

ALGUNAS EVIDENCIAS POBLACIONALES DE FORMACION DE HIBRIDOS ENTRE *Espeletia batata* CUATR. Y *E. schultzii* WEDD. EN EL ALTIANDINO VENEZOLANO

SOME POPULATION EVIDENCES OF HIBRIZATION BETWEEN *Espeletia batata*
CUATR. Y *E. schultzii* WEDD. IN THE VENEZUELAN HIGH MOUNTAIN

Moreno-Alvarez, M. J. ^{1,3}, Hurtado, J.², Silva, J. F.¹, Farías, M. R.¹ y A. Azócar¹.

¹ CIELAT, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes.

² Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida Venezuela.

³ Dirección actual: Universidad Simón Rodríguez, Núcleo 7, Canoabo, Venezuela.

RESUMEN

En este trabajo se presenta un análisis de componentes principales de parámetros morfométricos y químicos además de un análisis de la fecundidad natural y germinación que apoyan la hipótesis de que existe hibridación entre dos especies de rosetas caulescentes *Espeletia schultzii* y *E. batata* en el altíandino venezolano. Las dos especies parentales presentan hábito morfométrico contrastante y una alta afinidad intraespecífica, en tanto que los híbridos resultaron con características morfométricas intermedias. En los híbridos se detectaron un mayor número de compuestos químicos (flavonoides) por individuo y la presencia de compuestos diferentes a los de las especies parentales, lo cual sugiere la derepresión de genes involucrados en las rutas biosintéticas de flavonoides y/o nuevas recombinaciones capaces de producir estos efectos. Tanto las poblaciones parentales como los híbridos presentaron valores relativamente bajos de fertilidad natural.

PALABRAS CLAVE: Hibridación, páramos, evolución, frailejon, fitoquímica, flavonoides.

ABSTRACT

In this paper we present evidences to support the hypothesis of the occurrence of natural hybridization between two species of caulescent rosettes, *Espeletia schultzii* and *E. batata* from the high Andes of Venezuela. The evidences come from a principal components analysis of morphological and chemical data and a set of results on natural fecundity and germination from natural populations of both species and suspected hybrid plants. These are intermediate in morphology whereas the parental species have a high intraspecific affinity and differ substantially in morphology. Hybrids showed a higher number of flavonoids, some of them different from any in the parental species. This suggests derepression of genes involved in the control of flavonoid synthesis and/or new recombinations which may produce these effects. Both hybrids and individuals from parental species showed relatively low fertility values.

KEY WORDS: Hybridization, paramos, evolution, frailejon, phytochemistry, flavonoids.

INTRODUCCION

El género *Espeletia* Mutis, perteneciente a la Familia Compositae, es un elemento característico del ecosistema páramo. En Venezuela se localiza en la Cordillera de la Costa y en la Cordillera de los Andes; en Colombia al norte de Santander, en los páramos de Cundinamarca y en la Sierra de Santa Marta, y en Ecuador en la provincia de Carchi (Smith y Koch 1935). Es un grupo endémico de la alta montaña tropical andina con una gran gama de adaptaciones ecológicas, morfológicas y fisiológicas que le han permitido colonizar el páramo (Cuatrecasas 1976, 1978, 1979; Goldstein y Meinzer 1983; Estrada y Monasterio 1988, Rada et al. 1985, 1987; Goldstein et al. 1984, 1985; Meinzer y Goldstein 1985; Meinzer et al. 1985; Smith 1974, 1979, 1980, 1981, 1984; Earuch 1979; Baruch y Smith 1979; Guariguata y Azócar 1988).

El páramo parece representar condiciones ecológicas que favorecerían eventos de hibridación natural, sobretodo tomando en consideración las evidencias de grandes fluctuaciones ambientales durante el pleistoceno (Salgado-Labouriau 1976, Schubert 1974, 1976; Viullemier 1971), probablemente decisivas en los procesos de especiación de su flora y fauna. Es de esperar que *Espeletia* no haya podido establecer barreras definitivas de incompatibilidad genética en el tiempo evolutivo, siendo actualmente un grupo en franca radiación adaptativa (Cuatrecasas 1968, 1976, 1979).

