

Universidad de los Andes  
Facultad de Ciencias  
Departamento de Biología

**Estructura morfoanatómica y resistencia al congelamiento en bambúes de páramo del género *Chusquea* (Bambusoideae: Poaceae)**

Br. Kiyota Sayuri

Tutora: Francisca Ely

Cotutor: Fermín Rada

Mérida, Abril de 20



**C I E N C I A S**  
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
MÉRIDA VENEZUELA

**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**

**KIYOTA BELTRÁN SAYURI TATIANA**


En Mérida a los 5 días del mes de Mayo del año 2011, a las 9:00 a.m. se reunieron los Profesores: Francisca Ely Bali (tutora), Fermín Rada (Cotutor), Luz Thais Castro, Carlos García, de la Facultad de Ciencias, miembros del jurado nombrado por el Consejo de la Facultad de Ciencias, para revisar el Trabajo Especial de Grado que sobre el tema: “**Estructura morfoanatómica y resistencia al congelamiento en bambúes de páramo del género *Chusquea* (Bambusoideae: Poaceae)**”, que presentó la Bachiller: Kiyota Beltrán Sayuri Tatiana, titular de la Cédula de Identidad N° V014916049, 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: Kiyota Beltrán Sayuri Tatiana.

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. Recomendado para su publicación.

  
Prof. Francisca Ely  
Tutora



  
Fermín Rada  
Cotutor

  
Prof. Carlos García.  
Jurado

  
Prof. Luz Thais Castro.  
Jurado

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**

Núcleo “Pedro Rincón Gutiérrez”, Edificio “A”, Facultad de Ciencias Mérida 5101 - República Bolivariana de Venezuela  
Teléfono: (58 - 274) 240 1291 / 240 1292 - Fax: 240 1290 - Web: [www.ciens.ula.ve](http://www.ciens.ula.ve) Correo\_e: [dptobiologia@ula.ve](mailto:dptobiologia@ula.ve)

## AGRADECIMIENTOS

Muchas son las circunstancias, personas y cosas que se involucran a la hora de emprender un trabajo, es este apartado quiero agradecer a todas aquellas personas e instituciones que de alguna manera influyeron positivamente sobre mí para que este trabajo se llevara a cabo, agradezco:

A Dios, porque esta experiencia me dejó el buen sabor del conocimiento para la vida.

A mis padres, Ricardo y Ana, que me educaron, guiaron y me han brindado siempre su apoyo incondicional.

A mis hermanas, Erika y Akemi, por siempre estar a mi lado y animarme cada vez que me desilusionaba durante la carrera y la tesis.

A mi cuñis Luis, por siempre estar dispuesto a asistirme con las clases virtuales. Excelente profesor skypcero y cuñis...

A mis padres académicos, Pancha (tutora) y Fermín (cotutor) por su dedicación, consejos y paciencia. De verdad no sólo han sido mis guías académicos sino también de vida.

Al prof. Carlos García, Thais Castro y Yelitza León por sus recomendaciones y observaciones puntuales que permitieron darle solidez a este trabajo.

A la familia Olmos, mi familia putativa. Francisco, Hermes, Sara, Lisandro y Angela García, por su incondicional ayuda, amor y comprensión.

A Meiby y Roberto que me sacaron de apuros en muchas ocasiones durante la tesis, y me acompañaron en la facul cuando ya se me hacía tarde por las noches desiertas de la hechi ó los domingos fantasmas.

A Josefina Peraza, por darme los trucos anatómicos y hacerme reír con sus inventos en el laboratorio, sin ella la verdad no hubiese sido tan divertida la anatomía.

Al Centro Jardín Botánico de Mérida y sus integrantes, en especial al profe Juan Gaviria que al hablar tiene un don especial para motivarlo a uno para enamorarnos aún más de la biología y de la vida, y por supuesto a Carmen la secretaria de esta institución por estar siempre dispuesta a ayudarme.

A los miembros del ICAE, prof. Anaraimiz, Teresa, Eulogio, Luis Daniel, Liccia, Michel y Lina por contribuir en mi formación académica durante la opción de la carrera. A William Dugarte y Jhonny Márquez, por llevarme a campo y calarme con el tobo de agua pa todos lados. A Nanci, Idalba y Alejandra por asistirme cuando más lo necesitaba.

A mis amigos del alma Reyna, Biby, Angelxa y Deryck, por los hermosos momentos que hemos compartido y por siempre estar conmigo.

A Javier, Dariana, Lisangela, Joali, José, Leo y Carhel grandes amigos, aunque son de medio reciente aparición en mi vida, ha sido intensa la cosa. Gracias por estar siempre pendiente de mí y por hacerme despejar la mente en esos momentos full estrés.

A los páramos por su silencio y tranquilidad con la cual siempre me contagiaba en campo.

A Sioly que siempre con su buen semblante soluciona cualquier problema a los estudiantes.

Al Laboratorio de Análisis Químico de Materiales LAQUEM-ULA, especialmente al Lic. Jorge por colaborar con la parte de microscopía electrónica.

A INPARQUES por conceder el permiso para coleccionar el material de estudio.

Al CDCHT por financiar parte de esta investigación.

A todas aquellas personas que de alguna manera u otra colaboraron durante la elaboración de este trabajo, pero que se me escaparon en este momento.

A todos gracias...

## Resumen

*Chusquea* (Bambusoideae: Poaceae) es un género neotropical muy representativo, por su diversidad en especies y la elevada proporción de endemismos en los Andes del Norte. Este género se asocia típicamente bosques; no obstante, en Venezuela existen cuatro especies asociadas a páramos, de las cuales tres crecen en el Estado Mérida: *C. angustifolia* (2525-2700m), *C. spencei* (2670-3650m) y *C. guirigayensis* (3800-4010m). Las dos primeras especies se solapan en su intervalo de distribución; sin embargo, no se han hallado coexistiendo. La colonización y permanencia de *Chusquea* en los páramos sugiere el desarrollo de una serie de adaptaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas, acerca de las cuales existe muy poca información, dado que los trabajos en este grupo son muy limitados hasta la fecha. El objetivo del presente trabajo fue determinar las adaptaciones anatómicas y fisiológicas a bajas temperaturas que desarrolló este género para colonizar el páramo. *C. angustifolia* fue colectado en el Páramo Las Piñuelas, *C. spencei* en el Páramo El Molino y *C. guirigayensis* en el Páramo Piedras Blancas. En el caso de *C. spencei*, por la amplitud de su intervalo altitudinal (980 m), también se trabajó con especímenes colectados previamente por Ely (2009) en los páramos La Culata y La Aguada. El material para estudios anatómicos se fijó en FAA y el resto se dejó rehidratando 24 h para determinar el AF y AFE, y para los estudios fisiológicos. El material de estudio anatómico de hoja y culmo se ablandó previamente con solución Franklin y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y se preparó mediante raspados de epidermis y cortes a mano alzada, los cuales se tiñeron con azul astra-fucsina básica. Adicionalmente, se realizaron micrografías con MEB de la superficie foliar. Se estudió la resistencia a bajas temperaturas de los tejidos foliares, determinando las temperaturas de congelamiento extracelular y de daño, mediante el método de liberación de electrolitos. Los mayores valores de AFE correspondieron a los individuos de *C. spencei* de mayor tamaño (poblaciones La Culata y La Aguada), y los menores, en sentido decreciente a *C. angustifolia*, *C. guirigayensis* y *C. spencei* de El Molino. Las tres especies presentan caracteres anatómicos xeromórficos en hojas y culmos; en el primer caso representados por: cutículas engrosadas, células epidérmicas adaxiales altas y abaxiales con papilas muy proyectadas, abundantes aguijones, mesófilo compacto, células fusoides ausentes o incipientes y abundante esclerenquima asociado a los haces vasculares. En el segundo: cutícula engrosada, un anillo esclerenquimático periférico muy lignificado, células parenquimáticas con paredes engrosadas y vasos estrechos. Las tres especies evaden el congelamiento sobreenfriando entre -12 y -10 °C. La evasión probablemente representa un atributo propio del género, más que una respuesta al ambiente, y es complementado por la complejidad estructural y los caracteres xeromórficos antes mencionados.

## Índice

<b>1. Introducción y antecedentes .....</b>	<b>1</b>
1.1. El género <i>Chusquea</i> .....	1
1.2. Distribución .....	2
1.3. El ecosistema páramo.....	3
1.4. Adaptaciones morfológicas y anatómicas foliares desarrolladas en arbustos de páramo...7	
1.5. Anatomía de <i>Chusquea</i> .....	7
1.6. Respuestas desarrolladas por las plantas frente a las bajas temperaturas .....	9
<b>2. Hipótesis .....</b>	<b>13</b>
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>14</b>
3.1. General.....	14
3.2. Específicos .....	14
<b>4. Metodología .....</b>	<b>15</b>
4.1. Área de estudio.....	15
4.1.1. Páramo Las Piñuelas (8°37'35,2" N, 71°24'18,9"W) .....	16
4.1.2. Páramo El Molino (8°28'80,5"N; 71°57'02,7"W).....	17
4.1.3. Páramo de Piedras Blancas (8°53'35,7"N; 70° 57'27,9"W). .....	17
4.2. Selección y recolección del material de estudio .....	18
4.3. Descripción de las especies.....	19
4.3.1. <i>Chusquea angustifolia</i> . (Soderstr. & C. Calderón) L.G. Clark. ....	19
4.3.2. <i>Chusquea spencei</i> Ernst. ....	19
4.3.3. <i>Chusquea quirigayensis</i> Niño, L.G. Clark & Dorr.....	20
4.4. Microclima.....	21

4.5. Determinación del área foliar y área foliar específica .....	21
4.6. Anatomía .....	21
4.7. Pruebas histoquímicas.....	22
4.7.1.Tinción con sudan III .....	22
4.7.2.Tinción con fluoroglucinol.....	22
4.7.3.Tinción con cloruro férrico .....	23
4.7.4.Tinción con lugol .....	23
4.8. Microfotografía de barrido .....	23
4.9. Determinación de la capacidad de sobreenfriamiento y temperaturas de daño de las especies .....	23
4.9.1.Capacidad de sobreenfriamiento.....	23
4.9.2.Temperatura de daño celular .....	24
4.10. Análisis estadístico .....	25
<b>5. Resultados .....</b>	<b>26</b>
5.1. Datos de Microclima .....	26
5.2. Área foliar específica (AFE) .....	27
5.3. Morfoanatomía.....	27
5.3.1. <i>Chusquea angustifolia</i> .....	27
a) Descripción exomorfológica.....	27
b) Descripción anatómica .....	27
5.3.2. <i>Chusquea spencei</i> , población El Molino.....	29
a) Descripción exomorfológica.....	29
b) Descripción anatómica: .....	29
5.3.3. <i>Chusquea spencei</i> , población La Culata .....	30
a) Descripción exomorfológica.....	30
b) Descripción anatómica .....	30

5.3.4. <i>Chusquea spencei</i> , población La Aguada .....	32
a) Descripción exomorfológica.....	32
b) Descripción anatómica: .....	32
5.3.5. <i>Chusquea guirigayensis</i> .....	33
a) Descripción exomorfológica.....	33
b) Descripción anatómica .....	33
5.4. Pruebas histoquímicas.....	39
5.5. Resistencia a temperaturas congelantes.....	56
<b>6. Discusión .....</b>	<b>58</b>
6.1. Microclima.....	58
6.2. Estructura exomorfológica .....	59
6.3. Estructura y adaptaciones morfoanatómicas.....	61
6.3.1. Anatomía foliar .....	61
6.3.2. Anatomía caulinar .....	67
6.4. Respuesta a temperaturas congelantes .....	69
<b>7. Conclusiones .....</b>	<b>72</b>
<b>8. Bibliografía.....</b>	<b>75</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Temperaturas promedio, mínimas promedio y absolutas, y máximas promedio y absolutas de cada localidad. ....	26
<b>Tabla 2.</b> Promedios de área foliar (AF) y de área foliar específica (AFE) para cada una de las especies en las diferentes altitudes estudiadas. ....	27
<b>Tabla 3.</b> Disposición de estomas, tipo de células subsidiarias y densidad estomática. ....	35
<b>Tabla 4.</b> Densidad de células silíceas (CS).....	35
<b>Tabla 5.</b> Dimensión de células epidérmicas foliares.....	36
<b>Tabla 6.</b> Dimensiones de las células del mesófilo. ....	37
<b>Tabla 7.</b> Longitud de las papilas .....	37
<b>Tabla 8.</b> Diámetro y N° de haces vasculares, N° de células raquimorfias que separan los haces vasculares y N° de células buliformes agrupadas. ....	38
<b>Tabla 9.</b> Valores promedio del diámetro de los elementos de vaso y de las células parenquimáticas.....	38
<b>Tabla 10.</b> Resultados de las pruebas histoquímicas foliares. ....	39
<b>Tabla 11.</b> Observaciones de las pruebas histoquímicas en culmo. ....	40
<b>Tabla 12.</b> Temperaturas de congelamiento extracelular y de daño para las diferentes especies. ....	57

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Mapa del Estado Mérida, ilustra los tres páramos donde se realizaron los muestreos. .....	15
<b>Figura 2.</b> Localidad las Piñuelas.....	16
<b>Figura 3.</b> Localidad Páramo El Molino.....	17
<b>Figura 4.</b> Localidad Páramo Piedras Blancas.....	17
<b>Figura 5.</b> <i>Chusquea angustifolia</i> en las Piñuelas.....	19
<b>Figura 6.</b> <i>C. spencei</i> a 2670 m snm.....	20
<b>Figura 7.</b> <i>C. spencei</i> a 2950m snm.....	20
<b>Figura 8.</b> <i>C. spencei</i> a 3650m snm.....	20
<b>Figura 9.</b> <i>C. guirigayensis</i> en el Páramo Piedras Blancas .....	20
<b>Figura 10.</b> Anatomía foliar de <i>Chusquea angustifolia</i> .....	41
<b>Figura 11.</b> Vista en sección transversal del culmo de <i>Chusquea angustifolia</i> .....	43
<b>Figura 12.</b> Anatomía foliar de <i>Chusquea spencei</i> , localidad El Molino.....	44
<b>Figura 13.</b> Vista en sección transversal del culmo de <i>C.spencei</i> , localidad El Molino.....	46
<b>Figura 14.</b> Anatomía foliar de <i>Chusquea spencei</i> , localidad La Culata.....	48
<b>Figura 15.</b> Vista en sección transversal del culmo de <i>C. spencei</i> , localidad La Culata.....	49
<b>Figura 16.</b> Anatomía foliar de <i>Chusquea spencei</i> , localidad La Aguada.....	50
<b>Figura 17.</b> Vista en sección transversal del culmo de <i>C. spencei</i> localidad La Aguada .....	51
<b>Figura 18.</b> Anatomía foliar de <i>Chusquea guirigayensis</i> .....	52
<b>Figura 19.</b> Vista en sección transversal del culmo de <i>C. guirigayensis</i> .....	54
<b>Figura 20.</b> Pruebas histoquímicas en hoja y culmo.....	55
<b>Figura 21.</b> Temperaturas de sobreenfriamiento (exotermas) para cada especie en estudio. ....	56

## 1. Introducción y antecedentes

### 1.1. El género *Chusquea*

Bambú es el nombre genérico utilizado tradicionalmente para designar a las gramíneas pseudoleñosas pertenecientes a la subfamilia Bambusoideae. Su distribución a nivel mundial es bastante amplia, abarca zonas tropicales y subtropicales de Asia, África, América y Australia (Clark, 1989; Hyde *et al.*, 2002). En este grupo de plantas encontramos una gran diversidad de tamaños y de hábitos, dado que abarca desde plantas herbáceas hasta leñosas, estas últimas pueden ser trepadoras, arbustivas o arborescentes de hasta 30 m. A su vez, los bambúes también se destacan dentro de las gramíneas por presentar ciclos de floración excepcionalmente largos entre 10 a 100 años, cuya duración varía en función de la especie (Calderón y Soderstrom, 1980; Judziewicz *et al.*, 1999). En la mayoría de los casos, la floración es gregaria (Judziewicz, *et al.* 1999); sin embargo, en los bambúes de páramo la floración es asincrónica (Clark, 1989; Judziewicz *et al.*, 1999; Ely, 2009). La capacidad de los bambúes de colonizar grandes extensiones se debe a su eficiente reproducción asexual mediante rebrotes del rizoma o enraizamiento de culmos. Este modo de propagación clonal es efectivo siempre y cuando las condiciones de luz y humedad sean óptimas (Stern *et al.*, 1999; Okutomi *et al.*, 1996). Los culmos originados de este modo son genéticamente idénticos al resto y se conocen como ramets. El conjunto de ramets de un individuo se denomina genet (Calderón y Soderstrom, 1980; Judziewicz, *et al.*, 1999).

De los géneros de bambúes del neotrópico, el género *Chusquea* destaca como el más representativo, gracias a su alta diversidad en especies. Este género abarca a los bambúes pseudoleñosos de culmo sólido, con yemas vegetativas polimórficas y espiguillas uniflosculadas, con flósculos conformados por tres estambres y dos ramas estilares (McClure, 1973; Clark, 1989). La morfología, disposición, número y tamaño de las yemas vegetativas constituyen un carácter propio del género; típicamente los nudos presentan una yema central de mayor tamaño circular o triangular, flanqueada por pocas a numerosas yemas subsidiarias (Clark, 1989). Las hojas son muy variables, desde pequeñas y aciculares a grandes y acintadas, y la vaina carece de setas o fimbrias (Judziewicz *et al.*, 1999).

## 1.2. Distribución

**Chusquea**, es uno de los géneros que presenta el intervalo de distribución más amplio, tanto desde el punto de vista geográfico como altitudinal; se extiende desde México hasta Argentina y Chile, y crece entre los 1500 y 4300 m snm (McClure, 1973; Clark, 1989; Judziewicz *et al.*, 1999; Clark *et al.* 2007). A pesar de que la mayor proporción de las especies de *Chusquea* crecen en bosques; también encontramos especies que crecen en los ecosistemas de páramo (Judziewicz *et al.*, 1999; Clark, 1989; Ely, 2009; Clark y Ely, 2011). De las trece especies de *Chusquea* que se han descrito para Venezuela, ocho están presentes en la Cordillera de Mérida y de éstas, cuatro, pertenecientes todas al subgénero *Swallenochloa*, crecen en ecosistemas de páramo: ***Chusquea angustifolia***, ***C. guirigayensis***, ***C. spencei*** y ***C. tesellata*** (Clark, 1989; Cuello *et al.*, 2010; Clark y Ely, 2011). En el presente estudio, nos enfocaremos en describir la distribución de las tres primeras, por el hecho de que crecen en el Estado Mérida. ***C. angustifolia*** y ***C. spencei*** crecen en los páramos de Venezuela y Colombia (Clark, 1989), mientras que ***C. guirigayensis*** es endémica de Venezuela (Niño *et al.*, 2006; Clark y Ely, 2011). En Venezuela, ***C. angustifolia*** se distribuye entre los 2500-2800 m y se limita a la región andina del occidente del país; a los estados Táchira (Páramo de Tamá), Trujillo-Lara (Páramo de Jabón y Páramo de Guaramacal), Mérida (Sierra la Culata: Páramo las Piñuelas-El Tambor) y Zulia (Sierra de Perijá). ***C. spencei*** abarca un intervalo altitudinal más amplio, situado entre los 2670 y 3650 m s.n.m, y crece en los mismos cuatro estados mencionados anteriormente para *C. angustifolia*; sin embargo, también crece en Sierra Nevada y en las regiones más elevadas de la Cordillera de La Costa, por lo que de las tres especies, es la que tiene el intervalo de distribución más amplio, tanto desde el punto de vista altitudinal como geográfico (Clark, 1989; Ely, 2009; Cuello *et al.*, 2010).

Cabe destacar que aun cuando *C. spencei* puede crecer a la misma altitud que *C. angustifolia*, los estudios florísticos realizados indican que con excepción del Páramo de Guaramacal (Cuello *et al.*, 2010), no coexisten en una misma localidad. Por su lado, ***C. guirigayensis*** presenta un distribución muy restringida y discontinua en el país. De las tres especies, es la que presenta el intervalo altitudinal más limitado, a la vez que el más elevado; dado que las únicas dos localidades donde crece son el Monumento de Guirigay, entre los 3000 y 3900(3500-3600) m snm (Páramo de Niquitao), ubicado en el estado Trujillo, donde fue reportado por primera vez (Niño *et al.* 2006) y en el páramo de Piedras Blancas, estado Mérida; donde se reportó por segunda vez, creciendo entre los 3760-4010m (Ely, 2009). Siendo éstos los patrones de distribución de cada especie en el Estado Mérida, es evidente que los

intervalos de distribución de *C. angustifolia* y *C. spencei* nunca llegan a solaparse con el de *C. guirigayensis*.

### 1.3. El ecosistema páramo

El levantamiento final de la Cordillera Andina ocurrió durante el Pleistoceno. Durante esta era geológica, transcurrieron varios periodos glaciares e interglaciares, que bajo el marcado régimen diario de las latitudes tropicales (que no son comparables con los regímenes estacionales de las latitudes templadas), dieron origen a filtros y corredores ecológicos que modelaron el paisaje, dando lugar a un nuevo ecosistema: **El Páramo** (Monasterio, 2002)

El **páramo** es un ecosistema de alta montaña tropical, que en el presente se extiende desde los 9°N en Costa Rica hasta 8°S en Perú (Schubert *et al.*, 1993). Una definición más acertada para este ecosistema es difícil de proponer, ya que la creación de un concepto homogéneo de páramo varía entre los autores, debido a la diversidad de criterios y perspectivas con la que se enfoca el término. Los diferentes criterios climáticos, altitudinales, fisionómicos y florísticos han permitido acercarse a crear una definición de páramo.

Según el criterio **climático**, el páramo se caracteriza por presentar una alta radiación (Hedberg, 1964; Vareschi, 1970; Smith, 1988), bajas presiones parciales de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (Woodward, 1986; Woodward y Bazzaz, 1988 y Körner, 1988); una isoterma anual de baja temperatura de aproximadamente 10°C (Sarmiento, 1987; Monasterio y Reyes, 1980), con fluctuaciones térmicas diarias donde las mínimas se dan en horas de la madrugada, pudiendo llegar a descender por debajo de cero (0°C), y las máximas en horas cercanas al mediodía pudiendo llegar a exceder los 30°C, mientras que los ritmos estacionales tienen poca relevancia (Monasterio, 1980b, 2002; Monasterio y Reyes, 1980; Azocar y Rada, 2006). El régimen de precipitación varía entre 650 mm y 1800 mm (Monasterio y Reyes, 1980), dependiendo de la vertiente que se trate, según la exposición de la ladera con respecto a los vientos y a la incidencia solar, es decir, si es de sotavento o barlovento en el primer caso ó si es de solana ó umbría en el segundo caso (Monasterio, 1979, 1980b, 2002). Todos estos factores climáticos varían según la franja altitudinal donde se encuentre dicho páramo. Otro factor ambiental que caracteriza a los páramos son los suelos poco desarrollados, ácidos, con poca retención de agua (Fariñas y Monasterio, 1980) y pobres en nutrientes (Azocar, 1974; Baruch, 1979).

Según el criterio **altitudinal**, el páramo es definido como un ecosistema ubicado típicamente entre el límite arbóreo y las nieves perpetuas (Monasterio, 1980b; Ricardi *et al.*,

1997; Márquez *et al* 2004). El establecimiento de los límites tanto inferior como superior del páramo ha sido un tema controversial hasta hoy día. Monasterio (1980b) sugirió que el límite inferior de los páramos venezolanos se ubica entre los 3000-3400 m de altitud, aunque aclara que este límite puede descender a 2500 m ó ascender hasta los 3500 m de altitud, dependiendo de si la vertiente es húmeda ó seca. En contraste, el límite superior del páramo está determinado por la aparición de las nieves perpetuas, es decir, entre los 4500-4800 m de altitud, dependiendo del estado de evolución de los glaciares. La variación de los límites del páramo está influenciada por distintos factores, tanto a escala regional como local; principalmente está dada por la exposición de la ladera, el régimen de precipitación local, la pendiente, la insolación, la nubosidad y la naturaleza de la formación geológica (Monasterio, 1980b).

La distinción del límite arbóreo (treeline) y del páramo puede resultar compleja, ya que entre estos dos ecosistemas hay un gradiente de condiciones ambientales, que genera un mosaico de vegetación con especies propias de ambos ecosistemas (Azócar, 1981; Ramírez, 2008), y especies exclusivas de este ecotono (Tirado, 1997; Berg y Suchi, 2000). El límite arbóreo no sólo viene determinado por las condiciones ambientales, sino que también su disposición tiene un gran peso a escala temporal.

Por último, definiremos el páramo en función de criterios **fisonómicos** y **florísticos**, ya que estos dos están estrechamente relacionados. La fisonomía y composición florística de los páramos se caracteriza principalmente por la presencia de gramíneas en macollas o en cojines como *Calamagrostis*, *Cortaderia*, *Poa*, *Azorella*, *Aciachne* y *Lachemilla*; arbustos enanos, como *Hypericum*, *Chaetolepis* y *Vaccinium*, musgos, líquenes, rosetas caulescentes como *Puya* y *Espeletia* y árboles de bajo porte como son *Polylepis* y *Gynoxis* (Berg y Suchi, 2000; Briceño y Morillo, 2006). Entre las familias más representativas del páramo, en función de su dominancia y diversidad, están en primer lugar las Asteraceae y en segundo lugar las Poaceae. Las primeras han sido ampliamente estudiadas, principalmente desde el punto de vista florístico, fisiológico y morfoanatómico. En contraste, las Poaceae han recibido mucho menos atención pese a su representatividad, en particular desde el punto de vista fisiológico (Márquez *et al.*, 2004, 2006; García 2008; Ely, 2009).

A pesar de que los criterios fisonómicos y florísticos son sin duda alguna, unos de los más apropiados y menos ambiguos para definir este ecosistema, también éstos varían dentro del mismo páramo. El incremento en la altitud en los páramos genera un gradiente de condiciones

climáticas que aunado a las características edáficas generan zonas o franjas de vegetación. Ataroff y Sarmiento (2004), basándose en los distintos microambientes generados a lo largo del gradiente altitudinal, proponen un arreglo del mismo en dos niveles; el primero más genérico, abarca los pisos ecológicos, y en un nivel de mayor detalle, las unidades ecológicas. Dentro del ecosistema páramo se distingue el piso altiandiano entre los 4800 y 4000 m de altitud, el piso andino superior ubicado entre los 4000 y 3000 m de altitud y entre los 3000 y 2000 m de altitud el piso andino inferior. Cada uno de estos pisos ecológicos está asociado a distintas unidades ecológicas, las cuales dependen su establecimiento de las diversas condiciones de temperatura, precipitación, naturaleza del suelo, vientos, entre otros factores ambientales.

Monasterio (1980a) propone seis distintas asociaciones de vegetación (cinturones o franjas de vegetación) que se pueden encontrar en los pisos altitudinales de los páramos venezolanos, en sentido descendiente: El páramo desértico, donde prevalece el rosetal alto y abierto, constituido principalmente por los géneros *Coespeletia* y *Espeletia*; que son típicos del páramo de Piedras Blancas. En este desierto periglacial, es común encontrar suelos desnudos alternando con plantas formadoras de cojines, pequeños arbustos, asociadas a rosetas y hierbas, o éstas últimas creciendo en forma solitaria. Este tipo de vegetación se encuentra tanto en Sierra la Culata como en la Sierra Nevada de Mérida. El páramo propiamente dicho, abarca una formación vegetal bastante heterogénea; desde mezclas de rosetales-arbustales, pajonales, pastizales, o cualquiera de estas formas de vida en forma solitaria. Este tipo de asociación es muy común tanto en Sierra Santo Domingo, La Culata y Sierra Nevada. Los pajonales y pastizales parameros se caracterizan porque la mayor parte de su biomasa está representada por gramíneas. Los pajonales están representados principalmente por gramíneas en macolla de los géneros *Calamagrostis* y *Cortaderia* que crecen en forma discontinua a lo largo de la Cordillera de Mérida, mientras que los pastizales parameros están representados generalmente por *Agrotis*, *Calamagrostis*, *Poa*, *Chusquea* y *Puya*. Finalmente, en el límite inferior de este ecosistema, están los bosques parameros los cuales colindan con el límite arbóreo, se caracterizan por la dominancia de *Libanothamnus* que alternan como arbustos como *Hypericum*, *Arcytophyllum*, *Vaccinum* y rosetas del género *Ruilopezia*, entre otros.

Empleando criterios florísticos, sin ignorar las variaciones microclimáticas generadas a lo largo del gradiente altitudinal, Cuatrecasas (1958) definió los distintos cinturones de vegetación que conforman el ecosistema páramo de la siguiente manera: El superparamo, comprende el límite superior colindando con las nieves perpetuas, por lo cual la vegetación presenta una distribución discontinua alternando con suelo desnudo. Entre los géneros dominantes de este

piso altitudinal encontramos *Draba* (Brassicaceae), *Azorella* (Apiaceae) y *Cerastium* (Caryophyllaceae). El páramo propiamente dicho, dominado principalmente por frailejones (*Espeletia*), pajonales (*Calamagrostis*) y Chuscales (*Chusquea*). El subpáramo, que comprende el límite inferior del páramo presenta una vegetación de ecotono entre selva nublada y páramo, donde las familias dominantes son Asteraceae, Hypericaceae y Ericaceae.

