

**INFORME DEL JURADO NOMBRADO POR EL CONSEJO DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
PARA CONSIDERAR EL TRABAJO ESPECIAL DE GRADO DE LA
BACHILLER**

ARAUJO ZERPA MEIBY FABIOLA

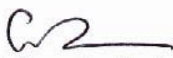
En Mérida a los 10 días del mes de julio del año 2012, a las 10:00 a.m. se reunieron los Profesores: Fermín Rada (tutor), Francisca Ely Bali (Cotutora), Luz Thais Castro, Carlos García Núñez, de la Facultad de Ciencias, miembros del jurado nombrado por el Consejo de la Facultad de Ciencias, para revisar el Trabajo Especial de Grado sobre el tema: "**Resistencia al congelamiento y propiedades hidráulicas en *Senecio formosus* H.B.K. (Asteraceae) en los extremos de su distribución en la Cordillera de Mérida**", que presentó la Bachiller: Araujo Zerpa Meiby Fabiola, titular de la Cédula de Identidad N° V016655506, para optar al título de:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

En la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes. Acto seguido se procedió a oír la exposición que sobre el tema arriba mencionado realizó la Bachiller: Araujo Zerpa Meiby Fabiola.

Después del correspondiente interrogatorio, el Jurado procedió a deliberar sobre la calificación del trabajo sometido a su consideración.


Finalmente el Jurado lo declaró APROBADO con la Calificación de VEINTE (20) PUNTOS. Y recomendado para su publicación.



Prof. Fermín Rada
Tutor



Prof. Francisca Ely Bali
Cotutora



Prof. Carlos García Núñez.
Jurado



Prof. Luz Thais Castro
Jurado

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA



Universidad de Los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Biología



INSTITUTO
JARDÍN BOTÁNICO
DE MÉRIDA

A stylized red plant or flower icon with a black stem and a small black hook-like element at the bottom.

Resistencia al congelamiento y propiedades hidráulicas en *Senecio formosus* H.B.K. (Asteraceae) en los extremos de su distribución en la Cordillera de Mérida.

Trabajo Especial de Grado presentado ante la Universidad de Los Andes como requisito parcial para optar al título de Licenciada en Biología.

Tesista: Br. Meiby F. Araujo Z.
Tutor: Dr. Fermín Rada.
Cotutora: Dra. Francisca Ely.

Mérida, Julio de 2012

Este Trabajo de Investigación fue realizado en el **Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE)** y en el **Centro Jardín Botánico (CJB)**; bajo la tutoría del Dr. Fermín J. Rada R. y la cotutoría de la Dra. Francisca Ely B., y financiado por:

El **CDCHT-ULA** bajo el proyecto N° **C-1731-11-01-F**.

Son muchas las personas e instituciones que son partícipes en la realización de un trabajo de investigación, en esta oportunidad quiero agradecer:

A Dios, por darme la oportunidad de disfrutar esta experiencia, que dejó grandes enseñanzas en mi vida.

A mi Abuelo, por desearme lo mejor y aunque físicamente no estés, pues siempre estas muy presente en mi vida.

A mi abuela y a su compañero Enrique, quienes creyeron en mí y me brindaron su ayuda en los momentos en los que los necesité.

A mi Madre Olga, quien me educó y brindó siempre su apoyo incondicional. Gracias! por su optimismo en todo, este logro también es tuyo.

A mis Hermanas: Keila, Carolina y Roxana, por estar a mi lado y confiar en mí, que este logro les motive a luchar por sus sueños.

A toda mi familia, por su cariño y ese ánimo que me daba fuerzas para continuar, especialmente a mis tías: Ysmelda, Omaira, Edilse y Maribel por estar siempre pendientes de mi.

A Juan, mi padrastro por su ayuda incondicional y apoyo en mi carrera.

A Ender, uno de los seres más estupendos con quien he podido compartir mis logros y fracasos, por estar allí en todo momento brindándome su ayuda.

A mis padres académicos, Fermín Rada y Francisca Ely por su ayuda en la realización de este trabajo, por su dedicación y paciencia en todo momento, espero haber superado sus expectativas; ambos me han dejado grandes enseñanzas.

A los Profesores: Carlos García, Thais Castro y María Marquina, gracias por sus valiosas sugerencias metodológicas.

A la Familia Parra Contreras: Alberto, Belkis, Dayana y Johana, gracias por su ayuda, comprensión y colaboración.

A Sayuri, amiga y hermana, gracias por tu valioso apoyo en el laboratorio y en los estudios anatómicos, por estar a mi lado dándome ánimo en los momentos más difíciles.

A Francisco Olmos, por su valiosa amistad y colaboración en las salidas de campo a Piedras Blancas, por estar siempre dispuesto a ayudarme a resolver mis rollos de la tesis.

A Anairamiz, mi madre putativa quien estuvo muy pendiente de mí, dispuesta en todo momento a brindarme su ayuda, a aclararme las dudas pequeñas y grandes.

A Ricardo Rico, por su buena vibra y su valiosa ayuda en las mediciones anatómicas, por rescatarme en las noches cuando se me hacía tarde en la facultad haciendo los ensayos de congelamiento.

A Josefina Peraza, gracias por su amistad y colaboración, por enseñarme sus trucos y por hacer tan divertida mi estadía en el laboratorio de anatomía.

A todo el personal docente y Administrativo de ICAE, agradezco a los profesores: Dimas, Liccia, Lina, Luis Daniel, Michele, Raphael y Teresa por contribuir de forma positiva en mi formación académica. A Williams Dugarte, Eloy Torres y Jonny Márquez por acompañarme a campo a coleccionar material vegetal. A Zulay, Nancy, Idalba, Hermelinda, Francis y Alejandra, gracias por la atención y cariño brindado.

A mis amigos: Lisangela, Johana, Richel, Nathaly, Ángel, Ender, Elizabeth y Jesús, gracias por el ánimo que me daban en los momentos en que sentía que no iba a culminar la tesis.

A Niels Anders, por estar siempre dispuesto a ayudarme, por su colaboración en la elaboración de los mapas.

A Edwin Buitrago y Mayanin Rodríguez, por su colaboración en la elaboración de los mapas.

A Calos Álvarez, por enseñarme a usar Autocad para las mediciones anatómicas.

A Dheyby Quintero, quien me ayudó con las correcciones de redacción del manuscrito.

A Sioly, por estar siempre dispuesta a orientarme sobre cualquier trámite y sacarme de apuros.

Al CDCHT, por financiar las salidas de campo de este proyecto N° C-1731-11-01-F.

A INPARQUES y al Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, por concederme el permiso de acceso al Parque Nacional Sierra La Culata y permiso de colecta del material vegetal.

Finalmente y no por ser de menor importancia a los "Páramo de San José" y "Páramo de Piedras Blancas", por su magia y belleza.

A todas a aquellas personas que de alguna u otra manera contribuyeron en la finalización de mi carrera y principalmente de este trabajo, pero que por motivos de espacio no menciono.

Mil gracias...

Resumen

Senecio formosus crece en la Cordillera de Mérida entre los 2800 y 4350 msnm lo que supone que ha desarrollado adaptaciones anatómicas y fisiológicas particulares que le han permitido sobrevivir condiciones extremas. En este trabajo se estudia la resistencia al congelamiento, la conductividad hidráulica y su relación con las características del xilema en individuos en: Páramo de San José a 3100 msnm y Páramo de Piedras Blancas a 4200 msnm. La resistencia al congelamiento se determinó comparando la temperatura de congelamiento y de daño en hojas y tallos. La conductividad hidráulica se determinó a través del método de simulación del flujo de agua en ramas y tallos. Para los estudios anatómicos se realizaron cortes a mano alzada y macerados que se tiñeron con alcian blue y safranina. Las temperaturas de congelamiento y daño no difieren significativamente en los individuos que crecen a 3100 msnm, en hojas: -3,7 y -2,6 °C, respectivamente y en tallos: -3,4 y -4,5°C, respectivamente. En contraste, en los individuos que crecen a 4200 msnm, las temperaturas de congelamiento si difirieron significativamente de las de daño, siendo en hojas: -4,8 y -7,6°C, respectivamente y en tallos: -4,1 y -8,4°C, respectivamente. De éstos resultados se infiere que los individuos que crecen en el límite superior (4200m) son tolerantes al congelamiento mientras que a 3100 m no muestran resistencia a las temperaturas congelantes. Los individuos de Piedras Blancas muestran una menor conductividad hidráulica en ramas ($4,09 \text{ Kg m}^{-1}\text{S}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) respecto a las plantas de San José ($32,72 \text{ Kg m}^{-1}\text{S}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$), diferencias que no se explican por el diámetro de los elementos de vasos sino por la longitud del vaso. Otro carácter que pudiese estar relacionado con estas diferencias en la conducción son las diferencias en la proporción de vasos y traqueidas, ya que los individuos que crecen a menor altitud presentan mayor proporción de elementos de vasos que traqueidas lo cual favorece una conducción más rápida. Se deduce que *S. formosus* en su límite superior de distribución, donde las heladas son más frecuentes, ha desarrollado resistencia al congelamiento y ciertos caracteres como una mayor proporción de traqueidas que elementos de vasos permitiéndole colonizar dichas altitudes. Mientras que los que crecen en el límite inferior por estar expuestas a heladas menos frecuentes no resisten el congelamiento extracelular, sino que han desarrollado una mayor proporción de elementos de vaso que traqueidas.

INDICE

Agradecimientos	ii
Resumen	iv
Índice	v
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
1. Introducción	1
1.1 El páramo	2
1.2 Resistencia al congelamiento en plantas de los páramos Venezolanos	3
1.3 Dimensiones de los elementos conductores y la conductividad hidráulica	4
1.4 Efecto de las temperaturas congelantes sobre la conductividad hidráulica	4
1.5 Dimensiones de los elementos conductores en Asteraceae	5
1.6 Efecto de la altitud sobre las características morfoanatómicas	7
1.7 Características y distribución altitudinal de <i>Senecio formosus</i> en los páramos Venezolanos	7
1.8 Hipótesis	9
1.9 Objetivos	9
1.9.1 Objetivo general	9
1.9.2 Objetivos específicos	9
2. Metodología	10
2.1 Área de estudio	10
2.2 Páramo de San José	10
2.2.1 Geología	11
2.2.2 Clima	11
2.2.3 Suelos	11
2.2.4 Vegetación	11
2.2.5 Intervención antrópica	11
2.3 Páramo de Piedras Blancas	12
2.3.1 Geología	12
2.3.2 Clima	12
2.3.3 Suelos	12
2.3.4 Vegetación	13
2.4 Descripción botánica de <i>S. formosus</i>	14
2.5 Trabajo de campo	15
2.5.1 Mediciones microclimáticas	15

INDICE

2.5.2 Determinación de temperatura de congelamiento en <i>Senecio formosus</i>	16
2.5.2.1 Temperatura de formación de hielo en hojas desprendidas y secciones de tallo	16
2.5.2.2 Temperatura de formación de exoterma en hojas y tallos de plantas completas	16
2.5.3 Temperatura de daño celular	17
2.5.4 Determinación de la conductividad hidráulica específica	17
2.5.4.1 Determinación de la longitud del vaso	18
2.5.4.2 Medición de la conductividad hidráulica específica	18
2.5.5 Estudios anatómicos	20
2.5.5.1 Cortes transversales a mano alzada de ramas y tallos de <i>S. formosus</i>	20
2.5.5.2 Macerados del xilema de <i>S. formosus</i>	20
2.5.5.3 Diámetro de elementos de vaso en sección transversal	20
2.5.5.4 Área conductora, espesor del xilema y densidad de elementos de vaso	20
2.5.6 Determinación de área foliar total	20
2.5.7 Análisis estadístico	21
3. Resultados	22
3.1 Microclima	22
3.2 Resistencia al congelamiento	22
3.2.1 Comparación de métodos	22
3.2.2 Temperatura de congelamiento y temperatura de 50% de daño	23
3.3 Conductividad hidráulica en ramas y tallo	23
3.4 Anatomía del xilema	24
3.4.1 Diámetro de elementos de vaso en cortes transversales	24
3.4.2 Diámetro de elementos conductores en macerados	24
3.4.2.1 Diámetro de elementos de vaso y traqueidas	24
3.4.3 Área conductora y densidad de elementos de vaso	25
3.4.4 Dimensiones del tejido conductor	25
3.4.5 Descripción anatómica	26
3.4.5.1 Sección transversal de ramas y tallos de <i>S. formosus</i>	26
3.4.5.2 Macerados del xilema de <i>S. formosus</i>	26
3.5 Área foliar total	28

INDICE

4. Discusión	29
4.1 Microclima	29
4.2 Resistencia al congelamiento	30
4.3 Relación de la conducción con el diámetro de vaso	30
4.4. Adaptaciones morfoanatómicas de <i>Senecio formosus</i>	32
5. Conclusiones	34
6. Referencias	35

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Característica del xilema en especies de Asteraceae	5
Tabla 2. Características del xilema en tribus de Asteraceae	6
Tabla 3. Anatomía del xilema de Espeletiinae	6
Tabla 4. Anatomía de arbustos esclerófilos de páramo	7
Tabla 5. Temperaturas mínimas absolutas y promedios de aire, porcentaje de heladas, radiación máxima total y contenido de agua promedio en el suelo para las localidades de San José y Piedras Blancas.	22
Tabla 6. Comparación de la temperatura de congelamiento (TC) en hojas y tallos de plantas enteras y hojas desprendidas y secciones de tallo de <i>Senecio formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas.	22
Tabla 7. Temperatura promedio de congelamiento (TC) y daño (TD), obtenidos en hojas desprendidas y secciones de tallos de <i>Senecio formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas y el mecanismo que exhiben.	23
Tabla 8. Valores promedio de conductividad hidráulica específica (Ks) y longitud de vaso (LV) en ramas y tallos de <i>Senecio formosus</i> , procedente de los páramos San José y Piedras Blancas.	23
Tabla 9. Valores promedio de diámetro de elementos de vasos (DV) en cortes transversales de ramas y tallos de <i>Senecio formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas.	24
Tabla 10. Valores promedio de diámetro en elementos de vasos y traqueidas medidos en macerados de ramas y tallos de <i>S. formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas.	24
Tabla 11. Valores promedio de área conductora (AC) en ramas y tallos y densidad de elementos de vaso (DEV) en tallos de <i>Senecio formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas.	25
Tabla 12. Valores promedio del espesor (EX) en ramas y tallos de <i>Senecio formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas.	25
Tabla 13. Valores promedio de área foliar (AF) y área foliar total (AFT) por planta obtenidos en tallos de <i>S. formosus</i> procedentes de San José y Piedras Blancas.	28

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>Senecio formosus</i> en los Andes Venezolanos	8
Figura 2. Mapa de Mérida con la ubicación de los páramos en los cuales se colectó <i>Senecio formosus</i>	10
Figura 3. Páramo de San José	11
Figura 4. Páramo de Piedras Blancas	12
Figura 5. <i>Senecio formosus</i>	14
Figura 6. Estación Microclimática (HOBO) mostrando sensores de: (a) radiación, (b) temperatura y (c) contenido de humedad	15
Figura 7. Formación de exoterma por congelamiento de los tejidos vegetales	16
Figura 8. Determinación de la longitud del segmento en tallos de <i>S. formosus</i>	18
Figura 9. Sistema utilizado en la determinación de la conductividad hidráulica de la especie en estudio	19
Figura 10. Anatomía caulinar y de ramas	27
Figura 11. Agrupación de los vasos en tallos y ramas de <i>S. formosus</i>	28

1. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de la alta montaña tropical al igual que los de las zonas templadas alpinas y árticas, están sometidos a condiciones de bajas temperaturas y alta radiación solar, por lo que las plantas de estos ambientes han logrado evolucionar y adquirir una notable especialización morfoanatómica y fisiológica. Las plantas de las latitudes templadas se han adaptado a las bajas temperaturas gracias al desarrollo de estrategias de latencia y concentrando su crecimiento y reproducción a períodos más favorables (primavera y verano) (Körner, 1999). En contraste, las plantas de la alta montaña tropical deben mantenerse fisiológicamente activas, debido a que la temperatura presenta fluctuaciones abruptas en los ciclos diarios, incluyendo ocasionales temperaturas congelantes cualquier día del año (Azócar y Rada 2006).

En general, las plantas resisten las temperaturas congelantes a través de dos estrategias básicas: evasión y tolerancia, en ambos casos se impide la nucleación de hielo intracelular (Azócar y Rada, 2006). La evasión consiste en impedir el proceso de congelamiento extracelular, ya sea por la protección del tejido foliar, ajustes osmóticos o por sobreenfriamiento de los tejidos expuestos a bajas temperaturas (Goldstein *et al.*, 1985; Rada *et al.*, 1985a, 1987; Azócar y Rada, 2006). En contraste, la tolerancia permite a las plantas sobrevivir la formación de hielo en los espacios intercelulares, y en este caso particular son las proteínas y los mucílagos los que juegan un papel importante al retardar los procesos de deshidratación, minimizando los daños ocasionados por dicho proceso (Goldstein y Nobel, 1991). Cabe mencionar que ambos mecanismos, evasión y tolerancia han sido descritos en plantas que crecen tanto en ambientes de alta montaña tropical como extratropical (Azócar y Rada, 2006).

En la alta montaña tropical, las temperaturas congelantes se presentan típicamente por encima de los 3000 msnm (Azócar y Monasterio, 1980; Sarmiento, 1986). Por lo que el congelamiento, representa uno de los principales retos en especies perennes con amplios intervalos de distribución altitudinal. Una de las consecuencias directas de este proceso es la interrupción de la función hidráulica, debido a que cuando esto ocurre, los gases disueltos en el xilema son forzados a salir de la solución para formar burbujas en el hielo, las cuales pueden disolverse o en el peor de los casos promueven la formación de embolismos, impidiendo de esta manera el flujo del agua (Cavender y Holbrook, 2001). Davis *et al.* (1999), Hacke *et al.* (2005) y Sperry *et al.* (2006) mencionan que existen evidencias de que el proceso de cavitación por congelamiento en angiospermas está relacionado con el diámetro de elementos conductores (elementos de vasos y traqueidas), coincidiendo en que conductos más estrechos son menos susceptibles a la cavitación que conductos más anchos. En este sentido, Carlquist (1966) encuentra que esta disminución es mucho más marcada en plantas que crecen hacia zonas frías, debido a que estos ambientes están sujetos a una alta frecuencia de heladas; por consiguiente, las plantas modifican la estructura del xilema a fin de minimizar la cavitación de los elementos conductores. Sin embargo, esto representa una menor eficiencia en términos de conducción debido a que esta adaptación conduce a una menor eficiencia en el transporte de agua (conductividad hidráulica).

Por otra parte, se tiene que los estudios morfoanatómicos foliares realizados en los páramos Venezolanos en: Asteraceae, Fabaceae, Melastomataceae y Rosaceae indican que a medida que se asciende altitudinalmente, se aprecia una disminución en la estatura de las plantas y de la superficie foliar. Sin embargo, el grosor de la hoja aumenta por lo que se infiere que estos cambios están asociados a una disminución en el tamaño de las células y a un incremento en el grosor de las paredes de las mismas (Briceño *et al.*, 2000, Ely y Torres, 2003; Colmenares *et al.*, 2005; Torres y Luque, 2007).

