

Moreno-Alvarez, M. J.; Hurtado, J. A.;

Silva, J. F. y Fariñas, M. R.

APORTES SOBRE LA HIBRIDACION DE *ESPELETIA*
BATATA CUATR. Y *E. SCHULTZII WEDD.*, EN EL
"PARAMO DE LAS CRUCES", ESTADO MERIDA,
VENEZUELA

Reimpresión del Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales.
Tomo XLIII - Diciembre 1989 - N° 146
Páginas 233 - 240.

EDITORIAL SUCRE

Caracas 1990

APORTES SOBRE LA HIBRIDACION DE *EPELETIA*
BATATA CUATR. Y *E. SCHULTZII WEDD.*, EN EL
"PARAMO DE LAS CRUCES", ESTADO MERIDA,
VENEZUELA

Moreno-Alvarez, M. J.,¹

Hurtado, J. A.,²

Silva, J. F.,³

y *Fariñas, M. R.*³

INTRODUCCION

El género *Espeletia Mutis*, perteneciente a la Familia Compositae, se encuentra distribuido en Venezuela en Los Andes y en la Cordillera de la Costa en el Estado Miranda; 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 Kock, 1935). Es un grupo endémico de la alta montaña tropical y presenta una gran gama de adaptaciones ecológicas, morfológicas y fisiológicas que le han permitido colonizar el ambiente Páramo, el cual presenta amplias restricciones ecológicas y evolutivas (Smith y Kock, 1935; Cuatrecasas, 1979; Monasterio, 1983 y Moreno-Alvarez y Hurtado, 1983).

En este grupo taxonómico es frecuente poblaciones intermedias, con respecto a supuestas poblaciones "parentales"; debido posiblemente a que se trata de especies en franco proceso de radiación adaptativa, las cuales no han completado sus procesos de especiación.

-
1. Departamento de Biología y Química, Universidad Simón Rodríguez, Núcleo 7, Canoabo, Estado Carabobo.
 2. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Estado Mérida.
 3. Post-Grado de Ecología Tropical, Facultad de Ciencias Universidad de Los Andes, Mérida, Estado Mérida.

Espeletia batata y *E. schultzii* presentan picos de floración superpuestos y comparten polinizadores (Moreno-Alvarez, 1986), además superponen su distribución espacial en algunos lugares muy específicos, como en los fondos de valles y en lugares de escasa cobertura vegetal. En estos lugares hemos detectado individuos intermedios híbridos naturales entre estas dos especies simpátricas. Análisis morfológicos efectuados a nivel poblacional, demuestran que los híbridos naturales son intermedios en todos los caracteres cuantificados (Moreno-Alvarez, 1986).

En este trabajo nos hemos planteado buscar nuevas evidencias del flujo genético entre estas dos especies, usando para ello metabolitos secundarios, tipo fenólicos y especialmente flavonoides. Se escogieron estos compuestos por dos razones principales:

1. Es la primera vez que se reportan flavonoides en el género (Moreno-Alvarez y Hurtado, 1983 y Moreno-Alvarez, 1986).
2. Se han demostrado que son "marcadores químicos" muy confiables (Alston, 1966; Harbone, 1967; Hsiao y Li, 1973; Natarella y Sink 1974 entre otros), en estudios de hibridación.

MATERIALES Y METODOS

Area de estudio

El área de estudio se encuentra situada aproximadamente a 14 Km del Pico El Aguila, en el Páramo de Las Cruces ($8^{\circ} 54' 27''$ N y $70^{\circ} 51' 27''$ W), en la vía que conduce al poblado de Piñango en la formación Sierra de la Culata, a 4300 msnm en el Estado Mérida, Venezuela.

Procedimiento experimental

Se herborizaron ejemplares de referencia de *Espeletia batata* Cuatr., *E. schultzii* Wedd y de individuos intermedios, los cuales se depositaron en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia (U.L.A.) (Estado Mérida: Venezuela, Páramo de Las Cruces, 4300 msnm, 22-09-84, Moreno-Alvarez — MERF 168; MERF 169; MERF. 170).

Duplicados de estos especímenes fueron enviados al especialista del género, Dr. José Cuatrecasas del Smithsonian Institute, quien concuerda con nosotros y opina que los individuos de hábito intermedio son híbridos naturales.

