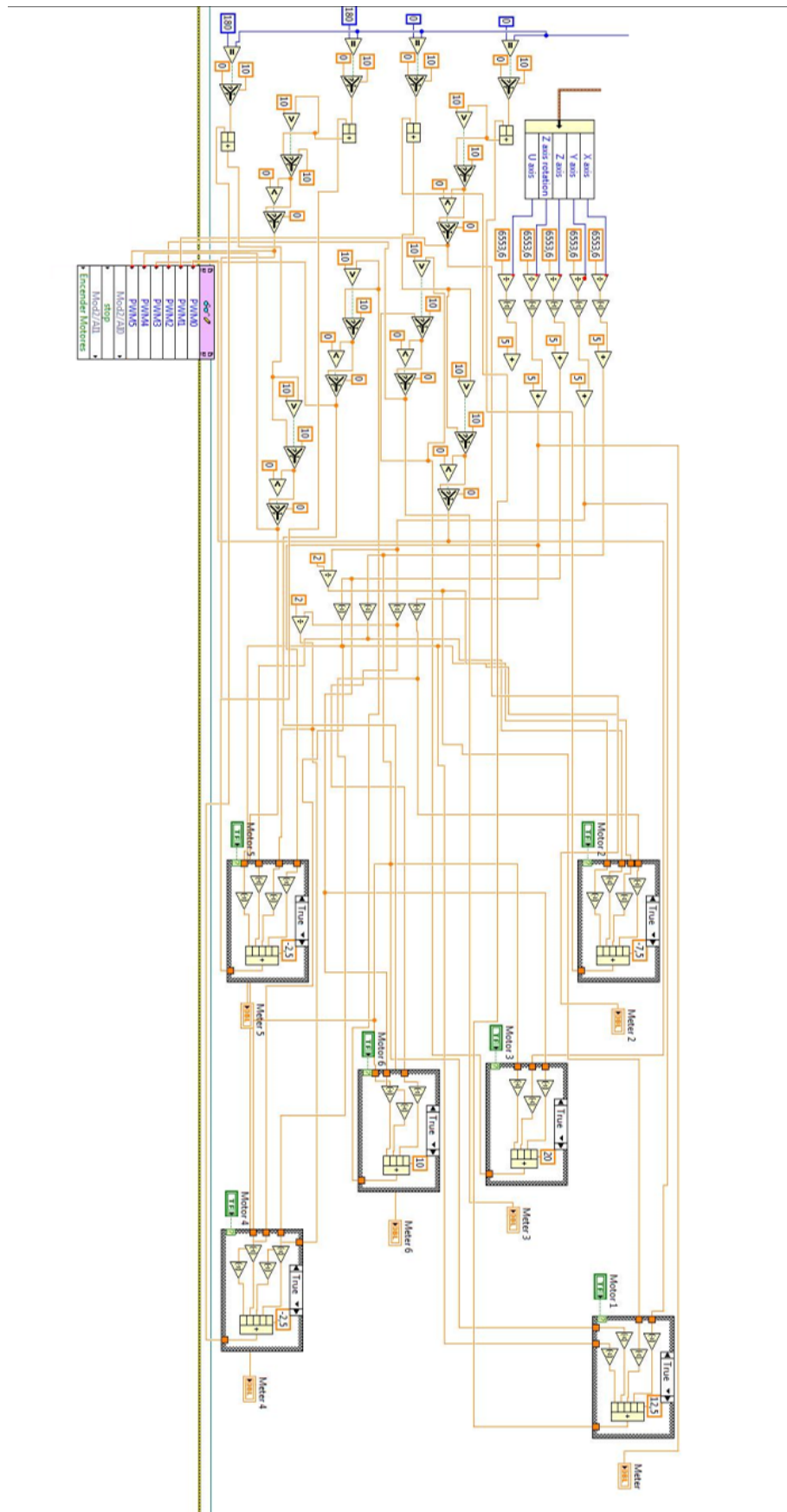


Figura 12: Subrutina para control de motores.

