

Bogotá, D.C. 26 de enero de 2022

Doctora

JOSEFINA HELENA SÁNCHEZ CUERVO

Subdirectora de Evaluación de Licencias Ambientales

Autoridad nacional de licencias ambientales

licencias@anla.gov.co

Bogotá

Asunto: Respuesta a su oficio con radicado No. 2022007309-2-000 del 19 de enero de 2022, radicado en este Instituto con el No. 42-2022.

Respetada Subdirectora,

Mediante correo electrónico del 19 de enero del año en curso, recibimos el oficio descrito en el asunto, a través del cual nos solicitó “(...) información para la evaluación ambiental al proyecto *Piloto de Investigación Integral en Yacimientos No Convencionales con la utilización de la técnica de Fracturamiento Hidráulico Multietapa con perforación Horizontal-FH-PH denominado Kalé, en el municipio de Puerto Wilches en el departamento de Santander. LAV0077-00-2021.*

Antes de responder el requerimiento de manera puntual, consideramos pertinente hacer las siguientes aclaraciones:

El Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, es una corporación civil sin ánimo de lucro creada por el artículo 19 de la Ley 99 de 1993, de carácter público pero sometida a las reglas del derecho privado, con autonomía administrativa, personería jurídica y patrimonio propio, vinculada al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

Como instituto de investigación del Sistema Nacional Ambiental – SINA, el Instituto Humboldt tiene la función de realizar investigación científica sobre la biodiversidad en el territorio nacional continental, incluyendo investigación científica relacionada con los recursos hidrobiológicos y los recursos genéticos. Además, tiene la misión de contribuir en la conformación del inventario nacional de la biodiversidad, desarrollar un sistema nacional de información sobre la misma, y obtener, almacenar, analizar, estudiar, procesar, suministrar y divulgar la información básica sobre la biodiversidad, los ecosistemas, sus recursos y sus procesos, para el adecuado manejo y aprovechamiento de los recursos naturales renovables de la Nación.

Con esto en mente, el Instituto ha recabado la siguiente información a lo largo de su trabajo investigativo, en especial datos referentes al proyecto Kale, los cuales compartimos a continuación¹:

Acompañamiento interinstitucional

En el marco de la evaluación ambiental del proyecto Kalé el Instituto Humboldt realizó reuniones de acompañamiento técnico a la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales (ANLA). Participando en la reunión de información adicional, de parte de ANLA a Ecopetrol, llevada a cabo los días 1, 2, 3, 6 y 7 de diciembre de 2021. También se realizaron reuniones para aclaración de dudas y dar recomendaciones sobre los componentes de microorganismos (23 de noviembre de 2021) y bioacústica (24 de noviembre de 2021) previo a la reunión de solicitud de información.

Así mismo, durante los años 2020 y 2021 se realizaron capacitaciones en los componentes de microorganismos (Metabarcoding) y Bioacústica, con el propósito de fortalecer las capacidades de las instituciones que participan en los Proyectos Pilotos de Investigación Integral (PPII), entre ellas ANLA. Estas capacitaciones se realizaron los días 9 - 13 de noviembre de 2020 (Capacitación 1 - bioacústica), del 24 -27 de noviembre de 2020 (Capacitación 1 - metabarcoding), del 15 -17 de septiembre de 2021 (Capacitación 2 en metabarcoding), y finalmente entre el 27 - 30 de septiembre de 2021 (Capacitación 2 en bioacústica).

Lógica general de diseño muestral

Las siguientes recomendaciones parten de la lógica del diseño muestral utilizado durante los levantamientos de información para establecer la línea base general en el contexto de los proyectos piloto en el área del Magdalena medio. Aunque los detalles sobre la espacialidad, ubicación, factores a controlar y la temporalidad de los muestreos obedecen a criterios ecológicos específicos para cada grupo o para cada fenómeno a muestrear (como en el caso de paisajes sonoros o metabarcoding), para todos los grupos se aplicaron criterios generales de muestreo, sobre los cuales se podría evaluar la información presentada ante el ANLA. Para el diseño se buscó cumplir 4 principios:

- 1) El diseño debe ser útil para evaluar cambios en la biodiversidad.
- 2) El diseño debe permitir evaluar el poder estadístico para la fase de monitoreo.
- 3) El diseño debe caracterizar aspectos sensibles de la biodiversidad.
- 4) Debe potencial la detectabilidad de cambios en atributos de la biodiversidad.

Para esto se priorizó una aproximación que busca determinar gradientes a diferentes escalas y ubicar puntos a lo largo o en representación de estos gradientes. Se incluyó por supuesto, un gradiente de impacto potencial.

¹ [1] La información objeto del presente documento fue recabada por el Instituto en el marco de los convenios específicos No. 500/2020; 264/2021; 624/2021 suscritos con la Agencia Nacional de Hidrocarburos.

En la zona de influencia del proyecto se identificaron dos gradientes generales que influenciaron la ubicación de las Unidades de Muestreo (UM). Por un lado un gradiente asociado a la historia de transformación: área a lo largo del márgen oriental del río Magdalena domina el Zonobioma Húmedo Tropical Magdalena Medio y Depresión Momposina y los cambios recientes en la actividad humana, en la zona más oriental de esta área, establecen un contraste con la zona más occidental y próxima al cauce del río Magdalena, donde se concentran los asentamientos humanos, y donde el Índice de Huella espacial Humano (IHEH -Correa et al. 2020) ha sido persistentemente más alto. Un segundo gradiente tiene que ver con la presencia de asentamientos e infraestructura, que determinan una zona norte con menor impacto humano y menor infraestructura, y una zona sur con una condición opuesta. Estos dos gradientes se tuvieron en cuenta en cada grupo para determinar las áreas de muestreo con base en los otros factores de variabilidad. Debido a esto, la ubicación final de puntos de muestreo favoreció un eje de muestreo oriente-occidente y otro norte-sur.