Espeletia schultzii presenta una amplia distribución en el ecosistema páramo andino venezolano, lo cual ha favorecido un proceso de especiación geográfica entre

poblaciones distantes, dando origen a la formación de tres subespecies (Cuatrecasas 1980), con el consiguiente aislamiento reproductivo (Sobrevila 1988). En contraste, *E. batata* habita en lugares restringidos aparentemente perturbados caracterizados por escasa cobertura vegetal, presencia de caminos y riachuelos y/o fondos de valles; posiblemente se trata de un morfo con mayores restricciones ecológicas. Aunque los sitios de contacto o sobreposición espacial entre estas dos especies probablemente están limitados por el nicho ecológico de *E. batata*, en algunos lugares muy específicos del altiandino son simpátricas, superponen sus picos de floración y comparten polinizadores (Moreno-Alvarez 1986, Berry et al. 1988). Además, en esos sitios de contacto se encuentran individuos de hábito intermedio entre las dos especies lo cual hace suponer la existencia de flujo genético entre ambas. Berry et al. (1988) mediante un análisis morfométrico y por polinizaciones experimentales de plantas de una comunidad mixta de *E. batata* y *E. schultzii*, concluyeron sobre la formación de híbridos y mostraron evidencias de introgresión entre estas especies.

En este trabajo se presentan algunas evidencias poblacionales de flujo genético entre las dos especies, *E. batata* Cuatr. y *E. schultzii* Wedd. Tanto las poblaciones parentales de ambas especies como las intermedias se caracterizaron morfométricamente y, desde el punto de vista químico mediante la presencia de compuestos fenólicos, especialmente flavonoides, a través de un análisis de componentes principales. Además, se realizaron pruebas de germinación y fertilidad natural.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó a 14 km del Pico El Aguila en el Páramo Las Cruces (8° 54' 27" N y 70° 51' 27" O), en la vía que conduce a la población de Piñango, en la formación Sierra de la Culata a 4.200 m. La comunidad vegetal está constituida mayoritariamente por rosetas perennifolias del género *Espeletia* spp.: *E. timotensis*, *E. semiglobulata*, *E. schultzi*, *E. spicata* y *E. batata*, además de otros elementos florísticos menos importantes (Monasterio 1979, 1980; Moreno-Alvarez 1986). El régimen de precipitación es unimodal, con una media anual de 869 mm y presenta una temperatura media anual de 2,8°C (Monasterio y Reyes 1980).

Espeletia schultzi y *E. batata* coexisten en algunos lugares muy específicos de escasa cobertura vegetal como fondos de valles. Las dos especies presentan hábitos morfológicos muy contrastantes lo cual ha permitido su separación en taxones (Cuatrecasas 1978, 1980). *Espeletia batata* es una especie policárpica, sésil, caulirosula, con una única inflorescencia terminal por eje y un número máximo de 10 ejes florales por individuo. El tamaño de la roseta de plantas adultas varía entre 15 y 30 cm de altura. Presenta un tronco subterráneo en forma de tubérculo. En contraste, *E. schultzi* es una especie policárpica de mayor porte, llegando a alcanzar hasta 1,30 cm. Presenta un sistema de inflorescencias llamado sinflorescencias axilares en un número superior a 30 por eje y, posee un tallo subterráneo más pequeño que *E. batata*. En los mismos habitats se encuentran individuos que poseen características mixtas en su hábito morfológico: tres a cuatro inflorescencias por eje, un porte medio y un tronco

subterráneo con características intermedias y a los cuales se les ha considerado como híbridos naturales de las dos especies (Moreno-Alvarez 1986, Berry et al. 1988, Cuatrecasas, comunicación personal). Duplicados de estos ejemplares fueron depositados en el Herbario MERF [Estado Mérida, Venezuela: Páramo Las Cruces, 4.300 m, 22/09/84, Moreno-Alvarez (MERF 168, MERF 169, MERF 170)].

Se seleccionaron 10 individuos de cada morfo (especies parentales e híbridos), todos adultos de tamaño intermedio y en estado de antesis. A cada individuo se le determinó el número de ejes, la longitud y diámetro de los mismos, el número de inflorescencias por eje, el diámetro de las inflorescencias y la longitud y diámetro de las hojas del escapo. El número de ejes y los promedios de los atributos restantes para cada individuo se usaron para un análisis de componentes principales con algoritmo de tipo R, que permite ordenar a los individuos a partir de una matriz de correlación de los atributos (Orloci 1978).