En función de la definición de Cuatrecasas (1958) y Monasterio (1980a), podríamos decir que las tres especies de Chusqueas consideradas en este estudio, en el estado Mérida, ocupan pisos altitudinales diferentes del ecosistema páramo. *Chusquea angustifolia* ocupa páramos bajos o subpáramos; *C. spencei* crece en el subpáramo, en el páramo propiamente dicho y en el límite inferior del superpáramo, mientras que *C. guirigayensis* crece exclusivamente en el superpáramo o altianadino. Para tener una mejor comprensión de la distribución actual de la vegetación es conveniente analizar los distintos eventos climáticos y geológicos que han ocurrido a lo largo de la historia del planeta (Steyermark, 1979). Para ello haremos una breve revisión de cómo las distintas eras han modelado el paisaje de alta montaña tropical hasta nuestro día.

Diversos estudios basados en registros de polen, indican que durante los distintos períodos glaciares e interglaciares que experimentaron los Andes tropicales durante los últimos 2 millones de años, los cinturones de vegetación experimentaron desplazamientos de sus límites tanto superiores como inferiores, según las condiciones ambientales existentes en cada período (Van der Hammen, 1974, 1988, 2000, 2003; Van der Hammen y Cleef, 1983; Salgado-Labouriau *et al.*, 1977, 1992; Bradley *et al.*, 1985; Smith y Cleef, 1988; Gonzáles *et al.*, 2002; Hooghiemstra *et al.* 2006).

Un estudio palinológico realizado en el páramo de Mucubají por Salgado-Labouriau *et al.*, (1977); reveló a una altitud de 3600m snm, un ensamble de polen conformado principalmente por Asteraceae, Poaceae, Pteridophyta, Caryophyllaceae y una especie muy emblemática del páramo, *Montia meridensis* (Portulacaceae). Este ensamble es similar al que se encuentra en la actualidad en el Páramo Piedras Blancas a 4000m de altura, por lo que estos autores sugieren que las condiciones hace 12650 BP eran marcadamente más frías que las presentes, y que como consecuencia de esto, los cinturones de vegetación existentes durante dicho período se desplazaron a elevaciones muy inferiores a las actuales. Esto sugiere que tanto la vegetación de páramo como la del bosque se hallaban a menores elevaciones, y se estima

que estos últimos ocupaban elevaciones aproximadamente 400 m por debajo de su posición actual.

Bajo estos argumentos cabría pensar que las plantas presentes hoy día en los páramos, han tenido que desarrollar diferentes respuestas adaptativas bien sea a nivel morfológico, anatómico, fisiológico, bioquímico ó genético, que le han permitido resistir condiciones ambientales adversas en la escala temporal y permanecer hasta la actualidad en dichos ecosistemas. En la siguiente sección desarrollaremos las distintas adaptaciones morfológicas y anatómicas de plantas de páramo, específicamente las de forma de vida arbustiva, por ser las Chusqueas de páramo de hábito arbustivo.

#### **1.4. Adaptaciones morfológicas y anatómicas foliares desarrolladas en arbustos de páramo**

Los estudios morfoanatómicos foliares realizados en dicotiledóneas del páramo realizados en Asteraceae, Fabaceae, Melastomataceae y Rosaceae indican que a medida que se asciende en el gradiente altitudinal, se aprecia una disminución en la estatura de las plantas y en su superficie foliar, mientras que el grosor de la hoja aumenta. A su vez, estos cambios están típicamente asociados a una disminución en el tamaño de las células y a un incremento en el grosor de las paredes de las mismas (Rada *et al.*, 1987; Briceño *et al.*, 2000).

El incremento en la altitud también propicia la selección de **rasgos xeromórficos** foliares en las plantas del páramo: láminas foliares pequeñas, frecuentemente con márgenes revolutos, de consistencia escleromorfa, cutículas gruesas, células epidérmicas adaxiales altas, estomas ubicados en criptas y mesófilos muy compactos (Torres *et al.*, 1996; Ely y Torres, 2003; Ely *et al.* 2005 a,b; Colmenares *et al.*, 2005; Azócar, 2006). Esta misma tendencia ha sido observada en monocotiledóneas del páramo; sin embargo, este último grupo se distingue por la existencia de papilas en la epidermis abaxial, cuya longitud puede incrementar con la altitud (Clark, 1986; Ely y Luque, 2006).

#### **1.5. Anatomía de *Chusquea***

Diferentes autores han aportado al conocimiento de la anatomía de *Chusquea*, entre los que destacan: Metcalfe (1960), McClure (1973), Clark (1990), Montti *et al.*, (2009), Judziwicz *et al.*, (1999); Vieira *et al.*, (2000); entre otros. Los escasos estudios anatómicos realizados hasta el presente en éste género, con excepción de los estudios realizado por Clark (1986) y Ely (2009) en *C. spencei*, se han llevado a cabo en especies trepadoras de bosques montanos.

Por dicho motivo, el presente estudio constituirá un gran aporte al esclarecimiento de la anatomía de las Chusqueas de páramo.

Entre los tres órganos vegetativos: raíz, tallo y hoja; la hoja es que el que presenta mayor plasticidad, por ser el que está más expuesto a las condiciones ambientales (Fahn, 1990; Torres *et al.*, 1996). A grandes rasgos, la anatomía de la hoja del género *Chusquea* es muy consistente con la del resto de la subfamilia Bambusoideae (Metcalfe, 1960; McClure, 1973; Clark, 1990; Montti *et al.*, 2009; Judziewicz *et al.*, 1999; Vieira *et al.*, 2000) y en lo que respecta a la epidermis con el resto de las gramíneas.

De manera general la **anatomía foliar** del género *Chusquea* consiste en hojas anfi o hipostomáticas, superficie adaxial conformada por células epidérmicas que alternan con grupos de células buliformes, ambas superficies con una epidermis uniestratificada, con tricomas muy variados, desde agujones, micro y macro pelos; células silíceas, células suberosas y papilas de formas y tamaños muy variables (Metcalfe, 1960; McClure, 1973; Clark, 1990; Judziewicz *et al.*, 1999; Montti *et al.*, 2009). El mesófilo es bifacial, y está compuesto de células raquimorfos (también conocidas como brasiformes), que consisten en células clorenquimáticas con invaginaciones en todas sus paredes, las cuales son más profundas en este género con respecto al resto de Bambusoideae (Clark, 1990; Judziewicz *et al.*, 1999). El otro tipo de células que conforman el mesófilo son las células fusoides, dispuestas a cada lado de los haces vasculares. Dichas células se originan de las mismas células raquimorfos, pero a diferencia de estas últimas, no poseen cloroplastos ni otros contenidos celulares, por lo que se le ha atribuido la función de refracción de la luz (Clark, 1986; March y Clark, 2010). Los haces vasculares presentan una vaina de dos capas de células, una interna formada por células lignificadas y una externa compuesta por células parenquimatosas (Metcalfe, 1960). Generalmente, los haces mayores se conecta con las epidermis mediante cordones celulares. El nervio medio de la hoja es prominente hacia la cara abaxial, con un sistema vascular complejo, y al igual que el resto de los haces vasculares, está rodeado por casquetes de fibras que contribuyen a darle rigidez y soporte a la lámina de la hoja (Metcalfe, 1960; McClure, 1973, Clark 1990; Judziewicz *et al.*, 1999; Montti *et al.*, 2009). Esta estructura del mesófilo, diferencia a los bambúes del resto de las gramíneas y las variaciones anatómicas de este carácter pueden ser una herramienta muy útil para la identificación taxonómica (Soderstrom *et al.*, 1987; Londoño, 2003; Montti *et al.*, 2009).

La **anatomía de culmo**, a grandes rasgos, se caracteriza por presentar una atactostela típica de monocotiledóneas, con haces colaterales rodeados de casquetes de fibras, que se anastomosan formando un anillo esclerenquimático, en el cual se encuentran embebidos los haces vasculares periféricos (zona 1), a esta zona le sigue una zona de transición (zona 2), en la cual se distingue un aumento gradual del tamaño de los haces vasculares, así como también de la proporción de células parenquimáticas, paulatinamente conforme va disminuyendo la proporción de fibras que rodean los haces vasculares, haciéndose casi imperceptible en la región central del culmo, donde tanto los haces vasculares como las células parenquimáticas alcanzan su mayor desarrollo (zona 3) (Metcalf, 1960; McClure, 1973; Clark, 1990; Montti *et al.*, 2009)

Teniendo en consideración lo anteriormente expuesto, cabría esperar que las especies de *Chusquea* de páramo presenten caracteres anatómicos de culmo y de hoja típicos del grupo de los bambúes, pero con rasgos xeromórficos típicos de arbustos escleromorfos de páramo. De cumplirse esta condición, se esperaría que a medida que la altitud incrementa en el gradiente altitudinal páramo-altiandino, se observe la aparición de rasgos xeromórficos en los órganos vegetativos aéreos, **condición que debería acentuarse a medida que se ascienda en el gradiente altitudinal**. En hojas, se esperaría un incremento en el grosor de la cutícula, en la altura de las células epidérmicas adaxiales, estomas exclusivamente abaxiales, papilas elongadas, mesófilo compacto, con pocas o ninguna células fusoides, así como un incremento en la proporción de tejidos vasculares y esclerenquimáticos. Estas modificaciones deberían estar asociadas a modificaciones morfológicas de la hojas, básicamente, una disminución de la superficie foliar y en el tamaño de las hojas, láminas más coriáceas y adpresas al tallo (Azócar, 2006). En lo que respecta a los culmos, cabría esperar un incremento en la proporción de haces vasculares y de tejidos esclerenquimáticos, acompañado de una disminución del diámetro de los vasos.

### **1.6. Respuestas desarrolladas por las plantas frente a las bajas temperaturas**

Los ecosistemas de alta montaña de los Andes tropicales comparten con las zonas templadas alpinas y árticas las condiciones de temperaturas bajas y alta radiación solar, para lo cual las plantas han evolucionado y adquirido una notable especialización (Körner, 2003). En las montañas de las zonas templadas, los periodos de frío extremo son estacionales, en consecuencia la mayoría de las plantas de estas latitudes han desarrollado estrategias de dormancia (Körner, 2003). En las montañas tropicales, las variaciones en la radiación y temperatura fluctúan en ciclos diarios durante todo el año, lo cual significa que las plantas que

habitan en estos ecosistemas deben permanecer fisiológicamente activas durante todo el año; ello constituye un escenario interesante para muchos científicos, puesto que implica la evolución de una serie de adaptaciones tanto morfoanatómicas (Torres, *et al.*, 1996; Ely y Torres, 2003 y Ely y Luque, 2006) como fisiológicas (Azócar y Rada, 1993; Azócar y Rada, 2006; Cáceres, 2008; Ely, 2009).

En respuesta a las heladas, las plantas han desarrollado mecanismos de resistencia al congelamiento (Azócar y Rada, 1993; Körner, 2003). La resistencia a bajas temperaturas puede ser lograda a través de dos mecanismos básicos: el de **evasión** y **tolerancia**, ambos impiden la nucleación de hielo intracelular, que en caso de suceder, sería letal para la planta (Azócar y Rada, 2006). La evasión consiste en impedir el proceso de congelamiento extracelular, ya sea por aislamiento de los órganos expuestos o sensibles a las bajas temperaturas, o por la prevención de la formación de hielo a temperaturas por debajo de cero (Körner, 2003; Azócar y Rada, 2006; Goldstein *et al.*, 1985; Rada *et al.*, 1985; Rada *et al.*, 1987). En contraste, los mecanismos de tolerancia al congelamiento son aquellos donde se forma el hielo en espacios extracelulares sin producir daños de tejido. Este mecanismo a diferencia del anterior, de mantenerse durante periodos prolongados puede ocasionar una severa deshidratación que a su vez, ocasionaría una serie de daños fisiológicos, principalmente: cambios en las propiedades de la membrana celular, en la actividad enzimática y vías metabólicas, desnaturalización de las proteínas, precipitación de solutos y la alteración de la concentración de azúcares, proteínas, ácidos nucleicos y aminoácidos (Azócar y Rada, 2006).

Para impedir tales daños, las plantas han desarrollado distintas adaptaciones a nivel fisiológico, que les permiten resistir condiciones de bajas temperaturas, ya sea mediante el aumento en el contenido de ácidos grasos no saturados en la membrana plasmática ó en el incremento del módulo de elasticidad, así como también en la acumulación de solutos y producción de proteínas crioprotectoras (Taiz y Zeiger, 1998). Se desconoce por completo de que manera lo realiza las plantas pertenecientes al género *Chusquea*.

Los mecanismos de evasión son eficientes siempre y cuando la duración de las temperaturas congelantes sea de pocas horas y éstas no sean demasiado bajas, mientras que los mecanismos de tolerancia son apropiados para períodos de congelamientos prolongados (Körner, 2003; Azócar y Rada, 2006). Los estudios realizados hasta el presente en los páramos venezolanos han demostrado que la forma de vida arbórea generalmente presenta

mecanismos de evasión a las bajas temperaturas (Cavieres *et al.*, 2000; Rada *et al.*, 1985, Colmenares *et al.*, 2005); en oposición a las herbáceas, que en su mayoría presentan mecanismos de tolerancia (Squeo *et al.*, 1991; Márquez *et al.*, 2006). Por otro lado, de acuerdo a Squeo *et al.* (1991), las plantas de tamaños intermedios, representadas tanto por arbustos pequeños y hierbas, pueden presentar cualquiera de estos dos mecanismos. Este resultado y estudios posteriores realizados por este mismo autor en los Andes chilenos (Squeo *et al.*, 1996), y los estudios realizados por Azócar (2006) y Cáceres (2008) en arbustos esclerófilos de los páramos venezolanos, indican que los mecanismos de resistencia están generalmente asociados a las formas de vida, más que a la estatura de las plantas. Es importante resaltar que todas las gramíneas herbáceas estudiadas en los Andes venezolanos, Márquez *et al.* (2006) presentan como estrategia la tolerancia al congelamiento.

Con respecto a las gramíneas leñosas como los bambúes, es muy poco lo que se sabe acerca de sus mecanismos de resistencia a bajas temperaturas. En el caso de los géneros de bambúes Asiáticos de zonas templadas, se han realizados algunos estudios relacionados a los mecanismos de resistencia a las bajas temperaturas. Ishikawa (1984) estudió el mecanismo de resistencia al congelamiento en *Sasa senanensis* (arbusto) y, encontró que la evasión al congelamiento es lograda a través del sobreenfriamiento de todos sus órganos, registrando temperaturas entre los -20 y -18°C en las hojas. En contraste, los estudios de *Sasamorpha borealis*, *Sasa nipponica* y *S. kurilensis* (todos bambúes arbustivos) realizados por Sakai y Larcher (1987) demostraron que las tres especies presentan mecanismos de tolerancia al congelamiento, llegando a resistir por más de 16 horas temperaturas comprendidas entre -25 y -15°C.

En los andes venezolanos, el único trabajo en bambúes leñosos relacionado con mecanismos de resistencia a bajas temperaturas fue realizado por Ely (2009), el cual reveló que la resistencia a bajas temperaturas en *Chusquea* tanto trepadoras (*Chusquea purdieana* y *C. serrulata*) como arbustivas (*C. spencei*) consiste en la evasión mediante un marcado sobreenfriamiento histológico, llegándose a registrar en hojas, temperaturas de congelamiento entre -13 y -9 °C. Esta autora concluye, que las especies estudiadas no corren el riesgo de sufrir daños por las temperaturas congelantes, en primera instancia porque las dos especies trepadoras habitan ecosistemas de selva nublada donde no se registran temperaturas congelantes durante todo el año; y en segunda instancia *C. spencei* la única especie de hábito arbustivo, se encuentra en el páramo propiamente dicho, donde se registra varias heladas nocturnas durante el año; sin embargo, estas heladas nocturnas son de baja intensidad y de

poca duración, por ello su temperatura de sobreenfriamiento impide que ocurran daños fisiológicos. También resalta que la naturaleza evasora de estas tres especies de *Chusquea* es análoga a las de otras plantas leñosas de páramos y de bambúes de climas templados.

En el presente estudio, se determinarán y posteriormente se compararán, las respuestas que han desarrollado las Chusqueas que habitan pisos altitudinales diferentes dentro de un gradiente altitudinal comprendido entre los 2500 a los 4070m snm. Al relacionar la morfología externa (tamaño de las plantas) con las condiciones climáticas propias de cada piso altitudinal, cabría suponer que *Chusquea angustifolia* que es la especie que se encuentra en el límite inferior del gradiente, presente mecanismo de evasión como el determinado para *C. spencei* (Ely, 2009). Mientras que *C. guirigayensis* al crecer en el límite superior (4070m snm) del gradiente altitudinal sea tolerante a las bajas temperaturas.

El presente trabajo puede considerarse pionero en el grupo de los bambúes, y representa un importante aporte al estudio anatómico y de respuestas a las bajas temperaturas de las gramíneas leñosas que habitan en los páramos andinos venezolanos, por lo cual contribuirá ampliar nuestro conocimiento sobre este grupo de plantas, así como de las plantas del páramo.

## 2. Hipótesis

- La diversidad morfoanatómica entre especies, es un reflejo de las adaptaciones a las variaciones microclimáticas de los ecosistemas que ocupan dichas especies. Es de esperar que exista una tendencia en los bambúes leñosos de alta montaña a acentuar caracteres xeromórficos en culmo y hoja en las especies a medida que se asciende en el gradiente altitudinal paramero.
- Por un lado, *Chusquea angustifolia* y *C. spencei* están asociadas a la vegetación de prepáramo-páramo (2500 m y 2650-3650 m, respectivamente). A dichas elevaciones, las heladas son infrecuentes y de poca duración. Por otro lado, ambas especies poseen una estatura superior a 1m, alejándolas más del suelo, siendo el suelo el que experimenta las temperaturas más bajas. Por dichas razones, se esperaría que *C. angustifolia* haya desarrollado mecanismos de evasión similares a los de *C. spencei* (Ely, 2009). En contraste, *C. guirigayensis* crece en el límite superior del páramo (3800-4010 m snm), donde está expuesto a heladas nocturnas más frecuentes y de mayor duración, y además la planta es de porte bajo, por lo que se esperaría que su mecanismo de resistencia a las bajas temperaturas consista en la tolerancia al congelamiento intercelular.

### 3. Objetivos

#### 3.1. General

Estudiar y comparar la estructura morfoanatómica y los mecanismos de resistencia a bajas temperaturas en las tres especies de *Chusquea* que ocupan ecosistemas parameros a lo largo de un gradiente situado entre los 2520-4010 m snm

#### 3.2. Específicos

- Identificar las adaptaciones morfoanatómicas en hoja y culmo de las tres especies del género *Chusquea* que crecen en los páramos de la Cordillera de Mérida: *C. angustifolia*, *C. guirigayensis* y *C. spencei*, a lo largo de un gradiente altitudinal ubicado entre los 2500-4010 m snm.
- Determinar las temperaturas del aire y de la superficie del suelo a 2500, 2650 y 4010 m de altitud, con el objeto de conocer las temperaturas mínimas a las cuales están expuestas estas tres especies en sus respectivos pisos altitudinales, y así establecer la relación microclima-respuestas adaptativas morfoanatómicas en cada caso.
- Determinar si las poblaciones de *C. spencei* que crecen en el límite inferior de este gradiente (2670-3650 m), presentan las mismas temperaturas de sobreenfriamiento, sabiendo que las poblaciones que crecen en el límite superior de su intervalo de distribución sobreenfrian a temperaturas de -12 y -10 °C (Ely, 2009)

## 4. Metodología

### 4.1. Área de estudio

De los estudios de distribución de *Chusquea* realizado por Ely (2009), se tomaron en cuenta las especies de este género que habitan en el ecosistema páramo en el Estado Mérida. Allí, tanto *C. angustifolia* como *C. guirigayensis* presentan una distribución muy puntual y las poblaciones de ambas especies son relativamente pequeñas (Páramo Las Piñuelas-El Tambor y Páramo de Piedras Blancas, respectivamente). *Chusquea spencei* es la especie que tiene el intervalo de distribución tanto altitudinal como en extensión más amplio, para esta última especie sólo se muestreó en el páramo El Molino, que es una de las localidades donde crece a menor elevación en el Estado Mérida. Los puntos de muestreo se georeferenciaron con un GPS y se ubicaron luego con el software Google maps. En el siguiente mapa se ilustran los puntos de muestreo.

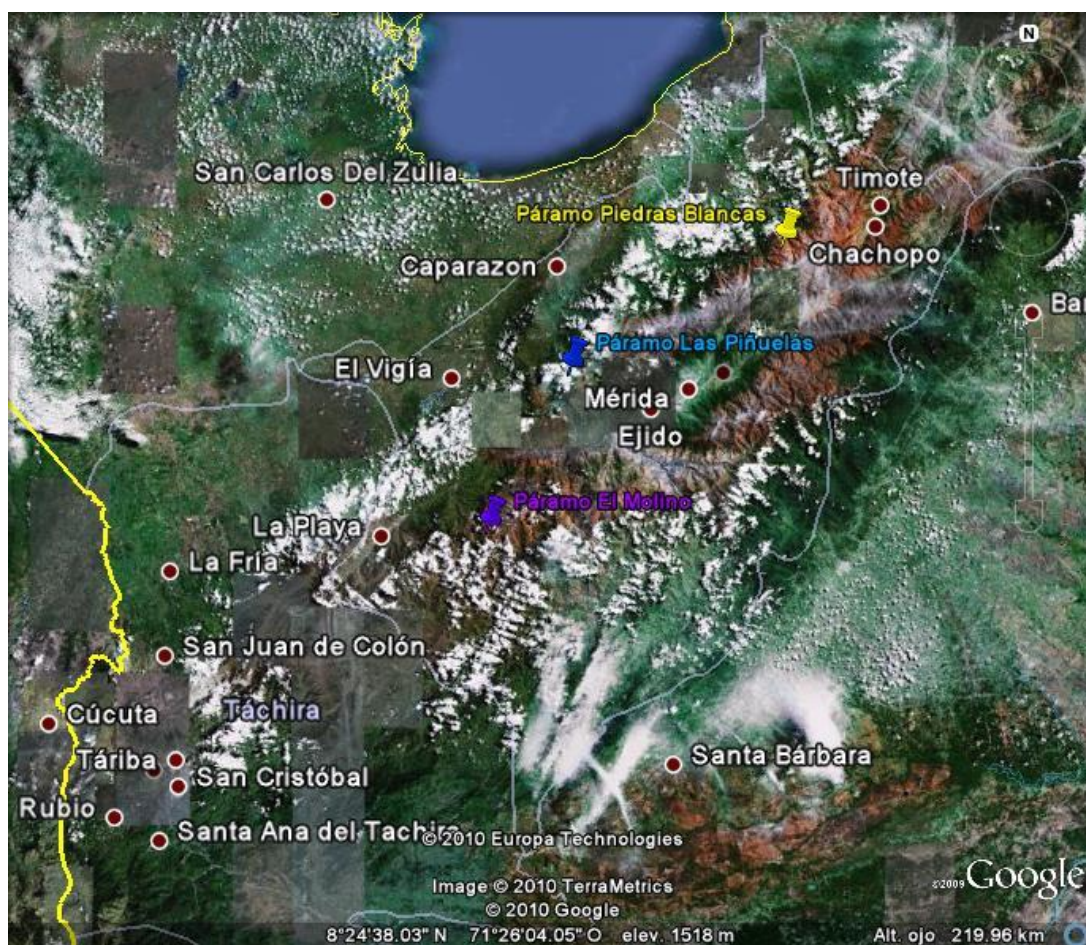


Figura 1. Mapa del Estado Mérida, ilustra los tres páramos donde se realizaron los muestreos.

#### 4.1.1. Páramo Las Piñuelas (8°37'35,2" N, 71°24'18,9"W)

El sitio de estudio en el páramo Las Piñuelas se encuentra entre los 2500-2525 m de altitud. Los registros climáticos más cercanos al área de estudio que se encuentran disponibles corresponden a la Selva Nublada de San Eusebio. Montilla (2009) midió una precipitación media anual de 1619 mm a una altitud de 2286m snm. En La Bravera, un Jardín Botánico Satélite ubicado en las cercanías de San Eusebio a 2360m de altitud, se ha registrado temperatura mínima de 7°C y máxima de 23°C (Bravo, comunicación personal) y una temperatura media anual de 13°C (Ramos y Plonczak, 2007). La humedad relativa (HR) mínima es de 48% y la máxima de 98% (Bravo, comunicación personal).

El Páramo las Piñuelas se caracteriza por ser una sabana paramera abierta, que ha sufrido quemadas ocasionales (Ely, comunicación personal). A pesar de estar rodeado por bosque nublado montano alto, no es colonizado por elementos del mismo; por el

contrario, presenta elementos florísticos típicos de páramos húmedos bajos reportados para ecosistemas similares (Monasterio, 1980a; Cuello *et al.*, 2010). La vegetación está dominada por gramíneas en macollas, alternando con rosetas de las familias Bromeliaceae (*Puya*), Espeletiinae, Asteraceae (*Espeletia*, *Ruilopezia* y *Libanothamnus*), así como arbustos enanos pertenecientes a las familias Ericaceae, Hypericaceae y Melastomataceae (Monasterio, 1980a; Briceño y Morillo, 2006).



**Figura 2.** Localidad las Piñuelas, sabana paramera, vía páramo el Tambor.

#### 4.1.2. Páramo El Molino (8°28'80,5"N; 71°57'02,7"W)



Figura 3. Localidad Páramo El Molino.

El Páramo El Molino está ubicado entre los 2670-3270m de altitud. Los datos climáticos disponibles corresponden a una estación climática ubicada en el pueblo de El Molino asentada a 1877m snm, con una precipitación media anual de 880 mm (MARN, 2002), la temperatura media anual de 17,5°C y temperaturas mínima de 12°C y máxima de 24°C (CORPOANDES, 2007). El área de estudio es un páramo seco que ha sufrido algunas quemadas, dado que las zonas aledañas se

encuentran intervenidas con cultivos. La vegetación dominante es de *Libanothamnus*, en menor proporción encontramos *Hypericum* y *Espeletia* en las zonas más altas.

#### 4.1.3. Páramo de Piedras Blancas (8°53'35,7"N; 70° 57'27,9"W).

El área de muestreo del páramo de Piedras blancas se encuentra entre los 3870-4010m de altitud, los estudios realizados cerca de la zona han registrado una precipitación media anual de 800-900mm, temperatura mínima absoluta de -4,97°C, máxima absoluta 36,9°C y media anual de 2,7°C (Monasterio y Reyes, 1980). En la época de sequía se ha registrado temperaturas congelantes frecuentes. Monasterio (1979) lo describe como un páramo desértico, con tres estratos de vegetación, el estrato superior está



Figura 4. Localidad Páramo Piedras Blancas

dominado por rosetas arborescentes y árboles, el segundo por hierbas y arbustos, y un tercero por gramíneas. Poaceae es la segunda familia más representativa después de Asteraceae, con mayor cobertura en este páramo (Briceño y De Robert, 1996; Ricardi *et al.* 1997, Márquez *et al.*, 2004).

#### 4.2. Selección y recolección del material de estudio

Los estudios realizados por Clark (1989, 1997, 2001), Judziewicz *et al.*, (1999), Bussman (2004), Ely (2009) y Clark y Ely (2011), señalan que el género de bambúes leñosos mejor representado en las altas montañas neotropicales es *Chusquea*. Las especies de *Chusquea* que ocupan distintos pisos altitudinales del ecosistema páramo en la Cordillera de Mérida, en sentido ascendente son: *Chusquea angustifolia*, *C. spencei* y *C. guirigayensis*.

Para poder llevar a cabo los estudios anatómicos y los ensayos de congelamiento se recolectó material vegetal a lo largo del gradiente altitudinal de 2525-4010, en los tres sitios señalados anteriormente, tanto en trayectos accesible con vehículos, como en senderos accesibles caminando. Se colectaron n=5 culmos con hojas por localidad, por especie. Para asegurarnos de que se trataba de individuos distintos se colectaron culmos separados por una distancia mínima de aproximadamente 50 m (Ely, 2009).

*Chusquea angustifolia* se colectó en el páramo las Piñuelas, vía el páramo el Tambor (Sierra la Culata) a 2525 m. En el caso de *Chusquea spencei* se colectó material de la población ubicada en el páramo El Molino a 2670m (la localidad de menor altitud para esta especie en el Estado Mérida). Adicionalmente, se utilizó el material previamente colectado y fijado por Ely (2009), colectado en los páramos La Culata y La Aguada, a 3025 y 3320 m s.n.m, respectivamente para los estudios anatómicos y se consultaron sus resultados de los estudios de resistencia a bajas temperaturas y de área foliar específica. Finalmente, *C. guirigayensis* se colectó en el Páramo Piedras Blancas entre los 3970-4010m de altitud.

En el laboratorio se corroboró la identidad de las muestras colectadas haciendo uso de las descripciones publicadas por Clark (1989) y Niño *et al.* (2006). El material colectado para realizar los estudios morfoanatómicos se fijó en FAA, una mezcla de formalina, ácido acético y alcohol etílico (Johansen, 1940).