Más allá de estos dos gradientes de escala amplia, la ubicación de los puntos muestrales consideraron, para cada grupo los siguientes aspectos:

- 1) Cúal es el factor de variabilidad más importante para el grupo. En la mayoría de los casos fueron las coberturas vegetales (todas o solo algunas categorías detectadas desde información de sensores remotos). El diseño muestral incorpora este factor garantizando que haya representatividad de unidades muestrales en las categorías representadas en las zonas cercanas al área de actividad de la empresa.
- 2) A qué distancia del área que concentra las actividades de la empresa se espera que la comunidad de cada grupo no presente impacto. Esto establece la escala para diferenciar los puntos que en métodos BACI (Before-After-Control-Impact) representarán las unidades de control y los anillos de distancia que se pueden establecer para muestrear a lo largo de un gradiente de posible impacto.
- 3) Qué factores pueden afectar la variabilidad de los datos pero que no se pueden incluir en el diseño y deben ser controlados durante la ubicación de los puntos muestrales.

La siguiente tabla resume los criterios utilizados para los grupos que competen este requerimiento: Paisajes sonoros, metabarcoding, invertebrados.

Tabla 1. Número de unidades de muestreo efectivas (UM), técnicas de muestreo, esfuerzo por UM y cobertura vegetal (CV)/Orden del drenaje (OD)/Tipo de suelo (TS) incluidas para la caracterización, por grupo biológico, para los proyecto Kalé y Platero en el polígono Valle Medio del Magdalena.

H = Herbazal, Br = Bosque ripario, Bi = Bosque inundable, Bdtd = Bosque denso de tierra firme, C = Ciénaga, Vs = Vegetación secundaria, P = Cultivo de palma, Pa = Pastizal. Datos basados en análisis de coberturas aplicando la leyenda Corine Land Cover

GRUPO BIOLÓGICO	NÚMERO DE UM	TÉCNICA DE MUESTREO	ESFUERZO POR UM	CV, OD, TS	Factores controlados	Escala del gradiente
Paisajes sonoros	100	Grabadoras	1 grabadora,	CV: H, Br, Bi,	Distancia a	1 km de

		Audiomoth	configurada a una tasa de muestreo 192 kHz, activa durante 20 días grabando 1 minuto cada 29 minutos.	Bdtf, C, Vs, P	vías	independencia entre puntos 12km escala de muestreo
Himenópteros terrestres (hormigas)	40	Trampas de caída con cebo, técnica sacos Winkler, parcelas	10 trampas de caída por 2 días (5 de las trampas con cebo de atún), 5 muestras de 1x1 m técnica Winkler, captura manual en 10 parcelas de 2x2 m durante 12 minutos.	CV: P, Br, H, Pa,,Bdtf,Ba	Buffer para evitar efecto de borde de 500 m Ancho del bosque 170 m mínimo puntos alejados de carreteras	3 km
Lepidópteros diurnos (mariposas)	40	Trampas van Someren Rydon	6 trampas cebadas con pescado y fruta por dos días	CV: P, Br, H, Pa,,Bdtf,Ba	Buffer para evitar efecto de borde de 500 m Ancho del bosque 170 m mínimo puntos alejados de carreteras	6 km
Coleópteros y larvas de la familia Melolonthidae	40	Trampas de caída y parcelas	7 trampas de caída por 2 días, búsqueda en 4 parcelas de 1x1 m	CV: P, Br, H, Pa, ,Bdtf,Ba	Buffer para evitar efecto de borde de 500 m Ancho del bosque 170 m mínimo puntos alejados de carreteras	3 km
Collembola	40	Embudos de	6 muestras de	CV: P, Br, H,	Buffer para	3km

		Berlese-Tullgren y trampas de caída	suelo para Berlese por 7 días, 6 trampas de caída por 2 días.	Pa, Bdtf, Ba	evitar efecto de borde de 500 m Ancho del bosque 170 m mínimo puntos alejados de carreteras	
Microorganismos (bacterias, hongos y otros microeucariotas asociados al agua)	41	Transecto	3 muestras simples de 1 litro de agua a lo largo de un transecto de al menos 150 metros de longitud.	Orden del drenaje	Áreas de mayor actividad: Fracturamiento, almacenamiento, captura	1 km independencia
Microorganismos (bacterias, hongos y otros microeucariotas asociados al sedimentos)	41	Transecto	3 muestras simples de sedimento a lo largo de un transecto de al menos 150 metros de longitud.	Orden del drenaje	distancia a centros urbanos nivel de impacto humano en cuerpos de agua	1 km para independencia
Microorganismos (bacterias, hongos y otros microeucariotas asociados al suelo)	39	Cuadrante	3 muestras compuestas tomadas en un cuadrante de aproximadamente 1 ha.	Tipo de suelo/ CV: H, P, Br, Bdtf	Distancia a carreteras	1 km para independencia
Microorganismos (bacterias, hongos y otros microeucariotas asociados aguas subterráneas)	9		3 muestras simples de 1 litro de agua en cada sitio de muestreo		Tipo de roca y distancia a potenciales plataformas	1 km para independencia

A continuación, se hacen recomendaciones específicas para cada grupo en aspectos relacionados a diseño de muestreo, protocolos de muestreo o evaluación de la información.