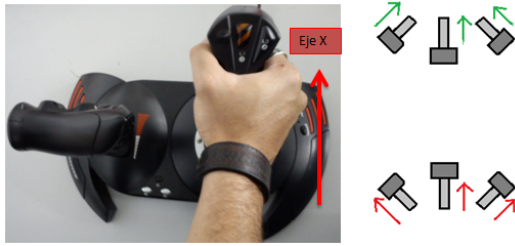


Figura 13: Movimiento horizontal.

una posición de equilibrio después de cualquier perturbación o agitación del entorno [22].

Programación e Interfaz

Control de Movimiento

Como medio de control remoto se utilizó un *Joystick* con conexión USB al computador. El *Joystick* tiene 5 ejes y 12 botones que son programables. Para controlar el movimiento del submarino, el programa relaciona las señales emitidas por el movimiento de los ejes del *Joystick* y las señales de salidas del cRIO enviadas a los controladores de motores. A cada movimiento del *Joystick* según la dirección y eje corresponde una señal enviada al controlador de cada motor permitiendo obtener un movimiento determinado.

La programación se realizó en LabView y diferentes subrutinas realizan diferentes funciones, todas fueron compiladas y cargadas al procesador cRIO. La parte del programa encargada del control de movimiento realiza una inicialización del joystick y hace un reconocimiento de todos los botones y posibles movimientos de ejes del joystick (Figura 11). Dentro del programa se utilizó 4 de los 12 botones; uno para capturar fotografías, otro para grabar el video, y también se utilizó los otros dos para subir o bajar la cola, lo que nos ayuda al control y posicionamiento del vehículo submarino. Se utilizó 3 de los 5 ejes, para moverse adelante y atrás, para subir y bajar, y el último para girar en el propio eje.

Para controlar el movimiento del submarino, el programa relaciona las señales emitidas por el movimiento de los ejes del joystick y las señales de salidas del Crio enviadas a los controladores de motores. A cada movimiento del joystick según la dirección y eje corresponde una señal enviada al controlador de cada motor permitiendo obtener un movimiento determinado (Figura 12).

La Figura 13 presenta como el movimiento del mando del joystick en el eje principal permite a la plataforma realizar movimientos de traslación en la dirección deseada.

Rotar el eje z del *joystick* permite que el submarino realice una rotación sobre el eje vertical. Los motores trabajarán en direcciones opuestas (Figura 14).

De igual manera mover el eje u del *joystick* permite que el submarino se traslade en el eje vertical. El movimiento es el resultado del trabajo en direcciones opuestas y



Figura 14: Rotación con eje vertical.

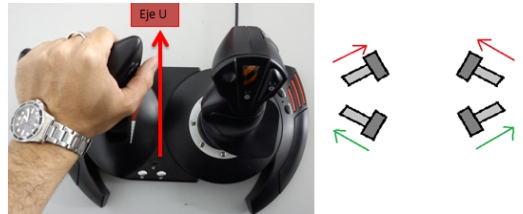


Figura 15: Movimiento vertical.

la alineación de los motores con la configuración a 60° (Figura 15).

Con la configuración de motores a 60° , el submarino puede realizar movimientos horizontales, verticales, y rotaciones sobre los 3 ejes, y cualquier combinación de los movimientos mencionados anteriormente.

Adquisición de audio y video

La subrutina encargada de la adquisición de video y sonido (Figura 16) realiza una inicialización de la cámara y recibe las imágenes de la misma. Así como también recibe el audio del micrófono.

El programa sincroniza las dos actividades, y puede grabar un video en formato AVI o tomar fotografías en formato JPG; además, reproduce el video en tiempo real en la interface para poder ver lo que está sucediendo al frente del submarino. El programa tiene un filtro para los códec de video y está definido para que el tamaño y calidad del video no sea muy exigente en términos de memoria del computador. De esta forma se garantiza que el control de la plataforma sea estable durante la inmersión y adquisición de imágenes y video.

HMI (Human Machine Interface)

La interface gráfica (Figura 17) permite la interacción entre el operario en superficie y el submarino que se encuentra bajo el agua [23]. El usuario podrá controlar y maniobrar al submarino con un dispositivo de control remoto.

El diseño permite al usuario observar en tiempo real la imagen de video capturada por la cámara de video. Un conjunto de pulsadores en la pantalla permite al usuario encender los motores, grabar video, tomar fotografías y apagar el programa [24].