### 4.3. Descripción de las especies

#### 4.3.1. *Chusquea angustifolia*. (Soderstr. & C. Calderón) L.G. Clark.

En el estado Mérida se ha reportado para altitudes entre 2525-2700 m. **Planta** perenne, cespitosa. **Rizomas** paquimorfos. **Culmos** erectos leñosos con una altura de 20-200cm y diámetro en la base de 0,3-1,2cm; de coloración vinotinto cuando jóvenes y amarillo ocre cuando maduros; entrenudos sólidos, teretes, lisos y rígidos. **Ramificación** lateral, dendroide, intravaginal, la ramificación en cada nudo está constituida por una rama dominante, rodeada de varias ramas subsidiarias más pequeñas.



Figura 5. *Chusquea angustifolia* en las Piñuelas.

**Complemento de rama** formado por 10-13 hojas. **Hojas caulinares** deciduas, triangulares de 3 cm de longitud, ápice acuminado, con lígula de 0,8-1 cm de longitud. **Lámina foliar** lanceolada, de 0,2-0,5 cm de ancho y 6-8 cm de largo, de consistencia coriácea, con márgenes ligeramente revolutos, y un indumento piloso en ambas caras (Clark, 1989; Soderstorn *et al.*, 1987; Stapleton, 1997).

#### 4.3.2. *Chusquea spencei* Ernst.

En el estado Mérida se ha encontrado entre los 2670-3650m de altitud (Ely, 2009). **Planta** perenne, arbustiva. **Rizomas** paquimorfos. **Culmos** leñosos, erectos en la base y péndulos en el ápice, de 0,5-4 cm de diámetro en la base y 80-300 cm de longitud; entrenudos sólidos, teretes, con una coloración púrpura hasta verdosa en culmos jóvenes y ocre en los más viejos. **Ramificación** intravaginal, con 30-38 ramas por nudo, con una dominante de mayor tamaño rodeada de numerosas ramas subsidiarias de menor tamaño. **Complemento de rama** compuesto por 30-38 hojas. **Hojas caulinares** persistentes, con lámina linear, superficie hispida, de 6-22 cm de longitud. **Lámina foliar** linear-lanceolada, de 0,2-0,6 cm de ancho y de 5-14 cm de largo, consistencia desde cartácea hasta ligeramente coriácea y superficie glabra (Clark, 1989; Soderstorn *et al.*, 1987; Stapleton, 1997, Ely, 2009).



**Figura 6.** *C. spencei* a 2670m snm



**Figura 7.** *C. spencei* a 2950 m snm.  
Foto por Ely.



**Figura 7.** *C. spencei* a 3650m snm.  
Foto por Ely

#### 4.3.3. *Chusquea guirigayensis* Niño, L.G. Clark & Dorr.

En el Estado Mérida crece entre los 3970-4010m de altitud. **Planta** perenne, cespitosa. **Rizoma** paquimorfo. **Culmo** leñoso, erecto, de 0,2-0,5 cm de diámetro en la base y de 20-120 cm de alto; entrenudos sólidos, teretes, glabros. **Ramificación** lateral intravaginal, con una a varias ramas por nudo. **Complemento de rama** formados por 3-15 hojas. **Hojas caulinares** persistentes, triangulares. **Lámina foliar** triangular-lanceolada, de 0,3-0,5 cm de ancho y de 1-2,5 cm de largo de consistencia marcadamente coriácea y superficie glabra (Niño *et al.*, 2006).



**Figura 8.** *C. guirigayensis* en el Páramo de Piedras Blancas.

#### 4.4. Microclima

Para obtener datos microlimáticos de temperatura se instaló un data loggers (HOBO Pro Series Temp, Ext © 1998 ONSET) por localidad de muestreo. En cada caso se colocó un sensor a nivel de la superficie del suelo y otro a una distancia de un metro del suelo, con la finalidad de obtener registros de temperatura del aire a un metro del suelo y a nivel del suelo. Los data loggers se programaron de manera que realizaran los registros de temperatura cada 15 min. La instalación de éstos equipos se hicieron en diferentes meses por un tiempo aproximado de 3-5 meses, coincidiendo éstos con periodos de intensas lluvias (entre los meses de Mayo y Diciembre).

#### 4.5. Determinación del área foliar y área foliar específica

Se colectaron 5 culmos por especie, éstos se cortaron a nivel del suelo, para inmediatamente volver a cortar bajo el agua. Luego se trasladaron al laboratorio donde se rehidrataron por 24 h antes de realizar la medición del área foliar (AF). Culminado este lapso, se extrajeron 30 hojas en cada caso y se escanearon a 300 pixeles por cm, mediante el programa *IrfanView* para *Windows versión 4.2*. Una vez obtenidas las imágenes, se determinó el área foliar en pixeles a través del software *Image j 1.38x* transformando los valores a  $\text{cm}^2$ . Luego las muestras de las hojas fueron llevadas a la estufa a  $57^\circ\text{C}$  para deshidratarlas por 72 h y posteriormente se pesaron. El área foliar específica (AFE) se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{AFE} = \text{Área foliar (cm}^2\text{)} / \text{peso seco foliar (g)}$$

#### 4.6. Anatomía

Para realizar los estudios anatómicos se seleccionaron culmos con hojas jóvenes y completamente expandidas. Se realizaron cortes transversales a mano alzada de culmo y de hoja, y luego se tiñeron con la doble coloración de azul de astra y fucsina básica (modificada por Luque *et al.*, 1996). Posteriormente las muestras se montaron glicerina acuosa al 50% (Johansen, 1940). Todas las preparaciones fueron estudiadas en un microscopio óptico marca Zeiss y se tomaron fotomicrografías de las preparaciones de mejor calidad con una cámara SONY Cybershot DSC-W1 de 5.1 megapixels adosada al ocular del microscopio. La naturaleza escleromorfa de la planta generó dificultad al momento de separar las epidermis foliares y también al realizar los cortes a mano alzada de los culmos, por lo que fue necesario ablandar previamente el material en solución de Franklin, que consiste en una mezcla de ácido acético glacial y peróxido de hidrógeno en una proporción 1:1 (Montti *et al.*, 2009). Una vez sumergidos

los tejidos en dicha solución, se llevaron a la estufa a 55°C por 24 h, cumplido este lapso se sometieron a un hervor suave en peróxido de hidrógeno (preparación comercial 3% v/v) durante 15 min. Una vez ablandados los tejidos, se procedió a realizar el raspado de epidermis y se realizaron cortes transversales a mano alzada de los culmos. Tanto los cortes como las secciones de epidermis se blanquearon con cloro comercial diluido al 30% y se tiñeron con el procedimiento anteriormente descrito.

Las observaciones fueron realizadas en microscopio óptico Zeiss con un ocular con una escala en  $\mu\text{m}$  para medir la longitud de las células. El tamaño de los vasos, de células epidérmicas y del mesófilo se determinó midiendo 10 células por campo, para un total de  $n=20$  campos por especie, por sitio, mediante un ocular con escala graduada en  $\mu\text{m}$ . Este mismo método se utilizó para estimar la densidad estomática ( $n^\circ$  estomas/ $\text{mm}^2$ ) y la densidad de células silíceas ( $n^\circ$  cs/ $\text{mm}^2$ ). Las descripciones anatómicas se hicieron siguiendo la terminología propuesta por Metcalfe (1960).

#### **4.7. Pruebas histoquímicas**

Las pruebas histoquímicas se realizaron con cortes transversales a mano alzada del material fijado, tanto de hoja como de culmo y se les aplicó las siguientes tinciones:

##### **4.7.1. Tinción con sudan III**

Esta prueba revela la presencia de sustancias con naturaleza lipídica por medio de una intensa coloración fucsia o rosada de los tejidos con deposiciones lipídicas. Para llevar a cabo la tinción, se expusieron los cortes tanto de hoja como de culmo a una deshidratación continua con alcoholes butílicos de 30-50 y 70% por 10 minutos en cada uno, luego se pasaron los cortes a los portaobjetos y se les agregó 1-2 gotas de sudan III (Sass, 1958), se le colocó el cubreobjetos y se procedió a identificar los tejidos teñidos en cada uno de los órganos estudiados, mediante observaciones en el microscopio óptico.

##### **4.7.2. Tinción con fluoroglucinol**

Esta tinción permite determinar la presencia de lignina en los tejidos vegetales, mediante la coloración de un rosado a fucsia intenso de la lignina. Para ello se colocaron las muestras a ensayar en un portaobjetos y se les agregó 1-2 gotas de fluoroglucinol y 1 gota de ácido clorhídrico al 10% (Sass, 1958), luego se le colocó el cubre objetos y se observaron las preparaciones en el microscopio óptico.

#### **4.7.3. Tinción con cloruro férrico**

Esta prueba permite detectar la presencia de taninos, los cuales se tiñen de color marrón hasta pardo oscuro. Para realizar la tinción, se colocaron los cortes en un portaobjetos y se les agregó 1-2 gotas de cloruro férrico (Johansen, 1940) y se cubrió con un cubreobjetos, para realizar las observaciones pertinentes en el microscopio.

#### **4.7.4. Tinción con lugol**

El fundamento de esta tinción se basa en que el lugol revela la presencia de almidón en los tejidos, al teñirlo de una coloración azul oscuro a violáceo. Para tal fin, se colocaron los cortes tanto de hoja como de culmo en el portaobjetos, luego se les agregó 2 gotas de lugol (Sass, 1958), se esperó a que ocurriera la reacción y se colocó un cubreobjetos sobre las muestras para hacer las observaciones en el microscopio óptico.

#### **4.8. Microfotografía de barrido**

Las características ultraestructurales de la epidermis, como tipo y tamaño de las papilas y de tricomas se estudiaron con Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), en el Laboratorio de Análisis Químico de Materiales LAQUEM-ULA. Para este fin, las muestras foliares, se deshidrataron en una serie de alcoholes butílicos (Sass, 1958), incrementando la concentración de los alcoholes desde 50 hasta 100%, cada 24 h, una vez deshidratadas se colocaron en xilol por 5 horas, con la finalidad de eliminar la cera. Posteriormente se sumergieron nuevamente en butanol al 10 %, se dejaron secar y se recubrieron con sales de plata en un recubridor iónico, para finalmente hacer las observaciones en el microscopio electrónico de barrido, marca Hitachi, modelo S-2500.

#### **4.9. Determinación de la capacidad de sobreenfriamiento y temperaturas de daño de las especies**

##### **4.9.1. Capacidad de sobreenfriamiento**

La capacidad de sobreenfriamiento se obtuvo a través de la determinación de la temperatura a la cual ocurre el congelamiento extracelular. Esta temperatura se obtiene observando la formación de exotermas en las muestras. Para esto, se cortaron los culmos de cada especie a nivel del suelo e inmediatamente se introdujeron en un recipiente con agua, para luego cortarlos nuevamente a una altura de 10 cm por debajo del agua. Este material fue trasladado al laboratorio y se rehidrató durante 24 horas. Las hojas se introdujeron en tubos de

ensayo con un termopar de cobre-constantan sellados herméticamente con tapones de goma. Luego los tubos fueron introducidos en un baño refrigerante de alcohol isopropílico-agua, disminuyendo la temperatura gradualmente desde 5°C hasta -20°C a una tasa de aproximadamente 7,5 °C/h. La exoterma fue registrada cuando se apreció un aumento en la temperatura, como consecuencia del proceso de liberación de calor durante la formación de hielo.

#### **4.9.2. Temperatura de daño celular**

Para medir la temperatura a la cual ocurre el daño celular, se utilizó el método de liberación de electrolitos modificado por Lindén (2002), el cual ha funcionado exitosamente con cultivares de frutales en climas templados y bambúes de zonas templadas (Ishikawa, 1984) y por Ely (2009) en bambúes del género *Chusquea*. Este método consiste en utilizar muestras de tejido vegetal previamente expuestas a temperaturas bajo cero y sumergirlas en agua deionizada, y de esta manera determinar la temperatura a la cual se da un aumento de la conductividad eléctrica del medio. Este incremento de conductividad se debe a la ruptura de las paredes celulares, lo que trae consigo la liberación de iones, en su mayoría de potasio procedente de la vacuola celular. La temperatura de daño corresponde a un 50% de la pérdida de electrolitos.

Para ello, las muestras fueron sometidas a una disminución gradual de temperatura desde los 5 hasta los -20°C, siguiendo el mismo procedimiento anteriormente descrito. Las muestras extraídas durante el procedimiento para determinar la temperatura de daño fueron sumergidas en 15 mm<sup>3</sup> de agua deionizada, en un recipiente sellado y dejando reposar en el refrigerador por 48 h a 4°C. Pasadas las 48 h se procedió a registrar la conductividad eléctrica en  $\mu\text{S}$  (microsiemens), con un conductímetro digital modelo ExStik EC500 (marca Extech Instruments, USA) en las soluciones de los tubos. Por último, se procedió a romper por completo las paredes celulares sumergiendo las muestras en nitrógeno líquido por aproximadamente 5 segundos. Inmediatamente se colocaron de nuevo las muestras en los tubos con el agua deionizada respectiva, y se dejó en el refrigerador por 48 h a 4°C. Pasado el intervalo de tiempo, se registró de nuevo la conductividad, éste valor corresponde al 100% de la pérdida de electrolitos. Con los valores obtenidos se calculó para cada especie la temperatura a la cual se produce el 50% de la pérdida de electrolitos, con la siguiente ecuación:

$$T_{50\%} = \frac{\text{Conductividad eléctrica inicial (para una temperatura } x)}{\text{Conductividad eléctrica final (luego de la ruptura inducida)}} * 100$$

Conductividad eléctrica final (luego de la ruptura inducida)

#### **4.10. Análisis estadísticos**

Los datos anatómicos se analizaron estadísticamente mediante pruebas de ANOVA entre las especies, para lo cual se utilizó el programa Statistica versión 7, con un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

A los datos ecofisiológicos se le aplicaron análisis estadísticos no paramétricos de Mann-Whitney para determinar mecanismos de evasión o tolerancia al congelamiento, y de Kruskal-Wallis para las comparaciones entre las tres especies. Ambos análisis se realizaron con el programa Statistica versión 7, con un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

## 5. Resultados

### 5.1. Datos de Microclima

Las temperaturas registradas en cada localidad nos indican que existe un gradiente altotérmico, en el cual en las localidades más bajas, Las Piñuelas y El Molino (2525 y 2670 m snm, respectivamente) no se registraron temperaturas por debajo de cero grados centígrados (Tabla 1). A partir de la localidad La Culata (3025 m snm) se registraron temperaturas mínimas por debajo de cero. Hay que resaltar que los registros se hicieron para la época húmeda, por lo que no se descarta que las temperaturas mínimas disminuyan aún más durante la época seca. Por otro lado, las temperaturas mínimas diurnas se registraron entre las 4:00 am y 6:00 am, mientras que las temperaturas máximas diarias se registraron entre las 10:30 am y 13:30 pm. Los registros microclimáticos correspondientes al período de estudio indican que existe una mayor fluctuación entre los valores de temperatura del suelo que en los del aire, lo cual pone en evidencia que es el suelo el que experimenta las más mayores fluctuaciones térmicas.

**Tabla 1.** Temperaturas promedio, mínimas promedio y máximas promedio de cada localidad, las temperaturas absolutas se indican entre paréntesis.

Localidad	T prom (°C)		T min prom (°C)		T max prom (°C)	
	Suelo	Aire	Suelo	Aire	Suelo	Aire
Las Piñuelas	13 ± 0,03	14 ± 0,03	10 ± 0,2 (6,6)	8,5 ± 0,1 (4,6)	25 ± 0,6 (32)	20 ± 0,2 (25)
El Molino	11 ± 0,02	12 ± 0,02	7,5 ± 0,2 (4,6)	9,0 ± 0,1 (7,0)	15 ± 0,2 (19)	17 ± 0,2 (21)
La Culata	-----	9,25 ± 0,07*	-----	----- (-0,16 ± 0,03*)	-----	----- (18,8 ± 0,08*)
La Aguada	-----	7,6 ± 0,1*	-----	----- (-0,68 ± 0,01*)	-----	----- (20 ± 0,06*)
Piedras Blancas	8,6 ± 0,1	6,2 ± 0,04	1,5 ± 0,1 (-1,7)	2,0 ± 0,1 (0,3)	27 ± 1,0 (46)	15 ± 0,4 (21)

\* Datos extraídos de Ely (2009).

## 5.2. Área foliar específica (AFE)

Los valores obtenidos de AFE para cada especie no presentaron variaciones importantes, de hecho al aplicarle las pruebas estadísticas correspondientes, no se apreciaron diferencias significativas entre las poblaciones de *C. spencei* de El Molino respecto a *C. angustifolia* y *C. guirigayensis*. Sin embargo, cuando se comparan los valores de AFE de estas tres con los valores de AFE estimados por Ely (2009) para las poblaciones de *C. spencei* creciendo a mayores elevaciones (poblaciones La Culata y La Aguada), si se observan diferencias estadísticamente significativas (AFE).

**Tabla 2.** Promedios de área foliar (AF) y de área foliar específica (AFE) para cada una de las especies en las diferentes altitudes estudiadas.

Especie	Promedio de AF (cm <sup>2</sup> )	AFE (cm <sup>2</sup> /g)
<i>C. angustifolia</i>	4,9±0,3	107±2,3 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (El Molino)	3,7 ± 0,13	127±4,5 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (La Culata)	4,8 ± 0,31*	234 ±14,9 <sup>a*</sup>
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	3,5 ± 0,2*	244 ± 14,2 <sup>a*</sup>
<i>C. guirigayensis</i>	0,6 ± 0,02	112±3,65 <sup>b</sup>

\* Datos extraídos de Ely (2009).

## 5.3. Morfoanatomía

### 5.3.1. *Chusquea angustifolia*

#### a) Descripción exomorfológica

Arbusto de 70 hasta 170 cm de alto, con culmos de 0,3 a 1 cm de diámetro en la base. Lámina foliar lanceolada, de 5 a 13 cm de largo y de 0,3 a 0,6 cm de ancho de consistencia escleromorfa y con un denso indumento piloso de coloración pálida en ambas superficies.

#### b) Descripción anatómica

- **Anatomía foliar.** Vista paradormal.

**Superficie adaxial:** se distinguen dos zonas, la zona costal y la zona intercostal (Figura 10a). La **zona costal** está compuesta por 2 filas de células longitudinales de paredes lisas, que alternan con células silíceas (Tabla 4) con formas intermedias entre silla de montar y en cruz, dispuestas horizontalmente e intercaladas con células suberosas o del corcho. Las células

suberosas son variadas, unas alargadas de forma crenada, dispuestas verticalmente; y otras con formas transitoria entre campana, cruz y silla de montar (Figura 10b). Se distinguen macropelos muy conspicuos bicelulares (Figura 10c y h). La **zona intercostal** está formada por 8-9 células longitudinales con borde sinuoso, células silíceas cuyas formas varían entre silla de montar, campana y del tipo *Chloris robusta*; estas se disponen horizontalmente, en filas alternando con células suberosas (Figura 10d). Las células suberosas y silíceas presentan forma en silla de montar y del tipo *Aristida ciliata*. La superficie también presenta en los costados ornamentaciones tales como agujones y macropelos bicelulares (Figura 10d).

La **superficie abaxial** al igual que en la adaxial, presenta dos zonas (Figura 10e): la **zona costal** está compuesta por 2-3 filas de células longitudinales de paredes lisas y células silíceas (Tabla 4) dispuestas horizontalmente, con formas transitorias entre silla de montar y cruz (Figura 10f). Las células suberosas presentes en la zona costal muestran diversas formas desde crenadas hasta en forma de cruz, que alternan con macropelos (Figura 10f). La **zona intercostal** está compuesta por 8-10 filas de células longitudinales de borde crenado; los estomas se concentran en los bordes de la zona intercostal en filas de 4, con células subsidiarias en forma de domo bajo (Figura 10e y f, Tabla 3). Esta zona presenta numerosas papilas ramificadas que alternan con agujones y macropelos (Figura 10g).

**Sección transversal:** hoja hipoestomatica, con una cutícula gruesa, seguida de un estrato de células epidérmicas adaxiales isodiamétricas, que alternan con grupos de células buliformes (Figura 10l y m, Tablas 5 y 8). El mesófilo está compuesto por 3-6 estratos de células raquimorfos con paredes engrosadas (Tablas 6 y 8), intercaladas en baja frecuencia con células fusoides incoloras a cada lado de los haces vasculares (Figura 10l y m, Tabla 5). Haces vasculares (Tabla 8) de hasta 4to orden (Figura 10 m), rodeados por dos vainas; la interna lignificada y la externa no lignificada. De los haces vasculares se originan cordones de células que se extienden tanto a la superficie adaxial como a la abaxial (Figura 10m). El nervio medio es convexo hacia la cara abaxial; rodeado por un casquete de fibras compuesto de 3 estratos de células hacia la cara adaxial y de hasta 7 en la abaxial (Figura 10n). Superficie abaxial compuesta de células epidérmicas isodiamétricas a rectangulares. De éstas últimas emergen numerosas papilas bifurcadas (Figura 10j, Tabla 7) y macropelos bicelulares (Figura 10i).

- **Anatomía de culmo**

**Sección transversal:** a grandes rasgos se pueden distinguir tres zonas (Figura 11a): la periférica (zona 1), la de transición (zona 2) y la del centro del culmo (zona 3). La **zona 1**, presenta una gruesa cutícula (Figura 11b) seguida de una fila de células epidérmicas alargadas y una corteza formada por 7 filas de células con haces vasculares pequeños, rodeados de numerosas fibras que se anastomosan formando un anillo esclerenquimático de 12 corridas de células (Figura 11c, Tabla 9). En la **zona 2** la proporción de fibras disminuye conforme incrementa el tamaño de los haces vasculares y de las células parenquimáticas (Figura 11c) y esta tendencia se acentúa en la **zona 3**, donde los haces vasculares y las células parenquimáticas alcanzan su máximo tamaño (Figura 11d, Tabla 9) y éstas últimas presentan paredes celulares más engrosadas (Figura 11e).

### 5.3.2. *Chusquea spencei*, población El Molino.

#### a) Descripción exomorfológica

Arbustos de 40 a 80 cm de alto y con culmos de 0,3 a 0,8 cm de diámetro en la base. Lámina foliar linear de 4,5 a 8,5 cm de largo y de 0,2 a 0,5 cm de ancho, de consistencia coriácea y superficie glabra.

#### b) Descripción anatómica:

- **Anatomía foliar.** Vista paradormal

**Superficie adaxial: zona costal** compuesta de 1-2 filas de células longitudinales (Figura 12a) que alternan con células silíceas (Tabla 4) con forma de silla de montar, dispuestas horizontalmente y células suberosas en forma de cruz (Figura 12b). La **zona intercostal** está formada de 9-12 filas de células longitudinales de bordes sinuosos, células suberosas en forma variadas transitorias entre silla, cruz y campana y las células silíceas en silla (Figura 12c y h) y numerosos aguijones concentrados en las zonas costales (Figura 12c).

**Superficie abaxial: zona costal** compuesta de 3 filas de células longitudinales (Figura 12d), con células silíceas (Tabla 4) en forma de silla de montar dispuestas horizontalmente las cuales alternan con células suberosas del tipo *Poa glauca*, en cruz, en silla de montar y transitoria entre cruz y campana (Figura 12e). La **zona intercostal** posee de 7-12 filas de células longitudinales de paredes sinuosas. Los estomas se encuentran dispuestos en 4 filas hacia los márgenes de la zona intercostal, con células subsidiarias en forma de domo bajo (Figura 12f,

Tabla 3). Toda la superficie abaxial presenta numerosas papilas muy desarrolladas y aguijones (Figura 12j).

**Sección transversal:** cutícula gruesa; células epidérmicas adaxiales isodiamétricas que alternan con grupos de las células buliformes (Figura 12k, Tabla 5 y 8). Mesófilo compuesto de células raquimorfias, dispuestas en filas de 3-6 células (Figura 12k, Tabla 5 y 8), a cada lado de los haces se observan células fusoides bien diferenciadas (Figura 12k, Tabla 6). Haces vasculares (Tabla 8) de hasta 4to orden, rodeados de una doble vaina de la cual se originan cordones que se extienden hacia ambas superficies de la lámina (Figura 12k). Nervio medio rodeado por un casquete de fibras de 7 capas de grosor hacia la cara adaxial y 5 hacia la cara abaxial (Figura 12l). La superficie abaxial está formada por una capa de células epidérmicas isodiamétricas a rectangulares de las cuales emergen abundantes papilas (Figura 12j, Tabla 7).

- **Anatomía de culmo**

**Sección transversal:** La **zona 1** está formada por una cutícula gruesa, seguida de una fila de células epidérmicas alargadas (Figura 13b). El anillo esclerenquimático está compuesto de 13 filas de fibras con haces vasculares pequeños (Figura 13c, Tabla 9) que van aumentando su tamaño (Figura 13a). La **zona 2** posee haces vasculares de mayor tamaño y en la **zona 3** son más grandes aún (Figura 13a y d, Tabla 9), igualmente las células parenquimáticas aumentan de tamaño y sus paredes celulares se hacen más engrosadas (Figura 13e, Tabla 9).

### 5.3.3. *Chusquea spencei*, población La Culata

#### a) Descripción exomorfológica

Arbusto erecto de 150-300 cm de alto y de 1-4 cm de diámetro en la base del culmo. Lámina foliar linear, de 5-14 cm de largo por 0,2-0,6 cm de ancho, de consistencia cartácea hasta coriácea y superficie glabra.

#### b) Descripción anatómica

- **Anatomía foliar.** Vista paradermal

**Superficie adaxial:** se observó una **zona costal** comprendida por 1-2 filas de células longitudinales y células silíceas (Tabla 4) con formas transitorias entre silla de montar y cruz, orientadas horizontalmente (Figura 14a), que alternan con células suberosas en forma de silla de montar, tipo *Poa glauca*, en cruz y en campana, dispuestas en su mayoría verticalmente;

células silíceas en silla de montar ubicadas horizontalmente y agujones en baja frecuencia (Figura 14b). La **zona intercostal** está formada por 11 filas de células longitudinales (Figura 14a) con numerosos agujones ubicados hacia los márgenes de esta zona; las células silíceas están en una menor densidad con respecto a la zona costal, éstas presentan formas de silla de montar y se asocian a células suberosas dispuestas en pares con forma transitorias entre silla de montar y campana (Figura 14c).

**Superficie abaxial:** zona costal compuesta de 2-3 filas de células longitudinales (Figura 14d) intercaladas con células suberosas de formas variadas: en forma de cruz, campana, tipo *Poa glauca* y en silla de montar orientadas tanto vertical como horizontalmente; células silíceas (Tabla 4) con formas transitorias entre silla de montar y en cruz (Figura 14e). La **zona intercostal** está compuesta de 12 células longitudinales (Figura 14d); células suberosas solitarias o en pares con formas muy diversas, transitorias entre campana y cruz tipo *Heterathoecia guineensis* y en silla de montar, las células silíceas están en una menor densidad que en la zona intercostal y se encuentran asociadas a células suberosas en forma de silla de montar (Figura 14e). Los estomas están dispuestos en 4 filas ubicados hacia los márgenes de la zona intercostal, con células subsidiarias en forma de domo bajo (Figura 14e, Tabla 3). Toda la superficie está cubierta de papilas muy conspicuas y la región media de la zona intercostal presenta agujones bien desarrollados (Figura 14f).

**Sección transversal:** cutícula engrosada (Figura 14h, Tabla 4); células epidérmicas adaxiales isodiamétricas, alternando con grupos de células buliformes (Figura 14g, h y i, Tabla 5). Mesófilo compacto, compuesto de células raquimorfias, dispuestas en 3 a 5 estratos de células (Figura 14g y h, Tabla 5 y 8), células fusoides ausentes. Haces vasculares de 4to orden (Figura 14g, Tabla 8). Nervio medio rodeado por un casquete de fibras de 4 estratos de células hacia la cara abaxial y 5 hacia la adaxial (Figura 14i). Superficie abaxial uniestratificada, constituida por células epidérmicas isodiamétricas a rectangulares (Figura 14h), papilas muy desarrolladas con proyecciones de papilas bifurcadas (Tabla 7).

- **Anatomía de culmo**

**Sección transversal:** **zona 1** compuesta por una fila de células epidérmicas de las que emergen macropelos (Figura 15b), seguida de un anillo esclerenquimático compacto, con haces vasculares periféricos (Figura 15c, Tabla 9). **Zona 2** compuesta por células parenquimáticas y haces vasculares cuyos tamaños incrementan desde la periferia al centro

(Figura 15a, Tabla 9), alcanzando su máximo desarrollo en la **zona 3** (Figura 15d y 6e, Tabla 9).

#### 5.3.4. *Chusquea spencei*, población La Aguada.

##### a) Descripción exomorfológica

Arbusto erecto de 60-170 cm de alto y de 0,5-1,3 cm de diámetro en la base del culmo. Lámina foliar linear de 5-14 cm de largo por 0,2-0,6 cm de ancho, de consistencia cartácea hasta coriácea y superficie glabra.