Con el objeto de explorar la presencia de metabolitos fenólicos y especialmente compuestos tipo flavonoides, se realizó un análisis químico preliminar en muestras de inflorescencias en antesis. De las muestras secas al aire y molidas separadamente, se tomaron 3 g. Cada muestra se extrajo filtrando al vacío con metanol (85%) y se procesó mediante una marcha de separación de flavonoides (Mabry et al. 1970). Las fracciones acuoso-metanólicas resultantes se concentraron para obtener un volumen de 6 ml y se aplicaron en celulosa preparativa. Los cromatogramas se eluyeron en forma bidimensional (Terbutanol: Acido acético: Agua 3:3:1 y Acido acético al 15%). El tiempo de elución fué de 6 y 2 horas respectivamente. Los cromatogramas

obtenidos se revelaron con luz ultravioleta a 360 nm y con vapores de amoníaco. Los Rf se analizaron con un programa de computación que permitió establecer gráfica y cuantitativamente, en un espacio de dos dimensiones, la zona en la cual se ubicaba cada uno de los diferentes compuestos. De esta manera se construyó una matriz de presencia-ausencia de flavonoides para los 30 individuos analizados químicamente. Las estructuras de los compuestos presentes no fueron determinadas para este trabajo. Partiendo de la matriz de presencia-ausencia de compuestos químicos se efectuó también un análisis de componentes principales.

Para estimar la fertilidad natural (número de aquenios fertilizados/número total de aquenios) y la germinación se colectaron antes de la dispersión, 10 cabezuelas de 4 individuos de la misma clase de tamaño de cada especie parental y 4 individuos híbridos para un total de 12. De cada capítulo se cosecharon los aquenios y se cuantificaron. Posteriormente se seleccionó al azar el 25% de los aquenios de cada capítulo y se procesaron separadamente para efectuar el experimento de germinación el cual consistió en colocar los aquenios separadamente en placas de Petri durante un mes y regados cada dos días. Se consideró que la germinación era positiva cuando las radículas alcanzaban una longitud mayor de 2 mm y las plántulas no presentaban signos de necrosis (Moreno 1984). A los aquenios que no germinaron se les aplicó el test de viabilidad de cloruro de tetrazolium. Cuando los embriones presentaban una coloración rojo-rosada la prueba se consideró como positiva en cuyo caso eran semillas latentes. En contraposición, los embriones que se colorearon parcial o muy claramente se les consideró como semillas no viables. Los

resultados obtenidos con este experimento se expresaron como proporciones por individuo. Debido a que el test G de homogeneidad (Sokal y Rohlf 1980) determinó la existencia de una gran heterogeneidad, decidimos expresar los resultados como valores superior e inferior de las proporciones con su rango de variación asociado.

RESULTADOS

La Fig. 1 muestra el ordenamiento de los individuos de los tres morfos estudiados en base a atributos morfométricos. Se puede observar que las especies parentales y los híbridos se ordenan en dos ejes principales. Las especies parentales muestran una separación neta ubicándose hacia los extremos del primer eje (F_1). Por otra parte, los individuos híbridos se ubican en una posición intermedia aunque más cercana a *E. batata*. El individuo número 1 de los híbridos fué el único que mostró una

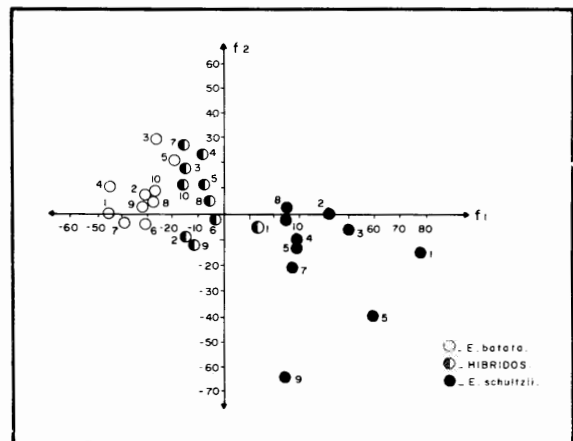


FIGURA 1. Análisis de componentes principales de las tres poblaciones estudiadas en base a atributos morfométricos.

semejanza mayor con *E. schultzei*. El primer eje (F_1) absorbe el 59,18% de la varianza lo cual significa que este es el componente que determina la separación. En contraste, el segundo eje (F_2), que absorbe sólo el 14,17 % de la varianza no permite la separación de ninguno de los morfos.