Acústica

1. Diseño muestral

El factor principal durante el diseño muestral fue la cobertura, para esto se priorizaron las coberturas de palma (34 unidades) y bosques riparios (50 unidades), con una menor representatividad en áreas de vegetación baja (pastos, herbazales, con 13 unidades). Estas unidades se distribuyeron en anillos por distancia a la zonas de mayor actividad dentro de los proyectos así:

Coberturas	Categoría 1<3km	Categoría 2: 3-5 km	Categoría 3: 5-8 km	Categoría 4: 8-10 km	Categoría 5: 10-13 km	Categoría 6: 13-15 km	Categoría 7: >15 km
Todas	24	22	22	9	6	2	7
Bosque Ripario/a bierto	18	25	26	9	5	2	8
Bosque Denso	0	0	0	0	0	0	3
Palma	18	13	13	6	6	2	2
No bosque	13	6	5	3	1	0	1

2. Ajustes geodatabase - GDB para grabaciones direccionales y paisajes sonoros

En la GDB, las grabaciones obtenidas a través de **grabaciones pasivas deben reportarse independientemente de las grabaciones direccionales**. Este cambio responde al tipo de información que se obtiene a través de las dos metodologías. Usando sensores pasivos se extrae principalmente información acerca de la comunidad acústica y el paisaje sonoro. Las grabaciones direccionales, por su parte, proveen rasgos acústicos del individuo y permiten caracterizar la especie a nivel de población. Por lo tanto, se recomienda reportar los siguientes datos, dependiendo de la metodología empleada.

Para grabaciones pasivas, se sugiere realizar una caracterización usando índices acústicos (Sueur et al., 2014). Ya que cada índice responde a diferentes patrones de la comunidad, se sugiere hacer una caracterización usando múltiples índices. Además, para tomar en cuenta la variabilidad temporal presente en los puntos de muestreo, se sugiere tener un campo para consignar los cuartiles (Q1, Q2,

Q3) en cada punto de muestreo y para cada índice acústico. Los 10 índices acústicos sugeridos se listan a continuación:

- *Antropofonía*: proporción de registros que contienen sonidos de origen antrópico, sobre el total de los registros. La proporción es un valor que se da por punto de muestreo y no por grabación. Para tener estimados adecuados, se recomienda revisar al menos 6 grabaciones por punto de muestreo.
- *Biofonía*: proporción de registros que contienen sonidos de origen biótico (animales silvestres), sobre el total de los registros. La proporción es un valor que se da por punto de muestreo y no por grabación. Para tener estimados adecuados, se recomienda revisar al menos 6 grabaciones por punto de muestreo.
- *Geofonía*: proporción de registros que contienen sonidos de origen geofónico, sobre el total de los registros. La proporción es un valor que se da por punto de muestreo y no por grabación. Para tener estimados adecuados, se recomienda revisar al menos 6 grabaciones por punto de muestreo.
- *Índice de Complejidad Acústica (ACI, por sus siglas en inglés)*: Diferencia de amplitud entre ventanas de tiempo en una banda de frecuencia, relativo a la amplitud total en esta banda. Cuantifica la irregularidad en tiempo y en frecuencia de la comunidad acústica o paisaje sonoro.
- *Índice de Diversidad Acústica (ADI, por sus siglas en inglés)*: Incrementa con mayor regularidad entre bandas de frecuencias. Una señal constante, ya sea por silencio o por sonido constante que ocupa todas las frecuencias, dará un valor alto. Un tono puro dará un valor bajo.
- *Normalized Difference Soundscape Index (NDSI)*: Relación entre energía acústica a frecuencia baja y a frecuencia alta. Esta relación da valores entre -1 y +1.
- *Índice Bioacústico (BI, por sus siglas en inglés)*: Función de amplitud y número de bandas de frecuencia ocupadas entre un rango de frecuencias.
- *Índice de Entropía Acústica (H)*: Incrementa con mayor regularidad temporal (amplitud en ventanas de tiempo) y espectral (bandas de frecuencia). Retorna un valor entre 0 (un pulso de tono puro) y 1 (una señal ruidosa y constante)
- *Número de picos frecuenciales (NP, por sus siglas en inglés)*: Número de picos presentes en el espectro de potencia.
- *Índice del Espacio Acústico Usado (ASU, por sus siglas en inglés)*: Proporción de intervalos de tiempo-frecuencia que sobrepasan un umbral. Altos valores representan sitios donde la

actividad acústica es elevada en intensidad, frecuencia y tiempo (coros de ortópteros y cicádidos). Valores bajos representan lugares donde hay baja intensidad acústica.

Para grabaciones direccionales se deberá reportar el promedio y desviación estándar de los rasgos acústicos de cada grabación. Se reporta como un rasgo de una especie y se sugiere agregar los siguientes campos:

- Asignación taxonómica
- Duración de la señal
- Frecuencia mínima
- Frecuencia máxima
- Frecuencia pico
- Percentil 5 de la frecuencia
- Percentil 95 de la frecuencia

Metabarcoding

1. Diseño muestral

El diseño de muestreo para microorganismos consideró la cobertura y el tipo de suelo para el muestreo de suelos y el orden del drenaje para el muestreo de agua superficiales y sedimentos. Las siguientes tablas resumen la distribución de puntos muestrales por categoría de distancia y categoría del factor principal de muestreo. El muestreo también priorizó zonas de alto impacto potencial como las zonas de fracturamiento y la zona de captura de agua sobre el río Magdalena.

Tipo de suelo	Categoría 1<3km	Categoría 2: 3-6 km	Categoría 3: 6-8 km	Categoría 4: 8-11 km	Categoría 5: 11-14 km	Categoría 6: 14-16 km	Categoría 5: >16 km
CA	1	6	0	0	1	0	0
LVBd2	0	0	0	0	1	1	0
LVBe3	0	0	0	0	0	0	3
LVCb2	0	0	0	0	0	1	0
LVFbp	0	0	0	0	1	1	0
PVAa	20	10	4	0	0	0	0

PVBc2	0	0	0	1	0	0	0
PVCa	0	0	0	0	0	0	1
PVCb2	3	3	1	1	0	0	0
PVFa	1	2	0	0	0	0	1
RVAa	2	3	0	0	0	0	0
RVBa	2	0	0	0	0	0	0
RVCa	5	1	1	0	0	0	0
Total	34	25	6	2	3	3	5