Basados en el estrés térmico al que están sometidas las plantas en el páramo Andino y Altiandino, el presente trabajo pretende integrar aspectos relacionados con la resistencia al congelamiento, la conductividad hidráulica y su relación con la densidad, estructura y dimensiones de los elementos conductores (elementos de vaso y traqueidas, punteaduras y placas de perforación) en

individuos de *Senecio formosus* que crecen en los límites de su intervalo de distribución altitudinal: en el páramo de San José a 3100 msnm y en el páramo de Piedras Blancas a 4200 msnm.

1.1 El páramo

El páramo puede caracterizarse en función de criterios altitudinales, climáticos, fisonómicos, florísticos y geográficos. En este sentido, no existe una definición simple para este ecosistema, y por ello a continuación se detallarán algunos de los criterios usados para definirlo:

- I. El páramo como área geográfica, se localiza en las regiones más elevadas de Venezuela, Colombia y Ecuador con algunas ramificaciones hacia el norte de Costa Rica y Panamá y hacia el sur en el norte de Perú (Azócar y Rada, 2006). Su intervalo latitudinal abarca los 8° S en Perú hasta los 11° N en el Macizo de Santa Marta en Colombia (Troll, 1968; Monasterio, 1971; Monasterio, 1980a). En Venezuela, los páramos ocupan una amplia región ubicada en los estados: Mérida, Táchira y Trujillo (Monasterio y Molinillo, 2003).
- II. Según el criterio altitudinal, el páramo se ubica por encima del límite arbóreo alrededor de los 3000 msnm (Monasterio, 1980b; Ataroff y Sarmiento, 2004), no obstante, en Venezuela se señala los 2500 msnm como la altitud más baja observada (Monasterio y Reyes, 1980). Esta cota altitudinal está sujeta a variaciones locales de acuerdo a las distintas cordilleras, vertientes y laderas (Sarmiento *et al.* 1971, Azócar y Rada, 2006), por tanto, es frecuente que el límite inferior se encuentre a partir de los 3000 m en las vertientes secas y 3400 m en las vertientes más húmedas; mientras que el límite superior está dado en general, por la línea de nieves perpetuas (4600-4800 msnm) (Azócar y Rada, 2006). Monasterio (1980a) señala que en los Andes Venezolanos se pueden establecer dos zonas ecológicas bien diferenciadas: la primera de ellas corresponde a la franja del piso Andino, cuyo intervalo altitudinal está entre 2800 y 4000 msnm y la segunda es la del Altiandino, por encima de los 4000 msnm hasta los 4700 msnm. Cada unidad tiene asociado un tipo particular de vegetación, siendo éste el carácter más visible, que surge como resultado de la confluencia de distintos elementos tales como los factores: climáticos, edáficos, geomorfológicos e hídricos.
- III. Según el criterio climático, los páramos se encuentran expuestos a condiciones climáticas muy particulares; principalmente variaciones térmicas estacionales mínimas y fluctuaciones importantes en la temperatura diaria, por tal razón Hedberg (1964), lo describe como un clima de verano durante el día e invierno en la noche, donde la temperatura mínima puede llegar por debajo de los 0 °C en las madrugadas y las máximas alrededor de 30 °C en horas del mediodía, cualquier día del año (Monasterio y Reyes, 1980). Los Andes Venezolanos presentan una estacionalidad en las precipitaciones, con patrones unimodales (patrón llanero) con los mínimos valores entre diciembre-abril, y bimodales (patrón lacustre) con dos máximos en precipitaciones, el primero entre abril-mayo, y el segundo entre septiembre-octubre (Monasterio y Reyes, 1980). Estos patrones, presentan una estación seca muy bien definida con una precipitación que alcanza desde 650 mm en el extremo seco, hasta 1800 mm en el húmedo (Monasterio y Molinillo, 2003).
- IV. Desde el punto de vista fisonómico, Monasterio (1980b) propone la existencia de siete asociaciones de vegetación que se pueden encontrar en los pisos altitudinales de los páramos venezolanos, en orden descendente: el desierto periglacial (4000-4800 msnm), ubicado en el piso altitudinal conocido como el Altiandino, donde suelos desnudos alternan con rosetas acaules y cojines, pequeños arbustos asociados a rosetas y hierbas. Seguidamente, encontramos el páramo desértico (3900-4600 msnm), también perteneciente al Altiandino, donde prevalecen rosetales altos y abiertos conformados por especies de los géneros *Coespeletia* Cuatrec y *Espeletia* Mutis ex Bonpl. A estas mismas elevaciones y descendiendo hasta los 3500 m, crecen los bosques Altiandinos de *Polylepis sericea* Wedd. El páramo andino (2800-4000 msnm) o páramo propiamente dicho se encuentra en el piso Andino, dominado por rosetales-arbustales, gramíneas y hierbas, siendo *Espeletia schultzii* Wedd la especie

dominante. En este mismo piso altitudinal se encuentran los pajonales (3500-4000 msnm), caracterizados por la presencia de los géneros *Calamagrostis* Adans y *Cortaderia* Stapf. Otra variación de los páramos dominados por gramíneas son los pastizales (3000-3800 msnm), ubicado en el piso Andino y representado por los géneros: *Agrostis* L, *Calamagrostis* Adans, *Poa* Rchb, *Carex* L, *Chusquea* Kunth y *Puya* Molina. En el límite altitudinal más bajo se encuentran los bosques parameros (2700-3200 msnm) que se ubican dentro del piso Andino y se caracteriza por la presencia de los géneros: *Aragoa* Kunth y *Alnus* Hill.

- V. Desde el punto de vista florístico, Cuatrecasas (1958) dividió el ecosistema páramo en tres subpisos altitudinales: **a)** El subpáramo, dominado por arbustos cuyos géneros principales pertenecen a la familia de las Asteraceae (*Baccharis* L, *Senecio* L, *Loricaria* Wedd, *Gynoxys* Cass, *Stevia* Cav, *Eupatorium* L., *Diplostephium* Kunth), las Hypericaceae (*Hypericum* L) y las Ericaceae (*Gaultheria* J.F. Gmel, *Befaria* Mutis ex L, *Pernettya* Gaudich y *Vaccinium* L). **b)** El páramo propiamente dicho está caracterizado por gramíneas de los géneros *Calamagrostis* Adans, *Festuca* L y las formas de vida en rosetas de innumerables Espeletias. **c)** El superpáramo, entre los 3900-4600 msnm limitado por la línea de las nieves perpetuas, donde las heladas son más frecuentes y de mayor duración.

Actualmente, se acepta que la integración de los criterios florísticos y fisonómicos son los más apropiados para clasificar los páramos, dado que cada tipo de vegetación, no es más que el resultado de la confluencia de una serie de factores: altitudinales, climáticos, edáficos, geográficos, geomorfológicos e hídricos (Ataroff y Sarmiento, 2004). En el presente trabajo, se caracteriza el ecosistema páramo Andino y Altiandino tomando en consideración estos dos últimos criterios.

1.2 Resistencia al congelamiento en plantas de los páramos Venezolanos

El desarrollo de las plantas en la alta montaña tropical está limitado, en parte, por las temperaturas congelantes factor que crea condiciones de estrés en estos organismos. En tal sentido, las plantas resisten las temperaturas congelantes a través de dos mecanismos: la evasión y la tolerancia. La evasión consiste en impedir la formación de hielo extracelular, esto se logra mediante: la acumulación de solutos osmóticamente activos intracelularmente que permiten mantener el agua en estado líquido a temperaturas por debajo del punto de congelamiento, el sobreenfriamiento estrategia que promueve el retraso en la formación de los cristales de hielo a través de la acumulación de solutos intracelularmente y/o características anatómicas específicas, la protección de los órganos a través de estructuras aislantes de manera que no alcancen temperaturas por debajo de 0 °C, el aislamiento del tejido meristemático mediante la yema nocturna y aislamiento de la médula mediante hojas marcescentes, la presencia de pubescencia en las hojas que promueve un aumento de la temperatura en estas últimas (Smith, 1974 y 1979; Rada, 1983; Rada *et al.* 1985a y 1987; Goldstein *et al.*, 1985, Goldstein y Meinzer, 1983; Rosquete, 2004).

En este sentido, las rosetas gigantes del género *Espeletia* Mutis ex Bonpl evaden el congelamiento a través de un conjunto de mecanismos, que van desde de una moderada capacidad de sobreenfriamiento en las hojas (Rada, 1983; Rada *et al.*, 1985a; Goldstein *et al.*, 1985, Squeo *et al.* 1991), la presencia de una capa de hojas marcescentes que actúa como un aislante térmico manteniendo la temperatura del agua en la médula por encima de 0°C aún cuando la temperatura del aire esté por debajo de dicho valor (Goldstein y Meinzer, 1983; Rada *et al.*, 1985a), la protección de la yema apical mediada por movimientos nictinásticos de las hojas (Smith, 1979), hojas pubescentes que contribuyen a mantener un balance térmico favorable para el crecimiento y la translocación de asimilados (Meinzer y Goldstein, 1985).

En el caso de *Polylepis sericea* Wedd, especie arbórea que alcanza altitudes de 4600 msnm, su resistencia a las temperaturas congelantes ocurre a través de una moderada capacidad de sobreenfriamiento unido a un ajuste osmótico diario (Rada *et al.*, 1985b; Goldstein *et al.*, 1994).

La tolerancia a diferencia de la evasión permite la formación de cristales de hielo en los espacios intercelulares y es favorecida en parte por la baja concentración de electrolitos en estos espacios con respecto a la del contenido celular (Levitt, 1972). Los estudios de resistencia al congelamiento en especies con hábito herbáceo, indican que las gramíneas hasta ahora estudiadas a excepción de los bambúes toleran el congelamiento (Márquez *et al.*, 2006). Las gramíneas leñosas como las *Chusquea* Kunth, evaden el congelamiento a través del sobreenfriamiento en hojas (Ely, 2009; Kiyota, 2011). En otras formas de vida, se ha encontrado que las rosetas acaules son tolerantes al congelamiento (Squeo *et al.*, 1991), mientras que los arbustos no presentan un patrón bien definido, es decir, podían ser evasoras o tolerantes (Azócar, 2006 y Cáceres, 2008).

Cabe considerar por otra parte, que la tolerancia como mecanismo de resistencia requiere un menor costo desde el punto de vista energético, por lo que resulta más efectivo cuando las temperaturas congelantes tienen una mayor duración (Rada *et al.*, 2008; Squeo *et al.*, 1991). En contraste, la evasión sólo es segura si la exposición a las temperaturas congelantes es relativamente breve (Rada *et al.*, 1987).

En cuanto a los estudios de resistencia a las temperaturas congelantes en gradientes altitudinales en los páramos venezolanos, sólo se encuentran los de Goldstein *et al.* (1985) en varias especies del género *Espeletia* Mutis ex Bonpl y *Coespeletia* Cuatrec y Rada *et al.* (1987) en *Espeletia schultzii* Wedd. Ambos estudios indican que la temperatura de congelamiento (que determina la capacidad de sobreenfriamiento) y daño se hacen más negativas a medida que la altitud incrementa. Por otra parte, el único trabajo en *Senecio formosus* Kunth relacionado con la resistencia a las bajas temperaturas fue realizado por Squeo *et al.* (1991), el cual reveló que esta especie tolera el congelamiento extracelular a 4200 msnm. Estos autores además concluyen que la resistencia a las bajas temperaturas en esta especie también está asociada a la ocupación de micrositios (i.e. creciendo entre rocas) que proporcionan un tipo de protección frente a las temperaturas congelantes nocturnas.

1.3 Dimensiones de los elementos conductores y conductividad hidráulica

Diversos estudios han propuesto que existe una correlación entre el diámetro de los vasos y la pérdida de conductividad hidráulica en caso de congelamiento Sperry y Sullivan (1992), Logullo y Salleo (1993), Langan *et al.* (1997), Davis *et al.* (1999), Pitterman y Sperry (2003). La conductividad hidráulica está determinada por la ecuación de Hagen y Poiseuille (Lambers *et al.*, 1998), la cual describe el transporte de un fluido a través de un capilar ideal:

$$J_v = (\pi R^4 \Delta \Psi_p / 8 \eta L) \quad (\text{Ec.1})$$

Donde: J_v es la conductividad hidráulica, R (mm) es el radio de un solo elemento conductor, $\Delta \Psi_p$ (MPa) es la diferencia en la presión hidrostática, η (mm^{-2} MPa) es la constante de viscosidad y L (mm) es la longitud del elemento conductor. En esta ecuación se muestra una correlación directa entre la conductividad hidráulica y diámetro del elemento conductor, ya que ésta es proporcional a la cuarta potencia del radio del elemento conductor.

1.4 Efectos de las temperaturas congelantes sobre la conductividad hidráulica

Una de las consecuencias del congelamiento es la interrupción de la conducción hidráulica cuando los conductos xilemáticos (elementos de vaso) se embolizan tras eventos de congelamiento y descongelamiento (Hacke y Sperry, 2001). Cavender y Holbrook (2001) mencionan que cuando ocurre el congelamiento, los gases disueltos en el xilema son forzados a salir de la solución para formar burbujas en el hielo. Al producirse el descongelamiento, estas burbujas de gases eventualmente se disuelven, sin embargo, en algunos casos no se disuelven y pueden promover la formación de embolismos, impidiendo de esta manera el flujo del agua, a este proceso se le conoce como cavitación.

De acuerdo a la ecuación de Young-Laplace (Ball *et al.*, 2006), la disolución o nucleación de una burbuja de aire dentro del elemento conductor depende de su presión interna (P_B), la cual es función del radio (r), de la tensión superficial del xilema (γ) y de la presión de la savia del xilema (P_X).

Donde:

$$P_B = (2\gamma/r) + P_X \quad (\text{Ec.2})$$

En el caso de que la columna de agua sea sometida a grandes presiones positivas, la probabilidad de que se produzca la cavitación de la misma, estará determinada por incrementos del radio del elemento conductor y la tensión superficial del xilema. Cabe acotar, que estos parámetros son altamente variables (Ball *et al.*, 2006). Adicionalmente, la magnitud de P_X depende de varios factores entre ellos se encuentra la tasa de transpiración y el contenido de agua en el suelo durante el proceso de descongelación (Sperry y Sullivan, 1992).

La inducción de embolismos por congelamiento ha sido estudiada por Sperry *et al.* (1994), Langan *et al.* (1997), Pockman y Sperry (1997), Feild y Brodribb (2001), en una variedad de especies de lugares templados, sin lograr entender el mecanismo. Por ello Davis *et al.* (1999), sugieren que la susceptibilidad a la cavitación por congelamiento está vinculada a la estructura del xilema (diámetro y longitud de elemento de vaso, tipo de punteaduras y placas de perforación), la fenología y el intercambio de gases. En este sentido, Lambers *et al.* (1998) mencionan que las plantas que poseen vasos de menor diámetro son menos susceptibles a la cavitación por congelamiento. Por esta razón, es factible que plantas tolerantes al congelamiento con una amplia distribución altitudinal, presenten una disminución en el diámetro de los vasos y por tanto sean menos eficientes en la conducción.

1.5 Dimensiones de los elementos conductores en Asteraceae

Según Carlquist (1966), los principales factores que influyen en la evolución del xilema son: la latitud (zonas templadas o zonas tropicales), el hábito (árboles, arbustos, hierba y rosetas; anual o bianual, perenne), y el hábitat (ecuatorial, insular o continental). A continuación se detallará la influencia que tienen estos factores sobre las dimensiones de atributos del xilema.

Tabla 1. Característica del xilema en especies de Asteraceae. Fuente: Carlquist (1966).

Categoría Ecológica	Nº de colecciones estudiadas	Nº de especies estudiadas	DEV (μm)	LEV (μm)
Latitud				
Templada	204	191	51	191
Tropical	149	137	65	300
Hábito	35	35	46	186
Anual o bienal				
Perenne	29	29	39	152
Arbusto o sufrútice	186	173	45	240
Árbol	46	38	84	312
Roseta (arbórea o arbustiva)	56	52	68	292
Hábitat	11	9	80	300
Ecuatorial alpina				
Insular	98	90	52	246
Continental	224	229	52	226

*DEV: diámetro promedio de elementos de vaso, LEV: longitud promedio de elementos de vaso

Dado que entre tribus existen notables diferencias morfológicas, es posible considerar que existan también caracteres anatómicos propios para cada uno de ellos, especialmente en el xilema. A continuación se muestran características de algunas tribus de Asteraceae y particularmente la del género *Senecio* (Senecioneae):

Tabla 2. Características del xilema en tribus de Asteraceae. Fuente: Carlquist (1966).

Categoría sistemática	Nº de géneros estudiados	Nº de Colecciones estudiadas	Nº de especies Estudiadas	DEV (μm)	LEV (μm)
Tribu					
Ambrosieae	6	15	15	44	187
Anthemideae	5	21	20	33	145
Arctotideae	1	2	2	56	129
Astereae	13	69	58	38	189
Calenduleae	3	4	4	41	158
Cichorieae	8	16	14	57	232
Cynareae	7	18	18	48	185
Eupatorieae	4	19	19	62	287
Helenieae	11	15	15	35	167
Heliantheae	33	53	53	48	255
Inuleae	11	19	17	52	218
Mutisieae	22	24	24	38	272
Senecioneae	12	45	42	58	297
Vernonieae	5	33	27	96	321

* **DEV:** diámetro promedio de elementos de vaso, **LEV:** longitud promedio de elementos de vaso.

Sin embargo, la temperatura en la alta montaña tropical ejerce una influencia directa sobre los diámetros de los elementos conductores, esto se debe en parte a la susceptibilidad de embolismos que presentan éstos últimos. En este caso es oportuno mencionar los estudios de Torres (1979) y Escalona (1999) en Asteraceae de los páramos Venezolanos. Autores que estudiaron la anatomía del xilema obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 3. Anatomía del xilema de Espeletiinae. Fuente: Torres (1979).

Género	Hábito	DEV (μm)	LEV (μm)	Traqueidas
<i>Carramboa</i>	A	76	360	Ausentes
<i>Libanothamnus</i>	A	73	380	Presentes
<i>Tamania</i>	A	74	400	Presentes
<i>Coespeletia</i>	AR	46	142	Ausentes
<i>Espeletia</i>	AR	37	113	Ausentes
<i>Espeletiopsis</i>	AR	78	252	Ausentes
<i>Ruilopezia</i>	AR	53	263	Ausentes

***A:** arborescente, **AR:** arrosetado, **DEV:** diámetro promedio de elementos de vaso, **LEV:** longitud promedio de elementos de vaso.

Tabla 4. Anatomía de arbustos esclerófilos de páramo. Fuente: Escalona (1999).