##### b) Descripción anatómica:

- **Anatomía foliar.** Vista paradermal

**Superficie adaxial:** la **zona costal** está formada por 2 filas de células longitudinales (Figura 16a) que alternan con células suberosas con forma en silla de montar y tipo *Aristida ciliata* var. *Capensis* dispuestas verticalmente y células síliceas (Tabla 4) con forma de silla de montar orientadas horizontalmente (Figura 16b). La **zona intercostal** está compuesta por 9 filas de células longitudinales (Figura 16a); en esta zona encontramos células suberosas tipo *Poa glauca* y transitoria entre campana y en cruz y numerosos aguijones ubicados hacia el lado de los costados (Figura 16c) y en menor proporción células síliceas (Tabla 4) en forma de silla de montar asociadas con célula suberosa, orientadas horizontalmente.

**Superficie abaxial:** **zona costal** formada por 2-4 filas de células longitudinales (Figura 16d), alternando con células síliceas (Tabla 4) en forma transitoria entre silla de montar y en cruz dispuestas horizontalmente e intercaladas con células suberosas en forma de silla, transitoria entre campana y cruz y tipo *Aristida ciliata* y escasos aguijones (Figura 16e). La **zona intercosal** está compuesta por filas de 8 células longitudinales, alternando con células suberosas en silla y tipo *Poa glauca* orientadas en posición horizontal y escasas células síliceas (Tabla 4) en forma de silla de montar unidas en par con células suberosas; también se pueden observar aguijones y una alta densidad de papilas (Figura 16g). Los estomas están dispuestos en 4 filas, con células subsidiarias en forma de domo bajo (Figura 16e, Tabla 3).

**Sección transversal:** cutícula gruesa depositada sobre una única capa de células epidérmicas adaxiales isodiamétricas, éstas últimas alternadas con células buliformes (Figura 16 f y g, Tabla 5 y 8), seguidas de 4 estratos de células raquimorfos (Tabla 6 y 8) con paredes gruesas, células fusoides incipientes que conservan los bordes invaginados de las células brasiformes de las cuales se originan; haces vasculares de 4to orden (Figura 16f y g, Tabla 8). Nervio

medio rodeado por un casquete de fibras de 3 estratos en la cara abaxial y 5-6 estratos en la adaxial (Figura 16h). La epidermis abaxial es uniestratificada y está formada por células isodiamétricas a rectangulares que rematan en papilas bien desarrolladas (Tabla 7).

- **Anatomía de culmo**

**Sección transversal: zona 1** formada por una cutícula gruesa, macropelos y células epidérmicas alargadas y rectangulares (Figura 17a y b). Anillo esclerenquimático de 6 filas de células con haces vasculares pequeños (Figura 17b, Tabla 9). En la **zona 2** (Figura 17a, Tabla 9) el cambio del tamaño de los haces vasculares y de las células parenquimáticas es más gradual que en los especímenes procedentes de El Molino y La Culata descritos anteriormente (Figura 17c, Tabla 9), siendo en la **zona 3** donde tanto los haces vasculares como las células parenquimáticas presentan el mayor tamaño (Figura 17d, Tabla 9).

### 5.3.5. *Chusquea guirigayensis*

#### a) Descripción exomorfológica

Arbusto de 30 a 120 cm de alto y culmo de 0,2 a 0,6 cm de diámetro en la base. Hojas triangulares a lanceoladas de 0,8 a 2,5 cm de largo y de 0,3 a 0,5 cm de ancho, de consistencia escleromorfa, superficie glabra, el ápice remata en un aguijón.

#### b) Descripción anatómica

- **Anatomía foliar.** Vista paradermal

**Superficie adaxial: zona costal** está compuesta por 2 filas de células longitudinales (Figura 18a), alternando con células suberosas de tipo *Aristida ciliata*, en cruz, transitorias entre el tipo *Bromus fibrosus*, en silla y en campana, y con células silíceas (Tabla 4) en forma de silla de montar, campana y tipo *Chloris robusta* orientadas horizontalmente, también aunque en menor proporción se detectaron algunos aguijones (Figura 18b y h). La **zona intercostal** está formada por 11 filas de células longitudinales (Figura 18a), células suberosas de formas variadas: tipo *Aristida ciliata*, en cruz, transitorias entre tipo *Bromus fibrosus*, en silla de montar y campana (Figura 18c); células silíceas (Tabla 4) en forma de silla de montar y campana formando pares con células suberosas (Figura 18c).

**Superficie abaxial: la zona costal** está formada por 2 filas de células longitudinales (Figura 18d), células suberosas de tipo *Aristida ciliata*, en silla, en cruz y tipo *Bromus fibrosus*; y células silíceas (Tabla 4) en forma de silla de montar, cruz y tipo *Chloris robusta*, macropelos

unicelulares y aguijones. Papilas altas rodeando los estomas (Figura 18e, f, i y j). **Zona intercostal** compuesta por 10-14 filas de células longitudinales (Figura 18d); estomas dispuestos en 6 filas (Figura 18d), células subsidiarias triangulares (Tabla 3); células suberosas del tipo silla y campana dispuestas horizontalmente (Figura 18g) y células silíceas (Tabla 4) con forma de campana en pares con células suberosas y aguijones (Figura 18g y i).

**Sección transversal:** cutícula marcadamente engrosada, células epidérmicas adaxiales isodiamétricas, intercaladas con grupos grandes de células buliformes (Figura 18k, Tabla 5 y 8). Mesófilo compacto, compuesto de 7-8 filas de células raquimorfos con paredes engrosadas, células fusoides ausentes y haces vasculares de 3er orden (Figura 18k, Tabla 6 y 8). El nervio medio está formado por un haz vascular con un casquete de fibras de 7-10 filas que se extiende desde el haz hasta la epidermis adaxial y de 5-7 filas de fibras desde el haz hasta la epidermis abaxial (Figura 18l). Las células epidérmicas abaxiales isodiamétricas, uniestratificadas con papilas ramificadas y notablemente altas (Figura 18j, Tabla 7).

- **Anatomía de culmo**

**Sección transversal:** En la **zona 1**, se distingue una gruesa cutícula seguida de una capa de células epidérmicas rectangulares con un anillo esclerenquimático de 10 filas de células con haces vasculares muy pequeños (Figura 19c, Tabla 9), que aumentan de tamaño de manera gradual hacia el centro del culmo (Figura 19a). En la **zona 2**, los haces vasculares de transición aún poseen una densa capa de fibras que los rodean. Mientras que en la **zona 3**, el diámetro de los vasos alcanza su máximo desarrollo (Figura 19b, Tabla 9); siendo estos los más pequeños con respecto a los anteriormente mencionados (Tabla 9). Lo mismo ocurre con las células parenquimáticas, las cuales poseen paredes muy engrosadas (Figura 19d).

**Tabla 3.** Disposición de estomas, tipo de células subsidiarias y densidad estomática.

Espece	Nº de filas de estomas	Tipo de cel. subsidiaria	Densidad estomática (est/mm <sup>2</sup> )
<i>C. angustifolia</i>	4	Domo bajo	942 ± 30,5 <sup>a</sup>
<i>C. spencei</i> (El Molino)	4	Domo bajo	934 ± 32,9 <sup>a</sup>
<i>C. spencei</i> (La Culata)	4	Domo bajo	367 ± 17,9 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	4	Domo bajo	405 ± 24,4 <sup>b</sup>
<i>C. guirigayensis</i>	6	Triangular y caras paralelas	448 ± 14,2 <sup>b</sup>

Las letras representan diferencias significativas entre especies

**Tabla 4.** Densidad de células silíceas (CS)

Especies	Superficie epidérmica	
	Adaxial (CS/mm <sup>2</sup> )	Abaxial (CS/mm <sup>2</sup> )
<i>C. angustifolia</i>	224 ± 7,84	174 ± 9,97
<i>C. spencei</i> (El Molino)	322 ± 42,7	481 ± 49,3
<i>C. spencei</i> (La Culata)	140 ± 52,4	282 ± 9,65
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	235,4 ± 33,0	439 ± 58,7
<i>C. guirigayensis</i>	200 ± 20,9	102 ± 20,1

**Tabla 5.** Dimensión de células epidérmicas foliares.

Epidermis							
Especie	Grosor de cutícula (µm)	Células adaxiales		Células buliformes		Células abaxiales	
		Alto (µm)	Ancho (µm)	Alto (µm)	Ancho (µm)	Alto (µm)	Ancho (µm)
<i>C. angustifolia.</i>	10,1 ± 0,36 <sup>a</sup>	15,8± 0,40 <sup>c</sup>	8,59± 0,32 <sup>b</sup>	35,1± 0,89 <sup>c</sup>	22,1± 1,32 <sup>b</sup>	16,6 ± 0,52 <sup>c</sup>	11,2 ± 0,53 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (El Molino)	5,94 ± 0,37 <sup>b</sup>	12,9± 0,35 <sup>d</sup>	11,2± 0,58 <sup>a</sup>	45,1 ± 1,34 <sup>b</sup>	22,5± 1,35 <sup>b</sup>	19,3 ± 0,55 <sup>b</sup>	13,1 ± 0,39 <sup>a</sup>
<i>C. spencei</i> (La Culata)	8,88 ± 0,40 <sup>a</sup>	17,9± 0,55 <sup>b</sup>	11,0± 0,39 <sup>a</sup>	35,9± 1,14 <sup>c</sup>	22,2± 1,23 <sup>b</sup>	20,3 ± 0,49 <sup>b</sup>	11,8 ± 0,36 <sup>ab</sup>
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	6,88 ± 0,38 <sup>b</sup>	18,4±0,50 <sup>ab</sup>	11,9± 0,39 <sup>a</sup>	36,9± 1,07 <sup>c</sup>	20,8± 1,32 <sup>c</sup>	18,8 ± 0,49 <sup>b</sup>	11,1 ± 0,39 <sup>b</sup>
<i>C. guirigayensis</i>	9,94 ± 0,36 <sup>a</sup>	20,3± 1,14 <sup>a</sup>	12,3± 0,36 <sup>a</sup>	52,4± 1,59 <sup>a</sup>	30,0± 1,59 <sup>a</sup>	31,9 ± 0,64 <sup>a</sup>	11,0 ± 0,43 <sup>b</sup>

Las letras representan diferencias significativas entre especies.

**Tabla 6.** Dimensiones de las células del mesófilo.

<b>Mesófilo</b>				
	<b>Células raquimorfas</b>		<b>Células fusoides</b>	
<b>Especies</b>	Alto ( $\mu\text{m}$ )	Ancho ( $\mu\text{m}$ )	Alto ( $\mu\text{m}$ )	Ancho ( $\mu\text{m}$ )
<i>C. angustifolia</i>	19,5 $\pm$ 0,64 <sup>a</sup>	20,8 $\pm$ 1,03 <sup>a</sup>	15,8 $\pm$ 0,65 <sup>b</sup>	22,3 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>
<i>C. spencei</i> (El Molino)	16,4 $\pm$ 0,82 <sup>b</sup>	17,8 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>	12,0 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>	21,7 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>
<i>C. spencei</i> (La Culata)	13,1 $\pm$ 0,55 <sup>d</sup>	17,9 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	Ausentes	Ausentes
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	14,1 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>	17,6 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	31,0 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	13,7 $\pm$ 0,40 <sup>b</sup>
<i>C. guirigayensis</i>	14,1 $\pm$ 0,39 <sup>c</sup>	17,6 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>	Ausentes	Ausentes

Las letras representan diferencias significativas entre especies.

**Tabla 7.** Longitud de las papilas

<b>Especie</b>	<b>Longitud de papilas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<i>C. angustifolia</i>	12,8 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (El Molino)	13,3 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (La Culata)	14,8 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	14,5 $\pm$ 0,43 <sup>b</sup>
<i>C. guirigayensis</i>	18,9 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>

Las letras representan diferencias significativas entre especies.

**Tabla 8.** Diámetro y N° de haces vasculares, N° de células raquimorfas que separan los haces vasculares y N° de células buliformes agrupadas.

	Diámetro de haz vascular (µm)	N° de haz vascular por mm	N° de cel raquimorfas	N° de cel buliformes
<i>C. angustifolia</i>	42,9	7 a 8	4	3 a 4
<i>C. spencei</i> (El Molino)	37	8	5	4 a 5
<i>C. spencei</i> (La Culata)	36,3	8	6 a 7	5
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	40,8	8	4 a 5	4 a 5
<i>C. guirigayensis</i>	56,9	5	8	5 a 6

**Tabla 9.** Valores promedio del diámetro de los elementos de vaso y de las células parenquimáticas

Especies	Diámetro de vasos periféricos (µm)	Diámetro de vasos del centro (µm)	Diámetro de células parenquimáticas (µm)
<i>C. angustifolia</i>	19,9±0,88 <sup>a</sup>	79,2±2,07 <sup>b</sup>	34,8±2,22 <sup>d</sup>
<i>C. spencei</i> (El Molino)	19±0,74 <sup>a</sup>	74,9±1,76 <sup>bc</sup>	49±1,82 <sup>b</sup>
<i>C. spencei</i> (La Culata)	14,9±0,5 <sup>b</sup>	118 ±1,78 <sup>a</sup>	54,1±2,84 <sup>a</sup>
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	14,7±0,39 <sup>b</sup>	70,3±1,66 <sup>c</sup>	46,4± 1,99 <sup>bc</sup>
<i>C. guirigayensis</i>	11,8±0,81 <sup>b</sup>	47,6±0,91 <sup>d</sup>	39,6 ±1,67 <sup>c</sup>

Las letras representan diferencias significativas entre especies.

#### 5.4. Pruebas histoquímicas

Los distintos ensayos de las pruebas histoquímicas revelan con claridad que las hojas de las Chusqueas poseen una gruesa capa lipídica que evidencia la naturaleza hidrofóbica de la cutícula (Figura 20a) que se tiñe intensamente de color rosado con el sudan III. El mesófilo de la hoja contiene una gran cantidad de fibras marcadamente lignificadas que rodean los haces vasculares los cuales adquieren una coloración rojo intenso con el flouroglicinol. La presencia de almidón en la hoja fue escasa y no se detectaron sustancias fenolicas ni taninos.

Los culmos al igual que las hojas presentaron una cutícula gruesa que se observó con la prueba de sudan III. El alto contenido de fibras se observó en todas las especies pero fue más relevante en *C. guirigayensis* (Figura 20b), la acumulación de almidón en las células parenquimáticas sólo se observó en *C. guirigayensis* (Figura 20c).

**Tabla 10.** Resultados de las pruebas histoquímicas foliares.

Especies	Sudan III (Presencia de lípidos)	Fluoroglicinol (Presencia de lignina)	Lugol (Presencia de almidón)	Cloruro Férrico (Presencia de taninos)
<i>C. angustifolia</i>	Coloración intensa de la cutícula	Coloración intensa de los casquetes esclerenquimáticos y xilema	Escaso en las células raquimorfás	Ausentes
<i>C. spencei</i> (El Molino)	Coloración intensa de la cutícula	Coloración intensa de los casquetes esclerenquimáticos y xilema	Escaso en las células raquimorfás	Ausentes
<i>C. spencei</i> (La Culata)	Coloración intensa de la cutícula	Coloración intensa de los casquetes esclerenquimáticos y xilema	Escaso en las células raquimorfás	Ausentes
<i>C. spencei</i> (La Aguada)	Coloración intensa de la cutícula	Coloración intensa de los casquetes esclerenquimáticos y xilema	Escaso en las células raquimorfás	Ausentes
<i>C.guirigayensis</i>	Coloración intensa de la cutícula	Coloración intensa de los casquetes esclerenquimáticos y xilema	Escaso en las células raquimorfás	Ausentes

**Tabla 11.** Observaciones de las pruebas histoquímicas en culmo.

<b>Especies</b>	<b>Sudan III (Presencia de lípidos)</b>	<b>Fluoroglucinol (Presencia de lignina)</b>	<b>Lugol (Presencia de almidón)</b>	<b>Cloruro Férrico (Presencia de taninos)</b>
<b><i>C. angustifolia</i></b>	Cutícula gruesa	Coloración intensa del anillo esclerenquimático y los casquetes que rodean los haces vasculares	Escaso en las células parenquimáticas	Ausentes
<b><i>C. spencei (El Molino)</i></b>	Cutícula gruesa	Coloración intensa del anillo esclerenquimático y los casquetes que rodean los haces vasculares	Ausente	Ausentes
<b><i>C. spencei (La Culata)</i></b>	Cutícula gruesa	Coloración intensa del anillo esclerenquimático y los casquetes que rodean los haces vasculares	Ausente	Ausentes
<b><i>C. spencei (La Aguada)</i></b>	Cutícula gruesa	Coloración intensa del anillo esclerenquimático y los casquetes que rodean los haces vasculares	Muy escasos en las células parenquimáticas	Ausentes
<b><i>C. guirigayensis</i></b>	Cutícula gruesa	Coloración muy intensa del anillo esclerenquimático y los casquetes que rodean los haces vasculares	Muy abundantes en las células parenquimáticas.	Ausentes

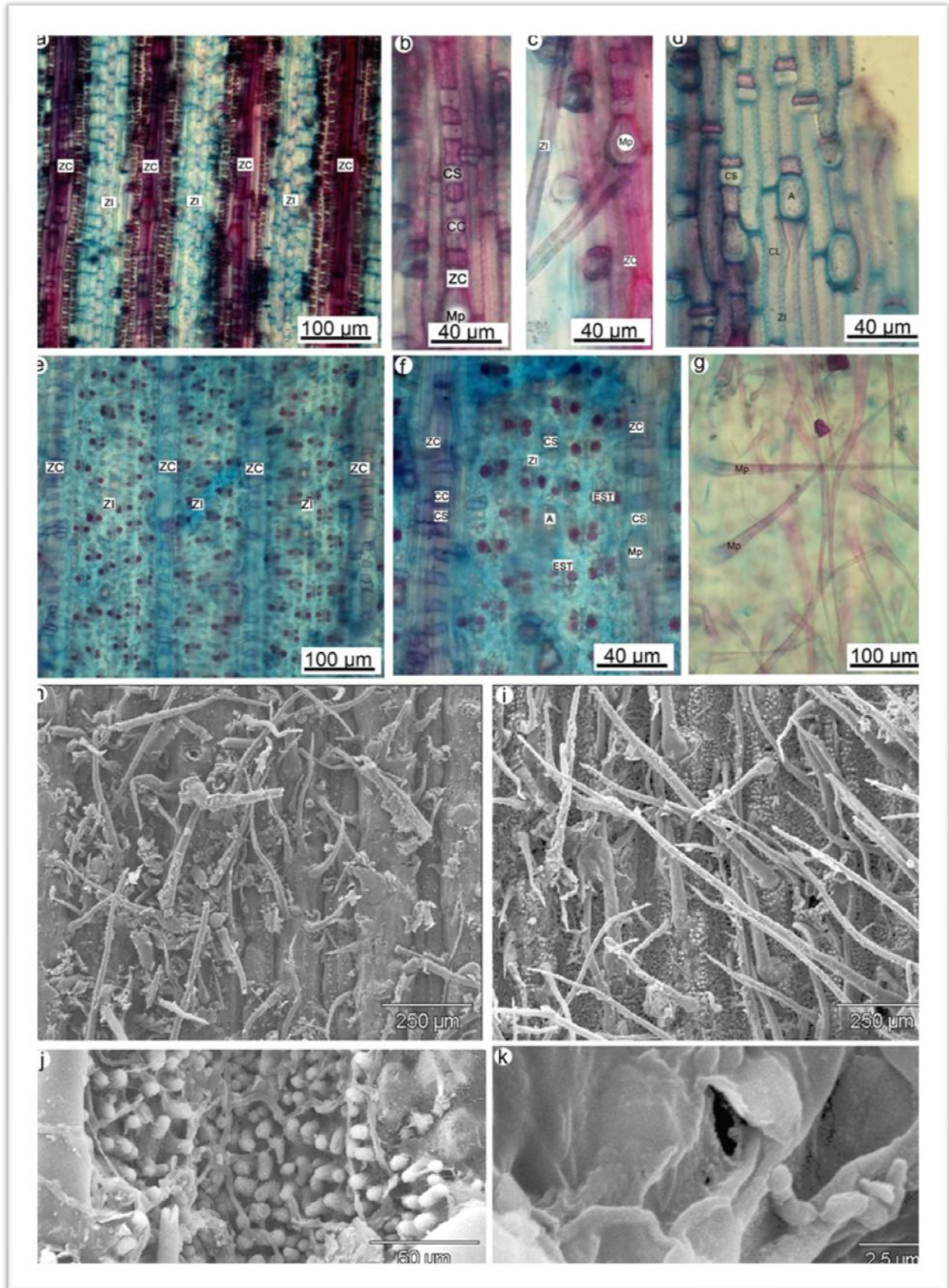
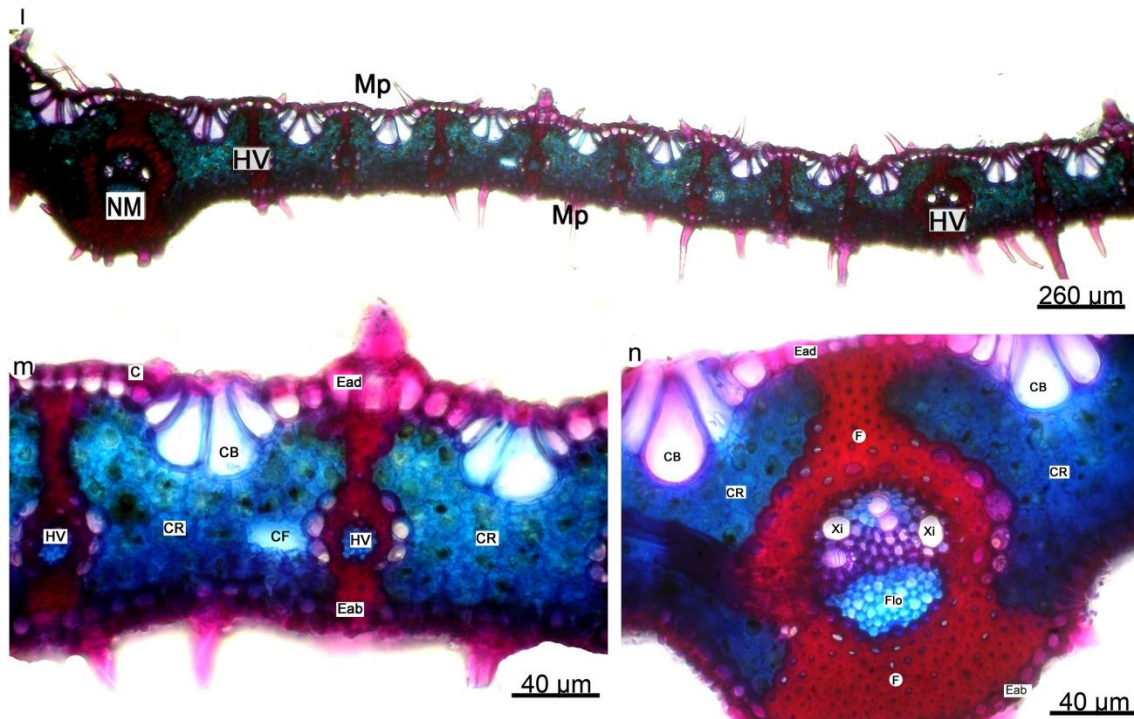
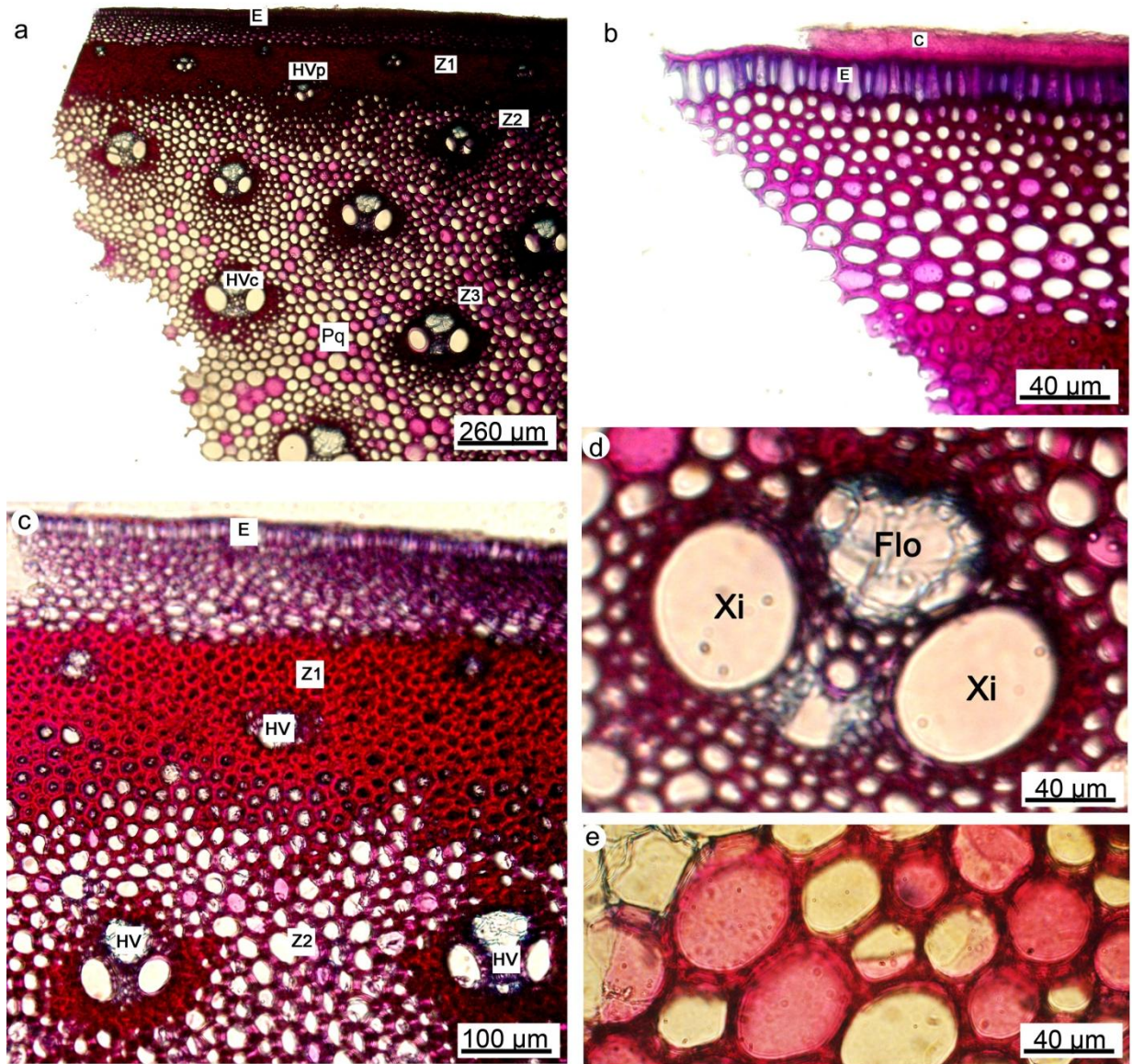


Figura 10. Anatomía foliar de *Chusquea angustifolia*.



**Figura 10. Anatomía foliar de *Chusquea angustifolia*. Superficie adaxial:** a) Vista paradermal, detalle de las zonas costales e intercostales. b) Detalle de la zona costal, compuesta de células longitudinales, células silíceas, células suberosas o del corcho y macropelos. c) Detalle de macropelos. d) Detalle de la zona intercostal, formada por células longitudinales, agujones, células silíceas y suberosas. **Superficie abaxial:** e) Zona costal e intercostal. f) Detalle células silíceas, suberosas, agujones y estomas. g) Detalle de macropelos. **Microfotografías de barrido:** h) Superficie adaxial con abundantes macropelos. i) Superficie abaxial con numerosos macropelos y papilas. j) Detalle de papilas de la superficie abaxial. k) Detalle de un estoma. **Vista en sección transversal:** l) Detalle de las células buliformes y macropelos que emergen de ambas superficies epidérmicas. m) Detalle del mesófilo, compuesto por células raquimorfas, células fusoides y haces vasculares. n) Detalle del nervio medio y del casquete de fibras que rodea el haz vascular

**Leyenda:** **A:** agujón. **C:** cutícula, **CB:** células buliformes, **CC:** células suberosas o del corcho, **CF:** células fusoides, **CL:** células longitudinales, **CR:** células raquimorfas, **CS:** células silíceas, **Eab:** epidermis abaxial, **Ead:** epidermis adaxial, **EST:** estoma, **F:** fibra, **Flo:** floema, **HV:** haz vascular, **Mp:** macropelo, **NM:** nervio medio, **Xi:** xilema, **ZC:** zona costal y **ZI:** zona intercostal.



**Figura 9. Vista en sección transversal del culmo de *Chusquea angustifolia*.** a) Detalle de los haces vasculares de la zona periférica (Z1), zona de transición (Z2) y zona central (Z3) b) Detalle de la cutícula y epidermis. c) Detalle del anillo de esclerenquima de la periferia y de los casquetes de fibras asociados a los haces de la zona de transición. d) Detalle de un haz vascular de la región central del culmo. e) Detalle de células parenquimáticas del centro del culmo. **Leyenda:** **C:** cutícula, **E:** epidermis, **Flo:** floema, **HV:** haz vascular, **HVc:** haz vascular del centro, **HVp:** haz vascular periférico, **Pq:** parénquima, **Xi:** xilema, **Z1:** zona uno, **Z2:** zona dos y **Z3:** zona tres.