Tipo-Orden lótico	Categoría 1<3km	Categoría 2: 3-6 km	Categoría 3: 6-8 km	Categoría 4: 8-11 km	Categoría 5: 11-14 km	Categoría 6: 14-16 km	Categoría 5: >16 km
Léntico	18	10	3	2	2	3	3
1	11	4	0	0	0	0	1
2	4	4	3	0	1	0	1
3	0	1	0	0	0	0	0
4	0	1	0	0	0	0	0
6 (Magdale na)	1	5	0	0	0	0	0

Además del diseño de muestreo, el *metabarcoding* debe considerar aspectos específicos en el diseño experimental propios a la técnica. Estos aspectos fueron tratados en las capacitaciones brindadas por

el Instituto a las entidades involucradas en los PPII en el marco de los convenios No. 20-117 y 21-095, y se encuentran en el documento "Protocolos de genómica para monitoreo ambiental asociado a acciones de respuesta por impacto o contingencia ambiental formalizados y listos para ser transferidos a usuarios interesados" del Instituto Alexander von Humboldt y disponible en <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/35649>.

Dentro de las consideraciones, que afectan directamente la calidad de los resultados y el alcance de los mismos, se encuentran:

1. Implementación de medidas para disminuir el riesgo de contaminación (uso de tapabocas, guantes de nitrilo, esterilización de materiales, entre otros).
2. Preservación de la muestra desde la recolección hasta la extracción de ADN.
3. Réplicas técnicas (de amplificación) de cada extracción de ADN.
4. Inclusión de controles negativos de filtración (para muestras de agua), de extracción de ADN, amplificación y secuenciación.
5. Inclusión de controles positivos para cada marcador genético.

Se recomienda que todo el procedimiento sea detallado en el documento ya que de esta forma hará el muestreo replicable. Esto implica, por ejemplo, especificar y detallar los protocolos desde el tipo de extracción de ADN, reactivos, primers y protocolos de amplificación usados, hasta los procedimientos bioinformáticos (programas, umbrales, entre otros) implementados en el procesamiento de las muestras. Además es importante que los documentos incluídos en la descripción de los métodos empleados por la empresa que hizo el levantamiento estén apropiadamente citados en los documentos entregados a ANLA. Esto garantiza tener una trazabilidad y posibilidad de replicar los estudios implementados.

2. Resolución taxonómica hongos

Desafortunadamente el conocimiento que se tiene sobre hongos neotropicales, y de Colombia, es aún limitado y es necesario continuar el trabajo en taxonomía de hongos para conocer mejor la diversidad de hongos en el país. Por esta razón, no sorprende la baja asignación taxonómica para este grupo. A su vez, el limitado conocimiento también se refleja en la baja representatividad de secuencias genéticas que funcionan como referencia en repositorios públicos, y que son usados para realizar la asignación taxonómica. Ejemplo de esto son UNITE (<https://unite.ut.ee/>), SILVA (<https://www.arb-silva.de/>), o las secuencias de hongos del consorcio INSDC (The International Nucleotide Sequence Database Collaboration, NCBI/EMBL/DDBJ, <https://www.ebi.ac.uk/services/all>).

Una de las ventajas del *metabarcoding* es que se puede implementar una aproximación “libre de taxonomía”. Ya que cada secuencia representa una variante molecular, y esta puede ser usada como unidad de análisis, aún cuando no se haya identificado taxonómicamente. Usando estas unidades de análisis es posible hacer estimaciones de diversidad, alfa o beta, y detectar cambios en las comunidades. Un buen uso de esta aproximación depende completamente de la buena calidad de las secuencias y de una buena depuración informática, remoción de quimeras, potenciales contaminantes

y artefactos técnicos (errores de PCR y de secuenciación). Así mismo, aún cuando la asignación taxonómica sea baja, es posible obtener una asignación a nivel de reino (Fungi), y son solo con estas secuencias con las cuales debería trabajarse. Cualquier secuencia que no sea asignada por lo menos a nivel de reino, debería ser removida, siendo conservadores en el tratamiento y teniendo en cuenta que la región genética (ITS) es encontrada en organismos diferentes a hongos. En la medida en que la información genética de hongos aumente, fortaleciendo las bases de referencia de secuencias genéticas que se usan para hacer la asignación taxonómica, aumentará el porcentaje de secuencias asignadas taxonómicamente.

Invertebrados

1. Esfuerzo de muestreo invertebrados

Escarabajos coprófagos (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae)

Se ubicaron 7 trampas tipo pitfall cebadas con excremento humano por unidad muestral, con 40 puntos de muestreo en total (Figura 1). Las trampas permanecieron activas por 48h, recolectándose los especímenes al interior de cada trampa, a las 24 y a las 48h. En total 280 trampas.