Para buscar evidencias del posible flujo genético entre estas dos especies, escogimos como "marcadores" metabólicos fenólicos y especialmente flavonoides. De cada morfo se colectaron inflorescencias en ántesis de 10 individuos de los cuales se escogió un individuo al azar por morfo para realizar un análisis preliminar exploratorio. Posteriormente fueron secados al aire y molidos separadamente tomándose una cantidad estándar de $3,0 \pm 0,1$ g. Cada muestra se extrajo con metanol al 85% y fue filtrado al vacío, para luego efectuar una marcha de separación de flavonoides según Mabry, et al. (1970). La fracción acuosa-metanólica resultante fue concentrada a un volumen de 6 ml y aplicada sobre placas de celulosa preparativa (MERCK Dcalufolien cellulose 20 x 20 cm, 0,10 mm). Los cromatogramas fueron eluidos en forma bidimensional (Terbutanol: ácido acético: agua 3:3:1 y ácido acético al 15%). El tiempo de elución fue de 6 y 2 horas respectivamente.

Los cromatogramas obtenidos fueron revelados con luz ultravioleta a 360 nm y con vapores de amoníaco para determinar los valores de Rf de cada compuesto. Se construyó una matriz de presencia y/o ausencia de compuestos fenólicos o flavonoides, con la cual se calculó una matriz de similitud usando el índice de Sokal y Mickener.

Las estructuras definitivas de algunos de los compuestos presentes se elucidarán con técnicas convencionales de RMN y UV.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran sintetizados en la Tabla 1 (Matriz de presencia y ausencia de compuestos fenólicos y/o flavonoides). Se puede observar que existe un total de diecinueve compuestos, de los cuales algunos son exclusivos para cada morfo. El individuo de *E. schultzei* presenta trece compuestos, el híbrido presenta once compuestos y el individuo de *E. batata* presenta solamente seis compuestos en total. El individuo de *E. schultzei* presenta cinco compues-

tos exclusivos: 8, 13, 14, 17 y 18, dos comunes con *E. batata*: y 12 y tres comunes con el híbrido: 5, 11 y 19. El individuo de *E. batata* presenta un solo compuesto exclusivo 16, que pudiera tener valor químico axonómico. Este individuo no presenta compuestos comunes exclusivamente con el híbrido. El individuo híbrido presenta cinco compuestos exclusivos: 1, 6, 9, 10 y 15 y tres comunes con el *E. schultzei* 5, 11 y 19. Existen compuestos comunes tanto para los parentales como el individuo híbrido: 2, 3 y 4.

La matriz de similitud (Tabla 2 y figura 1) sugiere que entre los individuos "parentales" existe una mayor afinidad química, y rasgos de diferenciación bioquímica del individuo híbrido con respecto a los parentales.

TABLA I

MATRIZ DE PRESENCIA Y AUSENCIA DE COMPUESTOS FENOLICOS Y/O FLAVONOIDES OBTENIDO EN EL ANALISIS QUIMICO DE LOS TRES MORFOS

	8	13	14	17	18	5	11	19	1	6	9	10	15	2	3	4	7	12	16
S	+	+	+	+	+	+	+	+						+	+	+	+	+	
H						+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
B														+	+	+	+	+	+

S representa el individuo de *E. schultzei*, H el individuo híbrido y B *E. batata*

TABLA 2

MATRIZ DE SIMILITUD OBTENIDA CON LOS RESULTADOS QUIMICOS CALCULADA CON EL INDICE DE SOKAL Y MICKENER.

	S	H	B
S	—		
H	36	—	
B	52	42	—

S representa al individuo de *E. schultzei*.

H representa al individuo híbrido.

B representa al individuo de *E. batata*.

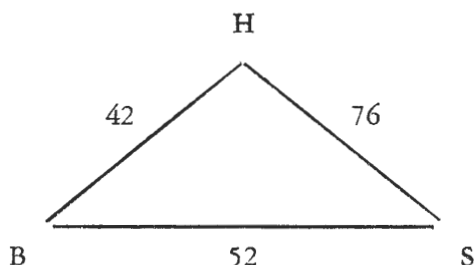


FIGURA 1

Diagrama de similitud obtenido con los resultados químicos calculados con el índice de Sokal y Mickener.