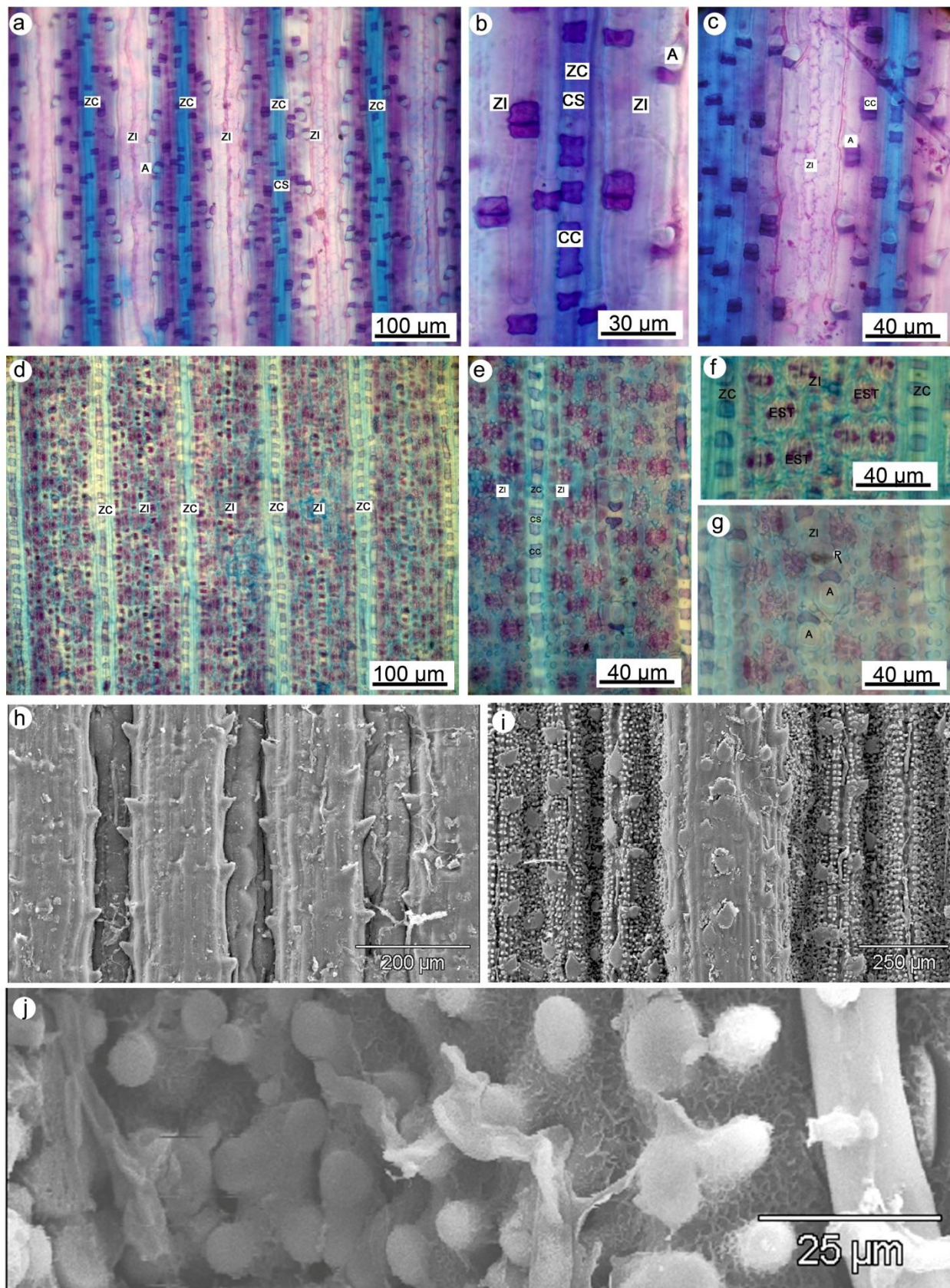
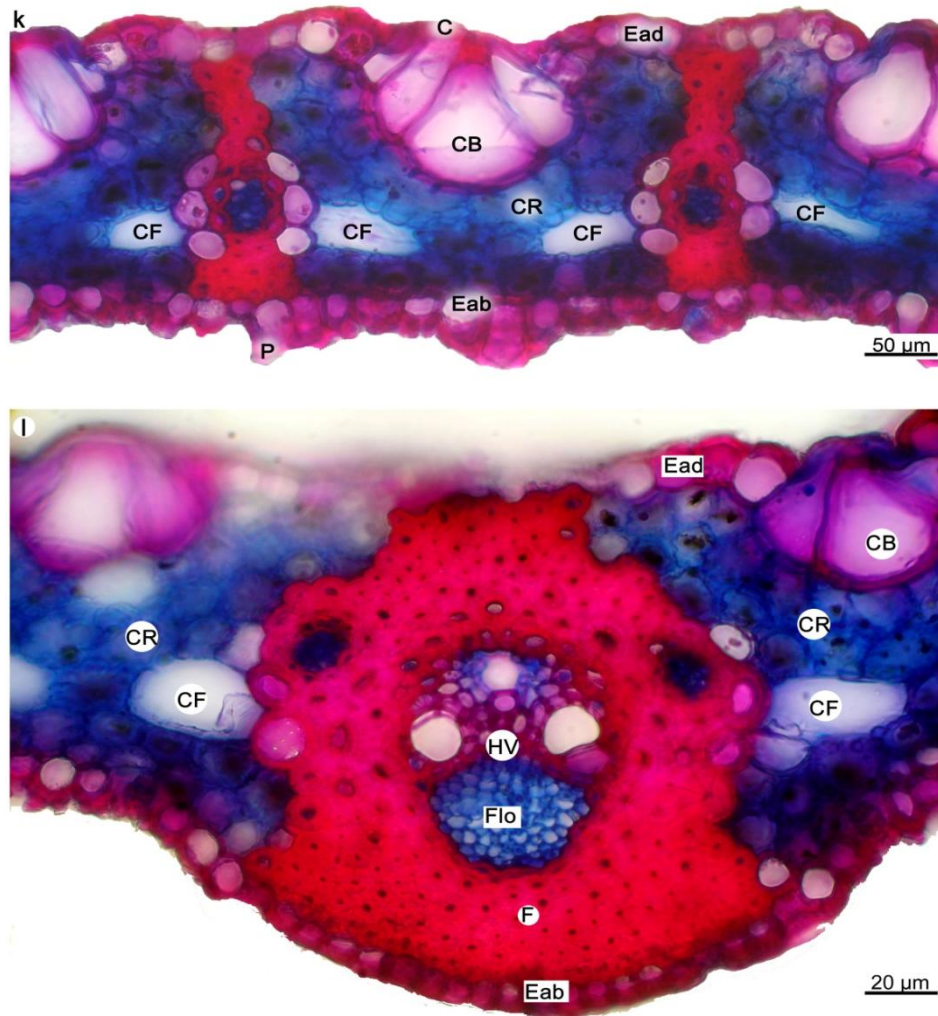
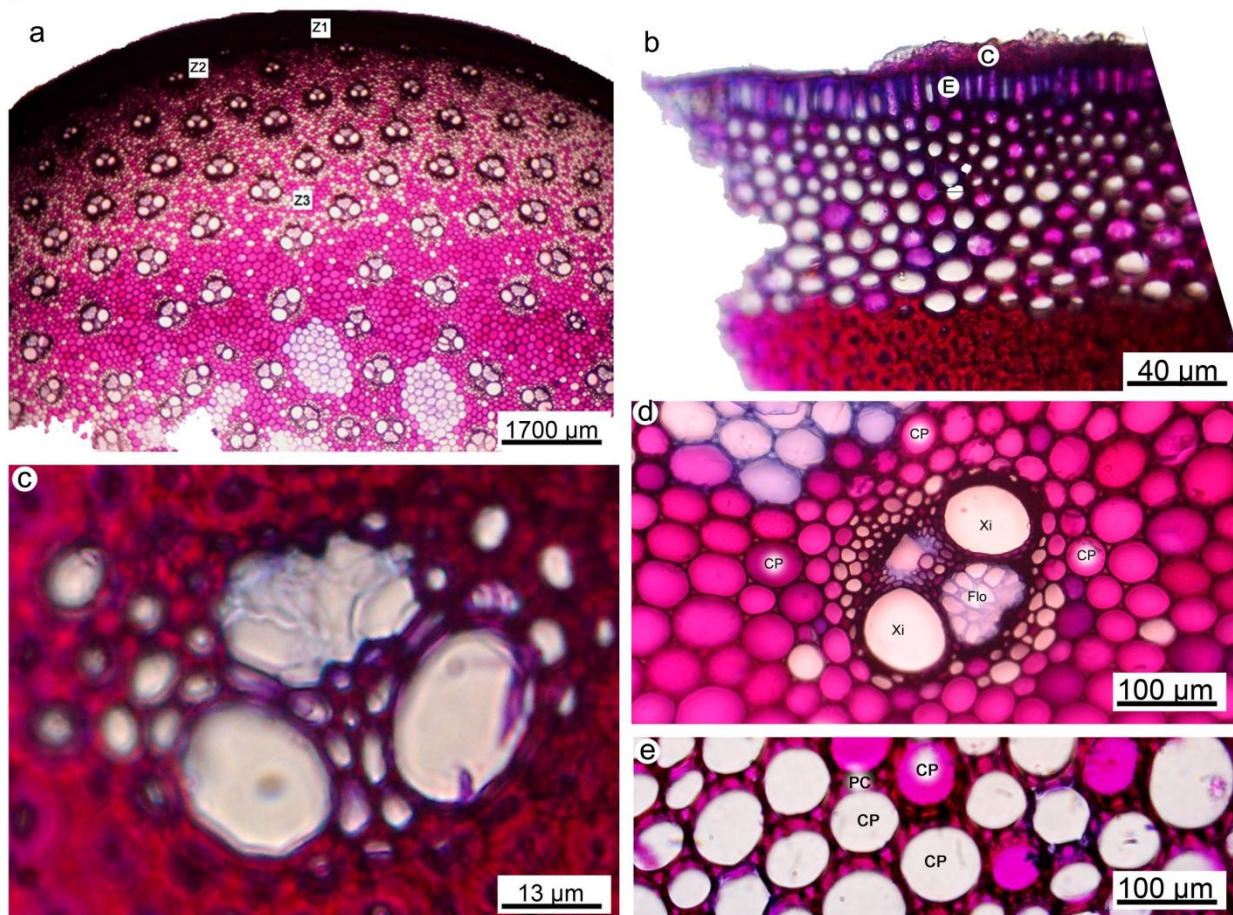


Figura 10. Anatomía foliar de *Chusquea spencei*, localidad El Molino.

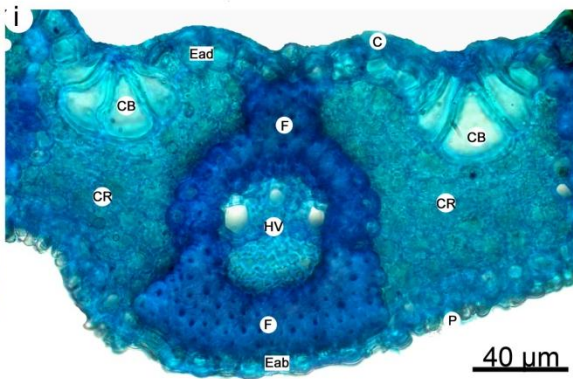
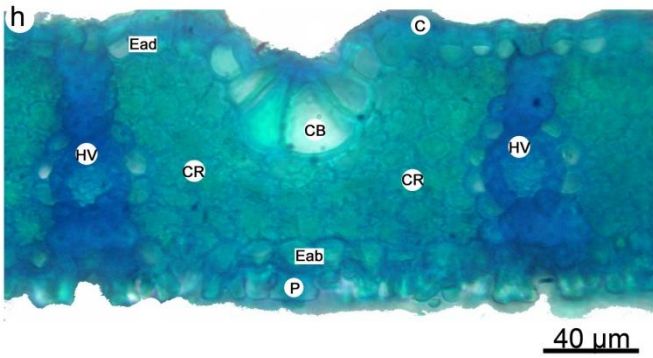
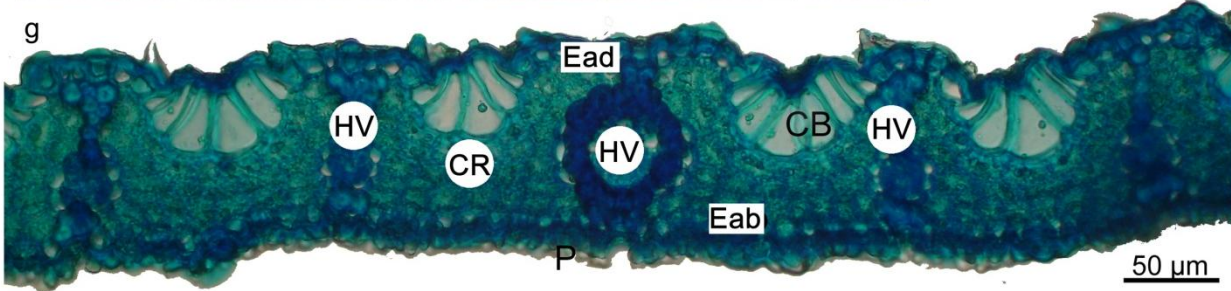
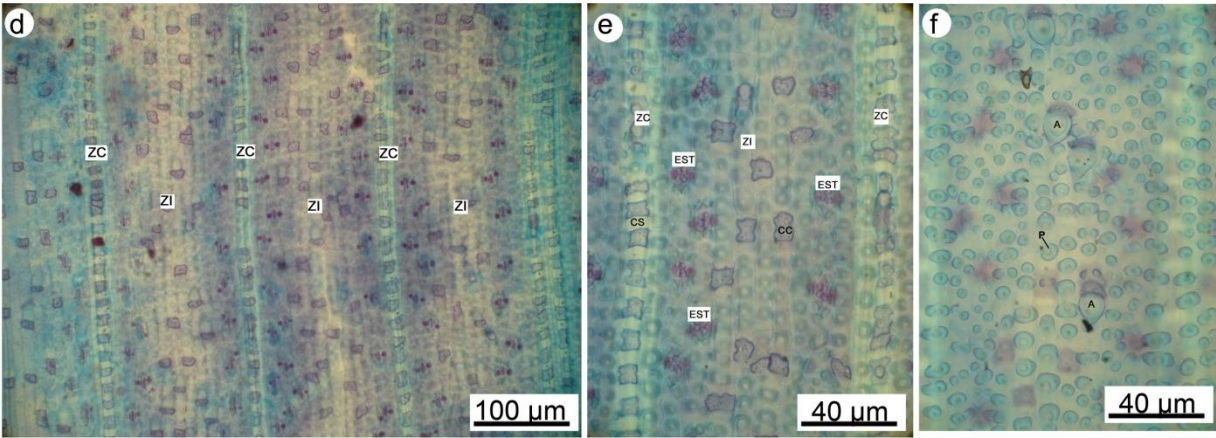
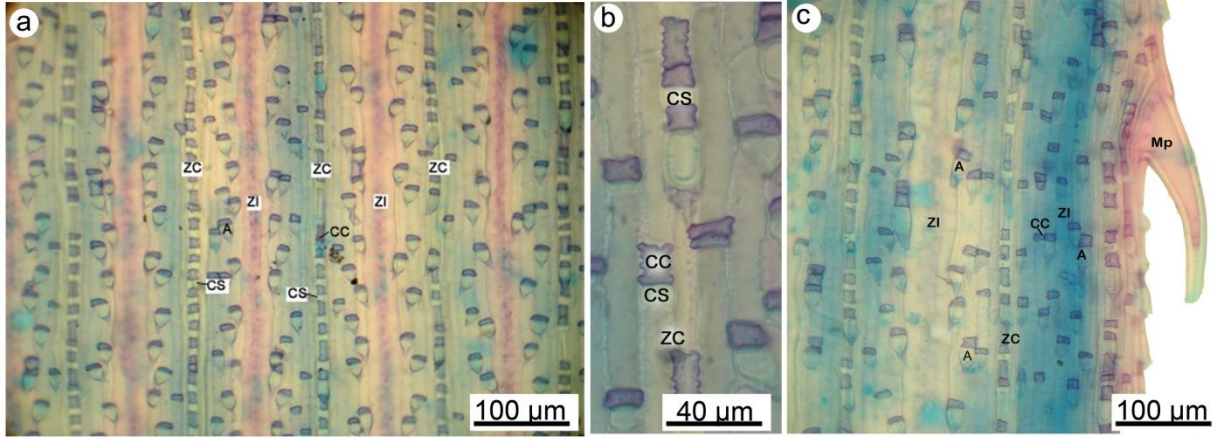


**Figura 12. Anatomía foliar de *Chusquea spencei*, localidad El Molino.**  
**Superficie adaxial:** a) Detalle de la zona costal e intercostal. b) Detalle de las células silíceas y suberosas. c) Detalle de los agujones y las células suberosas de la zona intercostal. **Superficie abaxial:** d) Detalle de la zona costal e intercostal. e) Detalle de las células silíceas y suberosas de la zona costal. f) Detalle de los estomas. g) Detalle de los agujones y las papilas. **Microfotografías de barrido:** h) Superficie adaxial con agujones. i) Superficie abaxial con numerosos agujones y papilas. j) Detalle de papilas de la superficie abaxial. Vista en sección transversal: k) Detalle epidermis con células buliformes en la superficie adaxial y papilas en la superficie abaxial y en el mesófilo, nótese las células fusoides que alternan con los haces vasculares. l) Detalle del nervio medio, nótese el haz vascular rodeado de un casquete de fibras y las células fusoides.

**Leyenda:** **A:** agujón, **C:** cutícula, **CB:** célula buliforme, **CC:** célula del corcho, **CF:** célula fusoides, **CR:** célula raquimorfa, **CS:** célula silíceas, **Eab:** epidermis abaxial, **Ead:** epidermis adaxial, **EST:** estoma, **F:** fibras, **Flo:** floema, **HV:** haz vascular, **P:** papila, **ZC:** zona costal y **ZI:** zona intercostal.

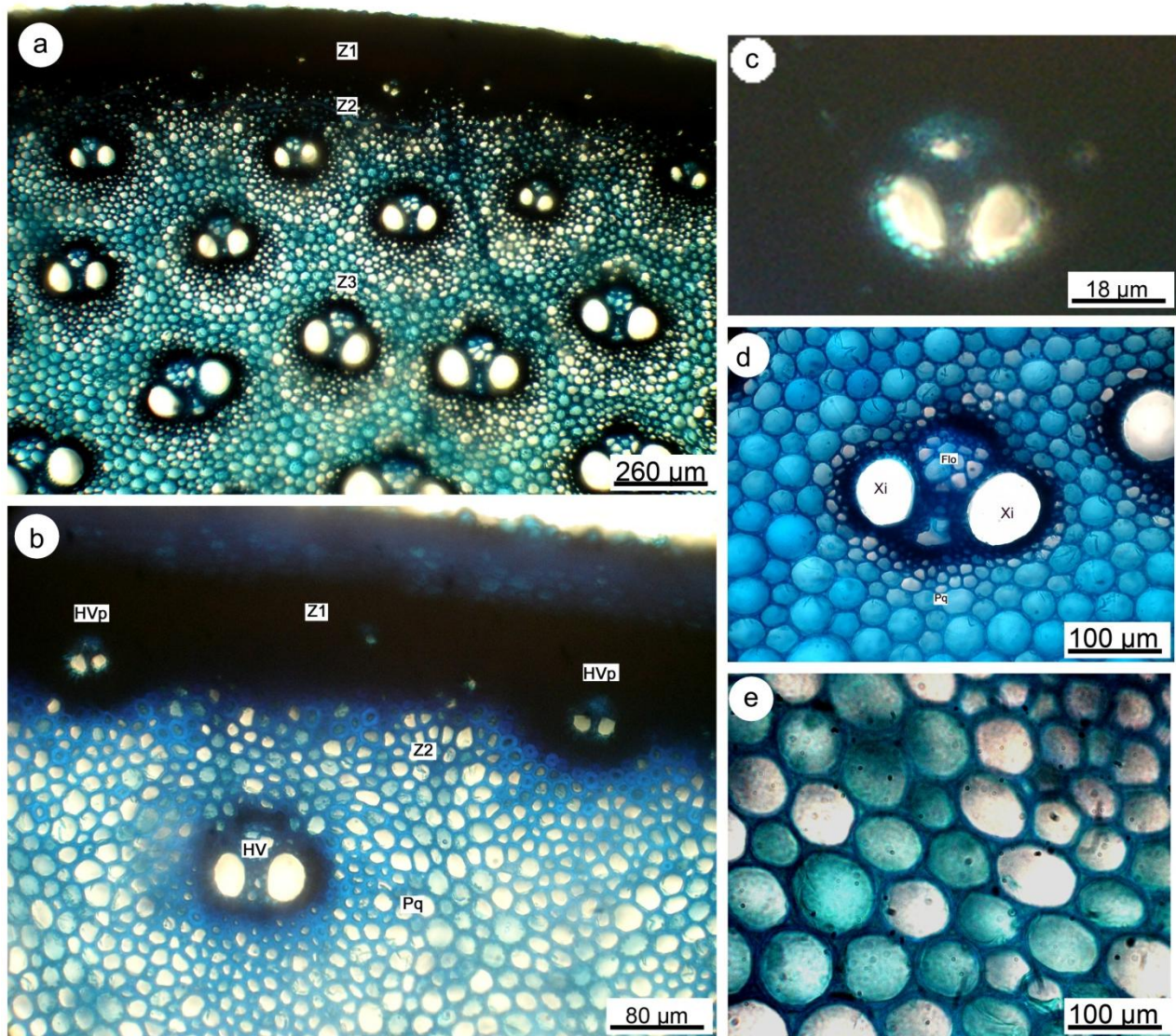


**Figura 11. Vista en sección transversal del culmo de *Chusquea spencei*, localidad El Molino.** a) Detalle de la zona periférica, de transición y central del culmo (Z1, Z2 y Z3, respectivamente). b) Detalle de la cutícula, y la epidermis. c) Detalle de un haz periférico. d) Detalle de un haz de la porción central del culmo. e) Detalle de las células parenquimáticas de la porción central del culmo, nótese el engrosamiento de las paredes. **Leyenda:** **C:** cutícula, **CP:** células parenquimáticas, **E:** epidermis, **Flo:** floema, **PC:** pared celular, **Xi:** xilema, **Z1:** zona uno, **Z2:** zona dos y **Z3:** zona tres.



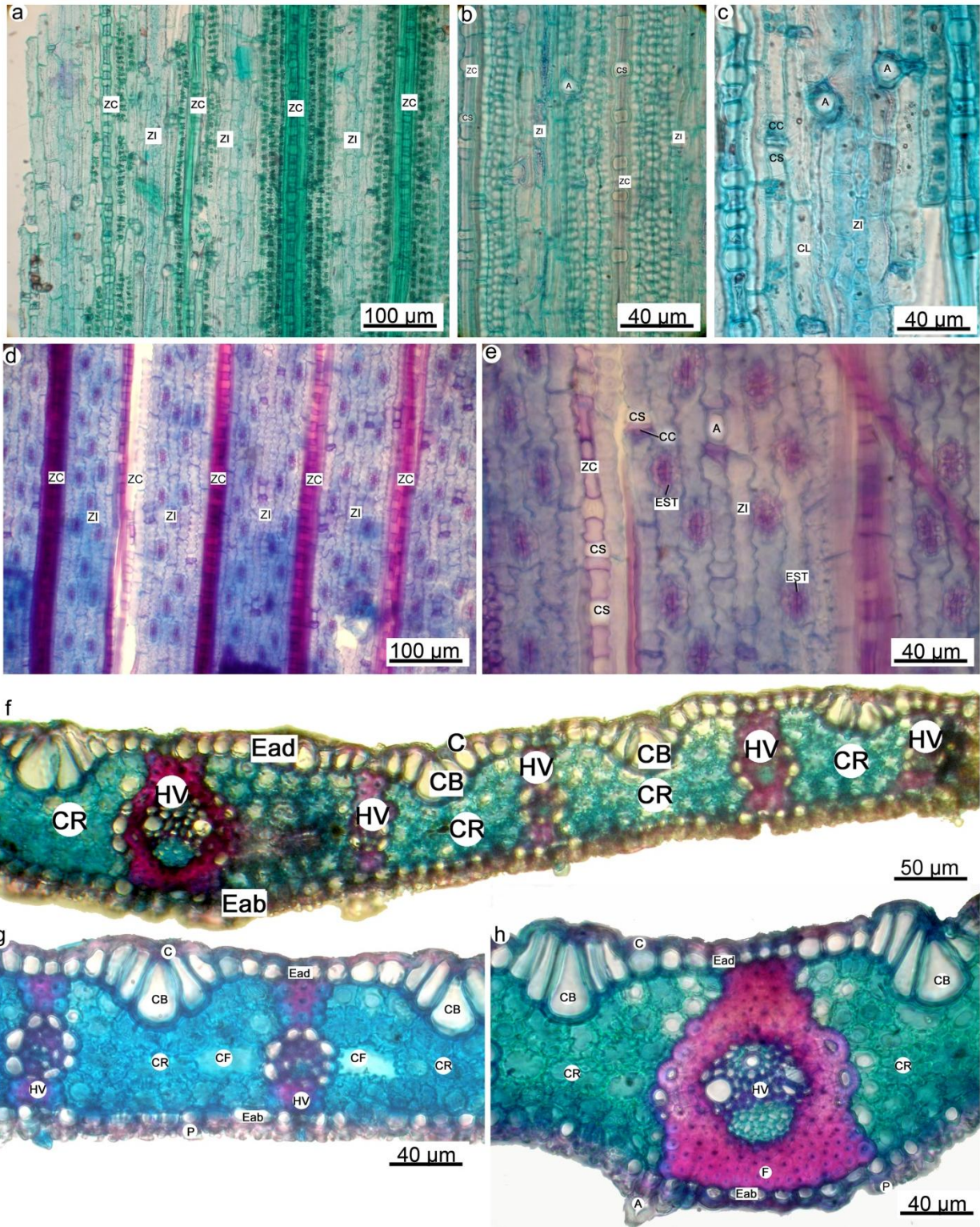
**Figura 12. Anatomía foliar de *Chusquea spencei*, localidad La Culata.**

**Superficie adaxial:** a) Detalle de la zona costal e intercostal. b) Detalle de las células silíceas y suberosas. c) Detalle de las células suberosas y los aguijones. **Superficie abaxial:** d) Detalle de zona costal e intercostal. e) Detalle de las células silíceas, suberosas y los estomas. f) Detalle de los aguijones y las papilas. Vista en sección transversal: g) Detalle de las células buliformes y los haces vasculares. h) Detalle del mesófilo, compuesto de células raquimorfas y haces vasculares. i) Detalle del nervio medio rodeado de un casquete de fibras. **Leyenda:** **A:** aguijón, **C:** cutícula, **CB:** célula buliforme, **CC:** célula del corcho, **CR:** célula raquimorfa, **CS:** célula silícea, **Eab:** epidermis abaxial, **Ead:** epidermis adaxial, **EST:** estoma, **F:** fibras, **HV:** haz vascular, **P:** papila, **ZC:** zona costal y **ZI:** zona intercostal.

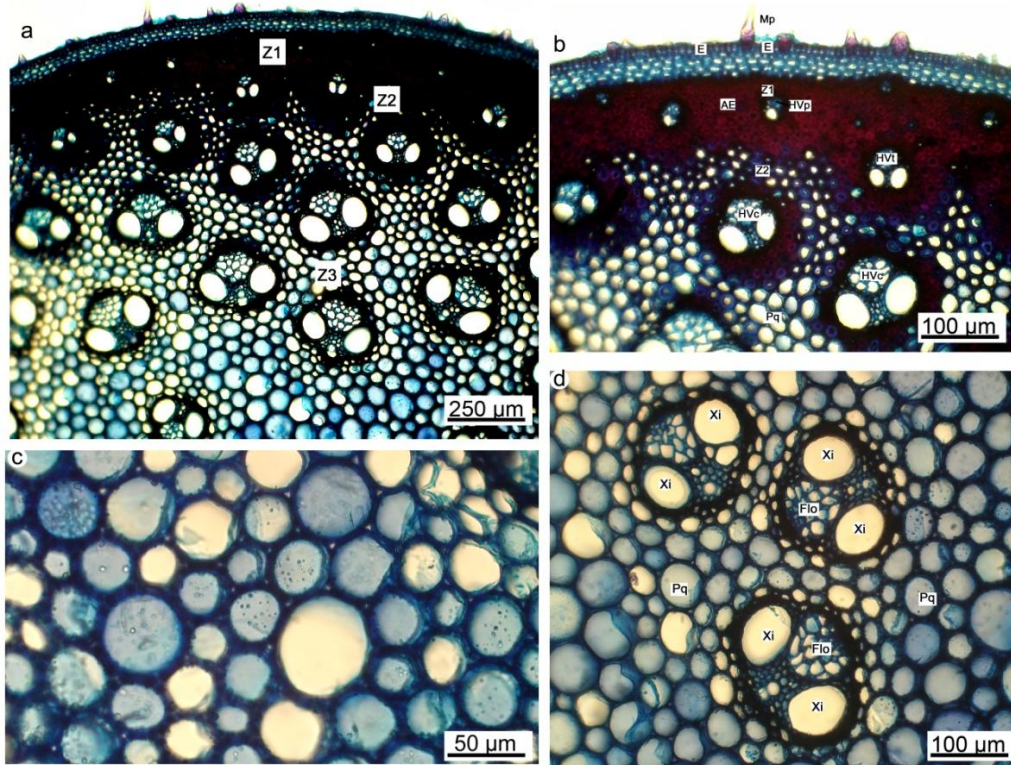


**Figura 13. Vista en sección transversal del culmo de *Chusquea spencei*, localidad La Culata.**

a) Detalle de la región periférica, de transición y media (Z1, Z2 y Z3, respectivamente). b) Detalle de la Z1, nótese los haces vasculares periféricos inmersos en el anillo esclerenquimático y un haz de mayor tamaño de la zona de transición. c) Detalle de un haz vascular periférico. d) Detalle de un haz vascular central rodeado de un casquete de fibras. e) Detalle de las células parenquimáticas de la porción central del culmo. **Legenda:** Flo: floema, HV: haz vascular, HVp: haz vascular periférico, Pq: parénquima, Xi: xilema, Z1: zona uno, Z2: zona dos y Z3: zona tres.