Los atributos: diámetro promedio de los ejes florales (3); número de capítulos por eje floral (4); largo promedio de las hojas del escapo (7); ancho promedio de las hojas del escapo (6) y el número de ejes florales (1), presentan mayor correlación con el primer componente (F_1) y por lo tanto son los que contribuyen efectivamente a la separación de los individuos (Fig. 2). El atributo 1 muestra correlación negativa con el primer componente lo cual indica que es un componente propio de *E. batata*. En el segundo componente principal (F_2) (Fig. 2), el atributo 6 antagoniza con el atributo

5; sin embargo, estos atributos no resultan efectivos para separar los morfos.

El análisis de flavonoides y de compuestos fenólicos se sintetiza en la matriz de presencia y ausencia de compuestos químicos (Tabla 1). A nivel interespecífico se evidenciaron algunas diferencias en relación a estos compuestos. El compuesto 1 se encuentra sólo en individuos de la población de híbridos, en tanto que el compuesto 2 se encuentra en las poblaciones parentales pero no en la de híbridos. En relación al número total de compuestos químicos presentes, la población híbrida con mayor cantidad se acerca más a *E. schultzei* que a *E. batata*.

La Fig. 3 muestra que el primer componente principal (F_1) no permite una buena separación de las poblaciones en base a la presencia o ausencia de flavonoides. Sin embargo, el segundo componente principal (F_2) separa en forma definida a casi todos los individuos de *E. batata* del

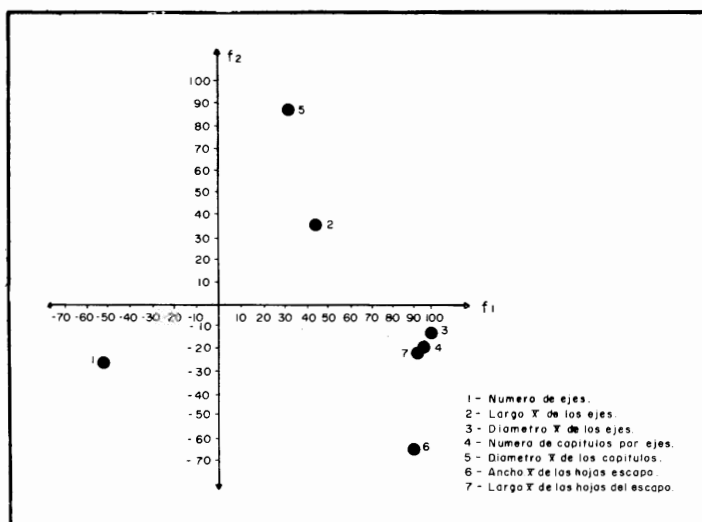


FIGURA 2. Posición relativa de los siete atributos morfométricos en el primer y segundo eje del análisis de componentes principales. (1) Número de ejes florales, (2) Largo, (3) Diámetro promedio del eje, (4) Número promedio de capítulos por eje, (5) Diámetro promedio del capítulo, (6) Ancho y (7) Largo promedio de hojas del escapo

TABLA 1. Matriz de presencia y ausencia de compuestos químicos en las poblaciones parentales e híbrida. Los números 1 al 28 representan los diferentes compuestos detectados en base a los Rf. Los individuos están codificados y numerados: B1 = *E. batata*, H1 = híbrido, S1 = *E. schultzei*, NTC = número total de compuestos por individuo.

		COMPUESTOS QUÍMICOS																													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	NTC	
POBLACIONES	B1-1		+	+		+	+		+		+								+			+	+								9
	B1-2			+		+	+												+						+			+			6
	B1-3		+	+	+	+						+																			5
	B1-4			+	+		+	+				+						+	+		+			+							9
	B1-5			+	+	+	+											+		+			+							+	6
	B1-6			+	+	+			+				+									+									6
	B1-7			+	+	+	+					+										+									6
	B1-8			+	+	+	+												+			+									6
	B1-9		+	+	+	+	+	+										+			+		+								8
	B1-10		+	+	+	+	+	+	+		+	+	+				+					+		+					+		11
	H1-1			+	+	+	+	+	+	+	+	+											+	+		+	+				13
	H1-2			+	+	+	+	+	+	+	+	+			+		+				+		+		+	+	+	+			13
	H1-3			+	+	+	+	+	+	+	+	+			+		+			+		+		+			+		+		13
	H1-4	+		+	+	+	+	+				+			+	+	+				+		+		+	+	+	+	+		14
	H1-5	+		+	+	+	+	+	+	+	+			+		+					+		+		+						13
	H1-6			+	+	+	+	+	+	+	+	+			+					+	+					+		+		+	13
	H1-7			+	+	+	+	+	+	+	+		+			+				+			+		+	+	+	+	+		13
	H1-8	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+			+					+	+	+	+								13
	H1-9	+		+	+	+	+	+	+	+	+				+						+		+	+			+		+		13
	H1-10	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+			+		+	+	+	+	+	+				+	+				14
	S1-1		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					+									12
	S1-2			+	+	+	+					+	+					+	+				+		+	+	+	+			12
	S1-3			+	+	+	+	+				+	+			+	+	+				+	+	+	+						12
	S1-4			+	+	+	+	+				+				+	+	+					+		+						11
	S1-5		+		+		+	+				+	+			+	+	+					+	+							11
	S1-6			+	+	+	+	+				+	+	+		+		+		+		+		+		+					12
	S1-7			+	+		+		+	+		+	+			+					+		+		+				+		11
	S1-8		+		+	+	+	+	+	+						+	+	+			+		+	+							12
	S1-9			+	+	+	+		+			+	+		+	+	+				+		+			+					12