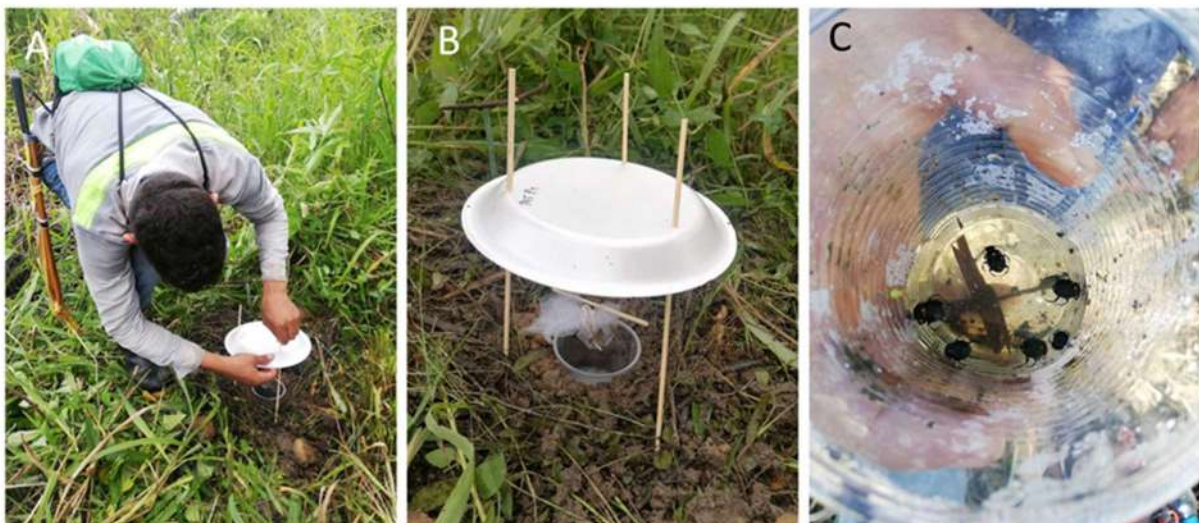


Figura 1. A. Ubicación del punto para la instalación de las trampas pitfall para escarabajos coprófagos. B. Trampa pitfall activada. C. Escarabajos coprófagos al interior de la trampa. **Fuente, IAvH 2021.**

Larvas Melolonthidos (Coleoptera: Scarabaeidae)

En cada punto de muestreo se realizaron 4 excavaciones de 1 metro cuadrado en cada unidad muestral, con un total de 40 unidades muestrales, para un total de 160 excavaciones (Figura 2). Esta última actividad toma entre 15 y 30 minutos por excavación dependiendo el tipo de suelo.



Figura 2. A. Ubicación del punto para la extracción de 1 metro cuadrado de suelo. B. Búsqueda de las larvas de escarabajos (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae). C. Larvas de escarabajos encontradas bajo el suelo. **Fuente, IAvH 2021.**

Mariposas diurnas (Lepidoptera: Papilionoidea):

Se ubicaron 6 trampas tipo Van Someren-Rydon con cebos atrayentes de pescado y camarón y fruta fermentada (Figura 3) a una distancia promedio de 50m entre cada trampa, a lo largo de un transecto de mínimo 250m por cada unidad muestral. Las trampas fueron colgadas entre 2 a 6 metros del suelo, recibadas cada día y permanecieron activas por 48h por cada punto de muestreo, donde se recolectaron los especímenes de mariposas adultas a las 24 y a las 48h. En total se emplearon 240 trampas.



Figura 3. A. Instalación de los dos tipos de cebos (fruta y camarón con pescado fermentado) en la trampa tipo VSR. B. Trampa tipo VSR activa. C. Recolección de los adultos de mariposas al interior de la trampa. D. Almacenamiento en campo de los ejemplares de mariposas adultas recolectadas. Fuente, IAVH 2021.

Hormigas (Hymenoptera: Formicidae).

Se emplearon los siguientes métodos:

Captura manual: 10 parcelas de 2 metros cuadrados en cada unidad muestral, la búsqueda se realizó por un tiempo de 12 minutos por parcela en 40 unidades muestrales para un total de 400 parcelas y 4800 minutos (Figura 4).

Trampas pitfall (sin cebo): Se ubicaron 5 trampas de caída por cada unidad muestra (Figura 4). Las trampas permanecieron activas por 48h. 40 unidades muestrales, para un total de 200 trampas.

Trampas pitfall (con cebo): El cebo estaba compuesto por 7 gr de atún en aceite, 2 ml de jarabe de arce y 2g de mantequilla de maní (Figura 4). Se ubicaron 5 trampas de caída por cada unidad muestral. Las trampas permanecieron activas por 48h en 40 unidades muestrales, para un total de 200 trampas.

Sacos Winkler: Se establecieron 5 parcelas de 1 metro cuadrado en cada unidad muestral. En cada parcela se recolectó toda la hojarasca, la cual se pasó por un cernidor con malla de 1cm² y se obtuvo un tamizado que se colocó al interior de un embudo de tela negro llamado saco mini-winkler (Figura 4). El tamizado se dejó durante 48 horas en cada saco mini-winkler, para un total de 40 unidades muestrales, y 200 muestras.



Figura 4. Diferentes métodos de campo para la detección de especies de hormigas. **Fuente, IAvH 2021.**

Collembola

Se emplearon los siguientes métodos:

Embudos de Berlese-Tullgren: 6 muestras de 30 cm³ de suelo en cada unidad muestral (Figura 5). Cada muestra de suelo fue colocada en un embudo de Berlese-Tullgren donde se dejó actuar por 7 días. 40 unidades muestrales, para un total de 240 muestras de suelo.

Trampas pitfall (sin cebo): 6 trampas de caída por cada unidad muestral (Figura 5). Las trampas permanecieron activas por 48h. 40 unidades muestrales, para un total de 240 trampas.



Muestra de suelo para recolección de colémbolos hemiedáficos y edáficos con embudos Berlese



Recolección de colémbolos epiedáficos usando trampas pitfall

Figura 5. Diferentes métodos de campo para la detección de especies del orden Collembola. **Fuente,** Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt 2021.

Es muy importante realizar las curvas de acumulación de especies y curvas de cobertura del muestreo sobre la base de la información recolectada para el respectivo análisis.

A continuación se explica la importancia de estos análisis:

Las curvas de acumulación de especies, curvas de rarefacción, completitud o enrarecimiento, son un método no paramétrico empleado mundialmente en estudios de biodiversidad utilizado para calcular, y comparar el esfuerzo y la efectividad de muestreo y las metodologías de los diferentes grupos taxonómicos.

Estas curvas de acumulación, determinan la confiabilidad del muestreo, a través de estimadores no paramétricos ampliamente utilizados como; Chao 1 (Chao y Shen 2010; Chao y Jost, 2015; Hsieh et al., 2016) que analiza la riqueza específica cuando se obtienen datos de la abundancia de las especies, además del método de Bootstrap el cual estima la riqueza de especies a partir de la proporción de muestras que contienen a cada especie (Colwell & Coddington, 2004, Chao & Jost, 2015, Hsieh et al. 2016).