Indicadores de potencia para cada motor fueron colocados con la configuración de los motores. Los indicadores permitirán al usuario de la plataforma mantener un control de velocidad y correcto funcionamiento de los motores en relación al control del Joystick.

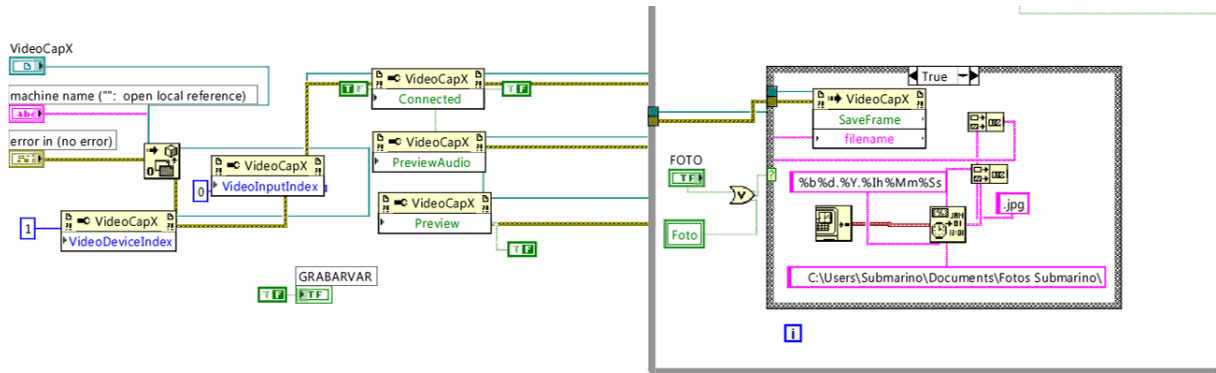


Figura 16: Subrutina para tomar fotografías.

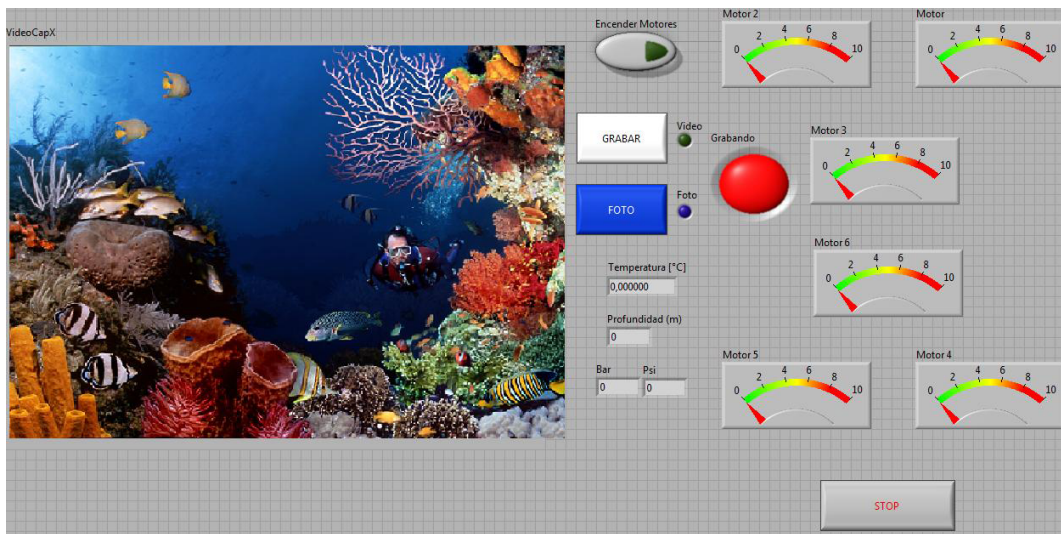


Figura 17: Interfaz Grafica.

Resultados

Pruebas en Piscina

Se realizó una prueba de velocidad con el submarino sumergido a 2 m recorriendo una distancia de 25 metros en línea recta; la segunda prueba fue una de velocidad de ascenso desde el fondo de la piscina hasta la superficie; la tercera prueba constituyó determinar el tiempo que el submarino tarda en girar 360°. Se calcularon las velocidades promedio que tiene el submarino en los distintos tipos de movimientos, y los resultados se muestran en las Tablas 4 y 5.