resto de los individuos analizados. Esta separación se debe primordialmente a la correlación negativa que presenta el compuesto 20 con el segundo componente principal y que aparece casi exclusivamente en *E. batata*.

Los valores de germinabilidad, viabilidad y latencia presentaron una gran heterogeneidad (test de G, Sokal y Rohlf 1980), por lo tanto, no comparamos los promedios sino más bien los intervalos de variación. *Espeletia batata* presentó mayor

fertilidad natural variando entre 31 y 70% la proporción de aquenios fertilizados. En cambio, los híbridos y *E. schultzei* variaron entre 0 y 30%. La viabilidad de las semillas tiende a ser mayor en *E. batata* ya que, en algunos individuos llegó a ser de 100% mientras que en los híbridos la máxima fue de 71% y en *E. schultzei* de 63%. En relación a la germinabilidad y la latencia, los resultados de las tres poblaciones fueron más similares, pero la variación entre individuos de la misma

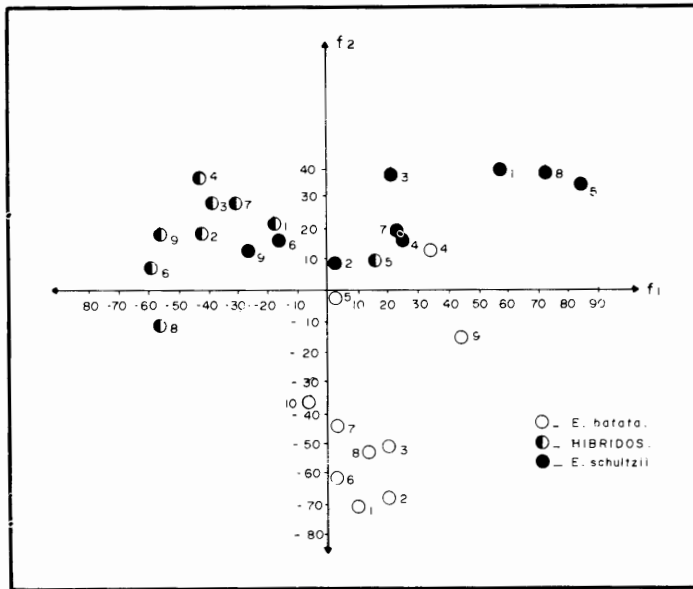


FIGURA 3. Análisis de componentes principales de las tres poblaciones estudiadas en base a atributos químicos. Símbolos similares a los utilizados en la Figura 1.

población fue notable en cada caso. En algunos individuos, todas las semillas viables germinaron, mientras que en otros todas las semillas viables mostraron latencia. Los máximos de germinabilidad de las semillas viables están cercanos al 100% en las tres poblaciones.

DISCUSION

Los resultados del ordenamiento de caracteres morfométricos apoyaron la idea inicial de que los individuos híbridos presentan hábitos intermedios con respecto a las especies parentales. Los atributos seleccionados a priori permitieron una separación nítida de tres morfos con alto grado de afinidad poblacional o coespecífica, de manera que se puede inferir que las muestras eran representativas de los taxa considerados. Este análisis sugiere que los individuos considerados como híbridos heredaron caracteres

morfométricos intermedios, debido probablemente a la conjugación de los dos genomas parentales. Estos resultados apoyan aquellos encontrados por Berry et al. (1988) en el sentido de que los individuos intermedios son el resultado de una hibridación interespecífica entre *E. schultzei* y *E. batata*. Estos autores propusieron que el número de capítulos por eje y el área foliar podrían ser utilizados como caracteres diagnósticos para una detección rápida de plantas híbridas en el campo. En nuestro caso también el número de capítulos por eje resultó ser un carácter importante en la diferenciación de los híbridos así como también el número de ejes florales.