Familia	Especie	DEV (μm)	LEV (μm)	DT (μm)	LT (μm)
Scrophulariaceae	<i>Aragoa lucidula</i>	23	238	19	255
Rubiaceae	<i>Arcytophyllum nitidum</i>	20	191	11	248
Asteraceae	<i>Hinterhubera imbricada</i>	13	134	11	247
Hypericaceae	<i>Hypericum laricifolium</i>	12	165	14	211
Hypericaceae	<i>Hypericum laricoides</i>	12	198	12	229
Asteraceae	<i>Monticalia imbricatifolia</i>	24	278	17	289

***DEV**: diámetro promedio de elementos de vaso, **LEV**: longitud promedio de elementos de vaso, **DT**: diámetro promedio de traqueidas, **LT**: Longitud promedio de traqueidas.

Carlquist (1966, 1984, 1997) sugiere que existen algunos atributos del xilema considerados como caracteres xeromórficos; en primer lugar, se encuentra el grado de agrupamiento de los elementos de vaso, que en este caso particular parece actuar como un mecanismo de seguridad y además surge como una adaptación al congelamiento, este patrón es observado en el xilema primario de raíces, ramas y tallos; y en segundo lugar, se halla la presencia de fibras libriformes y fibrotraqueidas.

1.6 Efecto de la altitud sobre las características morfoanatómicas

Las plantas tanto evasoras como tolerantes al congelamiento, muestran caracteres xeromórficos entre los cuales se encuentran: un parénquima en empalizada más desarrollado, menor tamaño de los espacios intercelulares de manera de impedir el congelamiento del agua en estos últimos (Azócar, 2006). Estas adaptaciones conducen a una menor relación entre la superficie externa foliar y su volumen, promoviendo de esta forma el desarrollo de láminas foliares pequeñas (Fahn, 1974 y Flores, 1999), lo que se traduce en menores áreas tanto foliar como foliar específica.

Los estudios anatómicos realizados en los Andes Venezolanos indican que en la medida que la altitud incrementa hay una tendencia a disminuir el tamaño de las plantas y la lámina foliar, la cual está estrechamente vinculada a una disminución tanto del tamaño de las células como del aumento del grosor de las paredes de éstas (Torres *et al.*, 1996; Briceño *et al.*, 2000; Ely y Torres, 2003; Colmenares *et al.*, 2005; Azócar, 2006). El incremento en la altitud también propicia la selección de rasgos xeromórficos foliares en las plantas de páramo entre los cuales están: el desarrollo de epidermis con paredes engrosadas, cutículas muy gruesas, tejidos compactos, estomas en criptas, indumento muy denso que previene la excesiva transpiración (Torres *et al.* 1996; Colmenares *et al.*, 2005; Azócar, 2006).

1.7 Características y distribución altitudinal de *Senecio formosus* en los páramos Venezolanos

Entre los géneros más representativos en los páramos, se encuentra *Senecio* L perteneciente a la familia Asteraceae, la cual tiene la mayor dominancia y diversidad en los páramos (Monasterio, 1980b). Aristeguieta (1964) señala que este género está constituido por aproximadamente 45 especies en Venezuela, con hábitos muy diversos, que van desde árboles de porte pequeño, arbustos, plantas trepadoras, sufrútices y hierbas; de las cuales 13 se hallan distribuidas entre Colombia y Venezuela, 18 son endémicas de los páramos de Venezuela, las restantes han sido reportadas en la Cordillera de la Costa y Guayana. Una de las especies mejor representada de este género es *Senecio formosus* un sufrútice perenne, restringido a los páramos de Colombia y Venezuela. En los páramos Venezolanos está presente en los estados: Mérida, Táchira y Trujillo (Fig. 1). Se distribuye desde los 2800 hasta los 4350 m (Hokche *et al.*, 2008). Adicionalmente, esta especie

está clasificada como vulnerable en el Libro Rojo de la Flora Venezolana del año 2007, por la explotación comercial de poblaciones naturales para fines medicinales y en menor grado por la destrucción del hábitat para el desarrollo de actividades antrópicas (Oyola, 2007). Considerando la condición bajo la cual está catalogada *S. formosus*, este estudio aportará conocimientos en cuanto a su anatomía y fisiología, aspectos poco abordados en la misma.

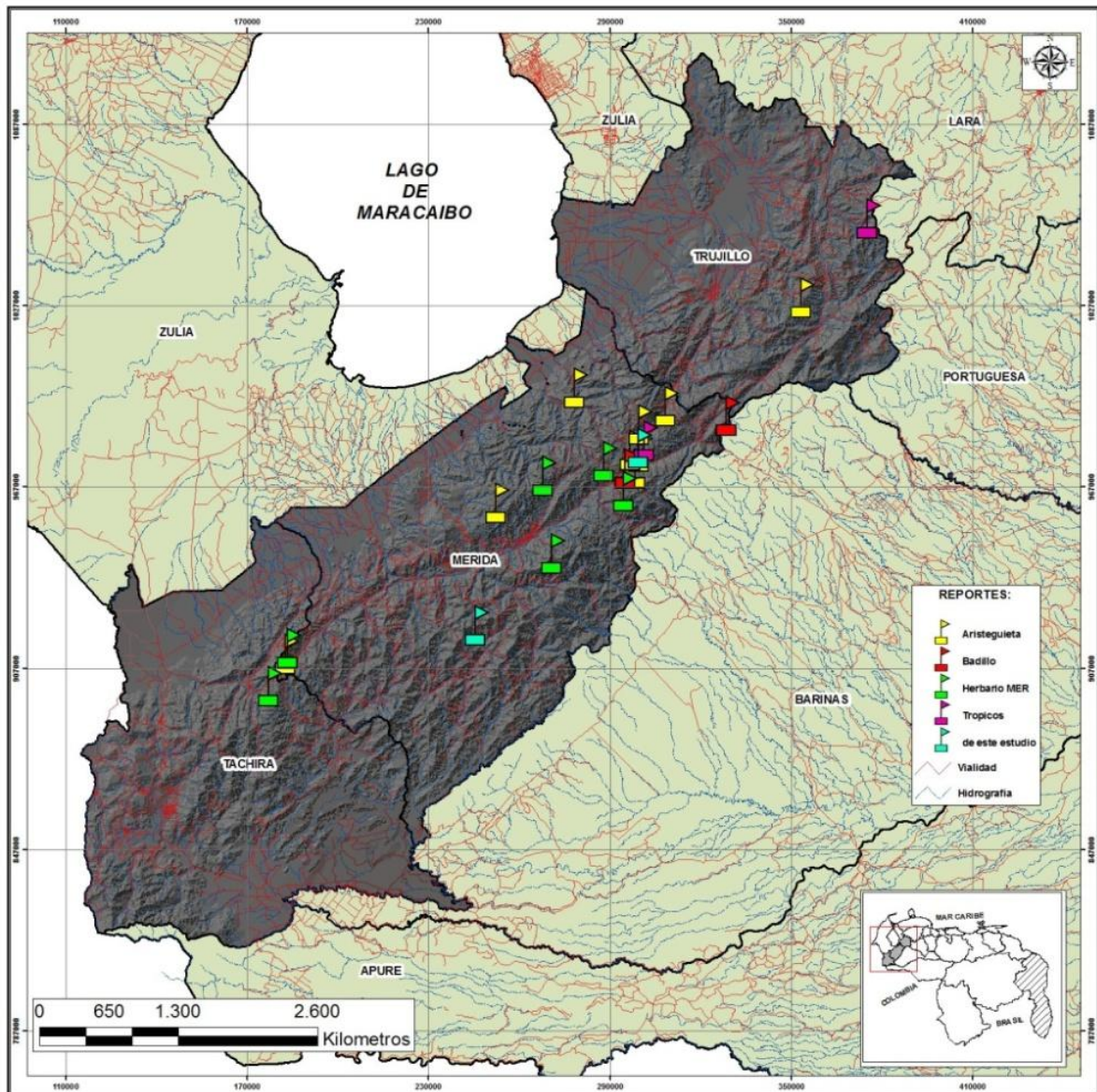


Figura. 1 Distribución de *Senecio formosus* en los Andes Venezolanos. (Modificado de Josse *et al.*, 2009).

1.8 Hipótesis

En el páramo, a medida que la altitud incrementa, aumenta la frecuencia de heladas nocturnas; por tanto, los individuos de *Senecio formosus* que crecen en el límite inferior de su intervalo de distribución altitudinal (3100 msnm), presenten mecanismos de resistencia menos desarrollados que los individuos ubicados en el límite superior (4200 msnm). Paralelamente, esperaríamos que el incremento de la altitud implique una reducción en el diámetro de los elementos conductores, lo cual se reflejará en una menor eficiencia en la conductividad hidráulica específica del tallo, por lo tanto, las poblaciones ubicadas a menor altitud (3100 m) deben poseer una mayor conductividad hidráulica específica con respecto a las ubicadas a mayores altitudes (4200 m).

1.9 Objetivos

1.9.1 General

- Estudiar la resistencia a las temperaturas congelantes, la conductividad hidráulica y la anatomía del xilema en individuos de *Senecio formosus* procedentes de dos pisos altitudinales distintos (3100 y 4200 msnm).

1.9.2 Específicos

- Determinar la temperatura de congelamiento en hojas y tallos de *S. formosus*, tanto en plantas intactas como en secciones desprendidas de los mismos de a dos altitudes contrastantes (3100 y 4200 m).
- Determinar la temperatura de daño en hojas desprendidas y secciones de tallos de individuos de *S. formosus* en el límite inferior y superior de su intervalo de distribución altitudinal (3100 y 4200 m).
- Determinar la conductividad hidráulica en ramas y tallos de *S. formosus* en individuos procedentes de estas dos elevaciones (3100 y 4200 msnm).
- Estudiar las características anatómicas del sistema conductor en ramas y tallos de individuos de *S. formosus* procedentes de dos altitudes (3100 y 4200 m).
- Determinar el área foliar total de la planta en cada elevación (3100 y 4200 msnm).

2. METODOLOGÍA

2.1. Área de estudio

Para el presente estudio se seleccionaron individuos en los extremos de su distribución (Páramo de San José 3100 msnm y Páramo de Piedras Blancas 4200 msnm), a fin de contrastar algunos de sus atributos morfoanatómicos y ecofisiológicos. Cada localidad fue georeferenciada y se muestran en el siguiente mapa (Fig. 2).

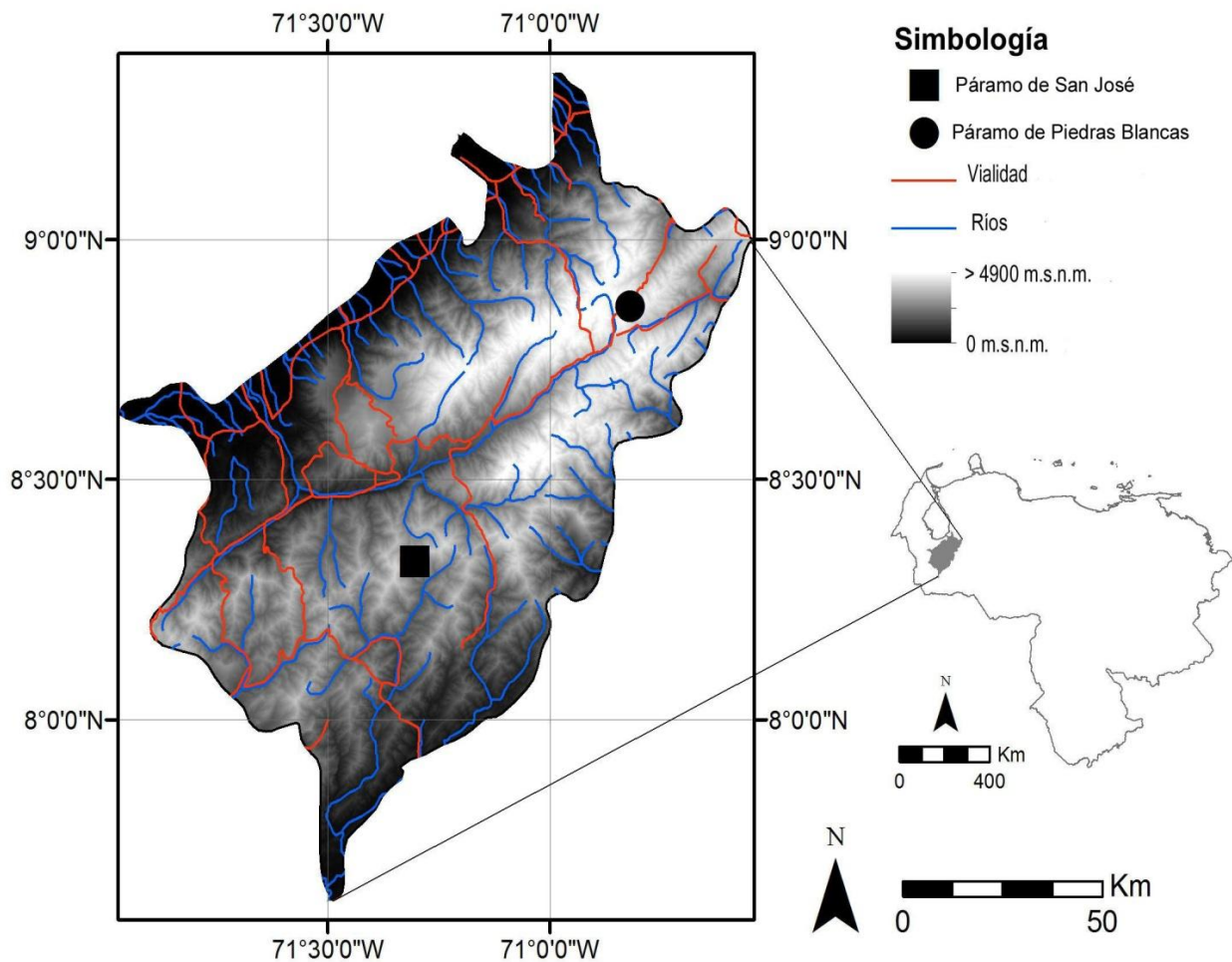


Figura 2. Mapa de Mérida con la ubicación de los páramos en los cuales se colectó *Senecio formosus* (Elaborado por: Anders, 2011).

2.2 Páramo de San José

El sitio de estudio en el Páramo de San José se encuentra a 3100 msnm y se halla ubicado en la latitud (8° 19'; 43,0" Norte) y longituditud (71° 18' 14,7" Oeste), entre los Municipios Campo Elías y Arzobispo Chacón del Estado Mérida, Venezuela.



Figura 3. Páramo de San José.

2.2.1 Geología

El área ocupada por el Páramo de San José, es una de las zonas de contacto de las formaciones geológicas donde se ubican la mayor parte de los páramos de la Cordillera de Mérida, como lo son la formación Sierra Nevada y formación Mucuchachí. La litología de la Sierra Nevada, está constituida por gneis migmáticos y graníticos, esquistos micáceos, anfibolitas, rocas graníticas. Mientras que la Formación Mucuchachí, está constituida por pizarras laminadas, pizarras limosas de color negro a gris verdoso, carbonosas, piritas y franjas de areniscas impuras laminadas y duras (Shagam, 1969; PDVSA-Intevep, 2007; Sodja, 2001, Rodríguez, 2010).

2.2.2 Clima

Las estaciones climáticas más cercana al páramo de San José registran 900 mm en la vertiente seca (Estación Tostós, ubicada a 2400 msnm) y 1300 mm hacia la vertiente húmeda (Estación Acarigua, ubicada a 1630 msnm) (Monasterio y Reyes, 1980). Adicionalmente, Cavieres *et al.* (2000) mencionan que este páramo presenta un régimen de precipitación bimodal, con máximos en los meses de abril-junio y septiembre-noviembre, mientras que los períodos secos ocurren entre febrero-marzo y junio-agosto; la temperatura promedio a 3200 msnm es de 8 °C y la precipitación a esa elevación está entre 1000-1100 mm.

2.2.3 Suelos

Los suelos son ácidos, esqueléticos con textura predominantemente arcillosa, con susceptibilidad a la erosión de moderada a alta (Durán, 1992; Sodja, 2001; Silva, 2010).

2.2.4 Vegetación

El Páramo de San José, exhibe una vegetación correspondiente a la de páramo Andino, donde predomina la formación pajonal paramero estableciéndose poblaciones de rosetas caulescentes acompañadas por algunas herbáceas y pequeñas franjas de especies arbustivas (Ataroff y Sarmiento, 2004; Silva, 2010).

2.2.5 Intervención antrópica

Un factor determinante en el establecimiento y alteración de la estructura vegetal del ecosistema páramo lo constituye el desarrollo y asentamiento de poblaciones humanas, las cuales a través de la introducción de actividades como la agricultura, el pastoreo, y las quemadas esporádicas,

han intervenido la estructura ecológica y florística de este ecosistema, sobre todo en su límite inferior (Sodja, 2001). Sin embargo, el páramo de San José aún cuando pertenece a los páramos bajos de la cordillera, está bastante conservado pues la diversidad vegetal es alta, y la estructura poco alterada. Esta percepción se relaciona con el hecho de que hay muy pocas evidencias de pastoreo, y de extensas áreas cultivadas. Sin embargo, en el límite inferior de la vertiente seca se observan variados y pequeños cultivos, lo cual hasta ahora no pareciera haber causado un fuerte impacto en el ecosistema. Puede decirse entonces, que el páramo de San José se presenta menos intervenido que el resto de páramos pertenecientes a la zona sur de la Sierra Nevada y más aún con respecto a los que se localizan a lo largo de la zona Norte de la misma (Silva, 2010).

2.3 Páramo de Piedras Blancas

El área de estudio en el Páramo de Piedras Blancas está a los 4200 msnm, entre la latitud (08° 51' 37,0" Norte) y longitud (70° 49' 09,1 Oeste), ubicado en el Parque Nacional Sierra La Culata del Estado Mérida, Venezuela.



Figura 4. Páramo de Piedras Blancas.

2.3.1 Geología

El Páramo de Piedras Blancas se ubica dentro de la Sierra la Culata. En esta zona afloran rocas pertenecientes al Grupo Iglesias (de edad Precámbrico Superior), constituidas por ortogneises biotíticos, gneisses migmatíticos con inyecciones aplíticas "lit part lit" augagneises porfiboblásticos biotíticos de grano grueso, gneises de grano fino con granate y biotita y mica esquistos granatíferos (Ministerio de Minas e Hidrocarburos, 1970; Yáñez, 1998).

2.3.2 Clima

El Páramo de Piedras Blancas exhibe un régimen pluviométrico unimodal, con una precipitación promedio de 798 mm (Torres, 2003; Azócar, 2006). Presenta una época seca que va de diciembre a marzo y la época húmeda de abril a noviembre (Márquez, 2002), siendo el período de mayo-agosto el más húmedo en esa localidad. La temperatura promedio anual es de 2,8 °C, sin observarse grandes variaciones entre estaciones hídricas.

2.3.3 Suelos

El páramo desértico, constituye la formación vegetal más representativa del piso Altiandino, el cual se interdigita con el desierto periglacial, ambas forman una cubierta discontinua en la cual prevalecen grandes áreas de substrato desnudo (Monasterio, 1980a; Alvizu, 2004). A medida que ascendemos en altitud incrementa el contenido de roca y arena, en este sentido, la tasa a la cual se

produce materia orgánica es menor, disminuyendo de esta manera la capacidad de retención de agua (Malagón, 1982; Azócar y Rada, 2006).