Cada letra representa un individuo diferente y los números el valor del índice.

H híbrido

B *E. batata*

S *E. schultzei*

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La presencia de compuestos en el individuo híbrido que están ausentes en los parentales: 1, 6, 9, 10 y 15 se ha descrito anteriormente (Harborne, 1967; Hsiao y Li, 1973; Natarrella y Sink, 1974; Moreno-Alvarez, 1986 entre otros). La presencia de compuestos de origen "parental" en el híbrido se puede interpretar como heredabilidad de caracteres químicos, regulados por interacciones mendelianas, y su ausencia se puede deber a interacciones epistáticas, ya que se tienen evidencias experimentales acerca de que estos compuestos presentan sistemas de regulación como los mencionados anteriormente (Alston, 1966; Levy y Levin, 1974). Para comprender más en detalle estos fenómenos sería necesario conocer las estructuras de cada compuesto y correlacionarlas de acuerdo a las rutas conocidas de biosíntesis de flavonoides.

En la matriz de similitud química se observa que el individuo híbrido tiende a presentar rasgos importantes de diferenciación bioquímica con respecto a los individuos "parentales". Esto explicaría la mayor afinidad genética entre los individuos "parentales" y posibilidad de introgresión. Sin embargo, es necesario un estudio poblacional, más detallado (como el que estamos efectuando en la actualidad) que permita presentar nuevas evidencias del posible flujo genético entre estas dos especies de *Espeletia*.

RESUMEN

En esta investigación se presentan por primera vez datos químicos acerca de la hibridación de dos especies de rosetales caulescentes: *Espeletia batata* Cuatr. y *E. schultzii* Wedd, en el Páramo de Las Cruces (Mérida, Estado Mérida - Venezuela). Los cuales presentan superposición espacial, comparten polinizadores y presentan picos de floración solapados.

ABSTRACT

This paper reports for the first time, chemical data about the hybridization of two species of caulescent rosettes in the Páramo de Las Cruces (Mérida, Estado Mérida - Venezuela): *Espeletia batata* Cuatr. and *E. schultzii* Wedd. The plants share pollinator, and display both spatial overlapping distribution as well as peaks in flowering time.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALSTON, R. E.
1966 —Chemotaxonomy or Biochemical Systematic. En: Swaih, T. (Ed.). Comparative Phytochemistry. Academic Press.
- CUATRECASAS, J.
1979 —Growth forms of the Espeletiinae and theirs Correlation to Vegetation Types of the High Tropical Andes. En: Lansen, K. and Holmnelson, L. (Ed.): Tropical Botany. London. Academic Press.

- HARBORNE, J. B.
1967 —Comparative Biochemistry of the Flavonoid. Academic Press.
- HSIAO, M. 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, D.
1974 —The origin of Novel Flavonoids in Phlox Allotetraploids. *Proc. Nat. Acad. Sci.*: 68; 7 1627-1930.
- MABRY, T.; MARKNAM, K. y THOMAS, B.
1970 —Systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag.
- MONASTERIO, M.
1983 —Adaptaciones de especies al trópico frío: el caso *Espeletia* en el Páramo desértico. Trabajo de ascenso. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- MORENO-ALVAREZ, M. J. y HURTADO, J.
1983 —Resultados preliminares de un estudio comparativo entre poblaciones de *Espeletia schultzei* (Compositae), basado en sus flavonoides. Actas VII Congreso de Botánica Venezolano. Jardín Botánico, Caracas.
- MORENO-ALVAREZ, M. J.
1986 —Evidencias morfométricas y químicas de la hibridación inter-específica entre *Espeletia batata* Cuatr. y *E. schultzei* Wedd. Fecundidad Natural y Germinación. Tesis de Licenciatura. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- 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.
- RADA, F.; GOLSTEIN, G.; AZOCAR, A. y MEINZER, F.
1985 —Freezing avoidance in Andean giant Rosette plant. *Plant, Cell and Environment*. 8, 501-507
- SMITH, A. y KOCK, M.
1935 —The genus *Espeletia*: a study in Phylogenetic Taxonomy. *Brittonia*: 1, 479-530