El análisis químico reveló que las tres poblaciones poseen un total de 28 compuestos, muchos de ellos presentes en las tres poblaciones pero otros sólo presentes en algunas de ellas. El compuesto 1 por ejemplo, sólo se encuentra en algunos de los individuos híbridos. La

aparición de compuestos diferentes en las poblaciones híbridas ha sido interpretada como el producto de la acumulación de diversos sustratos intermedios en la biosíntesis de flavonoides originados por la acción catalítica de isomerasas, las cuales han sido sintetizadas, ya sea directamente, gracias a las nuevas recombinaciones híbridas, o indirectamente como subproducto genético en la constitución de individuos poliploides (Smith y Levin 1963, Seeligman y Alston 1967, Taylor y Campbell 1969, Hsiao y Li 1973, Natarella y Sink 1974). Por otra parte, la ausencia en los híbridos de compuestos que si se encuentran en los parentales, como por ejemplo los compuestos 2, 13 y 17, puede deberse a interacciones epistáticas o genes no mendelianos. Decidir sobre estas posibilidades requerirá profundizar en el estudio de las estructuras presentes y de las rutas biosintéticas correspondientes.

De los 28 compuestos encontrados en las tres poblaciones, 24 son comunes a por lo menos una de las especies parentales y a los híbridos, lo cual se puede interpretar como simple heredabilidad de caracteres químicos, regulada por genes de tipo mendeliano o epistáticos (Levy y Levin 1974).

La alta frecuencia de variación observada en los patrones cromatográficos tanto de las poblaciones parentales como de las híbridas se puede interpretar como un resultado de eventos reproductivos sexuales exogámicos, los cuales involucran altos grados de heterocigosis. Esto concuerda con el hecho de que ambas especies son autoincompatibles y por lo tanto de exocruza obligada (Berry 1987). La clara separación de la mayoría de los individuos híbridos en base a atributos químicos sugiere un proceso de

diferenciación bioquímica producto de la adquisición de nuevos metabolitos secundarios.

Cabe destacar que las tres poblaciones evidencian valores relativamente bajos de fertilidad natural lo cual puede estar condicionado por los "filtros" en su biología reproductiva. En primer lugar, tanto las especies parentales como las híbridas presentan polinización zoofílica (Berry 1987), preferencialmente insectos dípteros y hemípteros con baja densidad poblacional; en contraposición a una alta disponibilidad de capítulos para ser polinizados. Por otra parte, los taxa parentales y los híbridos presentan fuertes mecanismos de autoincompatibilidad gamética, lo cual significa que para que ocurra fertilización deben producirse obligatoriamente exocruces (Berry 1987). Finalmente, otro factor importante puede ser el clima, ya que los procesos de antesis coinciden con la época de mayor humedad y es precisamente en ésta época cuando disminuye la actividad de los polinizadores. *E. batata* presentó valores más altos de fertilidad natural en comparación a los valores encontrados en los híbridos y en *E. schultzei* ¿Cuáles pueden ser las causas que determinan esta diferencia? Si tomamos en cuenta que los polinizadores parecen estar restringidos en el páramo y que *E. batata* produce menos capítulos por individuo, podemos suponer que la visita por capítulo resulta más eficiente lo que determina, en consecuencia, una mayor fertilidad.

En la población de híbridos, algunos presentaron valores altos de germinabilidad y viabilidad, lo cual sugiere que por lo menos a este nivel, estos individuos no exhiben mecanismos de aislamientos reproductivo post-zigótico. Por otra parte,

mediante polinización experimental se han obtenido altos porcentajes de semillas viables en el cruce *E. batata* x *E. schultzii*. La alta proporción de semillas latentes en algunos individuos de las tres poblaciones puede ser debido a que sus propágulos fueron cosechados antes de la dispersión y por lo tanto no fueron expuestos a procesos de post-maduración o de vernalización en el suelo. Sin embargo, estudios realizados en otras especies de *Espeletia* indican que la latencia parece ser común y se ha interpretado como un estado de letargo obligado al que están sometidas estas semillas constituyéndose un banco de semillas permanente, con capacidad de germinar diferencialmente en el tiempo dependiendo de exigencias fisiológicas específicas (Guariguata y Azócar 1988). Esto trae como consecuencia una mayor probabilidad de implantación de las plántulas y quizás una mayor potencialidad de implantación de las plántulas.