2.3.4 Vegetación

Para el Páramo de Piedras Blancas, Monasterio (1980b) señala que es un rosetal alto y abierto que consta en general de dos estratos, el primero entre 1 y 3 m de altura con un 5 a 30% de cobertura, está constituido en su mayoría por rosetas arborescentes relativamente espaciadas; cuyo género más predominante es *Cospeletia* Cuatrec. El segundo estrato se presenta al ras del suelo pero discontinuo, con una cobertura entre el 2% y el 40%. El porcentaje de roca y suelo desnudo varía entre 50% y 90%. Las formas de vida más importantes de este estrato son los cojines, representado principalmente por: *Azorella* Lamb, *Arenaria* L, *Aciachne* Benth, *Lucilia* Cass; existen también formas en rosetas acaules de los géneros: *Hypochoeris* L., *Calandrinia* Kunth., *Oenothera* C. C. Robin, *Malvastrum* A Gray y *Draba* L y los arbustos enanos: *Senecio* L, *Hinterhubera* Sch. Bip ex Wedd, *Lanchemilla* (Focke) Rydb.

2.4. Descripción botánica de *Senecio formosus*

Senecio formosus kunth, es una hierba de 20 a 60 cm de altura (Vivas y Ubierno, 2010). Según Aristeguieta (1964) es una planta erecta, con tallos simples, redondeados, estriados, densamente pilosos; pelos rojizos, tabicados. Hojas alternas, sésiles, lanceoladas, obtusas hasta agudas en el ápice, anchamente auriculadas en la base, 8-15 cm de largo, 2-3 cm de ancho, pilosas por ambas caras, pelos por lo general glandulosos en el ápice, irregularmente dentadas, membranáceas, penninerviadas. Capítulos agrupados en corimbos terminales laxos. Cabezuelas heterógamas, radiadas, llamativas, disco 1,5 cm largo, 1,5-2,5 cm diámetro, pediceladas, pedicelos pilosos, 1-7 cm de largo, espaciadamente bracteolados, bractéolas lineales, 0,5-1,5 cm de largo, pilosas, conteniendo numerosas flores. Involucro anchamente acampanado, 1,5-2 cm de largo, uniseriado; brácteas alrededor de 20, teñidas de morado-rojizo, lanceoladas, acuminadas en el ápice, pilosas en el dorso; pelos articulados; cálculo constituido por unas 6 bractéolas lineales, pubescentes y de unos 10 mm de largo. Receptáculo ligeramente convexo hasta plano, desnudo. Flores del radio alrededor de 20, femeninas, corolas liguladas, de color morado-rojizo, tubo piloso y de unos 6 mm de largo, lámina oblonga, glabra, 1,5-3,5 cm de largo; flores del disco numerosas, hermafroditas, corolas tubulosas, glabras, 10-12 mm de largo, rojizas. Aquenios pilosos, de unos 4 mm de largo. Papus constituido por numerosas aristas blancas y de 6-8 mm de largo.

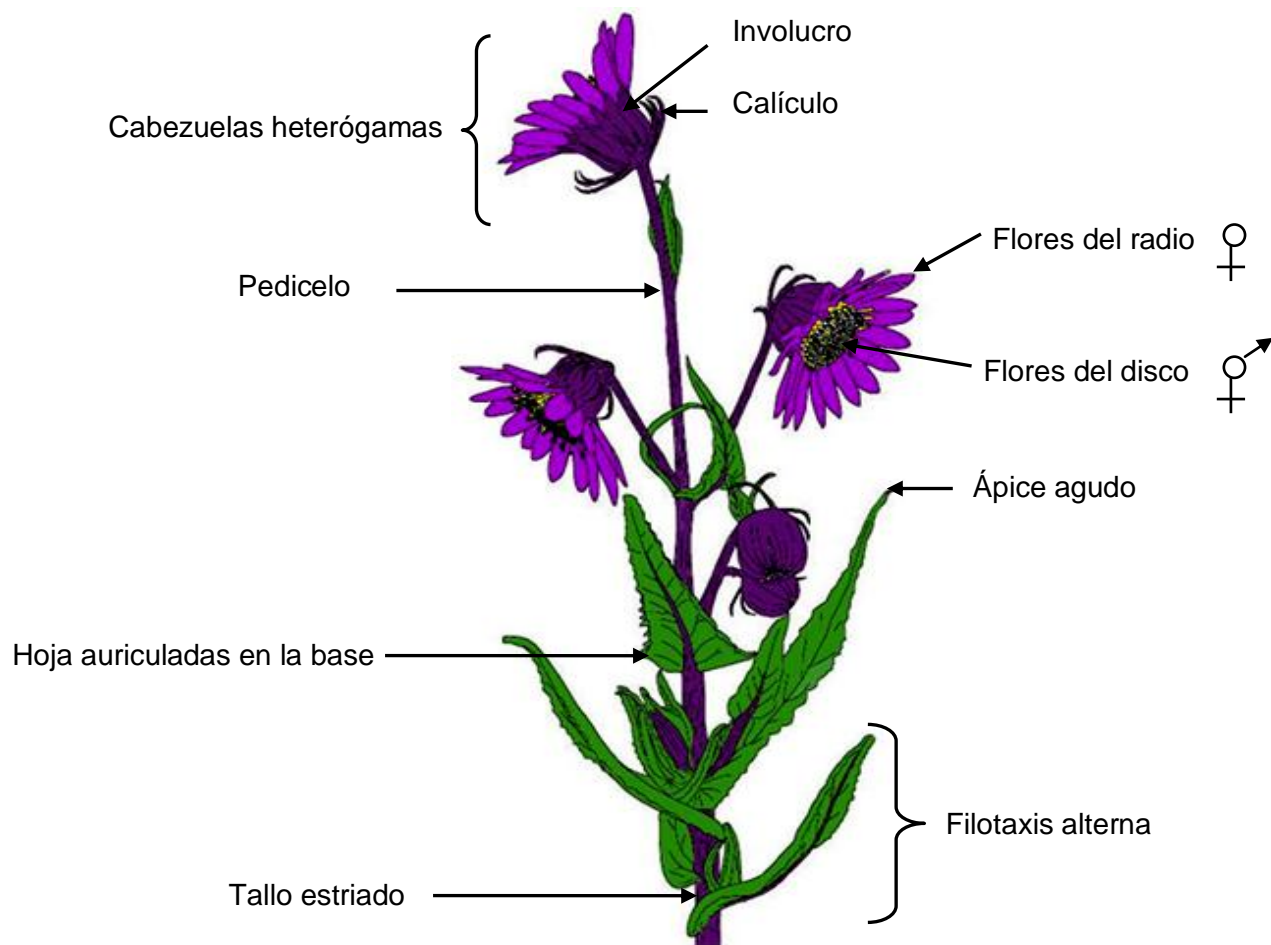


Figura 5. *Senecio formosus*. (Modificado de Álvarez, 2009).

o

2.5 Trabajo de campo

La colecta del material vegetal se llevó a cabo durante los meses de noviembre de 2010 y febrero de 2011 para la localidad de Piedras Blancas, época que corresponde al período húmedo y seco. Mientras que para el Páramo de San José el material se colectó a partir del mes de febrero hasta abril del 2011, meses que corresponden a la época seca. Se seleccionaron individuos adultos (con evidencias claras de floración o fructificación) al azar en cada localidad para realizar los respectivos estudios.

A continuación se presenta de forma detallada la metodología usada en este estudio, comenzando con el establecimiento de estaciones microclimáticas, seguidamente la determinación de la temperatura de congelamiento y temperatura de daño, determinación de la conductividad hidráulica específica, estudios anatómicos y finalmente la determinación del área foliar total.

2.5.1 Mediciones microclimáticas

En cada localidad se instalaron microestaciones portátiles marca HOBO, con la finalidad de comparar los regímenes térmicos e hídricos a los cuales está sometida actualmente la especie en estudio en el páramo de San José y páramo de Piedras Blancas. En ambos sitios se midieron las variables microclimáticas: temperatura del aire, radiación total y contenido de agua en el suelo. El sensor de radiación se colocó a una altura aproximada de 50 cm, el sensor de temperatura a 25 cm y el TDR se colocó a 5 cm de profundidad del suelo (Fig.6); cada estación fue programada para hacer registros cada 10 minutos. Por otra parte, cabe mencionar que la instalación de este equipo se hizo en diferentes meses por un período de 5-6 meses, desde noviembre hasta abril para la localidad de San José y de diciembre hasta abril en Piedras Blancas que corresponden a épocas tanto húmeda como seca.

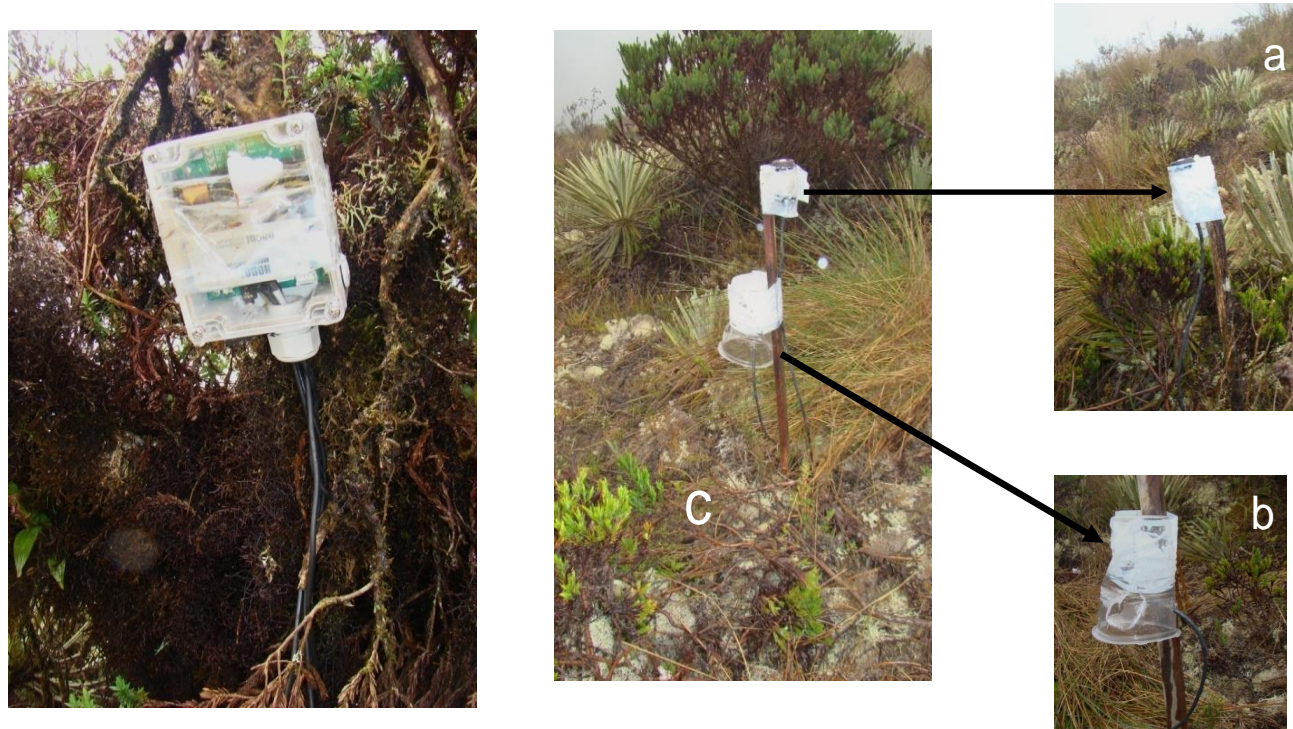


Figura 6: Estación microclimática (HOBO) mostrando sensores de: (a) radiación, (b) temperatura y (c) contenido de humedad.

2.5.2 Determinación de la temperatura de congelamiento en *Senecio formosus*

2.5.2.1 Temperatura de formación de hielo en hojas desprendidas y secciones de tallos

Para la determinación de la temperatura de congelamiento celular, se cortaron 5 individuos por altitud a nivel del suelo, se colocaron en un recipiente con agua y fueron nuevamente cortados a 10 cm bajo el agua (Ely, 2009), para evitar la interrupción de la columna de agua. Posteriormente, este material se cubrió con una bolsa negra y fue llevado al laboratorio dejándolo rehidratar por 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo, se realizaron cortes transversales (de aproximadamente 4 cm) a los tallos de los individuos colectados. En el caso de las hojas, se seleccionaron hojas bien expandidas provenientes de diferentes tallos y a cada una de ellas se les secó sus superficies húmedas con papel absorbente. Seguidamente estos últimos (hoja y secciones de tallo) se colocaron en el interior de unos tubos de ensayo, sellados con tapones de goma. En cada uno de los tubos se colocó una hoja o secciones de tallo, y dentro de estos se introdujeron termopares de cobre-constantan entre las muestras de tallo y hoja (uno por tubo), asegurándose que ambos permanecieran en contacto. Una vez finalizado dicho proceso, se colocó cada uno de los tubos dentro de un baño refrigerante (marca NESLAB, mod. RTE-111), el cual contenía una mezcla de alcohol isopropilico-agua y de esta forma se procedió a disminuir su temperatura desde 5 °C hasta -20 °C, en un período de aproximadamente 4 horas a una tasa de 6,5 °C/h. Todos los termopares se hallaban conectados a una tarjeta de adquisición de datos, la cual era controlada por el software del programa Planta-ICA. La utilización de este programa permitió visualizar la temperatura de las muestras contenidas en los tubos de ensayo, evidenciando el congelamiento a través de la formación de exotermas (Fig. 7). Estas exotermas se formaron por un aumento de la temperatura originado por la liberación de energía de los tejidos vegetales que se produce durante el proceso de congelamiento. Se realizaron 5 ensayos en hojas y tallos por altitud.

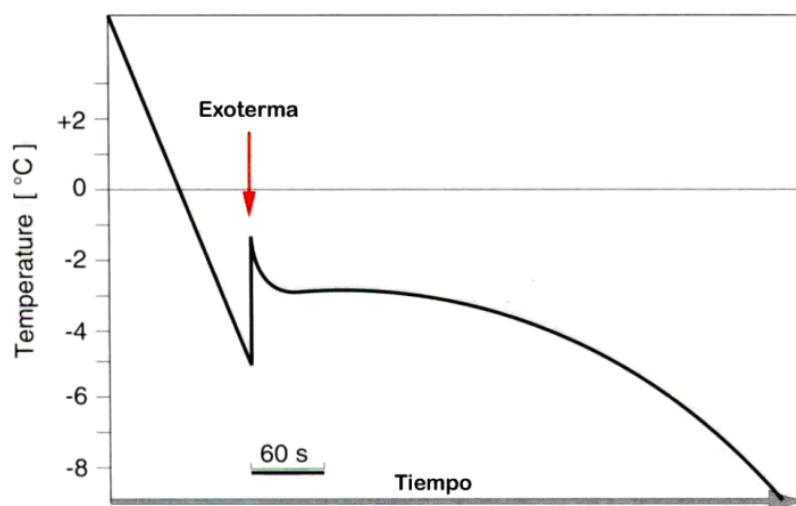


Figura 7. Formación de exoterma por congelamiento de los tejidos vegetales (Modificado de: Larcher, 1995).

2.5.2.2 Temperatura de formación de exotermas en hojas y tallos de plantas completas

A fin de comparar la temperatura de congelamiento celular de hojas desprendidas y secciones de tallos (descrito anteriormente, 2.5.2.1) y hojas y tallos de plantas completas se colectaron 3 plantas por localidad, cada una de ellas se colocó en bolsas plásticas y fueron llevadas al laboratorio. Allí se

colocaron en una cámara de crecimiento simulando las condiciones naturales por 24 horas. A cada planta se le colocaron termopares tanto en hojas como en tallos y luego fue introducida en una cava. Posteriormente, la cava se colocó dentro de un refrigerador que alcanzaba temperaturas de hasta -20°C. Una vez introducida la cava con la planta dentro del refrigerador se esperó que la temperatura en el interior de la cava disminuyera, proceso que duró cerca de 5 horas (aproximadamente 5°C/h). La temperatura de cada uno de los termopares fue registrada por el programa Planta-ICAE y visualizada en el monitor del computador. Se realizaron 3 ensayos por localidad.

2.5.3 Temperatura de daño celular

La temperatura de daño celular se determinó mediante el método de liberación de electrolitos modificado por Lindén (2002) el cual es muy eficiente para detectar la aparición de daño histológico. El método consiste en determinar la temperatura a la cual se registra un incremento de la conductividad eléctrica de una solución deionizada que contiene muestras de tejido vegetal expuestas a temperaturas por debajo de 0 °C. Incrementos en la conductividad eléctrica son producto de la liberación de electrolitos (en su mayoría iones de potasio) procedentes de la vacuola, como consecuencia de la ruptura de las paredes celulares. Consideramos como temperatura de daño aquella en la que se produce la pérdida del 50% de los electrolitos (Ely, 2009).

El procedimiento se realizó sometiendo cada una de las muestras tanto de hoja como de tallo a una disminución gradual de la temperatura desde 5° C hasta los -20° C, de la misma forma anteriormente descrita para la temperatura de formación de las exotermas. Previamente, se realizaron cortes transversales (de aproximadamente 4 cm) a los tallos de los individuos colectados, en el caso de las hojas, se tomaron hojas bien expandidas de los diferentes tallos y cada una se colocó sobre una superficie plana y se extrajeron discos del material vegetal con la ayuda de un cilindro metálico, de los cuales se seleccionaron 5 discos por hoja en los cuales no se incluía la nervadura central, esto a fin de estandarizar el método. Una vez finalizado dicho proceso, el material vegetal (hojas y secciones de tallos) se introdujo en tubos de ensayo y sellados herméticamente, para luego colocarlos en el interior del baño refrigerante. A medida que disminuía la temperatura se retiraban tres tubos conteniendo las muestras de hoja o tallo, en intervalos de 5° C. Las muestras retiradas en cada uno de los intervalos, se introdujeron en un recipiente plástico que contenía 15 ml de agua deionizada, se taparon y se almacenaron en el refrigerador a 4° C por 48 horas, y el control sólo contenía agua deionizada. Transcurrido este lapso de tiempo se procedió a medir la conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) de la solución que contenía la muestra (tallo u hoja) con un conductímetro digital, modelo ExStikEC500 (marca Extech Instruments, U.S.A).

La temperatura a la cual se inicia el daño celular, se pudo evidenciar mediante un incremento en la conductividad eléctrica de la solución con la muestra (hoja o tallo), la cual debería inicialmente estar a 0 μS o cercana a este valor. Una vez transcurridas las 48 horas se midió la conductividad eléctrica de todas las muestras sometidas al gradiente térmico, y luego se procedió a sumergirlas unos segundos en nitrógeno líquido, de esta manera se induce la ruptura de las paredes celulares de las muestras. Posteriormente, se colocaron nuevamente en el recipiente y se dejaron por 48 horas a 4° C en el refrigerador. Finalmente después de transcurrido este tiempo, se registró la conductividad eléctrica, cuyo valor corresponde al 100% de pérdida de electrolitos en la muestra. Con este último valor, se determinó la temperatura a la cual se produjo la liberación del 50% de los electrolitos, haciendo uso de la siguiente ecuación (Ely, 2009):

$$T_{50\%} = \frac{\text{Conductividad eléctrica (para cada temperatura)} * 100}{\text{Conductividad eléctrica (luego de la ruptura inducida)}} \quad (\text{Ec.3})$$

2.5.4 Determinación de la conductividad hidráulica específica

Se tomaron 10 individuos en cada altitud, cada uno de ellos se cortó a nivel del suelo y seguidamente colocados en un recipiente con agua y cortado dentro de éste, a fin de no interrumpir la columna de agua. Este material fue llevado al laboratorio y colocado a 4°C por 24 horas.