Es importante resaltar el uso de las curvas de acumulación de especies, como una herramienta útil para estimar la riqueza obtenida en distintos trabajos de inventario; además, permiten obtener resultados más fiables en análisis posteriores y comparar inventarios donde se han empleado distintas metodologías y diferentes niveles de esfuerzo (Jiménez-Valverde y Hortal, 2003).

2. Resolución taxonómica invertebrados

Resolución taxonómica a la que se debería llegar por grupo taxonómico. ANLA planteó su preocupación ya que el nivel de resolución taxonómica al que se llegó en la mayoría de los grupos fue muy alto.

Estamos estudiando organismos indicadores, en ellos no es el grupo, son algunas especies o géneros los que nos pueden aportar información muy valiosa, por lo tanto una identificación a estos niveles taxonómicamente hablando es importante para los análisis y toma de decisiones. A continuación presentamos los niveles de resolución taxonómica que se logró el proyecto:

Grupo Taxonómico	Orden	Superfamilia	Familias	Subfamilias	Géneros	Especies
Escarabajos "Coprófagos" (Coleoptera: Scarabaeoidea)	100%	100%	100%	100%	38.12%	61.87%
Chisas (Coleoptera: Scarabaeoidea)	100%	100%	100%	100%	100%	0%
Mariposas diurnas (Lepidoptera: Papilionoidea):	100%	100%	100%	100%	1%	99%
Hormigas (Hymenoptera: Formicidae).	100%	100%	100%	100%	21.8%	78.2%
Collembola	22.91%	9.04%	11.15%	0.37%	56.41%	0.11%

Los datos y metadatos correspondientes a cada uno de los grupos de invertebrados se encuentran disponibles en los siguientes enlaces:

Escarabajos

URL CEIBA	http://i2d.humboldt.org.co/ceiba/resource.do?r=escarabajos_anh_2021
-----------	---

URL GBIF	https://www.gbif.org/dataset/e961d627-db44-4fbd-b9d4-dc150c20dcec
----------	---

Hormigas

URL CEIBA	http://i2d.humboldt.org.co/ceiba/resource.do?r=hormigas_anh_2021
URL GBIF	https://www.gbif.org/dataset/d9bdb14b-ca90-413e-a8a4-d30fcb7a8ac

Mariposas

URL CEIBA	http://i2d.humboldt.org.co/ceiba/resource.do?r=mariposas_anh_2021
-----------	---

Collembola

URL CEIBA	http://i2d.humboldt.org.co/ceiba/resource.do?r=collembola_anh_2021
URL GBIF	https://www.gbif.org/dataset/52d41935-4016-40ee-a0ed-c397509eec9f

Acciones propuestas

1. Recomendaciones acciones de compensación

Sugerencias y aportes respecto a las acciones de conservación, restauración y uso sostenible en las áreas propuestas en el plan de compensación del medio biótico y el plan de inversión forzosa de no menos del 1 %.

a. Plan de compensación del medio biótico

Considerando que el plan de compensaciones propuesto en el estudio de impacto ambiental -EIA, es de carácter preliminar, este resulta adecuado desde una perspectiva técnico científica y de interpretación de los principios del licenciamiento ambiental en relación con la jerarquía de la mitigación, la adicionalidad y la no pérdida neta de biodiversidad, aunque no obsta para relacionar una serie de sugerencias que podrían ser discutidas con el peticionario, de manera que se incorporen en la radicación del plan de compensaciones definitivo.

Dada la extensión de la intervención (menor de 5 ha) y que esta se hace sobre ecosistemas principalmente transformados, las interacciones propuestas (Modo: rehabilitación y uso sostenible, Mecanismo: acuerdos de conservación y Forma: directa), pueden dar cumplimiento a los objetivos de la compensación del medio biótico de acuerdo a la legislación vigente.

De acuerdo con recientes desarrollos, tanto de la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales -ANLA (sensibilidad) y el Instituto Humboldt (requerimientos del territorio -RR.T.), en los que se usa el valor del factor de compensación y sus respectivos criterios para describir e identificar de forma preliminar las mejores acciones para contrarrestar pérdida de biodiversidad y generar la mayor adicionalidad por las compensaciones en las unidades bióticas intervenidas, se puede decir que aunque el informe de regionalización “reporte zona centro Valle Medio del Magdalena (2016) (http://portal.anla.gov.co/sites/default/files/biblioteca_web_anla_pdf/reporte_zcvmm4-2.pdf), no reporta como criterio la sensibilidad, pero informes posteriores, tales como el “reporte de alertas cuencas hidrográficas Porce, Nechi, Nare y Bajo Cauca” (2019), http://portal.anla.gov.co/sites/default/files/biblioteca_web_anla_pdf/reporte_de_alertas_porce_-_nechi.pdf mencionan para el zonobioma húmedo tropical del Magdalena Medio y la Depresión Momposina (factor de compensación 7,75) se observa que según ANLA “Tiene una alta transformación y presión, en donde lo poco que se mantiene es a través de las áreas protegidas declaradas”.

Lo anterior concuerda desde la perspectiva de los RR.T. (IAvH, 2022 en prensa), que permite mayor especificidad al analizar tanto el factor de compensación como sus criterios por separado. De esta forma, se evidencia que la unidad tiene los más altos valores en remanencia (3, que significa remanencias inferiores al 30 %) y tasa de cambio (2, que significa tasas anuales muy altas, a pesar de la baja remanencia y determina procesos activos de transformación, mientras que la representatividad es media (1,5 que significa representatividad de la unidad biótica en el RUNAP entre el 6 % y el 12 %), que aunque insuficiente alcanza metas apreciables. Finalmente, la rareza por su parte es baja (1,25, que supone ninguna señal particular, porque está entre el 10 % y el 15 % de diferenciación biológica y ecosistémica de otras unidades bióticas, aunque conviene aclarar que, en un territorio profundamente biodiverso como Colombia, incluso los valores bajos no son desdeñables.