Las evidencias obtenidas con este trabajo y las aportadas por Berry et al. (1987) apoyan la hipótesis sobre la existencia de hibridación interespecífica entre *E. batata* y *E. schultzii*. La magnitud del flujo de genes entre estas dos especies del altiandino venezolano tendría que determinarse a través de estudios genéticos y biosistemáticos detallados, a fin de evaluar el papel que está jugando en la evolución de estas dos especies.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fué financiado parcialmente por subsidio del CONICIT al Postgrado de Ecología Tropical de la ULA. Agradecemos al Sr. Publio Rivas su asistencia técnica y a la Dra. Doris de Luengo sus críticas y sugerencias.

LITERATURA CITADA

- Baruch, Z. 1979. Elevational differentiation in *Espeletia schultzii* (Compositae), a giant rosette plant of the Venezuelan Andes. *Ecology* 60: 85-98.
- Baruch, Z. y A. P. Smith. 1979. Morphological and physiological correlates of niche breadth in two species of *Espeletia* (Compositae) in the Venezuelan Andes. *Oecologia* 38: 71-82.
- Berry, P. E., Beaujon Z., S. y R. Calvo M. 1988. La hibridación en la evolución de los frailejones. *Ecotropicos* 1: 11-24.
- Berry, P. E. 1987. Los sistemas reproductivos y mecanismos de polinización del género *Espeletia* (Asteraceae) en los páramos venezolanos. *Anales IV Congreso Latinoamericano de Botánica* II: 25-33.
- Cuatrecasas, J. 1968. Paramo vegetation and its life forms, p. 163-186. *En: C. Troll* (ed.), *Geoecología de las regiones montañosas de América tropical*. Proceedings of the UNESCO. México.
- Cuatrecasas, J. 1976. A new subtribe in the Helianthaceae (Compositae): *Espeletiinae*. *Phytologia* 35: 43-61.
- Cuatrecasas, J. 1979. Growth forms of the *Espeletinae* and their correlation to vegetation types of the high Tropical Andes, p. 374-410. *En: J. Larsen y Holm-Nielsen, L.* (eds), *Tropical Botany*. Academic Press, London.
- Cuatrecasas, J. 1980. Miscellaneous notes on Neotropical Flora. XI. *Phytologica* 45: 17-29.
- Estrada, C. y M. Monasterio. 1988. Ecología poblacional de una roseta gigante *Espeletia spicata* Sch. Bip. (Compositae), del páramo desértico. *Ecotropicos* 1: 25-39.
- Goldstein, G. y F. Meinzer. 1983. Influence of insulating dead leaves and low temperatures on water balance in an andean giant rosette plant. *Plant, Cell and Environment* 6: 649-656.
- Goldstein, G., F. Meinzer y M. Monasterio. 1984. The role of plant capacitance in the water balance of andean giant rosette species. *Plant, Cell and Environment* 7: 179-186.
- Goldstein, G., F. Meinzer y M. Monasterio. 1985. Physiological and mechanical factors in relation to size-dependent mortality in an andean giant rosette species. *Acta Oecologica* 3: 263-275.
- Guariguata, M. y A. Azócar. 1988. Seed bank dynamics and germination ecology in *Espeletia timotensis* (Compositae), an andean giant rosette. *Biotropica* 20: 54-59.
- Hsiao, J. y Li, H. 1973. Chromatographic studies on the red horse-chestnut (*Aesculus x carnea*)

and its putative parent species. *Brittonia* 25: 57-63.