2.5.4.1 Determinación de la longitud del vaso

Para la determinación de la longitud del vaso se usaron 5 tallos y 5 ramas, a los cuales se colocó un extremo del segmento de rama o tallo dentro de un recipiente con agua, y el otro extremo se sometió a una presión de aire con la ayuda de una jeringa. Se realizaron cortes sucesivos a la rama o tallo, hasta evidenciar la formación de burbujas en la periferia del segmento de rama o tallo, lo cual representaba la longitud del vaso (Fig.8). En el momento de realizar esta medición, se removieron todas las hojas de cada uno de los individuos de cada punto altitudinal, se colocaron en bolsas plásticas previamente rotuladas y se llevaron al laboratorio. Este material posteriormente fue utilizado en la determinación del área foliar total.



Figura 8. Determinación de la longitud del vaso en tallos de *S. formosus*.

2.5.4.2 Medición de la conductividad hidráulica específica

Se midió la conductividad hidráulica en 5 ramas y tallos en cada punto altitudinal, para ello se cortaron segmentos cuya longitud dependía de los valores obtenidos en la sección 2.5.4.1. Luego dichos segmentos eran colocados en un recipiente con agua y nuevamente cortados e inmediatamente conectados al sistema de medición, esto a fin de evitar la formación de embolismos.

El sistema de medición estaba constituido por dos mangueras plásticas, una de ellas conectaba una bolsa de diálisis colocada de manera vertical de manera que el flujo descendiera por gravedad (que contenía en su interior 1,5 litros de agua) con un extremo del segmento de tallo, y el otro extremo del segmento era colocado hacia una balanza analítica. Para determinar la altura de la columna de agua (diferencia de presión a lo largo del segmento), se conectó otra manguera usando para ello una T. Una vez conectado este sistema, la medición se hizo a través de la recolección del agua en un envase dentro de una balanza, los cambios en la cantidad de agua recogida dentro del envase nos dieron el peso en un tiempo dado (Fig.9). Los registros (peso y tiempo) se hicieron en un periodo de tiempo que podía variar entre 2 a 4 horas, hasta que el flujo se estabilizara, luego estos valores eran graficados (peso vs tiempo) y la pendiente de la gráfica representaba el flujo. Otros de los valores que se tomaron en el momento de medición fueron el diámetro de la sección transversal del elemento medido, longitud del vaso y la altura de la columna.

La conductividad hidráulica se determinó haciendo uso de las siguientes fórmulas (Sperry y Tyree, 1988):

$$K_s = FL / (\Delta P A_{sw}) \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

Ks: Conductividad específica del xilema.

F: Velocidad del flujo registrada.

L: Longitud del segmento medido.

ΔP : Diferencia de presión a lo largo del segmento.

A_{sw} : Área transversal del conducto xilemático.

$$\Delta P = \rho g h \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde:

ρ : Densidad del agua.

g: Gravedad.

h: Altura de la columna de agua.

$$A_{sw} = \pi r^2 \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

π : 3,14.

r: Radio de la sección transversal del segmento medido.

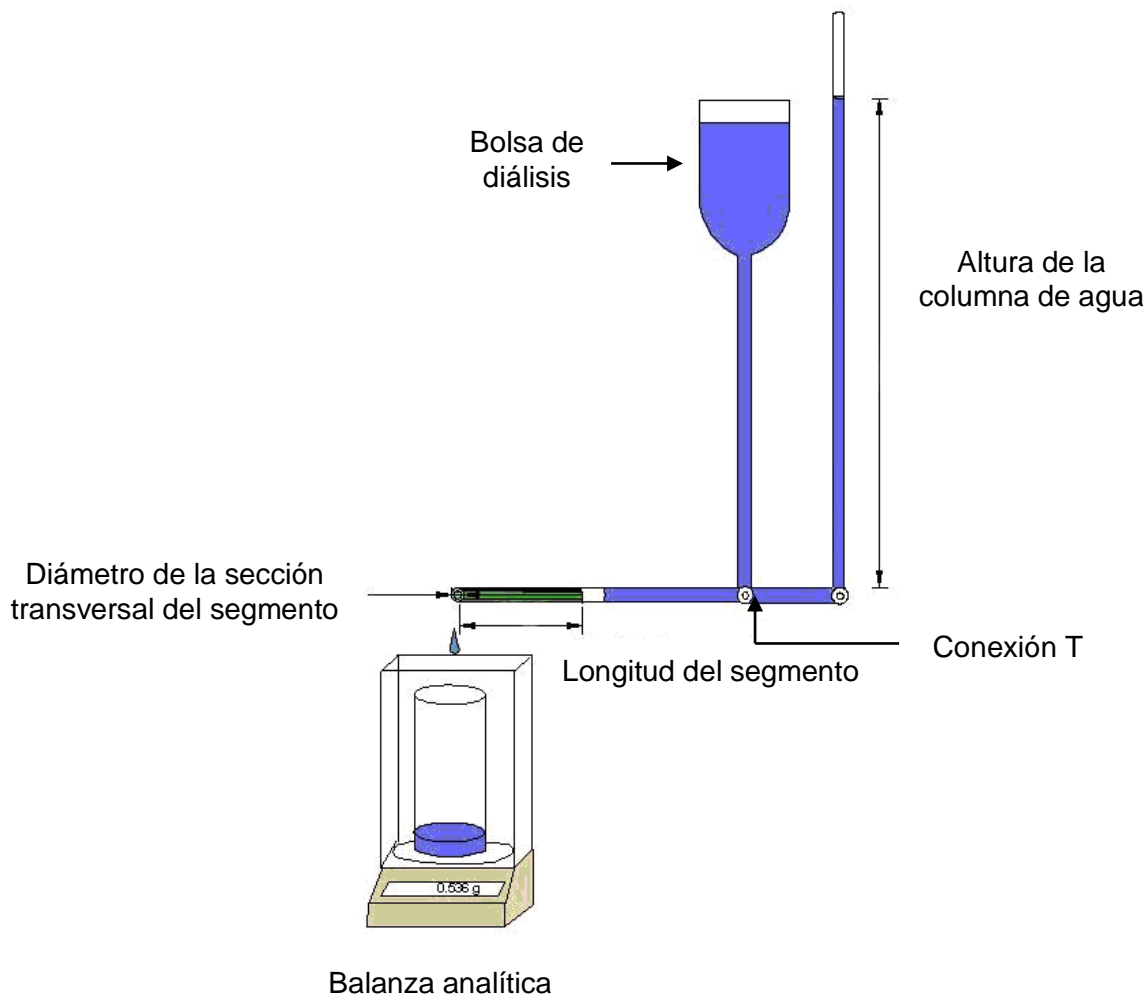


Figura 9. Sistema utilizado en la determinación de la conductividad hidráulica de la especie en estudio.

2.5.5 Estudios anatómicos

2.5.5.1 Cortes transversales a mano alzada de ramas y tallos de *S. formosus*

Se utilizaron segmentos de ramas y tallos de especímenes colectados en cada altitud, los cuales fueron fijados en campo en una solución de FAA (formol, alcohol y ácido acético al 70%) (Johansen, 1940), y posteriormente en el laboratorio se lavaron varias veces con agua para eliminar el FAA. Se seleccionaron segmentos (n=3) de diferentes ramas y tallos de cada altitud, luego este material se colocó en un recipiente con agua y glicerina al 50%, y dejado en la estufa a 70 °C hasta que ablandara. Una vez ablandado este material se procedió a realizar cortes transversales a mano alzada, seleccionando los cortes más delgados (20-30 μm) en la lupa estereoscópica, a éstos se les aplicó una doble tinción con alcian blue y safranina en una proporción 7:3 y para el montaje de los cortes se usó glicerina líquida al 50%.

2.5.5.2 Macerados del xilema de *S. formosus*

A fin de conocer la composición del xilema, se seleccionaron (n=3) porciones pequeñas de ramas y tallo (previamente ablandado), a éstas se les aplicó una doble tinción con alcian blue y safranina en una proporción 7:3, luego se maceraron sobre un cubre objetos y se montaron con glicerina líquida al 50%. Las preparaciones se visualizaron en un microscopio óptico (Modelo Zeiss) dotado de un ocular graduado (con una escala en μm), haciendo 30 mediciones de diámetro (elementos de vaso y traqueidas) para cada estructura (ramas y tallo) y altitud .en el campo de 40x. Esta técnica nos permitió distinguir cada estructura (elementos de vaso y traqueidas), cosa que no es posible en los cortes transversales.

2.5.5.3 Diámetro de elementos de vaso en sección transversal

La medición del diámetro de los elementos conductores en los cortes transversales, se realizó de la misma manera antes descrita (sección 2.5.5.2), midiendo 50 elementos conductores en el campo de 40x para cada altitud y estructura (ramas y tallo).

2.5.5.4 Área conductora, espesor del xilema y densidad de elementos de vaso

Para la medición del área conductora, espesor del xilema y densidad de elementos de vaso se tomaron 6 fotomicrografías de las mejores preparaciones (distintos campos en sección transversal), con una cámara digital (SONY Cybershot DSC-W1 de 5.1 megapixels), y luego cada una de éstas fueron insertadas en el programa Autocad 2005 (Álvarez, 2009), así como la fotografía de la escala en μm en el objetivo en que se tomó cada fotografía. Para la determinación del área conductora se delimitó el área que incluía la proporción de xilema en cada haz vascular, luego se sumó toda el área y se transformó a porcentaje y se tomó un promedio, mientras que para la determinación del espesor del xilema se midió desde el comienzo hasta finalización del xilema para cada haz (n=5). En la medición de la densidad de elementos de vaso en tallos se contó el número de elementos de vaso en función del área de la fotografía (N° elementos de vaso/en sección transversal de ramas y tallo por mm^2). Cabe acotar que no fue posible determinarla en ramas debido a que era difícil distinguir los elementos de vaso.

2.5.6 Determinación del área foliar total

Se seleccionaron 5 individuos en cada elevación, a éstos se les removió toda la superficie foliar total y se almacenaron en bolsas plásticas. Este material se transportó al laboratorio y se dejó rehidratar a 4 °C, para la posterior medición al día siguiente. Luego se procedió a escanear cada una de las hojas a 300 píxeles por cm, mediante el programa IrfanView for Windows versión 4.2, una vez registrada la imagen se determinó el área foliar en píxeles a través del software IMAGEJ 1.38x, los valores

obtenidos se transformaron a cm^2 . Luego se sumó toda el área a cada uno de los individuos y se tomó un promedio. Tomando para cada localidad tanto el área foliar total como de área foliar promedio.

2.5.7 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos ecofisiológicos se empleó estadística no paramétrica, usando una prueba U de Mann-Whitney de comparación de medias del programa SPSS Statistics versión 17.0 con un nivel de significación de $p < 0,05$, para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las temperaturas de formación de exotermas en hojas y tallos de plantas enteras y hojas desprendidas y secciones de tallo; la temperatura de congelamiento y temperatura de daño; área foliar promedio, área foliar total entre altitudes.

El análisis de los datos anatómicos se realizó mediante pruebas T, esto a fin de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en el diámetro de elemento de vaso y traqueidas en estructuras (ramas y tallo) y entre localidades, haciendo uso del programa SPSS Statistics versión 17.0 con un nivel de significación de $p < 0,05$. Mientras que para el área conductora, espesor del xilema y la densidad de elementos de vaso se usó una prueba U de Mann-Whitney con un nivel de significación de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Microclima

Las características microclimáticas registradas en los sitios de estudio se resumen en la Tabla 5. Datos que corresponden a los meses de noviembre a abril para la localidad de San José y de diciembre a abril en Piedras Blancas. Las temperaturas más negativas se registraron entre la 4:00 am y 6:00 am en San José, y en el caso de Piedras Blancas entre las 2:00 am y 4:00 am; donde Piedras Blancas es la localidad en la que se registran las menores temperaturas.

Tabla 5. Temperaturas mínimas absolutas y promedios de aire, porcentaje de heladas, radiación máxima total y contenido de agua promedio en el suelo para las localidades de San José y Piedras Blancas.

Localidad	T min prom (°C)	T prom (°C)	% de días con heladas	R max prom (W/m ²)	CAS prom (m ³ /m ³)
San José	3,6 ± 0,20 (-3,4)	9,9±0,04	9	875,97 ± 20,8	0,399± 0,0003
Piedras Blancas	-1,3 ± 0,19 (-6,4)	4,3 ± 0,04	76	1037,24± 23,3	0,317±0,0004

Entre paréntesis las temperaturas mínimas absolutas. T: temperatura, R: radiación total, CAS: contenido de agua en el suelo.

3.2 Resistencia al congelamiento

3.2.1 Comparación de métodos

Los resultados de comparación de la temperatura de congelamiento en hojas y tallos a través de dos métodos se muestran en la Tabla 6. El análisis estadístico indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos para el caso de los tallos; no obstante, no podemos hacer esa inferencia en hojas debido a que los individuos de *S. formosus* ubicadas en la localidad de Piedras Blancas, mostraron diferencias estadísticamente significativas en la temperatura de congelamiento obtenida en hojas de plantas y hojas desprendidas. Por lo que se infiere que en el caso particular de los tallo es válido determinar la temperatura de congelamiento haciendo uso de cualquiera de los métodos (secciones de tallos o tallos de plantas enteras).

Tabla 6. Comparación de la temperatura de congelamiento (TC) en hojas y tallos de plantas enteras y hojas desprendidas y secciones de tallo de *Senecio formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas.

Localidad	Hoja		Tallo	
	TC en hojas de plantas enteras(°C)	TC en hojas desprendidas (°C)	TC en tallos de plantas enteras (°C)	TC en secciones de tallo (°C)
San José	-5,0 ± 0,37 a	-3,7 ± 0,38 a	-4,1 ± 0,41 a	-3,4 ± 0,18 a
Piedras Blancas	-3,4 ± 0,32 a	-4,8 ± 0,30 b	-3,7 ± 0,38 a	-4,1 ± 0,22 a

Letras distintas corresponden a diferencias significativas entre métodos. Prueba estadística de U de Mann Whitney para un P<0,05.

3.2.2 Temperatura de congelamiento y temperatura de 50% de daño

La temperatura de congelamiento y daño en hojas desprendidas y secciones de tallo se muestran en la Tabla 7. El tratamiento estadístico reveló que las hojas y tallos de los individuos de San José, no presentan diferencias estadísticamente significativas entre la temperatura de congelamiento y temperatura de daño. No obstante, los valores de temperatura de daño se hallan muy cercanos a la temperatura de congelamiento del agua en plantas no expuestas a temperaturas bajas, por tanto, en este caso particular se infiere que ambas estructuras no presentan mecanismo de resistencia. Por el contrario, para ambas estructuras (hojas y tallos) los individuos de Piedras Blancas mostraron diferencias significativas entre temperatura de congelamiento y temperatura de daño, por lo que se infiere que los individuos de *S. formosus* son tolerantes al congelamiento extracelular. Resultado que coincide con los estudios previamente realizados en poblaciones de *S. formosus* procedentes del páramo de Piedras Blancas (Squeo *et al.*, 1991). Por otra parte, si se observaron diferencias estadísticamente significativas entre localidades para todos los casos.

Tabla 7. Temperatura promedio de congelamiento (TC) y daño (TD), obtenidos en hojas desprendidas y secciones de tallos de *Senecio formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas y el mecanismo que exhiben.

Localidad	Hoja		Tallo		Mecanismo
	TC (°C)	TD (°C)	TC (°C)	TD (°C)	
San José	-3,7 ± 0,38 a*	-2,6 ± 0,42 a*	-3,4 ± 0,18 a*	-4,5 ± 0,86 a*	-----
Piedras Blancas	-4,8 ± 0,30 a*	-7,6 ± 0,46 b*	-4,1 ± 0,22 a*	-8,4 ± 0,67 b*	Tolerante

Letras distintas corresponden a diferencias significativas entre temperaturas de daño y congelamiento, * indica diferencias significativas altitudinales. Prueba estadística de U de Mann Whitney para un P<0,05.

3.3. Conductividad hidráulica en ramas y tallos

Los resultados de conductividad hidráulica específica y longitud de vaso en ramas y tallos se muestran en la Tabla 8. Se tiene que los individuos de *S. formosus* mostraron diferencias notorias en la conductividad hidráulica específica y longitud de vaso en ramas. No obstante, para el caso del tallo no fue posible determinar si existían diferencias significativas debido a limitaciones metodológicas. La presencia de una médula con consistencia frágil en los tallos de Piedras Blancas, impidió la realización de estas mediciones.

Tabla 8. Valores promedio de conductividad hidráulica específica (Ks) y longitud de vaso (LV) en ramas y tallos de *Senecio formosus*, procedente de los páramos San José y Piedras Blancas.

Localidad	Ramas		Tallos	
	Ks (Kg m ⁻¹ s ⁻¹ MPa ⁻¹)	LV (cm)	Ks (Kg m ⁻¹ s ⁻¹ MPa ⁻¹)	LV (cm)
San José	32,72 ± 12,16 a	7,03 ± 0,04 a	276,42 ± 39,12	9,00 ± 0,71
Piedras Blancas	4,09 ± 1,10 b	13,10 ± 1,44 b	—	—

Letras distintas representan diferencias significativas altitudinales. Prueba estadística de U de Mann Whitney para un P<0,05.

3.4 Anatomía del xilema

3.4.1 Diámetro de elementos de vaso en cortes transversales

El diámetro de elementos de vaso (DV) en ramas y tallos se observan en la Tabla 9. Encontramos que los valores de diámetro de los elementos de vaso en ramas están en el intervalo de 7,2 y 26,4 μm para los individuos de San José y Piedras Blancas. Por otra parte, los valores de diámetro de elementos de vaso en tallos están comprendidos entre 9,4 y 38,4 μm para ambas localidades. El análisis estadístico reveló que el diámetro de elementos de vaso en ramas resulta ser significativamente superior en los individuos de Piedras Blancas respecto a los individuos de San José; mientras que en tallo no hay diferencias estadísticamente significativas entre las localidades de San José y Piedras Blancas.

Tabla 9. Valores promedio de diámetro de elementos de vasos (DV) en cortes transversales de ramas y tallos de *Senecio formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas.

Localidad	Ramas	Tallos
	DV (μm)	DV (μm)
San José	11,8 \pm 0,24 a	24,5 \pm 0,89 a
Piedras Blancas	12,8 \pm 0,48 b	18,4 \pm 0,79 a

Letras distintas corresponden a diferencias significativas altitudinales. Prueba estadística de T de Student $P < 0,05$.