De esta manera, se puede plantear bajo el escenario de los RR.T., que cuando se superpone con coberturas transformadas, la acción exclusiva es restauración pero sin la aproximación de ecosistema de referencia común, sino la propuesta de los llamados neo ecosistemas, donde sin embargo, es importante tener en cuenta el contexto socioambiental que condiciona la implementación de esta aproximación

La línea base general que desde el Instituto Humboldt se ha venido construyendo reporta la presencia de tres especies de primates (Marimonda -*Ateles hybridus*-, Mono Aullador -*Alouatta seniculus*- y Mono Maicero -*Cebus albifrons*-), así como de tres especies de felinos (Puma -*Puma concolor*-, Jaguar -*Panthera onca*-, Yaguarundi -*Herpailurus yaguarundi*-), que aunque de amplia plasticidad en sus nichos ecológicos, requieren amplias áreas de distribución, relativamente conectadas (incluso a través de plantaciones forestales, tales como las de palma aceitera), que permitan oferta de presas para los segundos y de árboles nativos para forrajeo para los primeros. También hay reportes de Paujil (*Crax alberti*), que está más limitado a los pocos parches de vegetación relativamente natural, pero con requerimientos de conectividad entre los parches que eviten desde aislamiento genético, hasta agotamiento de recursos.

Es así como se conviene en que en esta unidad biótica son preferibles las acciones de restauración y sus respectivos modos, que las de preservación, en las que, aunque insuficientes hay ciertos niveles de representatividad, máxime cuando el área de compensación es tan limitada. Lo anterior sin desdeñar la posibilidad de que los acuerdos de conservación, puedan ser objeto de declaración o designación posterior como reservas de la sociedad civil, reservas empresariales (tales como las que en la práctica desarrolla ecopetrol con las ecorreservas, de las cuales hay al menos un predio en la subzona hidrográfica objeto de la compensación), otras medidas de conservación basadas en área (OMEC), e incluso áreas de alto valor de conservación (AAVC), que están definidas para la certificación en la mesa redonda de aceite de palma sostenible (RSPO, por sus siglas en Inglés).

Conviene pensar en mecanismos de compensación, que no solo aporten a la no pérdida neta de biodiversidad, sino también a la sostenibilidad del territorio, mediante su propia perdurabilidad en el tiempo (incluso después de la obligatoriedad de la medida compensatoria), en tal sentido las acciones relacionadas con el uso sostenible, deben constituirse en instrumentos de incentivo económico, que permitan a los beneficiarios mantener al largo plazo los procesos de reconversión agroforestal y de silvopastoreo. Por otra parte, pensando en el mediano y largo plazo, la transición energética planetaria, permitiría suponer que estos paisajes tiendan cada vez más a la agroindustria, que a la extracción petrolera, de manera que se sugiere el diseño de paisajes resilientes, en los cuales las compensaciones del medio biótico, así como los mecanismos de conservación “in situ” de la biodiversidad, puedan potenciarse mutuamente, por ejemplo mediante corredores de conectividad ecológica, entre núcleos naturales, declarados como áreas protegidas AA.PP. o no. Por su parte, en el corto plazo y sobre el supuesto de que sea autorizada la técnica de fracturamiento hidráulica con perforación horizontal multietapa FH-PH en yacimientos no convencionales, el territorio del valle medio del Magdalena, industrializaría la exploración y producción de petróleo y gas, de manera que la sugerencia de diseño de paisajes resilientes, ya no es tanto opcional sino obligatoria, de manera que las compensaciones asociadas a los Proyectos Pilotos de Investigación Integral -PPII, se constituyen en un piloto también para evaluar efectividad de las medidas y adicionalidad para el territorio.

Aunque no hay definidos sitios específicos para la implementación de acuerdos de conservación para la compensación, más allá de la subzona hidrográfica, se sugiere que el mecanismo de identificación de sitios, incorpore criterios no solo basados en la oferta de propietarios y tenedores de predios, sino también de la demanda de nichos ecológicos, al menos para las especies previamente mencionadas, para las cuales, eventualmente los bordes de ríos, quebradas y de cuerpos de aguas lénticas (temporales o permanentes), rehabilitados y restaurados, pueden ser una apuesta relativamente segura para compensar biodiversidad, mantener servicios ecosistémicos y que además está priorizada por la normatividad ambiental.

Así mismo, se deben incorporar criterios para la identificación de predios en los que establecer los acuerdos de conservación, que desarrollen la aptitud y vocación de la tierra, para procesos de agroforestería y silvopastoreo, de acuerdo a los mapas que para tal fin ha puesto a disposición la UPR. Considerando que esta es una región de relativa estabilidad climática, desde la perspectiva de cambio en las precipitaciones, por la tercera comunicación de cambio climático (IDEAM, 2017), Esta consideración tiene repercusiones tanto en las acciones de restauración como en las de uso

sostenible, aportando menores niveles de incertidumbre en las especies planteadas para los enriquecimientos y siembras, como para los rendimientos económicos de los sistemas productivos. En la subzona hidrográfica, fueron observados algunos núcleos de baja probabilidad de deforestación y algunas áreas de mayor conectividad entre AA.PP., que también podrían hacer parte de los criterios para priorizar predios.