**Figura 14.** Anatomía foliar de *Chusquea spencei*, localidad La Aguada.



**Figura 15.** Vista en sección transversal del culmo

**Figura 16. Anatomía foliar de *Chusquea spencei*, localidad La Aguada. Superficie adaxial:** a) Detalle de la zona costal e intercostal. b) Detalle de las células silíceas y agujijones. c) Detalle de los agujijones y células longitudinales. **Superficie abaxial:** d) Detalle de la zona costal e intercostal. e) Detalle de estomas, agujijones, células suberosas y silíceas. **Vista en sección transversal:** f) Detalle de células raquimorfas y haces vasculares. g) Detalle de células buliformes y de células fusoides incipientes a cada lado del haz vascular. h) Detalle de nervio medio y del casquete de fibras que rodea al haz vascular. **Leyenda:** **A:** agujijón, **C:** cutícula, **CB:** célula buliforme, **CC:** célula suberosa, **CF:** célula fusoides, **CR:** célula raquimorfa, **CS:** célula silícea, **Eab:** epidermis abaxial, **Ead:** epidermis adaxial, **EST:** estoma, **F:** fibras, **HV:** haz vascular, **ZC:** zona costal y **ZI:** zona intercostal.

**Figura 17. Vista en sección transversal del culmo:** a) Detalle de la zona uno, dos y tres. b) Detalle de un macropropelo del centro del culmo. d) Detalle de los haces vasculares de la porción central. **Leyenda:** **AE:** anillo esclerenquimático, **E:** epidermis, **Flo:** floema, **HVc:** haz vascular del centro, **HVp:** haz vascular periférico, **HVt:** haz vascular de transición, **Mp:** macropropelo, **Pq:** parénquima, **Xi:** xilema, **Z1:** zona uno, **Z2:** zona dos y **Z3:** zona tres

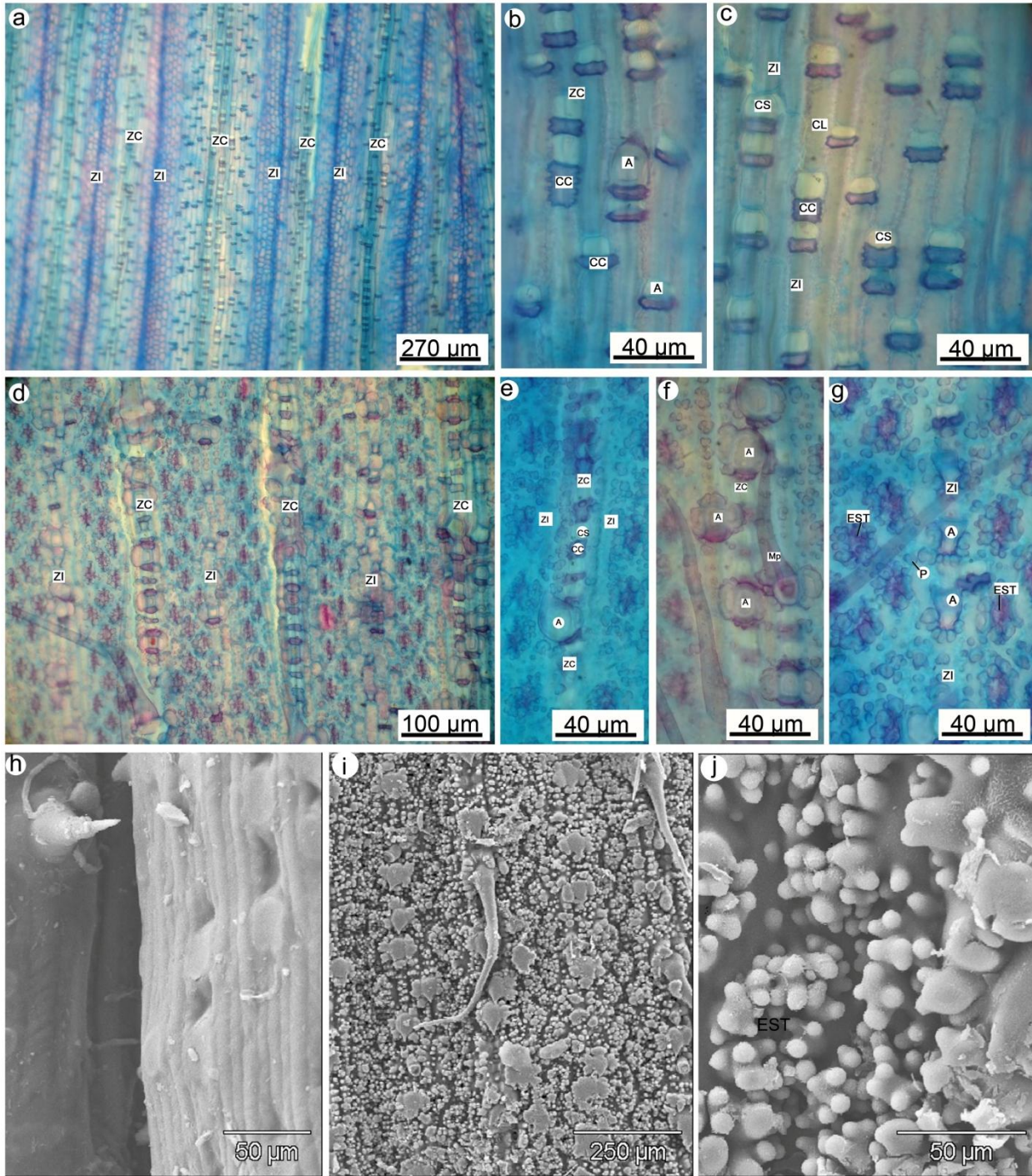
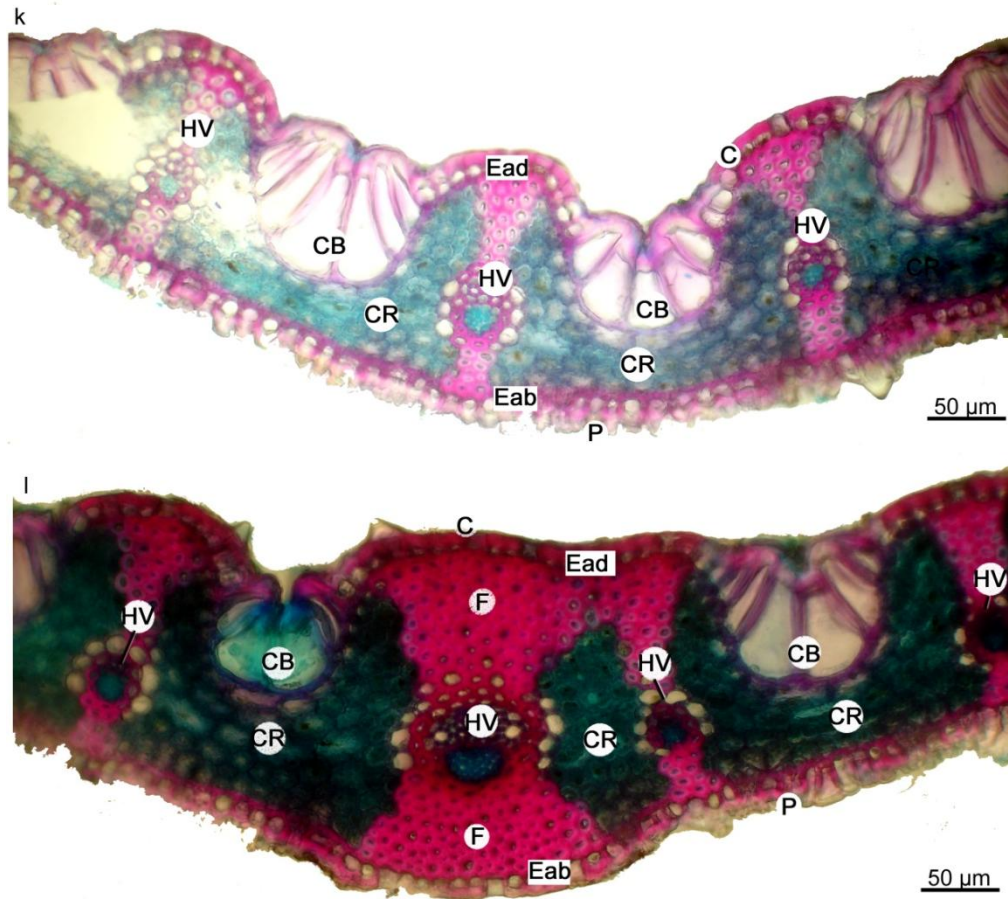
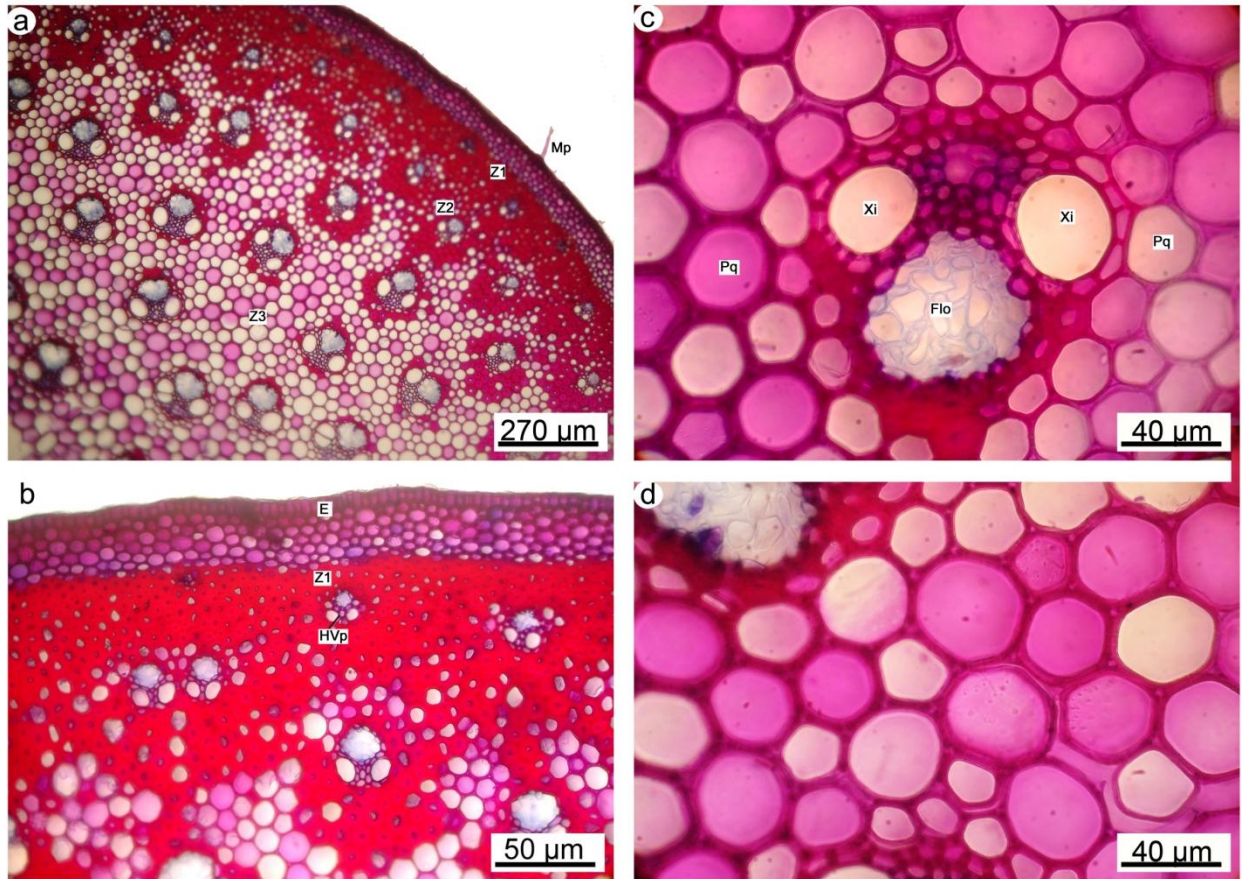


Figura 16. Anatomía foliar de *Chusquea guirigayensis*.

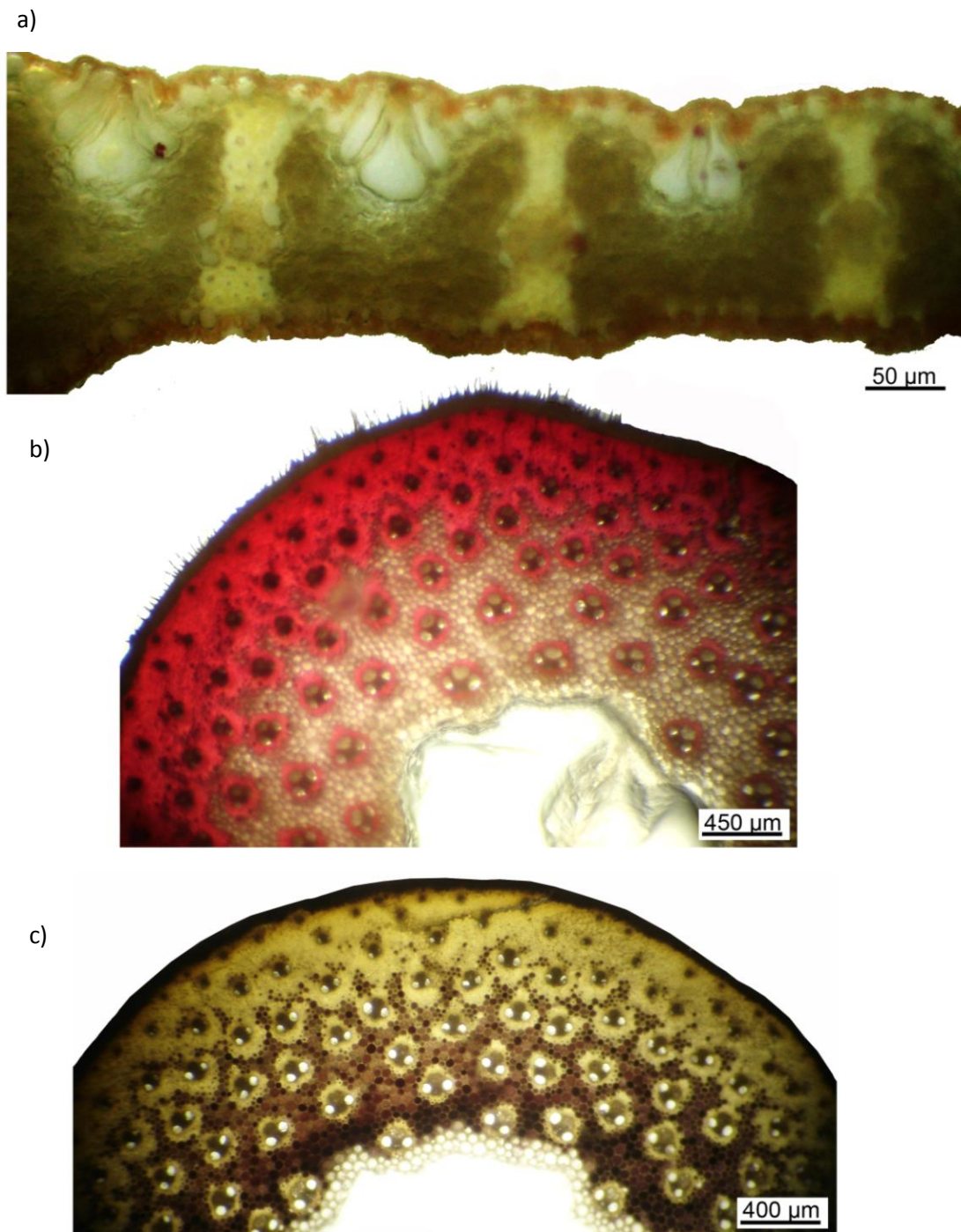


**Figura 18. Anatomía foliar de *Chusquea guirigayensis*. Superficie adaxial:** a) Detalle de la zona costal e intercostal. b) Detalle de las células suberosas y los agujones. c) Detalle de las células longitudinales, suberosas y silíceas. **Superficie abaxial:** d) Detalle de zona costal e intercostal. e) Detalle de las células silíceas, suberosas y agujones. f) Detalle de los macropelos. g) Detalle de los estomas. **Microfotografías de barrido:** h) Detalle de un agujón en la superficie adaxial. i) Epidermis abaxial, con numerosas papilas, agujones y escasos macropelos. j) Detalle de papilas de la superficie abaxial. **Vista en sección transversal:** k) Detalle de las células buliformes, del mesófilo y de las numerosas papilas abaxiales. l) Detalle del nervio medio y del casquete de fibras que rodea al haz vascular. **Leyenda:** A: agujón, C: cutícula, CB: célula buliforme, CC: célula suberosa, CL: célula longitudinal, CR: célula raquimorfa, CS: célula silícea, Eab: epidermis abaxial, Ead: epidermis adaxial, EST: estomas, F: fibras, HV: haz vascular, Mp: macropelo, P: papila, ZC: zona costal y ZI: zona intercostal.



**Figura 17. Vista en sección transversal del culmo de *C. guirigayensis*.**

a) Detalle de la zona periférica, de transición y central (Z1, Z2 y Z3, respectivamente). b) Detalle de la epidermis, y del anillo esclerenquimático de la zona periférica. c) Detalle de un haz vascular de la porción central. d) Detalle de las células parenquimáticas de la porción central del culmo, nótese el marcado engrosamiento de las paredes. **Leyenda:** **E:** epidermis, **Flo:** floema, **HVP:** haz vascular periférico, **Mp:** macropelo, **Pq:** parénquima, **Z1:** zona uno, **Z2:** zona dos y **Z3:** zona tres.

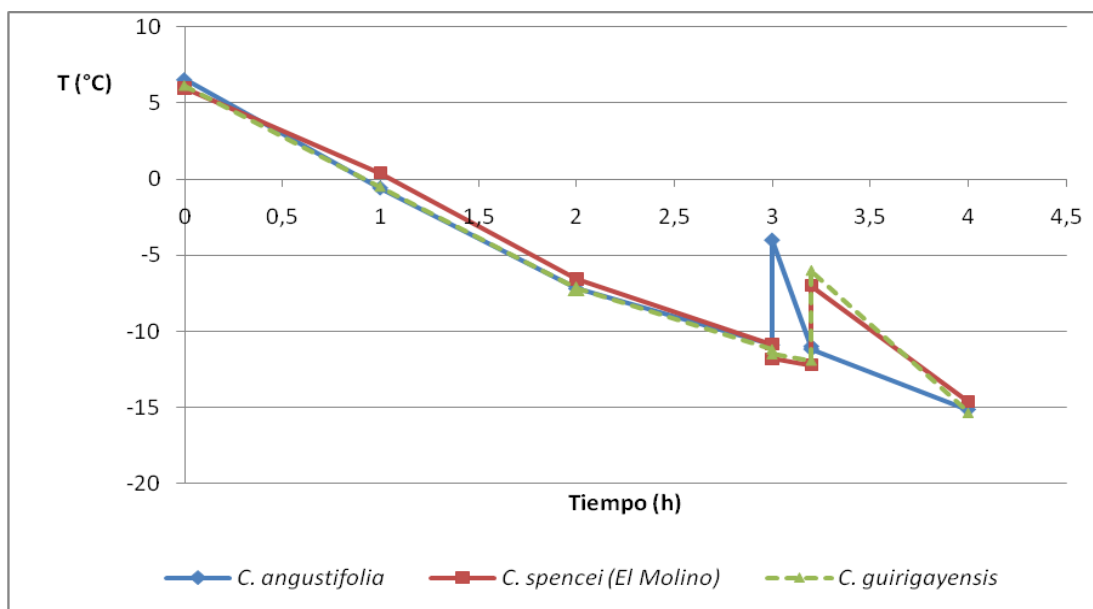


**Figura 18. Pruebas histoquímicas en hoja y culmo.**

a) Tinción con **sudan III**, se evidencia la naturaleza lipídica de la cutícula de *Chusquea spencei*. b) Culmo de *C. guirigayensis* teñido con **fluoroglucinol**, en que evidencia la elevada proporción de tejidos esclerenquimáticos fuertemente lignificados asociados al tejido vascular, c) Culmo de *C. guirigayensis*, teñido con **lugol**, se evidencia un elevado contenido de almidón en las células parenquimáticas.

### 5.5. Resistencia a temperaturas congelantes.

La figura 21 representa un ejemplo de las exotermas foliares registradas para cada especie en un ensayo de congelamiento, se puede observar que las tres especies sobreenfrían en un rango de temperatura entre los -12-y -10° C.



**Figura 19.** Temperaturas de sobreenfriamiento (exotermas) para cada especie en estudio.

En la tabla 12 se indican los resultados obtenidos de los ensayos de congelamiento y daño para cada especie. Para las tres especies estudiadas, *Chusquea angustifolia*, *C. spencei* (El Molino) y *C. guirigayensis*, la temperatura a la cual se inició el congelamiento estuvo entre los -13,8 y -7,4°C; las temperaturas de daño se mantuvieron muy cercanas a estas últimas, entre los -13,8°C y -8,74°C. Los análisis estadísticos señalan que no hay diferencias significativas entre las temperaturas de congelamiento y las de daño para ninguna de las especies, lo que nos indica que la respuesta a las temperaturas congelantes para estas tres especies es de evasión. Esto coincide con los estudios realizados previamente en las poblaciones de *C. spencei* procedentes de La Culata y La Aguada (Ely, 2009). Por el contrario, las temperaturas de daño no presentaron diferencias significativas entre especies, ni dentro de la misma especie en el caso de *C. spencei*.

**Tabla 12.** Temperaturas de congelamiento extracelular y de daño para las diferentes especies.

Prueba estadística de U de Mann Whitney, Kruskal Wallis y Tukey para un  $P < 0,05$ .

Especie	$\bar{x}$ Temp de congelamiento (°C)	$\bar{x}$ Temp de daño (°C)
<b><i>C. angustifolia</i>_(Las Piñuelas 2525m)</b>	-10,2±0,38	-12,3±0,33
<b><i>C. spencei</i> (El Molino 2670m)</b>	-10,0±0,31	-11,5±0,9
<b><i>C. spencei</i> (La Culata 3025m)</b>	-12,1 ±0,52	-12,0± 0,22
<b><i>C. spencei</i> (La Aguada 3320 m)</b>	-12,1 ±0,32	-12,2 ± 0,37
<b><i>C. guirigayensis</i>_(4010 m)</b>	-10,3±0,45	-10,4±0,7

No hubo diferencias significativas ni entre las temperaturas de congelamiento y de daño para cada especie, ni entre especies.

## 6. Discusión

### 6.1. Microclima

Los datos de temperatura para las localidades ubicadas a menor altitud como Las Piñuelas (2525 m) y El Molino (2670 m) no presentaron temperaturas congelantes; sin embargo aún cuando Las Piñuelas está a una menor elevación que El Molino, las temperaturas mínimas registradas a nivel del aire fueron de 4,6°C y de 7°C respectivamente. Estas discrepancias pueden atribuirse a varios factores: en primer lugar, el hecho de que existe un pequeño desfase en los períodos de mediciones registradas en ambos sitios (varias semanas) y aunado a ello, que en ambos casos representan un período relativamente corto (varios meses), por lo que no se descarta el hecho de que esta tendencia pudiese invertirse; en segundo lugar, es factible que la mayor nubosidad y por ende mayor humedad del aire que caracteriza al páramo de Las Piñuelas mantenga temperaturas más bajas que en El Molino, que está situada en una vertiente más seca y adicionalmente más expuesta a la radiación. En este estudio, las temperaturas congelantes a nivel del aire se registraron en las localidades por encima de los 3000 m snm; es decir, en La Culata, La Aguada y Piedras Blancas (-0,16; -0,68 y 0,3; respectivamente), aunque ésta última puede llegar a bajar cercano a los -4°C (Cáceres comunicación personal) según registros realizados en un año completo. Hay que considerar que en este trabajo los registros de temperaturas para Las Piñuelas, El Molino y Piedras Blancas, se llevaron a cabo durante períodos marcadamente húmedos (Mayo y principios de Diciembre del 2010), por lo que cabría esperar que durante la temporada seca estas temperaturas disminuyan aún más. Los registros de temperatura realizados en cada localidad tenían por objeto comprender mejor la influencia que puede tener dicho factor sobre la estructura morfoanatómica y la respuesta a temperaturas congelantes en las especies de *Chusquea* que ocupan diferentes pisos altitudinales en el páramo. No obstante, es fundamental tener en consideración que las temperaturas actuales en este ecosistema han incrementado progresivamente desde su primera aparición y aún cuando los páramos ubicados en el límite inferior de este gradiente altitudinal no presenten en la actualidad temperaturas congelantes, es de suponer que durante los periodos glaciares cuando las condiciones climáticas eran mucho más frías que las del presente, estos estuvieran expuestos a heladas nocturnas. Van der Hammen (1974), realizó un estudio de reconstrucción climática y de vegetación basado en el análisis de registro de polen en las altas montañas de Colombia, y encontró que durante el pleistoceno superior (el periodo glacial más frío en los Andes), el límite arbóreo de zonas húmedas descendió entre 1200 a 1500m con respecto a los límites actuales (aproximadamente 3500m snm en vertientes húmedas), es decir, que el páramo se situaba a aproximadamente

2000 m de altitud. El mismo autor registró a esa altitud lo que él denomina polen de páramo, que está compuesto básicamente por gramíneas, de esta manera sugiere que los cinturones de vegetación de páramo se desplazaron hacia altitudes más bajas cercanas a los 2200-3000 m de altitud; y adicionalmente propone que los glaciares llegaron a su máxima extensión durante dicho período, apareciendo a partir de los 3000 m. Otro trabajo que apoya la hipótesis del desplazamiento del cinturón de vegetación de páramo a menores altitudes, fue el realizado por Salgado-Labouriau *et al.* (1977), estos autores hicieron un registro palinológico en la Laguna de Mucubají en el Estado Mérida, y encontraron un ensamble de polen similar al que se encuentra en la actualidad en el piso altitudinal de superpáramo de Piedras Blancas; basado en estos hallazgos, sugieren que hace 12650-12250 BP el clima era mucho más frío y seco que el de la actualidad, y como consecuencia de dichas condiciones ocurrió un desplazamiento de la vegetación de superpáramo o altiandino (3600m), mientras que el páramo propiamente dicho se desplazó 400m más por debajo del límite actual. Dichos estudios sugieren que las plantas que colonizaron estos ecosistemas debieron desarrollar ciertas respuestas adaptativas que les permitieran resistir no sólo las bajas temperaturas de los periodos glaciares sino también las fluctuaciones térmicas que caracterizaron estos ecosistemas a lo largo de su historia.

## **6.2. Estructura exomorfológica**

En el presente trabajo, estudiamos los rasgos morfoanatómicos y la respuesta fisiológica a temperaturas congelantes desarrolladas por tres gramíneas leñosas a lo largo de un gradiente altitudinal de 1485 m, en el ecosistema paramero. El gradiente estudiado no pertenece a una transecta continua de una misma ladera, debido a que estas especies no crecen en una misma ladera montañosa sino que se distribuyen en localidades muy puntuales tanto en Sierra la Culata como en Sierra Nevada de Mérida; *Chusquea angustifolia* y *C. guirigayensis* crecen exclusivamente en Sierra La Culata, mientras que *C. spencei* crece en las dos sierras. Es por ello importante tener en cuenta que las distintas áreas de estudio se ubican en formaciones geológicas que difieren en edad y en la naturaleza de su material parental. Adicionalmente debe tomarse en cuenta las diferencias microclimáticas tales como las temperaturas del aire y del suelo, el contenido del agua en el suelo, entre otras, que son generadas por la exposición de la ladera, ya que ésta última está bajo la influencia de régimen de precipitación y de vientos que operan tanto a escala regional como local (Monasterio, 1980b). Es de esperar, que todas estas diferencias microclimáticas repercutan en las respuestas adaptativas de las Chusqueas de páramo.