3.4.2 Diámetro de elementos conductores en macerados

3.4.2.1 Diámetro de elementos de vaso y traqueidas

Los diámetros de elementos de vaso y traqueidas se muestran en la Tabla 10. De acuerdo a los resultados obtenidos en los macerados de ramas y tallo, se tiene que los diámetros de los elementos de vaso tanto en ramas como en tallo difirieron significativamente. Por el contrario, los diámetros de traqueidas en ramas y tallos, según el tratamiento estadístico no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 10. Valores promedio de diámetro en elementos de vasos y traqueidas medidos en macerados de ramas y tallos de *S. formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas.

Localidad	Elementos de vaso		Traqueidas	
	Ramas	Tallos	Ramas	Tallos
	DV (μm)	DV (μm)	DT (μm)	DT (μm)
San José	15,2 \pm 0,58 a	27,7 \pm 1,40 a	11,9 \pm 0,58 a	16,6 \pm 0,92 a
Piedras Blancas	17,3 \pm 0,87 b	20,2 \pm 0,93 b	12,7 \pm 0,41 a	15,0 \pm 0,61 a

Letras distintas corresponden a diferencias significativas altitudinales. Prueba estadística de T de Student $P < 0,05$.

3.4.3 Área conductora y densidad de elementos de vaso

Los resultados de área conductora (AC) de ramas y tallos y densidad de elementos de vasos (DEV) en tallos se muestran en la Tabla 11. Los resultados de área conductora en ramas no presentan diferencias estadísticamente significativamente entre los individuos de *S formosus* de San José y Piedras Blancas. No obstante, en tallos los mayores valores de área conductora corresponden a los individuos de Piedras Blancas con respecto a los de San José, mientras que la densidad de elementos de vaso parece no diferir significativamente entre localidades.

Tabla 11. Valores promedio de porcentaje de área conductora (AC) en ramas y tallos y densidad de elementos de vaso (DEV) en tallos de *Senecio formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas.

Localidad	Rama	Tallo	
	AC (%)	AC (%)	DEV (Nº elementos de vaso/mm ²)
San José	5,4 ± 0,49 a	22,0 ± 1,91 a	174 ± 16,85 a
Piedras Blancas	6,5 ± 0,59 a	51,1 ± 2,28 b	155 ± 12,13 a

Letras distintas corresponden a diferencias significativas altitudinales. Prueba estadística de U de Mann Whitney para un P<0,05.

3.4.4 Dimensiones del tejido conductor

Los resultados de espesor del xilema en sección transversal en ramas y tallos de *S. formosus* se observan en la Tabla 12. Este atributo no varió significativamente en ramas pero si en el caso de los tallos, donde se aprecia un mayor espesor del xilema en los individuos de la localidad de Piedras Blancas con respecto a los de San José.

Tabla 12. Valores promedio del espesor del xilema (EX) en ramas y tallos de *Senecio formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas.

Localidad	Ramas	Tallos
	EX (µm)	EX (µm)
San José	142,6 ± 18,20 a	562,3 ± 26,73 a
Piedras Blancas	157,2 ± 29,64 a	1304,1 ± 58,02 b

Letras distintas corresponden a diferencias significativas altitudinales. Prueba estadística de U de Mann Whitney para un P<0,05.

3.4.5 Descripción anatómica

3.4.5.1 Sección transversal de ramas y tallos de *S. formosus*

En los cortes transversales de tallos de *S. formosus*, se observa un contorno redondeado (Fig.10a y 10b). En orden descendente tenemos que: la peridermis pluriestratificada se desprendió en la mayoría de los tallos, por lo que no se pudo determinar el número de estratos. La corteza en los individuos de San José está formada por 8 a 10 estratos de células parenquimáticas y en los individuos de Piedras Blancas está formada por 4 a 6 estratos. El cilindro vascular en los tallos de San José y Piedras Blancas tienen haces vasculares (HV) colaterales abiertos con casquetes de fibras del floema primario y secundario conectados por un cambium de 3 a 4 estratos, seguidamente el xilema secundario bien desarrollado. Los HV en Piedras Blancas tienen mayor tamaño con respecto a los de San José, siendo el grosor del xilema del primero de 1304,1 μm y el del segundo de 562,3 μm (tabla 12). Tanto en los individuos de San José como en los de Piedras Blancas pareciera haber una tendencia al arreglo de los poros en cadenas radiales pero sin un patrón definido de agrupamiento (Fig.11a y 11b). La parte central del tallo en ambos casos presenta una médula muy desarrollada, la cual ocupa la mayor proporción del órgano en los individuos de San José, mientras que los individuos de Piedras Blancas es el cilindro vascular el que ocupa gran parte del mismo.

Las ramas en ambos casos presentan contorno circular (Fig.10c y 10d), con una epidermis uniestratificada, formada por células isodiamétricas, redondeadas de paredes engrosadas y revestidas por una capa de tricomas glandulares (Fig. 10c). La corteza en los individuos de San José esta formada por 6 a 8 estratos de células parenquimáticas, mientras que en los individuos de Piedras Blancas muestra de 7 a 9 estratos. El tejido vascular está conformado por haces colaterales abiertos de diversos tamaños, conectados por un cambium de 6 estratos; sin embargo, se presume que su actividad es limitada y no forma verdadero xilema secundario (Fig.11c). Además en este órgano también pareciera haber una tendencia al arreglo de los poros en cadenas radiales pero sin un patrón de agrupamiento (Fig.11c y 11d). La médula parenquimática en ambas poblaciones ocupa la mayor proporción en la rama. (Fig.10c y 10d).

3.4.5.2 Macerados del xilema de *S. formosus*

Los macerados en tallos muestran la presencia de los elementos conductores entre los que se destacan: elementos de vaso estrechos con engrosamientos helicoidales en las paredes y placas de perforación simple, elementos de vaso propios de xilema secundario, con punteaduras escalariformes y alternas en las paredes y placas de perforación simple (Fig.10e y 10f), abundantes traqueidas vasicéntricas con engrosamientos helicoidales cerrados en las paredes y fibrotraqueidas (Fig. 10h y 10i). Los macerados de ramas presentaron elementos típicos de protoxilema y metaxilema con engrosamientos anulares, espirales laxos y cerrados en las paredes tanto en los elementos de vaso como en las traqueidas vasicéntricas, elementos de vaso escasos con placas de perforación simple (Fig.10g). Otro de los elementos que se encontró tanto en tallos como en ramas fue la presencia de células parenquimáticas isodiamétricas y rectangulares (Fig.10j).

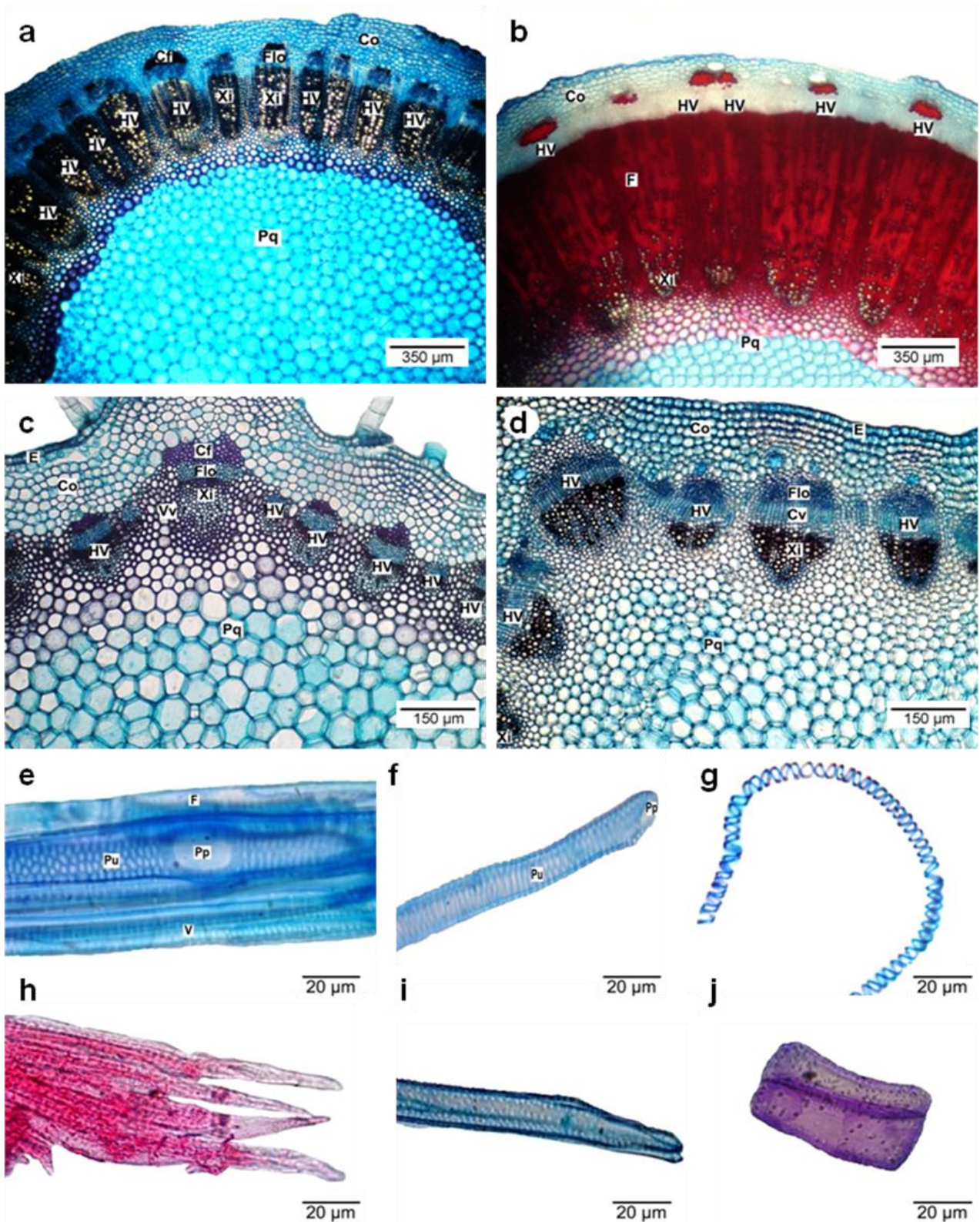


Figura 10. Anatomía caulinar y de ramas. **a)** Detalle de sección transversal de tallo de San José, **b)** Detalle de sección transversal de tallo de Piedras Blancas. **c)** Detalle de sección transversal de rama de San José. **d)** Detalle de sección transversal de rama de Piedras Blancas. **e)** Elemento de vaso con placa de perforación simple y punteaduras alternas. **f)** Elemento de vaso con placa de perforación simple y punteaduras escalariformes. **g)** Elemento de vaso con engrosamiento helicoidal. **h)** Fibrotraqueidas. **i)** Traqueida. **j)** Células parenquimáticas. **C:** cutícula, **Cf:** casquete de fibras, **Co:** corteza, **E:** epidermis, **F:** fibra, **Flo:** floema, **HV:** haz vascular, **Pu:** punteaduras, **Pp:** placa de perforación, **Pq:** parénquima, **V:** elemento de vaso, **Xi:** xilema.

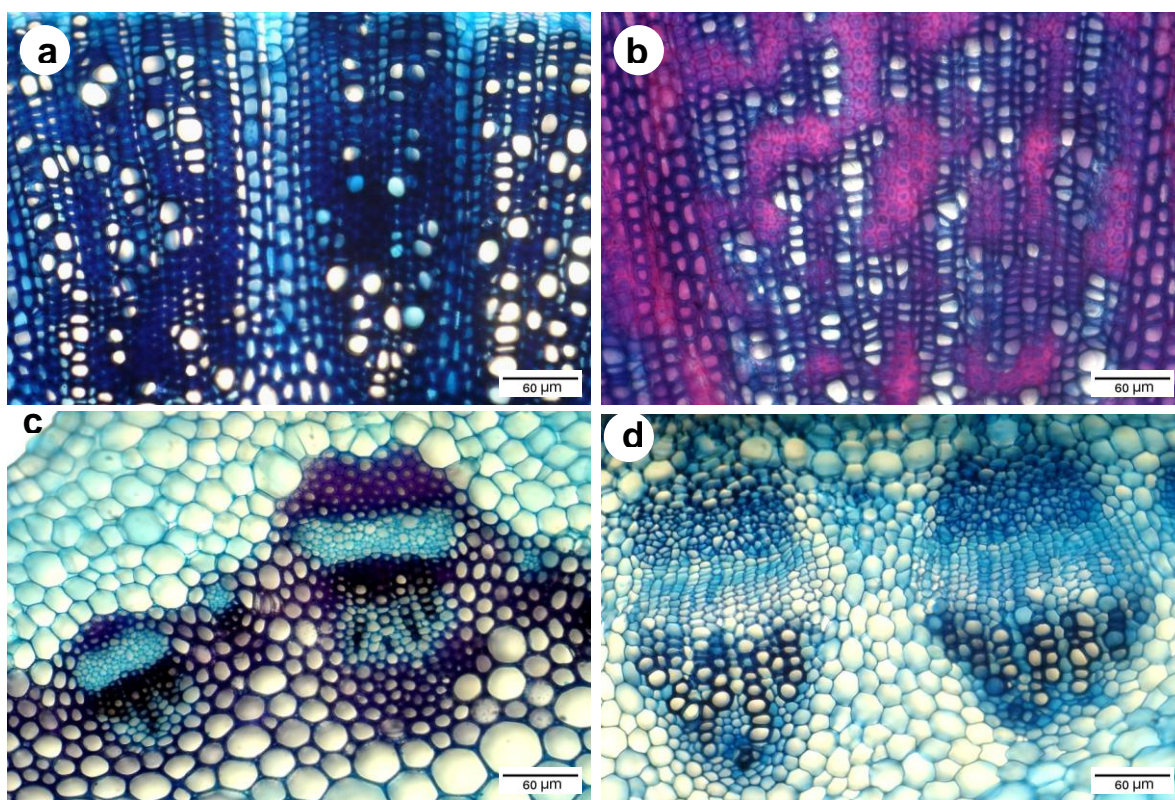


Figura 11. Agrupación de los vasos en tallos y ramas de *S. formosus*. a) Detalle de la agrupación de los elementos de vasos en tallos de San José. b) Detalle de la agrupación de los elementos de vasos en tallos de Piedras Blancas. c) Detalle de la agrupación de los elementos de vasos en ramas de San José. d) Detalle de la agrupación de los elementos de vasos en las ramas de Piedras Blancas.

3.5 Área foliar total

Los valores obtenidos para el área foliar (AF) no presentaron variaciones importantes, en efecto al realizarle la respectiva prueba estadística, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en las poblaciones de *S. formosus* en las localidades San José y Piedras Blancas. Sin embargo, cuando se compara los valores de área foliar total si se observan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 13. Valores promedio de área foliar (AF) y área foliar total (AFT) por plantas de *S. formosus* procedentes de San José y Piedras Blancas.

Localidad	AF (cm ²)	AFT (cm ²)
San José	13,2 ± 1,19 a	155,1 ± 31,69 a
Piedras Blancas	9,4 ± 1,59 a	654,6 ± 99,22 b

Letras distintas corresponden a diferencias significativas entre localidades. Prueba estadística de U de Mann Whitney para un P<0,05.

4. DISCUSIÓN

4.1 Microclima

El páramo presenta tres características predominantes como lo son: las bajas temperaturas nocturnas, la gran variabilidad térmica de los ciclos diarios con respecto a los ciclos estacionales y los períodos de heladas nocturnas que incrementan con la altitud (Monasterio, 1980a; Sarmiento, 1986; Rundel, 1994). Las características climáticas en las localidades de San José y Piedras Blancas coinciden con lo descrito en los pisos ecológicos Andino y Altiandino (Monasterio y Molinillo, 2003). Los registros de temperatura del aire muestran claramente la presencia de temperaturas congelantes en ambas localidades, donde las temperaturas mínimas absolutas fueron de -3,4 y -6,4 °C respectivamente. Pese a que se midieron sólo 5 y 6 meses (Piedras Blancas y San José respectivamente), los valores registrados son representativos de ambas épocas (húmeda y seca); en donde la época seca presenta las más bajas temperaturas. Además, esta percepción se asocia con el porcentaje de heladas. En tal sentido, se tiene que la localidad de Piedras Blancas ocupa la mayor elevación (4200 msnm) donde aumenta la frecuencia y magnitud de heladas, por ende, presenta un alto porcentaje de heladas con respecto a San José que se ubica en el límite de éstas (76 y 9% respectivamente). Particularmente en la localidad de San José, no se dispone de registros amplios de temperatura que den una idea de la intensidad, frecuencia y variabilidad de las heladas, ciertamente son necesarios para respaldar de manera más sólida la influencia de las temperaturas congelantes sobre la resistencia al congelamiento y la conductividad hidráulica que se argumenta en este trabajo. Por el contrario, para la localidad de Piedras Blancas las temperaturas mínimas tienden a ser mucho más negativas con valores que alcanzan los -10 °C (Pérez, 1984) según registros de un año completo. Estas condiciones representan un riesgo en términos de conducción, ya que influyen directamente sobre el transporte de agua en los días en los que las condiciones ambientales son más extremas.

Los individuos de las dos localidades estudiadas se ubican en vertientes secas, sin embargo, la localidad de San José presenta una gran cobertura vegetal y una alta nubosidad (Cavieres *et al.*, 2000). En este caso, la radiación, el contenido de agua en el suelo así como las temperaturas congelantes parecieran tener un menor efecto sobre las plantas. En contraste, la localidad de Piedras Blancas se encuentra mayormente desprovista de vegetación, y además sometida a una mayor incidencia de radiación, la cual sugiere un mayor calentamiento tanto a nivel del suelo como de la capa vegetal representando un riesgo en cuanto a la pérdida de agua a causa de las posibles mayores demandas evaporativas. Para el caso particular de las plantas que crecen en Piedras Blancas, se plantea un compromiso con respecto a las temperaturas congelantes nocturnas, puesto que éstas influyen sobre el desarrollo de caracteres anatómicos que impidan la formación de embolismos por congelamiento-descongelamiento, lo que conduciría a una menor eficiencia en la conducción, pero a su vez, dichos caracteres afectarían a las plantas en momentos de alta demanda evaporativa durante el día. Por tanto, es necesario que *S. formosus* presente adaptaciones fisiológicas y morfoanatómicas dirigidas no sólo a la protección contra las bajas temperaturas nocturnas, sino también contra las altas temperaturas diurnas.

Los individuos de *S. formosus* en Piedras Blancas crecían de forma agregada, entre rocas y asociadas a *Hypericum laricifolium*, observación que coincide con el reporte de Azócar (2006) y Cáceres (2011) en Piedras Blancas a 4200 m. En relación a esto, Cáceres (2011) encuentra que *S. formosus* muestra una asociación espacial positiva con *H. laricifolium*, lo cual se manifiesta a través de una mejora en su estatus hídrico, una mayor área foliar y área foliar específica. Dicha facilitación se halla relacionada con el efecto aislante de los parches de vegetación, ya que la copa del arbusto permite mitigar el efecto de las altas radiaciones, las oscilaciones en la temperatura, la humedad relativa del aire, lo que consecuentemente conduce a menores demandas evaporativas y potenciales hídricos más positivos (Franco y Nobel, 1988; Maestre *et al.*, 2003; Alvizu, 2004; Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; Cáceres, 2011). Por otra parte, la agregación está vinculada a la ocurrencia de condiciones ambientales heterogéneas, particularmente en el Altiandino, ésta es promovida en sitios más

favorables (Monasterio, 1979). En cuanto a la asociación de la vegetación con la presencia de rocas superficiales, Pérez (1991,1992) y Puentes (2010) mencionan que esto se debe a que las rocas modifican las condiciones microambientales (Ej. modificación local de la amplitud térmica). Podría pensarse entonces, que los individuos de *S. formosus* encontrados en Piedras Blancas se ubican en “sitios seguros” donde las condiciones son más favorables, mientras que los individuos de San José enfrentados a condiciones menos extremas no necesariamente estarían asociados positivamente con arbustos u otros “sitios seguros”.