No obstante, el planteamiento de la equivalencia ecosistémica, resulta insuficiente en la medida que el uso del mapa de factores de compensación del manual de compensaciones, como referente ecosistémico, no aborda la contexto-dependencia del territorio. En ese sentido, si bien la unidad biótica sobre la que se desarrollará el proyecto corresponde al Zonobioma Húmedo Tropical del Magdalena Medio y la Depresión Momposina, es necesario considerar la influencia de otros ecosistemas como helobiomas e hidrobiomas asociados al área de intervención. En ese sentido, la evaluación de la equivalencia ecosistémica debe ir más allá del uso de cartografía temática (mapa de factores de compensación), que es apenas una representación a escala regional, y debe basarse como lo establece el Manual de Compensaciones, en la equivalencia ecosistémica desde la estructura, composición y función.

Respecto a la propuesta de indicadores, si bien se incluyen indicadores asociados al proceso de restauración (efectividad), y del cumplimiento de las acciones propuestas, es necesario complementar la batería de indicadores incluyendo otros componentes de la biodiversidad como los relacionados con fauna asociada a la restauración, así como la inclusión de indicadores desde el componente socio-económico en términos del componente social de la restauración y el uso sostenible.

Aunque sin reglamentar aún, sería conveniente establecer un mecanismo de proporcionalidad, entre la hectárea restaurada y la hectárea apoyada por incentivos de uso sostenible, en tal caso se reitera que estas no deberían ser equivalentes, sino de una proporción tal como fue definida en el licenciamiento ambiental de Cerrejón.

Se sugiere la consulta de los productos generados en el marco del convenio entre Riqueza Natural y el Instituto Humboldt tales como las listas de chequeo desarrolladas en relación con la interacción entre acuerdos de conservación y restauración, y la interacción entre acuerdos de conservación y preservación así como la lista de chequeo de la restauración como instrumento de compensación, así como el documento sobre la restauración en el marco de las compensaciones

b. Inversión forzosa de no menos del 1 %

En relación con la inversión forzosa de no menos del 1 %, que, aunque incluida como instrumento de compensación, estrictamente se trata de un pago por el uso de un bien ambiental. En dicho plan, no se entiende porque si ocurre en la misma subzona hidrográfica, y por tanto con las mismas características ecológicas, sociales y económicas, la propuesta es la de preservación mediante acuerdos de conservación, que difiere de lo planteado en el plan de compensaciones del medio biótico, que promueve la rehabilitación mediante acuerdos de conservación, de manera que, aunque

coinciden en el modo, no en el tipo de acción. Disminuyendo la capacidad de sinergia entre el plan de compensación y el de inversión forzosa de no menos del 1 %.

No obstante, la acción de preservación definida en el plan de inversión forzosa, consiste principalmente en el aislamiento de áreas en condiciones de relativa naturalidad al interior de los predios priorizados, que genera dudas sobre la comprensión mutua del significado de la preservación, que no es solo el aislamiento, sino también la zonificación para el manejo, la administración, e incluso el cumplimiento de la ruta para la declaración de áreas protegidas, o al menos de registro de OMEC.

De hecho el aislamiento para la regeneración natural, es una técnica de restauración “pasiva”, que dependiendo de las condiciones del área y su respectiva resiliencia, puede ser acompañada por procesos de enriquecimiento, para la aceleración del proceso de restauración ecológica.

Por todo lo anterior, recomendamos una discusión detallada con el peticionario y una puesta de acuerdo entre el plan de compensaciones y el plan de inversión forzosa de no menos del 1%, particularmente en un territorio que como ha sido mencionado, tiene altos niveles de transformación histórica y procesos activos de cambio de uso del suelo, en el que las áreas protegidas aunque insuficientes, tienen niveles ciertos de representatividad.

Así mismo en el plan de inversión forzosa de no menos del 1%, no es evidente la evaluación del respectivo plan de ordenamiento y manejo de la cuenca hidrográfica -POMCA, que para este plan, es un determinante principal.

Referencias

Colwell, R. K., & Elsensohn, J. E. (2014). EstimateS turns 20: statistical estimation of species richness and shared species from samples, with non-parametric extrapolation. *Ecography*, 37(6), 609-613.

Colwell, R., & Coddington, J.A. (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Phil. Tran. of Roy. Soc. Lond.* 345: 101- 118.

Correa A., C. A., Etter, A., Díaz T., J., Rodríguez B., S., Ramírez, W., Corzo, G. 2020. Spatiotemporal evaluation of the human footprint in Colombia: Four decades of anthropic impact in highly biodiverse ecosystems. *Ecological Indicators*, 117, 1 - 10 pp. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106630>

Chao, A., & Shen, T. J. (2010). SPADE: Species Prediction And Diversity Estimation. Program and user's guide.

Chao, A. & L. Jost. (2015). Estimating diversity and entropy profiles via discovery rates of new species. *Methods in Ecology and Evolution* 6: 873–882.

Hsieh. T. C., K. H. Ma & A. Chao. (2016). iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods in Ecology and Evolution* 7: 1451–1456.

IDEAM, PNUD, MADS, DNP, CAN - CILLERÍA. 2017. Resumen ejecutivo Tercera Comunicación Nacional De Colombia a La Convención Mar - co De Las Naciones Unidas Sobre Cambio Climático (CMNUCC). Ter - cera Comunicación Nacional de Cambio Climático. IDEAM, PNUD, MADS, DNP, CANCELLERÍA, FMAM. Bogotá D.C., Colombia.

Jiménez-Valverde, A. & J. Hortal. (2003). Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Revista Ibérica de Aracnología*, 8: 151–161.

Sueur, J., Farina, A., Gasc, A., Pieretti, N., Pavoine, S., 2014. Acoustic Indices for Biodiversity Assessment and Landscape Investigation. *Acta Acust United Ac* 100, 772–781. <https://doi.org/10.3813/AAA.918757>

Cordialmente,

HERNANDO GARCÍA MARTÍNEZ
Director General

Elaboró:, A. Restrepo, F. González, P. Montoya, H. Pantoja, G. Corzo, J.S. Ulloa, S. Rodríguez, P. Montoya, J.C. Neita, D. L. Botero

Revisó: J.M. Ochoa, J. Galvis, S. Perdomo