La velocidad obtenida en las pruebas fue menor a la velocidad esperada debido a la fricción y flotabilidad del cable de control y potencia.

| Velocidad en Línea Recta | | | | |
|--------------------------|--------------|-----------------------|-----------------|-------------------|
| Distancia [m] | Tiempo [sec] | Tiempo Promedio [sec] | Velocidad [m/s] | Velocidad [nudos] |
| 25 | 29.4 | 30 | 0.8 | 1.6 |
| 25 | 30.5 | | | |

Tabla 4: Prueba de velocidad horizontal.

Pruebas en aguas abiertas

Para realizar las pruebas en aguas abiertas se instaló 60 metros de cable de acero inoxidable de 1/8 de pulgada como método de seguridad. Esta línea de seguridad mantiene siempre conectados al submarino con la embarcación en superficie.

Las pruebas fueron realizadas en la costa Ecuatoriana, en la Isla de Salango, sector de Puerto López, provincia de Manabí. Se realizaron 3 pruebas a diferentes profundidades para determinar cómo se comportaba el submarino en diferentes presiones. Otro objetivo era probar el funcionamiento de la cámara, hidrófono, así como también la sincronización del joystick, el programa de Lab-View y motores.

Prueba # 1 Hermeticidad del compartimiento Seco

Se llevó al submarino a una profundidad de 30 m por 20 minutos solo con la cámara funcionando pero sin com-

| Velocidad de Ascenso | | | | |
|----------------------|--------------|-----------------------|-----------------|-------------------|
| Distancia [m] | Tiempo [sec] | Tiempo Promedio [sec] | Velocidad [m/s] | Velocidad [nudos] |
| 2 | 10.4 | 10.0 | 0.2 | 0.4 |
| 2 | 9.7 | | | |

Tabla 5: Prueba de velocidad horizontal.

ponentes eléctricos dentro del compartimento seco. El objetivo de esta prueba era probar el funcionamiento de la cámara y el hidrófono, grabar video, tomar fotos, y determinar si el compartimento podía soportar la presión de 0.4 MPa. La prueba fue supervisada por dos buzos que iban observando si existía filtración de aire entre los conectores o tapas del compartimento seco.

Al finalizar la prueba y confirmándose que no hubieron filtraciones de agua se procedió a incluir al procesador cRIO y los demás componentes electrónicos de control dentro del compartimento seco.

Prueba # 2 Maniobrabilidad, Flotabilidad y Agilidad

Se llevó al submarino a una profundidad de 15 m durante 60 minutos.

El submarino funcionó como se había esperado en esta segunda inmersión; la sincronización entre el *joystick*, el programa de LabView y motores no presentó ningún problema. El vehículo respondía al mando del operario, la cámara e hidrófono funcionaron bien y permitieron grabar videos con audio y capturar diversas fotografías. Un inconveniente fue el peso del cable de control que disminuyó ligeramente la flotabilidad del submarino, cuando la longitud de cable desde la embarcación superaba los 20 metros.

Prueba # 3 Inmersión a 50 metros de profundidad

Se llevó al submarino a una profundidad de 50 metros durante 20 minutos. No se incluyeron ni componentes eléctricos ni supervisión de buzos en esta prueba, pero la cámara e hidrófono estuvieron funcionando. No hubo filtraciones de agua en esta prueba.

Posteriormente, se realizó una inmersión a una profundidad mayor a 50 metros, para determinar si el submarino soportaba mayores presiones.

Posterior a la recolección del Submarino se detectó que el cable de potencia se había estirado demasiado y la prensa estopa del cilindro no pudo sujetar el cable con la suficiente fuerza para impedir el movimiento del cable y evitar el ingreso de agua al compartimento seco. Es necesario para futuras pruebas evitar que el cable de potencia cargue toda la tensión de fuerzas durante la manipulación del submarino y sujetarlo en algún punto fijo fuera del compartimento seco.

Conclusiones

La estructura de submarino puede sumergirse a 50 metros de profundidad sin poner en riesgo a los componentes internos del submarino. El diseño del compartimento seco impidió que el agua ingrese al compartimento durante una inmersión a 50 metros de profundidad.