4.2 Resistencia al congelamiento

Senecio formosus resultó ser tolerante al congelamiento extracelular en el límite superior (4200 msnm) del gradiente altitudinal, sin embargo, en el límite inferior (3100 msnm) no exhibe un mecanismo de respuesta frente a las temperaturas congelantes, lo que implica que la resistencia al congelamiento es dependiente de la elevación a la cual crecen los individuos. Los resultados obtenidos sugieren, por un lado; que la tolerancia no es un atributo propio de la especie, sino que está determinado por las condiciones térmicas a las que esta última esté enfrentada, y por otro lado se valida nuestra hipótesis, en la que se planteaba que los individuos de *S. formosus* ubicados en el límite inferior de su intervalo de distribución altitudinal (3100 msnm), presentarían mecanismos de resistencia menos desarrollados que los individuos ubicados en el límite superior (4200 msnm). Adicionalmente, este resultado apoya el estudio de resistencia al congelamiento realizado por Squeo *et al.* (1991) en el páramo de Piedras Blancas a 4200 msnm, quienes determinaron temperaturas de congelamiento y daño en hojas (-3,5 y -9,5°C, respectivamente) y tallos (-3 y -7,9°C, respectivamente) de *S. formosus*. Contrastando estos resultados con los de este estudio, las temperaturas de congelamiento y daño registradas en hojas (San José: -3,7 y -2,6°C respectivamente; Piedras Blancas: -4,8 y -7,6°C respectivamente) y tallos (San José: -3,4 y -4,5 respectivamente; Piedras Blancas: -4,1 y -8,4°C respectivamente) muestran ser muy similares a las reportadas por Squeo *et al.* (1991). Ciertamente puede decirse que la tolerancia al congelamiento, constituye una adaptación exitosa para especies como *S. formosus* en la alta montaña tropical, ya que le permite alcanzar mayores elevaciones (4200 m).

Por otra parte, la comparación de la temperatura de congelamiento en tallos de plantas enteras (San José: -4,1°C y Piedra Blancas: -3,7°C) y secciones de tallo (San José: -3,4°C y Piedras Blancas: -4,1°C), se hizo a fin de determinar si la temperatura de congelamiento se veía afectada por el hecho de que cuando se usan secciones de tallo, éstas últimas no están sometidas a las presiones negativas típicas en éste. A través de este análisis, se descartó la posible influencia que puede tener la presión negativa sobre la temperatura de congelamiento en secciones de tallo, debido a que no se mostraron diferencias importantes en los métodos usados en la determinación de la temperatura de congelamiento. En este sentido, se infiere que en el caso particular de tallo, es válido determinar la temperatura de congelamiento haciendo uso de cualquiera de los métodos (usando secciones de tallos o tallos de plantas enteras). Sin embargo, cuando se comparan los registros de temperatura de congelamiento en hojas de plantas y hojas desprendidas en ambas localidades (San José: -5 y -3,7°C y Piedras Blancas: -3,4 y -4,8°C) se evidencian diferencias significativas en las hojas de la localidad de Piedras Blancas. Esto pudiera estar atribuido a diferencias en el estado hídrico, factor que influye en la temperatura de congelamiento en plantas (Goldstein *et al.*, 1985; Rada *et al.*, 1987).

4.3 Relación de la conducción con el diámetro de vaso

Las plantas que logran colonizar altitudes cercanas a 4200 m, corren el riesgo de presentar problemas de embolismos en los elementos conductores, ya que en la medida en que se asciende altitudinalmente aumenta la frecuencia y magnitud de heladas. Donde la ocurrencia de temperaturas congelantes durante las noches y las altas tensiones en las primeras horas de la mañana, pueden promover la formación de embolismo en los elementos de vaso. Este hecho, consecuentemente ocasiona la interrupción de la conducción hidráulica, aspecto muy bien documentado en Asteráceas

arbustivas de zonas templadas (Kold y Sperry, 1999; Pockmann y Sperry, 2000; Hacke *et al.*, 2000), pero no abordado en especies de la alta montaña tropical.

De los resultados obtenidos, se encontró que la conductividad hidráulica específica en ramas para la localidad de San José ($32,72 \text{ Kg m}^{-1}\text{S}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) resulta ser ocho veces mayor a la de Piedras Blancas ($4,09 \text{ Kg m}^{-1}\text{S}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$). Esto coincide con que la localidad de San José experimenta una menor frecuencia de heladas con respecto a Piedras Blancas (9 y 76% respectivamente), lo que consecuentemente, se traduce en una mayor eficiencia en la conductividad hidráulica en los individuos de la menor elevación (3100 m), con respecto a los individuos de la mayor elevación (4200 m). Cabe acotar, que el material vegetal usado en este análisis no se encontraba congelado. En este sentido, el resultado obtenido en las ramas de San José está dentro del intervalo reportado en especies herbáceas (30 y $60 \text{ Kg m}^{-1}\text{S}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) (Milburn, 1979; Zimmermann y Milburn, 1982). Ciertamente la longitud de vaso es otro de los factores implicados en la conducción de agua, esto a razón de que vasos más largos tardan más tiempo en conducir agua que vasos más cortos, por tanto, la eficiencia resulta ser mayor en vasos más cortos que en vasos largos. Nuestros resultados corroboran esta afirmación debido a que la longitud de vaso en las plantas en Piedras Blancas (13,1 cm) resultó ser casi el doble que el observado en las plantas de San José (7,0 cm); lo cual confirma que la mayor conductividad en San José está relacionada con la presencia de vasos más cortos.

Por otra parte, en este estudio partimos de la premisa que incrementos en la altitud conllevan a una reducción en el diámetro de los elementos de vaso, lo que consecuentemente conduce a una disminución de la eficiencia en la conducción. Sin embargo, en este estudio encontramos que los diámetros de los elementos de vaso en sección transversal (San José: $11,8 \mu\text{m}$ y Piedras Blancas: $12,8 \mu\text{m}$) y macerados (San José: $15,2 \mu\text{m}$ y Piedras Blancas: $17,3 \mu\text{m}$) en ramas no resultaron ser superiores en los individuos de la menor elevación (3100 m) como habíamos esperado. Estas discrepancias hacen pensar, que existen otros factores que para este estudio no se tomaron en consideración y que podrían afectar la eficiencia de la conducción, como son las dimensiones y densidad de las punteaduras en las paredes de los elementos de vaso, para los cuales sería necesario realizar estudios de ultraestructura del xilema con MEB. Estudios micromorfológicos (Frost, 1931; Liese, 1965; Schmid, 1965; Jansen *et al.*, 2001) indican que la densidad y dimensiones de las punteaduras juegan un rol importante en la conducción del agua. Entre sus atributos se encuentran: el tamaño, la forma, la profundidad de la cámara de la punteadura, el arreglo de las punteaduras; estos caracteres contribuyen a la seguridad en la conducción del agua. Recientemente, Sperry (2003) y Sano (2005) encuentran que no solo las punteaduras son determinantes de la eficiencia en la conducción del agua, sino que a esto se le suma la interconexión de las punteaduras que al parecer actúan como válvulas "check" que controlan el flujo entre conductos e inhibe la formación de aire entre estos. En este estudio, se encontró que los elementos de vasos en tallos presentaban punteaduras escalariformes y alternas, y su densidad y disposición influyen en la conducción lateral de los elementos de vaso (aunque no fue posible comparar la eficiencia en la conducción en este estudio por dificultades metodológicas) y si consideramos que las punteaduras generan más del 50% de la resistencia hidráulica en el xilema y son determinantes de la eficiencia hidráulica y en la susceptibilidad a embolismos (Choat *et al.*, 2008). En este sentido, es conveniente incluir estudios de ultraestructura en estudios de conductividad hidráulica, particularmente en ecosistemas de alta montaña. Por otra parte, las placas de perforación tienen una participación determinante en la conducción hidráulica, en donde elementos de vaso con placas de perforación escalariformes resultan ejercer una resistencia mayor (2 a 20 %), que elementos de vasos con placas de perforación simple (2 a 5%) (Schulte y Castle, 1993; Ellerby y Ennos 1998). En tal sentido, las placas de perforación encontradas en tallos para ambas localidades, correspondían a placas de perforación simples, las cuales al parecer no ejercen una resistencia en el flujo del agua. En contraste, las ramas presentaron en su mayoría elementos típicos de protoxilema y metaxilema con engrosamientos anulares, espirales laxos y cerrados con placas de perforación simple que no deben limitar la conducción del mismo modo.

Otro factor que está influyendo en estas diferencias es la proporción de traqueidas vasicéntricas con respecto a los elementos de vaso, ya que la conducción de las primeras es menos eficiente, en este estudio se observó una mayor proporción de traqueidas respecto a elementos de vaso en las ramas de los individuos de *S. formosus* de Piedras Blancas (4200 m) respecto a los de San José (3100 m), aunque no se llegó a cuantificar estas diferencias. Al respecto, Escalona (1999) encuentra que en arbustos esclerófilos de páramo gran parte de la conducción está desempeñada por las traqueidas, por lo que cabe pensar, que la mayor proporción y no el diámetro de los elementos de vaso pudiese estar relacionada con estas diferencias.

En esta investigación, no se estudió la susceptibilidad a la cavitación en el xilema, sin embargo, las ocasionales heladas generan problemas en cuanto a la disponibilidad de agua absorbida a través de las raíces, y además la elevada evaporación por la alta incidencia de radiación son los principales factores que inducen a la formación de burbujas de aire dentro de los elementos de vaso y como consecuencia se produce la cavitación. Tradicionalmente el embolismo se había considerado una disfunción prácticamente irreversible del sistema conductor. Sin embargo, cada vez existen más evidencias que indican que las burbujas de aire en los conductos xilemáticos, pueden disolverse mientras la planta transpira, incluso a potenciales hídricos notablemente negativos (Melcher *et al.*, 2001). Esto también podría ocurrir, si los conductos cavitados estuvieran aislados hidráulicamente de los conductos funcionales, y hubiese un flujo de agua hacia los primeros que permitiera la redisolución de la fase gaseosa. Adicionalmente, las células vivas del parénquima podrían proporcionar este flujo de agua (Holbrook y Zwieniecki, 1999).

Por otra parte, nuestros resultados sugieren que los elementos de vaso no corren riesgos de sufrir embolismos debido a que los mismos no superan los 44 μm , valor que se considera el umbral al cual se produce la cavitación por congelamiento en elementos de vaso (Davis *et al.*, 1999).

4.4 Adaptaciones morfoanatómicas en *Senecio formosus*

En tallos es posible identificar modificaciones anatómicas que pueden interpretarse como adaptaciones a las variaciones microclimáticas. Dentro de las principales modificaciones en esta estructura, está el agrupamiento de los elementos de vaso en cadenas radiales, que parece actuar como un mecanismo de seguridad y además surge como una adaptación al congelamiento, este patrón es observado en el xilema primario de raíces, ramas y tallos; como también la presencia de fibras libriformes y fibrotraqueidas, modificaciones anatómicas que son consideradas como caracteres xeromórficos (Carlquist, 1966; 1984; 1997). En relación a estos caracteres se encontró que en ambas estructuras (ramas y tallos) para ambas localidades, pareciera haber una tendencia al arreglo de los poros en cadenas radiales, pero sin un patrón definido de agrupamiento; además de la presencia de traqueidas vasicéntricas. Esto guardaría relación con la seguridad del xilema en caso de congelamiento del agua en el interior de los conductos. Carlquist (1984) afirma que la presencia de traqueidas vasicéntricas está relacionada con la presencia de agrupación de vasos pequeños en cadenas radiales, esto debido a que las traqueidas en este caso desempeñan la función de subsidiar el sistema conductor en caso de que estos estén cavitados. Por otro lado, a través del estudio de las características del xilema, se corroboró que el xilema en ramas y tallo para ambas localidades (San José y Piedras Blancas) estaba constituido por otras estructuras de soporte como son las fibras libriformes y fibrotraqueidas que son caracteres xeromórficos adquiridos como adaptaciones a las condiciones extremas en el páramo.

El diámetro de los elementos de vasos (Tabla 9), es otro carácter que puede variar con la altitud, aunque no siempre de manera consistente. En este caso, se tomaron como válidos los valores obtenidos en sección transversal debido a que en los macerados se incluye el engrosamiento de la pared y no el lumen celular del elemento de vaso. Los diámetros y la densidad en los elementos de vaso (Tabla 8 y 11), resultaron ser muy similares en las localidades estudiadas (San José y Piedras Blancas). Específicamente, en los diámetros de los elementos de vaso se coinciden con lo reportado en *Monticalia imbricatifolia* (Asteraceae), en cuanto a las traqueidas son consistentes con lo reportado en *Hinterhubera imbricatifolia* (Asteraceae) (Escalona, 1999); por lo que es posible afirmar que *S.*

formosus presenta caracteres típicos de Asteráceas de la alta montaña tropical. De acuerdo a los resultados obtenidos, se rechaza la hipótesis que proponía que, el incremento en altitud conlleve a una reducción del diámetro de elementos de vaso.

Otro aspecto que se abordó en esta investigación está relacionado con el área conductora y el espesor del xilema. Shinozaki *et al.* (1964) mencionan que en árboles el área conductora en sección transversal es proporcional al área foliar que alimenta. Sin embargo, esto también puede ser extrapolable a los sufrútices, lo que indica que la mayor área foliar total de los individuos de la localidad de Piedras Blanca, está vinculado a un mayor porcentaje de área conductora (78%). Esto se halla aparentemente asociado con el desarrollo del tejido xilemático, que presentan los tallos de Piedras Blancas (1304 μm) respecto a los de San José (562 μm). Lo cual guarda mucha relación con la edad de las plantas; en el caso particular de Piedras Blancas es posible notar un mayor desarrollo, pero no toda la proporción del tejido conduce, esto debido a que existen otras estructuras como las traqueidas que pareciera a simple vista tener una mayor proporción, pero a su vez son menos eficientes que los elementos de vaso, por tanto, en este caso la proporción de tejido conductor funcional es similar.

5. CONCLUSIONES

1. En el páramo de San José (3100 m). Se registra un menor porcentaje de heladas, las temperaturas mínimas absolutas se mantienen muy cercanas a $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que en el páramo de Piedras Blancas el porcentaje de heladas es mayor y las temperaturas mínimas pueden disminuir hasta $-6,4^{\circ}\text{C}$.
2. Se apoya la hipótesis que proponía que *Senecio formosus* en el límite inferior de su intervalo de distribución altitudinal (3100 msnm) no muestra mecanismo alguno de resistencia a las temperaturas congelantes mientras que los individuos ubicados en el límite superior (4200 msnm) son tolerantes al congelamiento extracelular, por lo que se infiere que la tolerancia es un atributo determinado por la temperatura ambiental.
3. Se confirma la hipótesis que proponía que los individuos ubicados a menor altitud (3100 msnm) debían poseer una mayor conductividad hidráulica específica respecto a las ubicadas a mayores altitudes (4200 msnm), donde las temperaturas congelantes tienen un papel determinante en la eficiencia de la conducción del agua.
4. La disminución de la conductividad hidráulica en ramas no se relacionó con una reducción en el diámetro de elementos de vaso sino a la longitud de los mismos. En ambos casos los diámetros resultaron ser inferiores al umbral ($44\text{ }\mu\text{m}$) propuesto por Davis *et al.* (1999), por lo que se infiere que no deberían ser vulnerables a la cavitación por congelamiento.
5. Las diferencias en conductividad pueden estar relacionadas con otros factores que no se tomaron en cuenta en este estudio, como la ultraestructura de las paredes de los elementos conductores, la proporción de traqueidas/vasos, ya que las traqueidas son menos eficientes que los elementos de vaso. Por otro lado, la proporción de tejido conductor está relacionada con una mayor proporción de área foliar total.
6. *Senecio formosus* esta expuesta a temperaturas congelantes que pudieran inducir embolismos en el xilema; sin embargo, los estrechos diámetros de los elementos conductores deben impedir los procesos de cavitación, lo cual explica su adaptación exitosa a las condiciones de la alta montaña tropical.

6. REFERENCIAS

- ÁLVAREZ, C. 2009. Utilidad del programa "Autocad" como herramienta en el dibujo botánico. *Pittieria*, 33:89-97.
- ALVIZU, P. 2004. Complejidad y respuesta funcional de la vegetación de Páramo a lo largo de gradientes altitudinales. Tesis Doctoral. Postgrado en Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- ARISTEGUIETA, L. 1964. Flora de Venezuela. Compositae Volumen X segunda parte. Edición Especial del Instituto Botánico. Caracas, Venezuela. 941 pp.
- ATAROFF, M. Y SARMIENTO, L. 2004. Las unidades ecológicas de los Andes de Venezuela. En: La Marca, E., Soriano, P. (Ed.). *Reptiles de Los Andes de Venezuela*. Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, Biogeos, Mérida, 9-26 pp.
- AZÓCAR, A. Y MONATERIO, M. 1980. Estudio de variabilidad meso y microclimática en el páramo de Mucubají. En: Monasterio, M. (Ed): *Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos*. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 225-262 pp.
- AZÓCAR, A. Y RADA F. 2006. *Ecofisiología de plantas de páramo*. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 182 pp.
- AZÓCAR, C. 2006. Relación entre anatomía foliar, forma de vida y mecanismos de resistencias a temperaturas congelantes en diferentes especies en el páramo de Piedras Blancas. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Centro Jardín Botánico de Mérida. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- BALL, M.; CANNY, M.; HUANG, C.; EGERTON, J.; WOLFE, J. 2006. Freeze/thaw-induced embolism depends on nadir temperature: the heterogeneous hydration hypothesis. *Plant, Cell and Environment* 29: 729–745.
- BRICEÑO, B.; AZÓCAR, A.; FARIÑAS, M; RADA, F. 2000. Características anatómicas de dos especies de *Lupinus* L. de los Andes venezolanos. *Pittieria*, Vol. 1, nº 29 y 30: 21-35
- CÁCERES, Y. 2008. Intercambio gaseoso y mecanismos de Resistencia a bajas temperaturas de *Vaccinium meridionale*, en el páramo de "La Aguada". Mérida-Venezuela. Trabajo Especial de Grado. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas.
- CÁCERES, Y. 2011. Relaciones espaciales y mecanismos de interacción entre un arbusto dominante (*Hypericum laricifolium*) y otras especies de plantas en el páramo Altiano. Tesis de Maestría. Postgrado en Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- CARLQUIST, S. 1966. Wood anatomy of Compositae: A summary with comments on factors controlling wood evolution. *Aliso*. Vol 6(2): 25-44.
- CARLQUIST, S. 1984. Vessel grouping in dicotyledon wood: significance and relationship to imperforate tracheary elements. *Aliso*. 10 (4): 505-525.