Nuestra primera hipótesis planteaba “a medida que se asciende en el gradiente altitudinal, tanto los atributos exomorfológicos como anatómicos debían hacerse cada vez más xeromórficos en este género, ya que las condiciones climáticas deben ser cada vez más xéricas (extremas)”; no obstante, los resultados obtenidos revelaron que esta premisa no se cumple de manera incondicional. Un ejemplo de ello es el AFE, cuyos valores se esperaba que disminuyeran a medida que la altitud incrementaba. Encontramos que las variaciones del AFE no son consistentes con las variaciones de altitud; *C. angustifolia*, la especie que se encuentra en el límite inferior del gradiente (2525 m) presentó un AFE de 107 cm<sup>2</sup>/g, los individuos de *C. spencei* de El Molino (2670m) presentaron un AFE de 127 cm<sup>2</sup>/g, *C. spencei* de La Culata (3025m) el AFE fue de 234 cm<sup>2</sup>/g; *C. spencei* de la localidad La Aguada (3320m) de 244 cm<sup>2</sup>/g, y *C. guirigayensis* que es la especie que ocupa el límite superior del gradiente (4070m) presentó un AFE de 112 cm<sup>2</sup>/g. Esto nos indica que *C. angustifolia*; *C. spencei* de El Molino y *C. guirigayensis* poseen hojas más gruesas, pesadas y con menor superficie foliar que las de *C. spencei* de La Culata y La Aguada, y ello constató al comparar el grosor de las láminas foliares y la proporción de tejidos esclerenquimáticos asociados a los haces vasculares, que contribuyen a un mayor peso. Estas diferencias pueden ser atribuidas tanto a la estructura morfoanatómica propia de cada especie, como a las condiciones climáticas a las que están expuestas en cada caso. *C. angustifolia* crece en una sabana paramera de Sierra La Culata, con suelos arenosos, presumiblemente oligotróficos por el predominio de gramíneas, donde a pesar de la acentuada nubosidad que caracteriza la zona pueden estar expuestas a una alta radiación entre las 10:00-13:00 h que provocan incrementos de temperaturas de hasta 25 °C, aquí los individuos llegan a medir hasta 1,7m de altura; las hojas son grandes pero poseen una consistencia marcadamente escleromorfa, además de un denso indumento de tricomas, los cuales también deben incrementar el peso de la lámina foliar. La población de *C. spencei* de El Molino crece en una vertiente seca de la formación Sierra Nevada, con pendientes muy inclinadas; los individuos son de porte pequeño (hasta 0,8 m), con hojas relativamente pequeñas y coriáceas. Por el contrario, los individuos de *C. spencei* del páramo La Culata (3025 m) crecen en una vertiente más húmeda, adyacentes a un arroyo, y es en esta localidad donde esta especie alcanza su máximo desarrollo, dado que los individuos de esta localidad pueden llegar a medir 3 m de altura y su culmo puede alcanzar hasta 4 cm de diámetro (Ely, 2009), la lámina foliar es larga y delgada y es en base a esto que Ely (2009) sugiere que es en estas condiciones donde esta especie alcanza su óptimo desarrollo. En contraste, los individuos de *C. spencei* del páramo La Aguada (3320-3650 m), presentan alturas intermedia, sin embargo; ello no influye sobre sus dimensiones foliares, dado que sus valores de AFE no

difieren de manera significativa con respecto a los de La Culata, presumiblemente por el hecho de que esta localidad también se ubica en una vertiente húmeda (Ely, 2009), pero el incremento en la altitud probablemente condiciona otros factores (térmicos ó edáficos) que impiden que los individuos alcancen su óptimo como en Sierra La Culata. Por su lado, *C. guirigayensis* que se distribuye en el páramo desértico altiandino de Sierra la Culata, se caracteriza por presentar individuos de menor tamaño 0,3-0,5 m (excepcionalmente se encuentran algunos de hasta 1,2 m de altura), y se caracteriza por presentar hojas marcadamente más pequeñas, muy escleromorfas, con una muy elevada proporción de tejidos esclerenquimáticos, lo cual obviamente disminuye su AFE. Ely (2009), determinó que el AFE incrementa notablemente en las Chusqueas trepadoras de selva nublada, donde se observan valores de hasta 352,87 cm<sup>2</sup>/g en *C. purdieana*, lo cual representa un valor relativamente elevado cuando se compara con el de las especies de *Chusquea* arbustivas de páramo. Estas diferencias pueden ser atribuidas al hecho de que en este ecosistema la luz puede llegar a ser un factor limitante, por lo que la mayoría de las plantas presentan hojas con láminas más expandidas y delgadas. De hecho, *C. purdieana* posee una hoja de consistencia membranácea que se enrollan rápidamente con la pérdida de turgor, como ocurre típicamente en gramíneas de hojas muy delgadas y con una relación superficie/peso grande. En contraste, las especies de Chusqueas de páramo presentan por lo general hojas con una lámina más pequeña y engrosada, caracterizada por un mayor contenido de tejidos esclerenquimáticos, y consecuentemente valores de AFE más bajos.

Estos resultados también pueden estar vinculados con la naturaleza oligotrófica de los suelos de páramo. Reich *et al.* (1992), determinó que en las plantas que crecen en suelos oligotróficos las hojas persistentes son seleccionadas frente a las caducas, y se distinguen por ser más gruesas, duras y por presentar un alto contenido en tejidos esclerenquimáticos. Las hojas de las Chusqueas de páramo suelen durar como mínimo dos años (Ely, comunicación personal), razón por la cual se justifica el alto contenido de tejidos esclerenquimáticos, que aparte de incrementar la longevidad de la hoja, debe ofrecerle una mayor resistencia frente a los daños mecánicos que pueden ser ocasionados por el viento.

### **6.3. Estructura y adaptaciones morfoanatómicas**

#### **6.3.1. Anatomía foliar**

En relación a los caracteres anatómicos foliares, las tres especies estudiadas presentaron una anatomía uniforme típica de la subfamilia Bambusoideae, que consiste en una epidermis

uniestratificada en ambas caras con células silíceas, aguijones, papilas y con frecuencia macropelos. En la superficie adaxial al igual que el resto de las gramíneas presenta células buliformes piramidales en grupos de 3-6. El mesófilo está formado por células raquimorfos ó brasiformes y haces vasculares asociados a células fusoides (típicamente ausentes en especies de páramo). La epidermis abaxial es uniestratificada, con estomas en los márgenes de la zona intercostal (Metcalf; 1960; Calderón y Soderstrom, 1980; Clark, 1990; Judziwicz *et al.*, 1999; Vieira *et al.*, 2002; Montiel *et al.*, 2006; Montti *et al.*, 2009; Kiyota y Ely 2010). Este estudio demostró que las dimensiones de las células que conforman la estructura foliar típica de las Bambusoideae varía en función de las condiciones ambientales y no necesariamente de manera consistente con los incrementos de altitud, contrario a lo propuesto en la hipótesis, según la cual, se esperaba que se acentuaran los caracteres xeromórficos foliares a lo largo del gradiente altitudinal. Trabajos anatómicos previos realizados en plantas propias del páramo pertenecientes a las familias Asteraceae (Torres *et al.*, 1996, Torres 1998), Iridaceae (Rojas, 2002), Melastomataceae (Ely y Torres, 2003), Phormiaceae (Ely y Luque, 2006), Orchidaceae (Dugarte, 2005) y Rosaceae (Colmenares *et al.*, 2005), presentan caracteres xeromórficos comunes como son: cutículas gruesas, células epidérmicas altas, incremento en la densidad de tricomas y mesófilo marcadamente compacto, dichos caracteres se han considerado como respuestas adaptativas a su hábitat.

A continuación analizaremos en detalle cada uno de estos caracteres xeromórficos en este grupo. El mayor grosor de cutícula, de acuerdo a las pruebas histoquímicas correspondió en sentido decreciente a *C. angustifolia* (2525m), *C. guirigayensis* (4070m), y la población de *C. spencei* de La Culata (3025m); en el caso de las dos primeras especies, este carácter coincide con hojas más escleromorfas y con mayor contenido de esclerénquima. En el caso de *C. spencei*, las diferencias en el grosor de la cutícula no se correlacionan linealmente con la altitud, por lo que podría ser conveniente tomar en consideración la influencia de otros factores, tales como la posición de las hojas en la planta. Distintos estudios en plantas de ambientes asociados a la vegetación de páramo en Venezuela (Rada *et al.*, 1987; Torres *et al.*, 1996; Briceño *et al.*, 2000; Ely y Torres, 2003; Ely *et al.*, 2005; Dugarte, 2005; Azócar, 2006; Ely y Luque, 2006; Luque *et al.*, 2006; Colmenares *et al.*, 2005) y otros en condiciones ambientales **xéricas ¿extremas?** (Maximov, 1931; Penfound, 1931; Shields, 1950; Pykkö, 1966), indican que la presencia de una gruesa cutícula en estos ambientes, deben cumplir la función de disminuir la pérdida de agua por evapotranspiración (Maximov, 1931; Penfound, 1931; Shields, 1950 y 1951; Pykkö, 1966; Ely y Torres, 2006; Colmenares *et al.*, 2005) ó puede reflejar el exceso de radiación (Ely y Torres, 2006; Ely *et al.*, 2005).

Las células epidérmicas adaxiales, buliformes y abaxiales fueron notablemente más altas en *C. guirigayensis* con respecto a las otras especies, lo cual puede ser interpretado como una adaptación a las condiciones abiertas y con mayor insolación que caracterizan el altiandino, cuya función es la de regular el paso de la luz hacia las células del mesófilo (Torres *et al.*, 1996; Ely y Torres, 2003), dado que es un atributo muy frecuente en otros grupos de plantas que habitan este piso altitudinal; entre ellos *Oritrophium* (Torres *et al.*, 1996), *Coespeletia* (Torres, 1998), *Chaetolepis lindeniana* (Ely y Torres, 2003), Orchidaceae (Dugarte, 2005), *Polylepis sericea* (Colmenares *et al.*, 2005) y *Eccremis coarctata* (Ely y Luque, 2006). Esta aseveración también se apoya en el hecho de que tanto especies trepadoras de la selva nublada andina: *C. purdieana*, *C. serrulata* y *C. uniflora*, como las del Bosque Atlántico argentino, específicamente *C. ramosissima* y *C. tenella* presentan células epidérmicas y buliformes marcadamente más bajas (Montti *et al.*, 2009; Kiyota y Ely, 2010; Ely en preparación). Las células buliformes son responsables del plegamiento de la hoja, en respuesta a los cambios de turgor inducidos por las fluctuaciones de humedad, por lo cual los incrementos en tamaño son probablemente producto de adaptaciones a ambientes con limitaciones hídricas, que pueden ser provocadas por el congelamiento nocturno del agua en el suelo, menores precipitaciones aunados a condiciones de mayor radiación. Otro carácter cuyas variaciones en este grupo de bambúes arbustivos de páramo se relacionó inicialmente con condiciones de mayor radiación y/o menor disponibilidad de agua, fue el incremento en el número de las células buliformes, que aumenta hasta seis células en *C. guirigayensis*; sin embargo, el hecho de que en las trepadoras de selva nublada, este número varíe entre 2-6 células, independientemente de la altitud, sugiere que no existe tal relación.

Las tres especies presentaron formas de células silíceas en común como son: en silla de montar, campana y cruz; sólo *C. guirigayensis* presentó una forma adicional con respecto a las demás que fue del tipo *Chloris* (*Bromus fibrosus*), y todas orientadas horizontalmente. Se ha considerado que la forma y la orientación de éstas células están principalmente bajo el control genético más que por las condiciones del medio, razón por la que son utilizadas como una herramienta taxonómica (Prychid *et al.*, 2003), en especial dentro de la familia Poaceae han tenido esta aplicación (Metcalf, 1960; Montti *et al.*, 2009; Garlet *et al.*, 2009). Sin embargo, la cantidad de células silíceas y por ende, el contenido parece estar influenciada por las condiciones ambientales, en especial la disposición de ciertos nutrientes en el suelo (Prychid *et al.*, 2003). En este trabajo se midió la densidad de células silíceas (DCS) en la lámina, estos resultados demuestran que *C. guirigayensis*, *C. angustifolia* y *C. spencei* de La Culata presentan la DCS más bajas. La primera se caracteriza por tener hojas pequeñas casi

adpresas, por lo que la incidencia de los rayos solares sobre la lámina disminuye, tricomas escasos y una alta densidad de papilas que probablemente le permiten tener tasas fotosintéticas favorables. Lo mismo debe ocurrir con *C. angustifolia*, que al estar en un lugar más húmedo, con radiación máxima entre las 10:00am a 13:00 pm y en la tarde una alta nubosidad, aunado a que ésta especie posee hojas más grandes que la anterior y con un ángulo foliar mayor con respecto a la vertical, se encuentra cubierta no sólo por las papilas sino por una alta densidad de tricomas que le deben permitir mantener un ambiente más húmedo en las adyacencias de los estomas y así conservar tasas fotosintéticas altas. Por el contrario las poblaciones de *C. spencei* de La Culata, La Aguada y El Molino exhiben DCS mayores en sentido creciente, esto parece estar relacionado con el tamaño de los individuos. En La Culata los individuos son de mayor tamaño por lo que se ha considerado que se encuentra en su óptimo y presenta las DCS más bajas de las tres localidades para esta especie, mientras que los individuos de La Aguada son de tamaño intermedio y poseen DCS intermedias con respecto a las otras dos poblaciones y los de El Molino son de menor tamaño y con DCS muy altas. Aunque se ha sugerido que las tasas de transpiración afectan la acumulación de sílice y que esto a su vez puede estar relacionado con la capacidad fotosintética, **no existen resultados concluyentes al respecto (nosotros o Motomura)**, como indican los estudios realizados por Motomura *et al.*, (2008) en *Sasa veitchii*, un bambú de bosques templados de Japón; este autor sugiere que contenidos de sílice inferiores al 25% del peso seco de la hoja no afectan las tasas de fotosíntesis. En el presente estudio no se cuantificó el contenido de sílice foliar, ni se estudiaron atributos ecofisiológicos tales como tasas de fotosíntesis y transpiración por lo cual no podemos concluir con respecto a estas variables, lo que sí podemos proponer es que las diferencias en las DCS bien podrían estar influenciadas por las condiciones del sitio (Giraldo *et al.*, 2009) y posiblemente por procesos metabólicos, aunque desconocemos como afectan a estos últimos. En base a esto sugerimos que en estudios posteriores relacionados con ésta temática, se realicen mediciones de asimilación de carbono, transpiración y conductancia estomática, así como la determinación de la concentración de sílice foliar.

Los macropelos se encontraron en ambas superficies tanto en *C. angustifolia* como en *C. guirigayensis*, aunque en menor proporción en este último, y su ausencia en las trepadoras de selva nublada sugiere que podría constituir una adaptación a ecosistemas de alta montaña, particularmente porque los tricomas son un carácter relativamente común a otros grupos de plantas propias del páramo (Torres *et al.*, 1996; Torres, 1998; Ely y Torres, 2003; Colmenares *et al.*, 2005; Ely y Luque, 2006). Los tricomas contribuyen a amortiguar los cambios de temperatura y de humedad, por lo cual constituyen un carácter muy apropiado bajo estas

condiciones (Maximov, 1931; Shields, 1950; Ely y Torres, 2003; Torres *et al.*, 1996). Sin embargo, no necesariamente todo debe interpretarse bajo la premisa de causa efecto; el hecho que *C. spencei* carezca de macropelos a pesar de crecer a altitudes superiores a las de *C. angustifolia* también implica que puede tratarse de un atributo propio de algunas especies.

Las papilas son un elemento característico del género *Chusquea* (Metcalf, 1960; Clark, 1990; Judziewicz *et al.*, 1999; Vieira *et al.*, 2002; Montti *et al.*, 2009; Kiyota y Ely 2010), este estudio reveló que el tamaño de dichas estructuras aumentan a medida que se asciende en el gradiente altitudinal (Tabla 7). Este incremento de tamaño sí podría interpretarse como una adaptación a las condiciones de elevada radiación (Pykkö, 1966; Fahn, 1990), que se presenta también en otros grupos de plantas heliófitas, tanto de páramo (Ely y Torres, 2003; Dugarte, 2005; Azócar, 2006; Ely y Luque, 2006), como en epífitas de bosque (Ely *et al.*, 2007). A diferencia de otros grupos de plantas, e incluso de otros bambúes leñosos, en el género *Chusquea* las papilas se forman tanto sobre las células oclusivas de los estomas, como en todo el resto de las células epidérmicas abaxiales. Esta disposición sugiere que éstas crean un ambiente saturado de humedad y CO<sub>2</sub> entorno al estoma, lo cual permite mantener los estomas abiertos, sin incrementar la transpiración y de esta forma contribuyen a mantener tasas fotosintéticas positivas (Metcalf, 1960; Lambers *et al.*, 2008; Ely 2009). Adicionalmente, las papilas pueden contribuir a atenuar los cambios bruscos de temperatura, reflejando el exceso de radiación, lo cual puede ser muy beneficioso en ecosistemas de alta montaña.

Los agujones también constituyen modificaciones epidérmicas típicas de gramíneas y se encuentran en una elevada densidad en estas tres especies, independientemente de la elevación a la cual crecen. Gómez y Tellez (2008), estudiaron especies de gramíneas subalpinas y alpinas a lo largo de un gradiente altitudinal en México; y encontraron que todas las especies alpinas presentaron agujones, a diferencia de las subalpinas, en las cuales este carácter no era constante. Según estos autores, la proyección de la sombra de los agujones sobre la superficie de la lámina disminuye la temperatura foliar y de esta manera reduce la pérdida excesiva de agua por transpiración.

El mesófilo es notablemente compacto en las tres especies; este estudio reveló que el número de células raquimorfos que separan los haces vasculares incrementa de manera consistente con la altitud (Tabla 8). El mesófilo compacto constituye un atributo propio de plantas de páramo, presente tanto en arbustos esclerófilos (Ely y Torres, 2003; Azócar, 2006), árboles ((Ely *et al.*, 2005; Colmenares *et al.*, 2005), hierbas acaulescentes (Ely y Luque 2006), orquídeas terrestres (Dugarte, 2005) y sufrútices (Azócar, 2006). La compactación del mesófilo, entendiéndose por compacto aquel formado por células pequeñas de paredes engrosadas,

puede proporcionar diversas ventajas: por un lado le confiere un transporte de agua más eficiente (Luque *et al.*, 1999), y por otro disminuye el espacio intercelular con la consecuente disminución del agua apoplástica, lo cual le confiere mayor resistencia a la desecación, particularmente por el hecho de que evita la nucleación de hielo extracelular en condiciones de temperaturas congelantes (Pyykko, 1966; Rada *et al.*, 1985, 1987; Ely y Torres, 2003; Colmenares *et al.*, 2005; Ely, 2009).

Este estudio reveló que las únicas especies con células fusoides bien diferenciadas en el mesófilo son *C. angustifolia* (22,3  $\mu\text{m}$  de largo) y *C. spencei* en El Molino (21,7  $\mu\text{m}$  de ancho); éstas células están ausentes en las poblaciones de *C. spencei* de La Culata y en *C. guirigayensis*, y presentaron un desarrollo muy incipiente en las poblaciones de *C. spencei* de La Aguada (13,7  $\mu\text{m}$  de ancho), ya que dichas células exhiben formas transitorias con células raquimorfos de las cuales se originan, con bordes profundamente invaginados. En *Chusquea tenella* y *C. uniflora* especies asociadas a vegetación de selva, dichas células son muy bajas y alargadas, llegando a medir hasta 100  $\mu\text{m}$  de ancho y de alto 10-15  $\mu\text{m}$  (Metcalf, 1960; Kiyota y Ely, 2010). March y Clark (2010), estudiaron hojas de sombra y de sol de *Phyllostachys aurea*, *Bambusa longispiculata*, *Chusquea liebmannii*, *C. culeou* y *Yushania niitakayamensis*. Compararon el desarrollo y la capacidad de refracción de la luz de las células fusoides; y concluyeron que dichas células favorecen la absorción y redistribución de la luz en el mesófilo, por lo que las consideran como una estructura asociada a ambientes donde la luz es un elemento limitante en el desarrollo de las plantas, razón por la cual alcanzan su máxima expresión en bambúes trepadores de bosques nublados y están presentes en especies arbustivas asociadas a páramos bajos con elevada nubosidad. **Vieira *et al.*, (2002) proponen que la estrecha asociación de las células fusoides a los haces vasculares, sugiere que éstas desempeñan funciones de almacenamiento y transporte de agua en el mesófilo.**

En relación al desarrollo de los haces vasculares en estas especies, encontramos que *C. guirigayensis* representa la especie con haces vasculares de mayor diámetro, y en consecuencia presenta un menor número de haces por unidad de superficie con respecto a *C. angustifolia* y *C. spencei*, y en esta última, ni el diámetro ni el número de haces parecen estar afectados por la altitud. Contrario a lo que se ha reportado en la mayoría de las plantas de páramo; como por ejemplo *Coespeletia*, donde la vascularización incrementa linealmente con la altitud (Torres, 1998). El desarrollo de diámetros de haces vasculares más grandes en *C. guirigayensis* con respecto al resto de las especies estudiadas, debe estar relacionado a un mayor contenido de lignina asociados a los haces vasculares que refuerzan la lámina.

Las tres especies se caracterizan por presentar una alta densidad estomática (DE), la cual disminuye con la altitud, dado que los mayores valores de DE corresponden a *C. angustifolia* y los menores a *C. guirigayensis*. La DE elevada también ha sido interpretada como un carácter xeromórfico, propio de muchas plantas heliófitas y de páramo, independientemente de su forma de vida y de la altitud (Ely y Torres, 2005). Sin embargo, no existen estudios concluyentes al respecto; según algunos autores, la DE debería incrementar con la altitud por efecto de la disminución en la presión parcial del CO<sub>2</sub> (Woodward, 1986; Woodward y Bazzaz, 1988; Woodward y Kelly, 1995; Beerling y Kelly, 1997; Lin y Ceulemans, 2001; Woodward *et al.*, 2002; Beerling y Berner, 2005). En oposición, Körner (1988) comparó las DE de 185 especímenes de herbario, colectados antes de la revolución industrial, período en el cual la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico era inferior a la actual y los comparó con 104 especímenes colectados en campo a finales de los '80, los especímenes de herbario pertenecían a diferentes altitudes y distintos grupos taxonómicos y notó que las variaciones en la DE no son afectadas por la altitud, ni por las variaciones en la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico; concluyó que se requeriría de variaciones muy grandes en los niveles de CO<sub>2</sub> atmosféricos para inducir modificaciones anatómicas. De estos estudios se infiere que la DE no está definida por un único factor ambiental (la presión parcial de CO<sub>2</sub>), sino que también está vinculada a factores abióticos (edáficos, de disponibilidad de agua, velocidad del viento y la radiación) y genéticos propios de cada especie (Beerling y Kelly, 1997).

### **6.3.2. Anatomía caulinar**

También en este órgano, es posible identificar en estas tres especies modificaciones anatómicas que pueden interpretarse como adaptaciones a las variaciones microclimáticas que condiciona el gradiente altotérmico, a lo largo del cual se acentúan los caracteres xeromórficos. A grandes rasgos, las principales modificaciones en el culmo que experimentan las especies estudiadas son: un incremento en el grosor del anillo esclerenquimático que rodea a los haces vasculares, condición que se acentúa a medida que se asciende en el gradiente altitudinal, llegando a alcanzar el máximo espesor en *C. guirigayensis*. Este incremento en la proporción de esclerénquima en la periferia del tallo le confiere una mayor rigidez al culmo y lo protege de daños ocasionados por los fuertes vientos (Briceño *et al.*, 2000).

El diámetro de los elementos de vasos (Tabla 8) es otro carácter que varía con la altitud, aunque no siempre de manera consistente. En el extremo superior del gradiente altitudinal se sitúa *C. guirigayensis* con vasos más estrechos tanto periféricos como centrales, puesto que es la que está expuesta a heladas nocturnas más frecuentes, de mayor duración y donde el agua

en el suelo permanece por más tiempo en forma de hielo. Mientras que *C. angustifolia* y las poblaciones de *C. spencei* de las localidades de El Molino y La Aguada presentaron vasos de diámetros muy similares; a la vez que son muy diferentes de los diámetros hallados en los individuos de La Culata, que corresponde a los individuos con mayores dimensiones de todo el grupo. Estas diferencias se han relacionado con el hecho de que en esta localidad *C. spencei* alcanza su máximo desarrollo (Ely, 2009), probablemente debido a que crece en condiciones microclimáticas y edáficas muy favorables. Por otro lado, hubiésemos esperado que los vasos centrales de la población de La Aguada al estar a mayor altitud fueran más estrechos que los de la población de El Molino, pero paradójicamente encontramos que fueron más grandes los de La Aguada, esto pudiera atribuirse a que la localidad de El Molino está en una vertiente seca de Sierra Nevada, y a pesar de no estar sometida a temperaturas congelantes el recurso hídrico está más limitado que en La Aguada, a causa de las precipitaciones más bajas y también por las acentuadas pendientes del terreno que incrementan las pérdidas de agua por escorrentía, por lo que al estar expuestas a condiciones más secas desarrollan vasos más estrechos. La disponibilidad de agua limitada y el congelamiento son uno de los principales factores que inducen a la formación de burbujas de aire dentro de los haces vasculares, proceso conocido como cavitación. La cavitación a su vez produce embolismos, que es la obliteración de los conductos por la expansión de las burbujas de aire. En lugares secos ó con temperaturas congelantes la mayoría de las plantas presentan diámetros y longitud de vasos más pequeños con el fin de disminuir los riesgos de cavitación y consecuentemente embolismos (Aloni y Zimmermann, 1984; Tyree y Yang, 1992, Ely, 2009).

En relación al diámetro de las células parenquimáticas, no se hallaron diferencias significativas entre aquellas especies que crecen en los extremos del gradiente altitudinal; es decir, *C. angustifolia* (2525m snm) y *C. guirigayensis* (4010m snm), pero si entre éstas con respecto a *C. spencei*. Inicialmente, esperábamos encontrar una disminución gradual de este carácter a medida que se asciende en el gradiente altitudinal, pero los resultados obtenidos indican que esta variación está probablemente relacionada con las condiciones edáficas ó la naturaleza del material parental donde crecen. La acumulación de almidón en las células parenquimáticas observadas marcadamente en *C. guirigayensis* podría estar indicando que esta está expuesta a condiciones de limitación hídrica que puede ser generadas por el congelamiento del agua en el suelo. Según Levitt (1972), la acumulación de almidón está vinculado a la deshidratación a la que está expuesta la planta, una mayor cantidad de almidón está relacionada con una mayor actividad metabólica ligada a la hidrólisis del almidón a azúcares. *C. guirigayensis* fue la única que presentó una gran acumulación de almidón en las

células parenquimáticas del culmo, y esto es lógico puesto que esta especie crece expuesta a temperaturas bajas y disminuye la velocidad de la hidrólisis de almidón en azúcares acumulándose más almidón en estas células (Levitt, 1972).

#### 6.4. Respuesta a temperaturas congelantes

La hipótesis relacionada con los estudios de respuestas a las bajas tempe

raturas planteaba que *C. guirigayensis*, por su mayor proximidad al suelo (típicamente 0,4-0,7m) y ubicación a mayores elevaciones (3800-4010m), está expuesta a temperaturas mucho más bajas con respecto a *C. angustifolia* y *C. spencei*, con heladas nocturnas más frecuentes y de mayor duración, por lo que toleraría el congelamiento extracelular, así como las gramíneas herbáceas de páramo que presenta un porte similar. Por otra parte, *C. angustifolia* y las poblaciones de *C. spencei* ubicadas a 2670 m, evadirían el congelamiento extracelular de la misma manera que las poblaciones de *C. spencei* ubicadas a 3025 y 3320 m (Ely, 2009), por el hecho de que ambas crecen a menores elevaciones, presentan un mayor tamaño y no están sometidas a temperaturas tan extremas. Las poblaciones de *C. spencei* ubicadas a 3025 y 3320 m, en La Culata y La Aguada no están sometidas regularmente a heladas nocturnas, y cuando éstas se presentan durante la época seca, las temperaturas congelantes permanecen muy cercanas a los 0°C y son de escasa duración. Sin embargo, ambas poblaciones evaden el congelamiento foliar sobreenfriando a temperaturas bajas de -12,1 y -10 °C (Ely, 2009). Los resultados obtenidos invalidan esta hipótesis, al demostrar que las tres especies evaden las temperaturas congelantes, mediante temperaturas de sobreenfriamiento entre -12 y -10°C, independientemente del tamaño de los individuos y de la elevación a la cual crecen. Estos resultados apoyan los estudios de resistencia a bajas temperaturas realizados por Ishikawa (1984) y Sakai y Larcher (citado en Ishikawa, 1984), realizados en bambúes templados del Japón de los géneros *Sasa* y *Sasamorpha*, los cuales registraron temperaturas de sobreenfriamiento entre los -20 a -18°C y -25 a -15°C respectivamente. Esto sugiere que el mecanismo de evasión mediante el sobreenfriamiento podría ser un atributo ecofisiológico propio de gramíneas leñosas, en contraste con las gramíneas herbáceas de páramo, cuya resistencia a las bajas temperaturas consiste en la tolerancia al congelamiento extracelular, por lo que congelan a temperaturas mucho más elevadas (-6,3 y -3°C) (Márquez *et al.* 2006). Tanto las rosetas caulescentes (*Espeletia*) y las leñosas arbóreas (*Polylepis*) de páramo presentan temperaturas de sobreenfriamiento de -13,8 y -7°C, respectivamente, además

ambas son evasoras, lo que confirma que las temperaturas de sobreenfriamiento de las Chusqueas estudiadas coinciden más con el rango de las rosetas caulescentes y las leñosas arbóreas de los páramos, que con las propias gramíneas a las cuales pertenece. Los resultados obtenidos también apoyan los de Squeo *et al.* (1991), al confirmar que el hábito, más que la estatura influyen en el mecanismo de resistencia al congelamiento en plantas de páramo, dado que estos tres bambúes arbustivos no difieren en sus temperaturas de congelamiento, pese a sus diferencias de tamaño. En contraparte, cuando comparamos las temperaturas de sobreenfriamiento de *C. angustifolia*, *C. spencei* y *C. guirigayensis*, con las de *C. purdieana* y *C. serrulata*, dos trepadoras de las selvas nubladas montano altas, encontramos que éstas difieren muy poco en sus temperaturas de sobreenfriamiento (-11 a -9 °C), con diferencias de 1 a 2 °C (Ely, 2009). Estas similitudes indican que la evasión al congelamiento en el género *Chusquea* es una característica fisiológica propia del género, más que una adaptación a las condiciones ambientales. Se puede considerar que la evasión es un mecanismo apropiado para este grupo de plantas, ya que complementario a este posee una alta complejidad estructural propia del género *Chusquea*, que por ser gramíneas leñosas presentan hojas caulinares que protegen a las hojas propiamente dichas durante su desarrollo, impidiendo el contacto de éstas con el suelo (Ely, 2009), aunado al desarrollo de estructuras morfoanatómicas xeromórficas foliares que la refuerzan, como son una cutícula gruesa, un alto contenido de tejidos esclerenquimáticos y el mesófilo compacto; siendo en la mayoría de los casos consistentes con la anatomía de las plantas que habitan en los páramos (Baruch, 1979; Torres *et al.*, 1996; Briceño *et al.*, 2000; Ely y Torres, 2003; Colmenares *et al.*, 2005; Ely y Luque, 2006). Sin embargo, no está de más acotar de que en muchos casos las respuestas de resistencia desarrolladas por las plantas frente a diferentes factores pueden ser explicadas en base a cambios a nivel celular, como es cambios en la presión osmótica, en la permeabilidad de la membrana, en el protoplasma, producción de proteínas, entre otros; que no son el objetivo de este trabajo pero que siempre hay que tomarlo en consideración (Taiz y Zeiger, 1998; Schulze, 2005; Larmbers *et al.*, 2008).