El Submarino USFQ tiene flotabilidad negativa. El peso del cable no se consideró en los cálculos de flotabilidad. Durante las pruebas en mar abierto el peso del cable

afectó la flotabilidad del submarino. Durante las pruebas en mar abierto fue necesario redistribuir los ejes de acero inoxidable para estabilizar el submarino.

La cámara de video y el hidrófono funcionaron al mismo tiempo logrando tomar fotos, grabar audio y video; y permitieron al usuario observar en tiempo real lo que sucedía al frente del submarino durante una inmersión.

La construcción modular permitió un fácil ensamblado y mantenimiento del submarino.

El cable de seguridad no distribuyó la tensión resultante del peso del Submarino. Por mala manipulación, el cable de potencia soportó toda la carga del peso y como resultado se filtró agua dentro del compartimento seco a través del cable de potencia.

El software LabView simplificó el lenguaje de programación y facilitó la integración de los diferentes componentes de control en una sola interfaz amigable para cualquier usuario.

Referencias

- [1] Bleicher, A. 2010. "Spectrum IEEE". <<http://spectrum.ieee.org/robotics/industrial-robots/the-gulf-spills-lessons-for-robotics/0>>.
- [2] Altshuler, R. 2004. "ORCA-VII: An Autonomous Underwater Vehicle". Cambridge.
- [3] White, F. 2008. "Fluid Mechanics". Sixth Edition. New York: McGraw-Hill.
- [4] Bernier, M.; Foley, T. 2010. "Latis II Underwater Remotely Operated Vehicle Technical Report". Maine.
- [5] Anderson, E. et al. 2004. "SEA WOLF II Autonomous Underwater Vehicle". North Carolina.
- [6] Schilling Robotics. 2010. "Schilling Robotics". <<http://www.schilling.com/Pages/default.aspx>>.
- [7] Arocha, C. et al. 2005. "Control Teleoperado del Robot Submarino de Estructura REMO" : 1.
- [8] Arcega, C.; Burch, A. 2006. "Project Janus". Carl Hayden.
- [9] Marine Technology Society. 2010. "Remotely Operated Vehicle Committee of the Marine Technology Society". <<http://www.rov.org>>.
- [10] Anderson, J. 2001. "Fundamentals of Aerodynamics". New York: McGraw Hill.
- [11] Homebuilt ROVs. 2003. <<http://www.homebuiltrovs.com/>>.
- [12] Ocean Systems, Inc. 2008-2010. "Splash Cam Underwater Video Camera". <<http://www.splashcam.com/>>.
- [13] Deep Sea Systems. 2010. "Deep Sea - Remotely Operated Vehicles (ROVs)". <<http://www.deepseasystems.com/>>.

- [14] SeaBotix. 2010. <http://www.seabotix.com/products/auv_thrusters.htm>.
- [15] LLC. 2004. "Dimension Engineering". *Dimension Engineering*. <<http://www.dimensionengineering.com/Sabertooth2x10.htm>>.
- [16] National Instruments. 2013. <<http://www.ni.com/community/esa/>>.
- [17] Autodesk. 2010. <<http://www.autodesk.com/>>.
- [18] Owens, D. 2009. "Rex 2: Design, construction, and operation of an unmanned underwater vehicle". *Tesis. Cambridge*.
- [19] Shigley, J. 2008. "Diseño en Ingeniería Mecánica". *Mexico D.F.: McGraw-Hill*.
- [20] Gonzalez, L. 2004. "Design, modelling and control of an autonomous underwater vehicle". *Tesis. Crawley*.
- [21] San Francisco Maritime National Historical Park. 2004. "The fleet type Submarine Chap 5 Bouyancy and Stability". <<http://www.maritime.org/fleetsub/chap5.htm>>.
- [22] Werneli, R. 1999. "AUV's The Maturiry of the Technology". *Paper. San Diego: Space and Naval Warfare Systems Center*.
- [23] ROVs. 2010. "Ocean Modules". *Ocean Modules*. <<http://www.ocean-modules.com/>>.
- [24] KYSTDESIGN. 2007. "Kyst-design Sub Sea Technology". <<http://www.kystdesign.no/pls/apex/f?p=10213:7120:246726178220870:::p:home>>.