- CARLQUIST, S. 1997. Wood anatomy of *Argyrophium* (Asteraceae) adaptive radiation and ecological correlations. *Journal of the Torrey Botanical Society*. 124 (1): 1-10.
- CAVENDER, J. Y HOLBROOK, N. 2001. Hydraulic properties and freezing-induced cavitation in sympatric evergreen and deciduous oaks with contrasting habitats. *Plant, Cell and Environment*. 24: 1243-1256.
- CAVIERES, L., RADA, F.; AZÓCAR, A.; GARCÍA, C.; CABRERA, H. 2000. Gas exchange and low temperature resistance in two tropical high mountain tree species from the Venezuelan Andes. *Acta Oecologica* 21 (3): 203–211.
- CHOAT, B.; COBB, A.; JANSEN, S. 2008. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytologist* 177: 608–626.
- COLMENARES, M.; RADA, F. y LUQUE, R. 2005. Anatomía foliar de *Polylepis sericea* Wedd (Rosaceae) a dos altitudes en los Altos andes venezolanos. *Plantula* 3(3): 141-148.
- CUATRECASAS, J. 1958. Aspectos de la vegetación natural de Colombia. *Rev. Acad. Colom. Ci. Exact.* 10 (40):221-268.
- DAVIS, S.; SPERRY, J.; HACKE, U. 1999. The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. *American Journal of Botany* 86: 1367–1372.
- DURÁN, C. 1992. Proyecto Integral de Manejo para la Cuenca Alta Uribante-Caparo y Estado Mérida. M.A.R.N.R. Dirección Regional 12. Mérida, Venezuela.
- ELY, F. 2009. Respuesta ecofisiológica y diversidad genética de *Chusquea* (Bambusoideae, Poaceae) en la cordillera de Mérida. Tesis Doctoral. Postgrado en Ecología Tropical. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela 43-45 pp.
- ELY, F. Y TORRES, F. 2003. Adaptaciones anatómico estructurales foliares de *Chaetolepis llindeniana* (Naud.) Triana (Melastomataceae), a lo largo de un gradiente altitudinal del Páramo de Sierra Nevada de Mérida (Venezuela). *Plantula* 3(2) 111-116
- ELLERBY, D. Y ENNOS, A. 1998 Resistances to fluid flow of model xylem vessels with simple and scalariform perforation plates. *Journal of Experimental Botany* 49:979–985.
- ESCALONA, A. 1999. Anatomía foliar y del xilema en arbustos con aspecto de gimnosperma en el Parque Nacional Sierra Nevada Mérida-Venezuela. Trabajo Especial de grado. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Centro Jardín Botánico (CJB).
- FAHN, A. 1974. *Plant anatomy*. 2^{da} Edición. H. Blume Ediciones. Madrid-España.
- FEILD, T. Y BRODRIBB, T. 2001. Stem water transport and freeze-thaw xylem embolism in conifers and angiosperms a Tasmanian treeline heath. *Oecologia* 127: 314-320.
- FLORES, E. 1999. *La planta: estructura y función*. Vol. II. Libro Universitario Regional. Cartago. 884 pp.
- FRANCO A. Y NOBEL, P. 1988. Interactions between seedlings of *Agave deserti* and the nurse plant *Hilaria rigida*. *Ecology*, 69: 1731–1740.
- FROST, F. 1931. Specialization in secondary xylem of dicotyledons III. Specialization of lateral wall of vessel segment. *Botical Gazette* 91: 88–96.

- GOLDSTEIN, G. Y NOBEL, P. 1991. Changes in osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology*. 97: 954-961.
- GOLDSTEIN, G. Y MEINZER, F. 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.; MEINZER, F.; RADA, F. 1994. Environmental biology of a tropical treeline specie, *Polylepis sericea*. In: Rundel, P; Smith, A; Meinzer, F (Eds), *Tropical alpine environments*. Cambridge University. 129-147 pp.
- GOLDSTEIN, G.; RADA, F.; AZÓCAR, A. 1985. Cold hardiness and supercooling along an altitudinal gradient in Andean giant rosette species. *Oecologia* 68: 147- 152.
- GÓMEZ-APARICIO, L., GÓMEZ, J.; ZAMORA, R.; BOETTINGER, J. 2005. Canopy vs. soil effects of shrubs facilitating tree seedlings in Mediterranean montane ecosystems. *Journal of Vegetation Science*, 16: 191-198.
- HACKE, U; SPERRY, J.; PITTERMANN, J. 2000. Drought experience and cavitation resistance in six desert shrubs of the Great Basin, Utah. *Bas Appl Ecol* 1:31–41.
- HACKE, U. Y SPERRY, J. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 4(2): 97-115.
- HACKE, U.; SPERRY, J.; PITTERMANN, J. 2005. Efficiency vs. safety trade-offs for water conduction in angiosperm vessels vs. gymnosperm tracheids. In N. M. Holbrook and M. A. Zweiniecki [eds.], *Vascular transport in plants*, 333–353. Elsevier, Boston, Massachusetts, USA.
- HEDBERG, O. 1964. Features of afroalpine plant ecology. *Acta Phytogeographica Suecica*. 49: 1-44.
- HOKCHE, O.; PAUL, E.; HUBER, O. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela.
- HOLBROOK, N. Y ZWIENIECKI, M. 1999. Embolismo repair and xylem tension: do we need a miracle? *Plant Physiology* 120: 7-10.
- JANSEN, S.; BAAS, P.; SMETS, E. 2001. Vestured pits: their occurrence and systematic importance in eudicots. *Taxon* 50: 135–167.
- JOHANSEN, D. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw Hill Book I.N.C., 522 pp.
- JOSSE, C.; CUESTA, F.; NAVARRO, G.; BARRENA, V., CABRERA, E., CHACÓN-MORENO, E., FERREIRA, W., PERALVO, M., SAITO, J. Y TOVAR, A. 2009. Mapa de Ecosistemas de los Andes del Norte y Centrales. Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. CAN, Programa Regional ECOBONA, CONDESAN-Proyecto Páramo Andino, Programa BioAndes, EcoCiencia, NatureServe, LTA-UNALM, IAvH, ICAE-ULA, CDC-UNALM, RUMBOL SRL. Lima.
- KIYOTA, S. 2011. Estructura morfoanatómica y resistencia al congelamiento en bambúes de páramo del género *Chusquea* (Bambusoideae: Poaceae). Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Centro Jardín Botánico de Mérida. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- KOLD, K.Y SPERRY, J. 1999. Differences in drought adaptation between subspecies of sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Ecology* 80:2373–2384.

- KÖRNER, CH. 1999. Alpine Plant Life, Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems. Springer Verlag. 338 pp.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, F.; PONS, T. 1998. Plant Physiological Ecology. Springer Verlag, Berlin 540 pp.
- LANGAN, S.; EWERS, F.; DAVIS, S. 1997. Xylem dysfunction caused by water stress and freezing in two species of co-occurring chaparral shrubs. *Plant, Cell and Environment* 20: 425-437.
- LARCHER, W. 1995. Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups 3^a edition. Springer Verlag. Berlin. 506 pp.
- LEVITT, J. 1972. Physiological Ecology: Responses of plant to environmental stresses. Academic Press, New York, USA. 697 pp.
- LINDÉN, L. 2002. Measuring cold hardiness in woody plants. University of Helsinki, Department of Applied Biology, Publication n^o 10. 57 pp.
- LIESE, W. 1965. The fine structure of pits in softwoods. In: Côté WA, ed. Cellular ultrastructure of woody plants. New York, USA: Syracuse University Press, 291–304.
- LOGULLO, M. Y SALLEO, S. 1993. Different vulnerabilities of *Quercus ilex* L. to freezing and summer drought-induced xylem embolism: an ecological interpretation. *Plant cell and Environment*. 16: 511-519.
- MAESTRE, F.; BAUTISTA, S.; CORTINA, J. 2003. Positive, negative, and net effects in grass-shrub interactions in Mediterranean semiarid grasslands. *Ecology* 84: 3186-3197.
- MALAGÓN, D. 1982. Evolución de suelos en el páramo andino (NE del Estado Mérida-Venezuela). Serie: Suelos y Clima Sc 56. CIDIAT. Mérida.
- MÁRQUEZ, E. 2002. Efecto de la Altitud sobre la Distribución de las Gramíneas en el Páramo. Tesis de Maestría. Postgrado en Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- MÁRQUEZ, E.; RADA, F.; FARIÑAS, M. 2006. Freezing tolerance in grasses along an altitudinal gradient en the Venezuelan Andes. *Oecologia* 150: 393-397.
- MEINZER, F. Y GOLDSTEIN, G. 1985. Some consequence of leaf pubescence in the Andean giant rosette plant *Espeletia timotensis*. *Ecology* 66(2):512-520.
- MELCHER, P.; GOLDSTEIN, G.; MEINZER, F.; YOUNT, D.; JONES, T.; HOLBROOK, N.; HUANG, C. 2001. Water relations of coastal and estuarine *Rhizophora mangle*: xylem pressure potential and dynamics of embolism formation and repair. *Oecologia* 126: 182-192.
- MILBURN, J. 1979. Water flow in plants, Longman, London.
- MINISTERIO DE MINAS E HIDROCARBUROS. 1970. Léxico estratigráfico de Venezuela. Edit. Sucre. Caracas, Venezuela.
- MONASTERIO, M. 1971. La Alta Montaña de América Tropical. Estudios Ecológicos en Los Ecosistemas de Páramo. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 15 pp.

- MONASTERIO, M. 1979. El Páramo Desértico en el Altiandino de Venezuela. En: Salgado-Labouriau, M. L (Ed) El Medio Ambiente Páramo. Ediciones del CIET-IVIC/MAB-UNESCO. Caracas 117-146 pp.
- MONASTERIO, M. 1980a. Los Páramos Andinos como región natural. Características biogeográficas naturales y afinidad con otras regiones andinas. En: Monasterio, M. (Ed): Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 15-27 pp.
- MONASTERIO, M. 1980b. Las formaciones Vegetales de los páramos de Venezuela. En: M. Monasterio (Ed): Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 93-158 pp.
- MONASTERIO, M. Y REYES, S. 1980. Diversidad ambiental y variación de la vegetación en los páramos de los Andes Venezolanos. En: M. Monasterio (ed). Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 47-91 pp.
- MONASTERIO, M. Y MOLINILLO, M. 2003. Venezuela. En: Hofstede, R; Segarra, Mena, P. (Eds). Los páramos del mundo. Proyecto Atlas Mundial de los Páramos. Global peatland Initiative/NC-IUCNE/ EcoCiencia. Quito. 205-237 pp.
- OYOLA, A. 2007. Ecología del tabacote morado (*Senecio formosus*) en el páramo altiandino Venezolano, estado Mérida. En: Giraldo, D.; Rojas, F.; Romero, V. Una mano a la naturaleza conservando las especies amenazadas Venezolanas. 70 pp.
- PÉREZ, F. 1984. Striated soil in an Andean paramo of Venezuela: its origin and orientation. *Arctic and Alpine Research* 16: 277-289.
- PÉREZ, F. 1991. Soil moisture and the distribution of giant Andean rosettes on talus slopes of a desert paramo. *Climate Research* 1: 217-231.
- PÉREZ, F. 1992. The influence of organic matter addition by caulescent Andean rosettes on superficial soil properties. *Geoderma* 54: 151-171.
- PDVSA-Intevep. 2007. Código estratigráfico de las cuencas petroleras de Venezuela. Editado por el Comité Interfiliar de Estratigrafía y Nomenclatura (CIEN). <http://www.pdvsa.com/lexico/>
- PITTERMANN, J. Y SPERRY, J. 2003. Tracheid diameter is the key trait determining the extent of freezing-induced embolism in conifers. *Tree physiology* 23: 907-914.
- POCKMAN, W. Y SPERRY, J. 1997. Freezing-induced xylem cavitation and the northern limit of *Larrea tridentata*. *Oecologia* 109: 19-27.
- POCKMAN, W. Y SPERRY, J. 2000. Vulnerability to cavitation and the distribution of Sonoran Desert vegetation. *American Journal Botany* 87:1287–1299
- PUNTES, J. 2010. Patrones mecanismos de establecimiento de dos especies leñosas en la transición entre el bosque paramero y el páramo en Los Andes Tropicales. Tesis de Maestría. Postgrado en Ecología Tropical Instituto de Ciencias Ambientales y ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- RADA, F. 1983. Mecanismos de resistencia a temperaturas congelantes en *Espeletia spicata* y *Polylepis sericea*. Unpublished MS thesis. Universidad de Los Andes, Merida, Venezuela.

- RADA, F.; GOLDSTEIN, G; AZOCAR, A. y MEINZER, F. 1985a. Freezing avoidance in Andean giant rosette plants. *Plant, Cell and Environment* 8: 501-507.
- RADA, F.; GOLDSTEIN, G; AZOCAR, A. y MEINZER, F. 1985b. Daily and seasonal osmotic changes in a tropical treeline species. *Journal of Experimental Botany*. 36: 989-1000
- RADA, F.; GOLDSTEIN, G.; AZÓCAR, A.; TORRES, F. 1987. Supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schultzii* a caulescent giant rosette species. *Journal Experimental Botany* 38: 491-497.
- RADA, F.; BRICEÑO, B; AZÓCAR, A. 2008. How do two *Lupinus* species respond to temperature along an altitudinal gradient in the Venezuela Andes?. *Revista Chilena de Historia Natural*. 81: 335-343.
- RODRÍGUEZ, E. 2010. Caracterización del componente leñoso en comunidades del Ecotono Bosque Paramero-Páramo en San José, Estado Mérida. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- ROSQUETE, C. 2004. Estudio del balance energético foliar en *Ruilopezia atropurpurea* (A.C.Sm.) Cuatrec. (especie no pubescente) y *Espeletia schultzii* Wedd. (especie pubescente) en el Páramo Venezolano. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- RUNDEL, P. 1994. Tropical alpine climates. En: Rundel, P; Smith, A; Meinzer, F. (Eds). *Tropical Alpine Environment*. Cambridge. University Press. Cambridge. 22-44 pp.
- SANO, Y. 2005. Inter-and intraspecific structural variations among intervacular pit membranes as revealed by field-emission scanning electron microscopy. *American Journal of Botany* 92: 1077–1084.
- SARMIENTO, G. 1986. Ecological features of climate in high tropical mountains. En: Villeumier, F y Monasterio, eds. *High Altitude Biogeography*. Oxford University Press. 11-48 pp.
- SARMIENTO, G.; MONASTERIO, M.; AZÓCAR, A.; CASTELLANOS, E.; SILVA, J. 1971. Estudio integral de la cuenca de los ríos Chama y Capazón. *Vegetación natural*. Oficina de publicaciones geográficas, ULA, Mérida. 84 pp.
- SCHULTE, P. Y CASTLE, A. 1993 Water flow through vessel perforation plates: a fluid mechanical approach. *Journal of Experimental Botany* 44:1135–1142.
- SCHMID, R. 1965. The fine structure of pits in hardwoods. In: Côté WA, ed. *Cellular ultrastructure of woody plants*. New York, USA: Syracuse University Press, 291–304.
- SHAGAM, R. 1969. Geología de Los Andes Merideños. Inf. Inédito Min. Energía y Minas. Dir. Geol; Div. Explor. Mérida. Silva, G. 2002. Clasificación de los pisos térmicos de Venezuela.
- SHINOZAKI, K; YODA, K; HOZUMI, K; KIRA, T. 1964. A quantitative analysis of plant.-The pipe model theory I. *Basic Analyses*. *Japanese Journal of Ecology* 14 (3): 97-139.
- SILVA, C. 2010. Distribución y morfología de rosetas caulescentes en el Paramo de San José, Estado Mérida, Venezuela. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

- SMITH, A. 1974. Bud temperature in relation to nyctinastic leaf movement in an Andean giant rosette plant. *Biotropica* 6: 263-266.
- SMITH, A. 1979. The function of dead leaves in *Espeletia schultzii* (Compositae) an Andean giant rosette plant. *Biotropica* 11: 43-47.
- SODJA, I. 2001. Estudio florístico del Cerro Pozo Negro, Páramo de San José (Mérida-Venezuela). Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología. Centro Jardín Botánico de Mérida. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- SPERRY, J. Y TYREE, M. 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* 88: 581-587.
- SPERRY, J. Y SULLIVAN, J. 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous, and conifer species. *Plant Physiology* 100: 605-613.
- SPERRY, J.; NICHOLS, K.; SULLIVAN, J.; EASTLACK, S. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse porous and coniferous trees of northern Utah and interior Alaska. *Ecology* 75: 1736-1752.
- SPERRY, J. 2003. Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Sciences* 164: S115–S127.
- SPERRY, J.; HACKE, U.; PITTERMANN, J. 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* 93(10): 1490–1500.
- SQUEO, F.; RADA F.; AZÓCAR A.; GOLDSTEIN G. 1991. Freezing tolerance and avoidance in high tropical Andean plants: is it equally represented in species with different plant height? *Oecologia* 86: 378-382.
- TROLL C. 1968. The Cordilleras of the Tropical Americas. Aspects of the Climate, Phytogeographical and Agrarian Ecology. In C. Troll (Ed): *Geo-Ecology of the Mountain Regions of The Tropical Americas*. Proceedings of the UNESCO Mexico Symposium: 13-56 pp.
- TORRES, F. 1979. Anatomía del xilema de Espeletiinae Cuatrecasas. En: Salgado-Labouriau. (Ed). *El Medio Ambiente Páramo*. Centro de estudios avanzados. IVIC. Caracas, Venezuela. 101-115 pp.
- TORRES, F.; GAVIRIA, J.; PERAZA, J. 1996. Anatomía foliar de *Oritrophium* (H. B. K.) Cuatrec. del páramo de Sierra Nevada, Estación Loma Redonda. *Plantula* 1(1): 65-73.
- TORRES, F. 2003. Estructura y función nictinástica de la vaina foliar de *Coespeletia* Cuatrec. *Plantula* 3(2): 88-89.
- TORRES, F Y LUQUE, R. 2007. Anatomía foliar de plantas de los páramos de Venezuela. Simposio del XVII Congreso Venezolano de Botánica.
- VIVAS, Y. Y UBIERGO, P. 2010. Asteraceae del Valle Morrénico de Mucubají, estado Mérida, Venezuela. *Rev. Fac. Agron.* 27: 39-60
- YÁNEZ, A. 1998. Análisis de la distribución de especies vegetales a lo largo de un gradiente altitudinal Páramo-Selva Nublada del Parque Nacional Sierra Nevada, Venezuela. Tesis de Maestría. Postgrado en Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

ZIMMERMANN, M. Y MILBURN, J. 1982. Transport and storage of water. In: Encyclopedia of plant physiology, N.S. Vol. 12B; Lange, O.; Nobel, P.; Osmond, C. y Ziegler, H. (Eds.) Springer-Verlag, Berlin.