- Levy, M. y Levin, A. 1974. Novel flavonoids and reticulate evolution in the *Phlox Pilosa-p Drummondii* complex. *American Journal of Botany* 61: 156-167.
- Mabry, T. J., Markhan, K. y Thomas, B. 1970. *The Systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag. New York.
- Meinzer, F. y Goldstein, G. 1985. Leaf pubescence and some of its consequences for an andean giant rosette plant, *Espeletia timotensis*. *Ecology* 66: 512-520.
- Meinzer, F., Goldstein, G. y P.W. Rundel. 1985. Morphological changes along an altitude gradient and their consequences for an andean giant rosette plant. *Oecologia (Berlin)* 65: 278-283.
- Monasterio, M. 1979. El páramo desértico en el altiandino de Venezuela. p. 117-146. *En: Salgado-Labouriau, M.L. (ed.), El medioambiente páramo*. Ediciones del Centro de Estudios Avanzados, IVIC. Caracas, Venezuela.
- Monasterio, M. 1980. Las formaciones vegetales de los páramos de Venezuela. p. 93-158. *En: Monasterio, M. (ed.), Estudios ecológicos en los páramos andinos*. Ediciones de la Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
- Monasterio, M. y Reyes, S. 1980. Diversidad ambiental y variación de la vegetación en los páramos de los Andes venezolanos. p. 47-91. *En: Monasterio, M. (ed.), Estudios ecológicos en los páramos andinos*. Ediciones de la Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
- Moreno-Alvarez, M. J. 1986. Evidencias morfológicas y químicas de la hibridación interespecífica entre *Espeletia batata* Cuatr. y *E. schultzii* Wedd. Fecundidad natural y germinación. Tesis de Licenciatura. Universidad de los Andes, Mérida.
- Moreno, E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas grícolas. Instituto de Biología, UNAM. México.
- Natarella, N. J. y Sink, K. C. 1974. A chromatographic study of phenolics of species ancestrales to *Petunia hybrida*. *The Journal of Heredity* 65:85-90.
- Orlaci, L. 1966. Geometric models in Ecology. I. The theory and application of some ordination methods. *Journal of Ecology* 54: 193-216.
- Rada, F., G. Goldstein, A. Azócar y F. Meinzer. 1985. Freezing avoidance in andean giant rosette plants. *Plant, Cell and Environment* 8: 501-509.
- Rada, F., G. Goldstein, A. Azócar y F. Torres. 1987. Supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schultzii*, a caulescent giant rosette species. *Journal of Experimental Botany* 38: 491-497.
- Salgado-Labouriau, M. L. 1976. Historia de la vegetación de los Andes en los últimos ocho mil años. *Líneas* 232: 6-11.
- Seeligmann, P. y Alston, R. 1967. Complex chemical variation and the taxonomy of *Hymenoxis scaposa* (Compositae). *Brittonia* 19: 205-211.
- Schubert, C. 1974. Late pleistocene Mérida glaciation, Venezuelan Andes. *Boreas* 3: 147-152.
- Schubert, C. 1979. La zona del páramo: morfología glacial y periglacial de los Andes venezolanos, p. 11-27. *En: Salgado-Labouriau, M. L. (ed.), El medio ambiente páramo*. Ediciones del Centro de Estudios Avanzados, IVIC. Caracas, Venezuela.
- Smith, A. P. 1974. Bud temperature in relation to nyctinastic leaf movement in an andean giant rosette plant. *Biotropica* 6: 263-266.
- Smith, A. P. 1979. Function of dead leaves in *Espeletia schultzii* (Compositae) an andean caulescent rosette species. *Biotropica* 11: 43-47.
- Smith, A. P. 1980. The paradox of plant height in an andean giant rosette species. *Journal of Ecology* 68: 63-73.
- Smith, A. P. 1981. Growth and population dynamics of *Espeletia* (Compositae) in the Venezuelan Andes. *Smithsonian Contributions to Botany* 48: 1-45.
- Smith, A. P. 1984. Post-dispersal parent-offspring conflict in plants: antecedent and hypothesis from the Andes. *American Naturalist* 123: 354-370.
- Smith, A. y Koch, M. 1935. The genus *Espeletia*. A study in Phylogenetic Taxonomy. *Brittonia* 1: 479-530.
- Smith, A. y Levin, D. 1963. A chromatographic study of reticulate evolution in the Appalachian asplenium complex. *American Journal of Botany* 50: 952-958.
- Sobrevila, C. 1988. Effects of distance between pollen donor and pollen recipient on fitness components in *Espeletia schultzii*. *American Journal of Botany* 75: 701-724.
- Sokal, R.R y F. J. Rohlf. 1980. *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Revert, S.A.
- Taylor, R. y D. Campbell. 1969. Biochemical Systematics and Phylogenetic interpretations in the genus *Aquilegia*. *Evolution* 23: 152-162.
- Viullemier, B. 1971. Pleistocene changes in the fauna and flora of South America. *Science* 173: 771-786.