Las temperaturas de sobreenfriamiento en las tres Chusqueas estudiadas son muy bajas (-12 a -10°C), esto nos indica que en la actualidad estas especies no corren ningún riesgo de sufrir daños en sus tejidos vegetativos por congelamiento, ni siquiera *C. guirigayensis* que es la que se encuentra en el límite superior del gradiente, ya que la temperatura más baja registrada en el páramo Piedras Blancas no llega a estar por debajo de los -5°C a nivel del aire (Cáceres comunicación personal). Aunque el género *Chusquea* es de aparición reciente en el

planeta (Judziewicz *et al.*, 1999), es muy factible que en las especies de páramo su evolución haya transcurrido a la par con la formación de los páramos andinos, estos últimos han experimentado periodos glaciares e interglaciares mencionados anteriormente en el texto (sección de microclima), por lo que probablemente las bajas temperaturas de sobreenfriamiento que éstas exhiben se fijaron en periodos glaciares donde las temperaturas eran más bajas y la frecuencia de las heladas nocturnas era mayor que en la actualidad.

Por otra parte, el hecho de que las especies de Chuqueas estudiadas congelen a partir de  $-10^{\circ}\text{C}$ , nos indica que éstas podrían ocupar pisos altitudinales mas alto de los que actualmente ocupa, la limitación de su distribución entonces debe estar restringida a otros factores que no son las bajas temperaturas, probablemente puede estar relacionado a condiciones edáficas, como la profundidad del suelo, contenido de materia orgánica y composición química del mismo, contenido y disponibilidad del agua en el suelo, sabiendo que en el último caso, el recurso hídrico puede estar limitado por bajas temperaturas.

Este trabajo permitió precisar algunas de las variables que deben tomarse en cuenta a la hora de continuar laborar en esta línea de investigación, en base a nuestro resultados podemos sugerir para estudios posteriores que se realicen mediciones de radiación, contenido de agua en el suelo y estudiar la naturaleza química del suelo de las áreas de muestreo, a fin de determinar si son dichas variables las que limitan la distribución de éstas especies y ejercen una influencia en la selección de ciertos caracteres morfoanatómicos.

## 7. Conclusiones

1. Las tres especies de *Chusqueas* presentaron rasgos generales comunes con el resto del género, pero con una clara acentuación de rasgos xeromórficos que evidencia su asociación con los ecosistemas de páramo. A nivel exomorfológico estos caracteres consisten en una disminución en la estatura de los individuos, así como en el tamaño de las hojas y en el AFE. A nivel anatómico, en lo que se refiere a la estructura foliar, en una cutícula marcadamente engrosada, un incremento en la densidad de agujones y macropelos, células epidérmicas altas, mesófilo compacto, ausencia de células fusoides o éstas muy poco diferenciadas y un incremento en la proporción de tejidos esclerenquimáticos asociados a los haces vasculares. En el culmo, estos caracteres consistieron en una cutícula engrosada, un incremento en el espesor del anillo esclerenquimático que rodea los haces vasculares periféricos y una notable disminución en el diámetro de los vasos y de las células parenquimáticas.
2. *Chuquea angustifolia*, es la especie que se encuentra en el límite inferior del gradiente altitudinal estudiado (2525-4010 m); curiosamente, presenta una estructura morfoanatómica bastante xeromórfica, que podrían estar relacionada con características anatómicas propias de la especie, así como de las condiciones de sitio específicamente, condiciones edáficas oligotróficas, aunadas a la elevada radiación que se presenta entre las 10:00 y 13:00 h.
3. *Chusquea spencei*, presentó variaciones anatómicas a lo largo del gradiente altitudinal, al igual que variaciones en la proporción de rasgos xeromórficos, aunque éstos últimos no variaron de manera consistente con la altitud. La población de El Molino (2670 m) fue la única de esta especie que presentó células fusoides bien desarrolladas; sin embargo, también coincidió con ser la que presentó una mayor incidencia de rasgos xeromórficos (estatura pequeña y hojas pequeñas y engrosadas), con respecto a las poblaciones de la

misma especie procedentes de La Culata (3025m) y La Aguada (3320m). La variabilidad morfoanatómica de esta especie a lo largo del gradiente, sugiere una plasticidad estructural que podría estar relacionada con su amplia distribución tanto geográfica como altitudinal en Venezuela (2670-3650m snm).

4. *Chusquea quirigayensis*, crece exclusivamente en el límite superior del páramo (3970-4010 m), y coincidió con presentar los rasgos más xeromórficos acentuados de las tres especies de *Chusquea*.
5. En las Chusqueas de páramo, las temperaturas de sobreenfriamiento son relativamente bajas, situándose entre los -12 y -10 °C.
6. La evasión, como respuesta a las bajas temperaturas, se presenta de manera consistente en todas las especies de Chusqueas de alta montaña estudiadas hasta el presente, lo que parece indicar que es un atributo fisiológico propio del género.
7. La evasión como respuesta a las temperaturas congelantes en las especies que se encuentran a mayores altitudes, podría estar complementada por la presencia de caracteres anatómicos xeromórficos, así como por otros parámetros fisiológicos que no se tomaron en cuenta en el presente trabajo.



## 8. Bibliografía

- ALONI, R. AND ZIMMERMANN M. H. 1984. Width and Pattern of Regenerative Vessels along Strips of Vascular Tissue. *Botanical Gazette*, Vol. 145, No. 1. pp. 50-54
- ATAROFF, M., SARMIENTO, L. 2004. Las unidades ecológicas de los Andes de Venezuela. En: La Marca, E., Soriano, P. (eds). *Reptiles de Los Andes de Venezuela*. Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, Biogeos, Mérida, pp. 9-26.
- AZÓCAR, A. 1974. Análisis de las características de diferentes hábitats en la formación de páramo. Facultad de Ciencias. ULA. pag 73.
- AZÓCAR, A. 1981. La flora de los páramos. En: *Los páramos venezolanos*. De Karl Weidman. Edición Librería Alemana S.R.L. pp. 6-27.
- AZOCAR, C. J. 2006. Relación entre anatomía foliar, forma de vida y mecanismos de resistencia a temperaturas congelantes en diferentes especies en el Páramo de Piedras Blancas. Tesis de pregrado: Universidad los Andes. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencias Ambientales.
- AZOCAR, A. y RADA, F. 1993. Ecofisiología de plantas de la alta montaña andina. *Respuestas Ecofisiológicas de Plantas de Ecosistemas Tropicales*. CIELAT- ULA pp82-110
- AZÓCAR A. y RADA, F. 2006. Ecofisiología de plantas de Páramo. ICAE. Editorial Litoramas. Mérida-Venezuela.
- BARUCH, Z. 1979. Elevation Differentiation in *Espeletia Schultzii* (Compositae), A Giant Rosette Plant of the Venezuelan Paramos. *Ecology*, Vol. 60, No. 1. pp. 85-98
- BERG, A. y SUCHI, S. 2000. La Vegetación de los Páramos La Aguada, La Fría y Espejo en los Andes Venezolanos. *Plantula* 3(1): 47-64.
- BEERLING D. J. AND BERNER R. A. 2005. Feedbacks and the Coevolution of Plants and Atmospheric CO<sub>2</sub>. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 102, No. 5. pp. 1302-1305
- BRADLEY, R. S.; YURETICH, R. F. y SALGADO LABOURIAU. 1985. Late quaternary paleoenvironmental reconstruction using lake sediments from the Venezuelan Andes: preliminary results. *Band* 21: 97-106.
- BRICEÑO B & P DE ROBERT. 1996. Diversidad y utilidad de las plantas vasculares en un páramo triguero de la Sierra Nevada de Mérida. *Pittieria (Venezuela)* 24: 43-61.

- BRICEÑO, B.; AZÓCAR, A.; FARIÑAS, M. y RADA, F. 2000. Características anatómicas de dos especies de *Lupinus* L. de los Andes venezolanos. *Pittieria*, Vol. 1, nº 29 y 30: 21-35
- BRICEÑO, B. y MORILLO, G. 2006. Catálogo de las plantas con flores de los Páramos de Venezuela: Parte II. Monocotiledóneas (Liliopsida). *Acta Bot. Venez.*, vol.29, no.1, p.89-134. ISSN 0084-5906.
- BUSSMAN, R. 2004. Regeneration and sucesión patterns in African, Andean and Pacific tropical mountain forests: the role of natural and athropogenic disturbance. *Lyonia* 6(1):93-111.
- CÁCERES, Y. 2008. Intercambio gaseoso y mecanismos de Resistencia a bajas temperaturas de *Vaccinium meridionale*, en el páramo de "La Aguada". Mérida-Venezuela. Tesis de pregrado: Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencias Ambientales.
- CALDERÓN, C. y SODERSTROM, T. 1980. The Genera of Bambusoideae (Poaceae) of the American Continent: Keys and Comments. SMITHSONIAN INSTITUTION PRESS City of Washington
- CAVIERES, L.; RADA, F.; AZÓCAR, A.; GARCÍA, C. y CABRERA, H. 2000. Gas Exchange and low temperature resistance in two tropical high mountain tree species from the Venezuelan Andes. *Acta Oecologica* 21(3): 1-9
- CLARK, L., G. 1986. Systematics of *Chusquea* section *Swallenochloa*, section *Verticillatae*, and section *Serpentes* (Poaceae: Bambusoideae). Ph. D. Dissertation. Iowa State University, Ames. En: American Bamboos. Judziewicz et al. Smithsonian Institution Press. U.S.A.
- CLARK, L. G. 1989. Systematic of *Chusquea* Section *Swallenochloa*, Section *Verticillatae*, Section *Serpentens* and Section *Longifoliae* (Poaceae- Bambusoideae). *Systematic Botany Monographs*, vol 27:1-127
- CLARK, L. 1990. *Chusquea* sect. *Longiprophyllae* (Poaceae: Bambusoideae): A New Andean Section and New Species. *Systematic Botany* 15 (4): pp. 617-634.
- CLARK, L. 1997. Diversity, Biogeography and evolution of *Chusquea*. En: *The Bamboos*. Chapman, G.P. (Ed.). Academic Press, London. Pp. 33-44
- CLARK, L. 2001. Diversification and endemism in Andean woody bamboos (Poaceae: Bambusoideae), *Journal of American Bamboo Society* 15(1): 14-19.

- CLARK, L.; JUDZIEWICZ, E. y TYRRELL, Ch. 2007. *Aulonemia ximena* (Poaceae: Bambusoideae), a new northern Andean species with fimbriate sheath margins. The journal of the American Bamboo Society 20 (1): 1-6.
- CLARK, L., G. y ELY, F. 2011. Checklist de los géneros de bambúes leñosos (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae) de Venezuela. *En prensa en Acta Botanica Venezuelica*.
- 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.
- CUELLO, N; CLEEF A. M. & AYMARD G. 2010. Phytogeography of the vascular páramo flora of Ramal de Guaramacal (Andes, Venezuela) and its ties to other páramo floras. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. Vol. 67(2): 177-193
- DUGARTE, B. 2005. Morfoanatomía en la tribu Cranichideae Endlicher (Orchidaceae) de la estación Loma Redonda del Parque Nacional Sierra Nevada. Mérida, Venezuela. Tesis de pregrado: Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Centro Jardín Botánico.
- 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). *Plántula* 3(2) 111-116
- ELY FRANCISCA, FRESIA TORRES Y JUAN C. GAVIRIA. 2005a. Relación entre los caracteres morfo-anatómicos foliares de tres especies del género *Miconia* con su hábitat y distribución altitudinal en el Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida, Venezuela” *Act. Bot. Venezuelica* 28(2).
- ELY, FRANCISCA FRESIA TORRES Y JUAN C. GAVIRIA. 2005b. Morfología y anatomía foliar de *Monochaetum meridense* (Melastomataceae), un arbusto del Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida, Venezuela. *Act. Bot. Venezuelica*, 28(2).
- ELY, F. y LUQUE, R. 2006. Estudio morfoanatómico comparado de *Eccremis coarctata* (Ruiz & Pav. ) Baker (Phormiaceae) en diferentes altitudes de la Cordillera de Mérida.
- ELY, F.; TORRES, F.; RADA, F. y LEÓN, Y. 2007. Estudio morfoanatómico de dos orquídeas de una selva nublada tropical. *Interciencia*. Vol. 32 N°6.

- ELY, F. 2009. Respuesta ecofisiológica y diversidad genética de *Chusquea* (Bambusoideae, Poaceae) en la Cordillera de Mérida. Tesis de doctorado: Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. ULA.
- FAHN, A. 1990. Plant Anatomy. 4a. ed. Pergamon Press. Pp 588.
- FARIÑAS, M., MONASTERIO, M. 1980. La vegetación del páramo de Mucubají. Análisis de ordenamiento y su interpretación ecológica. En: Monasterio, M. (Ed). Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos. Editorial de la Universidad de Los Andes, Mérida, pp. 264-307.
- GARCÍA, C. 2008. Características adaptativas de especies de gramíneas y hierbas en una sucesión ecológica en el páramo Andino. Tesis de Maestría: Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. ULA.
- GARLET C. M.; LONGHI-WAGNER, H. M. E OLIVEIRA P. L. 2009. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de espécies do Complexo *Briza* L. (Poaceae: Pooideae: Poaeae). Acta bot. bras. 23(3): 666-680.
- GIRALDO, C.; GOMEZ, M.; SAAVEDRA, M.; FONTHAL, G.; GONZALEZ, V. y ARIZA, H. 2009. Cuantificación de sílice presente en el follaje de *Guadua angustifolia* del Departamento del Quindío. Revista de investigación de Universidad Quindío. Armenia-Colombia. (19):14-17
- GOLDSTEIN, G., RADA, F., AZÓCAR, A. 1985. Cold hardiness and supercooling along a altitudinal gradient in Andean giant rosette species. Oecologia 68: 147-152.
- GONZÁLEZ, N.; FORERO, L. y RANGEL- CH, O. 2002 Changes in the vegetation and climate during the middle and upper Pleniglacial in the Tenjo Valley (Cundinamarca, Colombia) Caldasia 24(1) 2002: 15-32
- GOMÉZ, M. Y TELLEZ, K. 2008. Anatomía foliar de algunas gramíneas alpinas y subalpinas del eje volcánico transversal, México. J. Bot. Res. Inst. Texas 2(1): 495 –515.
- HYDE, K.D., ZHOU, D.Q. AND DALISAY, T. 2002. Bambusicolous fungi: A review. Fungal. Diversity 9: 1-14.
- HOOGHMSTRA, H., WIJNINGA, V. and CLEEF A. M. 2006. The Paleobotanical Record of Colombia: Implications for Biogeography and Biodiversity Annals of the Missouri Botanical Garden, Vol. 93, No. 2, pp. 297-324
- ISHIKAWA, M. 1984. Deep supercooling in moist tissues of wintering *Sasa senanensis* and mechanism in leaf blade tissues. Plant Physiology 75: 196-202

- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. Macgraw Hill Book I.N.C., pp 522
- JUDZIEWICZ, E., CLARK, L., LONDOÑO, X. y STERN, M., 1999, American Bamboos. Smithsonian Institution Press. U.S.A.
- KIYOTA, S. y ELY, F. 2010. Anatomía foliar de *Chusquea uniflora* Steudel (Poaceae: Bambusoideae). Memorias del X Congreso Latinoamericano de Botánica, La Serena-Chile.
- KÖRNER, Ch. 1988. Does Global Increase of CO<sub>2</sub> Alter Stomatal Density?. *Flora*. 181: 253-257.
- KÖRNER, Ch. 2003. Alpine plant life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems. Second Edition. Springer-Verlag.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, S. and PONS, T. 2008. Plant physiological ecology. Springer. Second edition. New York, USA. pp. 239-244.
- LEVITT, J. 1972. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, London. Pp. 401-403
- LIN, J; JACH, M. E. AND CEULEMANS, R. 2001. Stomatal Density and Needle Anatomy of Scots Pine (*Pinus sylvestris*) Are Affected by Elevated CO<sub>2</sub>. *New Phytologist*, Vol. 150, No. 3. pp. 665-674
- LINDÉN, L. 2002. Measuring cold hardiness in woody plants. Academic dissertation. Faculty of Agriculture and Forestry. University of Helsinki. Helsinki, Finland. Pp. 57.
- LONDOÑO, X. 2003. Evaluation of bamboo resources in latin america. A Summary of the Final Report of Project No. 96-8300-01-4. International Network for Bamboo and Rattan. Instituto Vallecaucano de Investigaciones Científicas. Cali, Colombia
- LUQUE, R.; SOUSA, H. C. Y J. E. KRAUS. 1996. Métodos de coloração de Roesser (1972) modificado e Kropp (1972) visando a substituição do Azul de Astra por Azul de Alcão 86S ou 86X. *Acta Bot. Brasil*. 10:199-212
- LUQUE, R.; N. L. DE MENEZES & J. SEMIR. 1999. Anatomía foliar de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Asteraceae). *Plántula* 2(3): 141-15
- MARCH y CLARK. 2011. Sun-shade variation in bamboo (Poaceae: Bambusoideae) leaves. *Royal Botanic Gardens and Domain Trust. Telopea* 13(1–2) 93–104.
- MARN. 2002. Información hidrológica y meteorológica del Estado Mérida. Informe Nacional de Venezuela CLD. Caracas, Venezuela.

- MARQUEZ, E., FARIÑAS, M., BRICEÑO, B. y RADA, F. 2004. Distribution of grasses along an altitudinal gradient in a Venezuelan páramo. *Revista Chilena de Historia Natural*. 77: 649-660
- MÁRQUEZ, E.; RADA, F. y FARIÑAS, M. 2006. Freezing tolerance in grasses along an altitudinal gradient in the Venezuelan Andes. *Oecología* 150:393-397.
- MAXIMOV, N. A. 1931. The Physiological Significance of the Xeromorphic Structure of Plants. *Journal of Ecology*, Vol. 19, No. 2. pp. 273-282.
- McCLURE, F. A. 1973. Genera of Bamboos Native to the New World. *Smithsonian Contributions to Botany* 9: 1-148.
- METCALFE, C.R. y CHALK, L. 1960. *Anatomy of Monocotyledons 1. Gramíneas*. Clarendon Press, Oxford.
- MONASTERIO, M. 1979. El páramo desértico en el altiano de Venezuela. En: ML Salgado-Labouriau (ed): *El medio ambiente páramo*. Pp. 150-159. UNESCO-IVIC, Caracas.
- MONASTERIO, M. 1980a. Las formaciones vegetales de los páramos de Venezuela. En: Monasterio, M. (Ed). *Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos*. Editorial de la Universidad de Los Andes, Mérida, pp. 93-158
- MONASTERIO, M. 1980b. Los Páramos Andinos como región natural. Características biogeográficas generales y afinidad con otras regiones andinas. En: Monasterio, M. (Ed): *Estudios Ecológicos en los Páramos Andinos*. Editorial de la Universidad de Los Andes. Mérida, pp. 15-27.
- 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*, Editorial de la Universidad de Los Andes, Mérida, pp. 47-91.
- MONASTERIO, M. 2002. Evolución y transformación de los páramos en la Cordillera de Mérida: paisajes naturales y culturales en Venezuela. En: *Paisajes culturales en los Andes: memoria narrativa, casos de estudio, conclusiones y recomendaciones de la Reunión de expertos, Arequipa y Chivay, Perú, mayo de 1998*. Lima: UNESCO, 2002. p. 99-109: cartes, ill., graph., bibliogr. p. 108-109
- MONTIEL, M.; JIMÉNEZ, V y GUEVARA, E. 2006. Ultraestructura del bamboo *Guadua angustifolia* var. *bicolor* (Poaceae: Bambusoideae), presente en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* Vol 54(Suppl. 2):13 -19.
- MONTTI, L.; GRACIANO, D. y GOLDSTEIN, G. 2009. Anatomical traits of woody bamboos useful for taxonomic identification: A case of study in neotropical species.

- MONTILLA, F. 2009. La hojarasca y su papel en la erosión hídrica en dos ecosistemas y agroecosistemas de los Andes Venezolanos. Tesis de doctorado: Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. ULA.
- MOTOMURA, H.; HIKOSAKA, K. y SUZUKI, M. 2008. Relationships between photosynthetic activity and silica accumulation with ages of leaf in *Sasa veitchii* (Poaceae, Bambusoideae). *Annals of Botany* 101: 463-468.
- NIÑO, S.; CLARK, L. y DORR, L. 2006. Una especie de *Chusquea* (Poaceae: Bambusoideae) de la Cordillera de Mérida, Venezuela. *Brottopmoa* 58 (1): 46-51
- OKUTOMI, KIYOSHI, SHINODA, SHIGEYUKI y FUKUDA HIROKO. 1996. Causal analysis of the invasion of broad-leaved forest by bamboo in Japan. *Journal of Vegetation Science* 7:723-728
- PENFOUND W. T. 1931. Plant Anatomy as Conditioned by Light Intensity and Soil Moisture. *American Journal of Botany*, Vol. 18, No. 7. pp. 558-572
- PRYCHID, C.; RUDALL, P. J. y GREGORY M. 2003. Systematics and Biology of Silica Bodies in Monocotyledons. *Botanical Review*, Vol. 69, No. 4. pp. 377-440
- PYYKÖ, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonia xeromorphic plants. *Ann. Bot. Fenn.* 3: 453-622.
- RADA, F.; GOLDSTEIN, G; AZOCAR, A. y MEINZER, F. 1985. Freezing avoidance in Andean giant rosette plants. *Plant, Cell and Environment* 8, 501-507
- RADA F., GOLDSTEIN, G., AZOCAR, A. y TORRES, F. 1987. Supercooling along an Altitudinal Gradient in *Espeletia Schultzii*, a Caulescent Giant Rosette Species. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 38, No. 188, pp. 491-497
- RAMOS, M. C. y PLONCZANK, M. 2007. Dinámica sucesional del componente arbóreo luego de un estudio destructivo de biomasa en el Bosque Universitario San Eusebio, Mérida- Venezuela. *Revista Forestal Venezolana*. 51 (1). pp.35-46.
- REICH, P. B.; WALTERS, M. B. AND ELLSWORTH, D. S. 1992. Leaf Life-Span in Relation to Leaf, Plant, and Stand Characteristics among Diverse Ecosystems. *Ecological Monographs*, Vol. 62, No. 3. pp. 365-392.
- RICARDI M, J GAVIRIA & J ESTRADA. 1997. La flora del superpáramo venezolano y sus relaciones fitogeográficas a lo largo de Los Andes. *Plántula (Venezuela)* 1: 171-187.
- ROJAS, M. 2002. Anatomía de los órganos vegetativos y tallos floral de los géneros *Orthosantus*. S y *Sisyrinchium*. L (Iridaceae) que crecen en el Parque Nacional Sierra

- Nevada de Mérida. Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 93 pp.
- SAAS, J. E. 1958. *Botanical Microtechnique*. 3ª ed. Iowa State College Press, Ames. USA.
  - SAKAI, A. y LARCHER, W. 1987. Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress. En: Billings, W.D., Golley, F., Lange, O. J., Olson, J.S. y H. Remmert (Ed.) 1987. *Ecological Studies*. Vol. 62. Springer-Verlag, Berlin. Pp
  - SALGADO-LABOURIAU, M. L.; SCHUBERT, C. y VALASTRO, S. 1977. Paleoeologic Analysis of a Late-Quaternary Terrace from Mucubaji, Venezuelan Andes. *Journal of Biogeography*, Vol. 4, No. 4, pp. 313-325
  - SALGADO-LABOURIAU M. L., BRADLEY, R. S.; YURETICH, R. y WEINGARTEN B. 1992. Paleoeological Analysis of the Sediments of Lake Mucubaji, Venezuelan Andes. *Journal of Biogeography*, Vol. 19, No. 3, pp. 317-327
  - SARMIENTO, F. 1987. Desde la selva hasta el mar: Antología ecológica del Ecuador. Ed. Casa de la Cultura Ecuatoriana. Quito.
  - SCHUBERT, C. y VIVAS, L. 1993. El Cuaternario de la Cordillera de Mérida, Andes Venezolanos. Universidad de Los Andes. Fundación Polar. Mérida- Venezuela. Pp 108-121
  - SCHULZE, E.; BECK, E. and MÜLLER-HOHENSTEIN, K. 2002. *Plant Ecology*. Springer Berlin. Germany. Pp. 61-93
  - SHIELDS, L. M. 1950. Leaf Xeromorphy as Related to Physiological and Structural Influences. *Botanical Review*, Vol. 16, No. 8. pp. 399-447
  - SHIELDS, L. M. 1951. Leaf Xeromorphy in Dicotyledon Species from a Gypsum Sand Deposit. *American Journal of Botany*, Vol. 38, No. 3. pp. 175-190
  - SMITH, J. M. B. and CLEEF, A. M. 1988. Composition and Origins of the World's Tropicalpine. *Journal of Biogeography*, Vol. 15, No. 4, pp. 631-645
  - SODERSTORN, T. R., HILU Y, K. W., CAMPBELL, C. S. y BARKWORTH, M. E. 1987. *Grass Systematics and Evolution*. Smithsonian Institution Press, Washington.
  - SQUEO, F.; RADA, F.; AZOCAR, A.; GOLDSTEIN, G. 1991. Freezing tolerance and avoidance in high tropical Andean plants: Is it equally represented in species with different plant height?. *Oecología* 86: 378-382.
  - SQUEO, F.; RADA, F.; GARCÍA, C.; PONCE, M.; ROJAS, A. y AZÓCAR, A. 1996. Cold resistance mechanisms in high desert Andean plants. *Oecologia* 105: 552-555.

- STAPLETON, C.M.A. 1997. Morphology of woody bamboos. In Chapman, G.P. (ed.), The Bamboos: 251-267. Academic Press.
- STERN M., CLARK, L. y JUDZIEWICZ, E. 1999. Bamboos in native landscapes pp. 55-86. En: Judziewicz, E., Clark, L., Londoño, X y Stern, M. (Eds.). 1999. American Bamboos. Smithsonian Institution. USA.
- STEYERMARK. 1979. Plant refuge and dispersal centres in Venezuela. In: K. Larsen & L. B. Holm- Nielsen (Eds.) Academic Press, London. Tropical Botany, pp. 185-221
- Tanaka,
- TAIZ, L. y ZEIGER, E. 1998. Plant physiology. Sinauer Associates, Inc., Publisher. Segunda edición. USA. pp. 735-740.
- TIRADO, C. 1997. Estudio florístico de una comunidad andina escandente. Tesis de pregrado. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Centro Jardín Botánico, Mérida.
- TORRES, F., GAVIRIA, J. y PERAZA, J. 1996. Anatomía foliar de *Oritrophium* (H.B.K) Cuatrec. Del páramo de Sierra Nevada, Estación Loma Redonda.
- TORRES, F. 1998. Anatomía foliar en *Coespeletia* Cuatrec del Páramo de Piedras Blancas. Plan Estructural Básico y sus Modificaciones. Trabajo especial para ascender a la categoría de Profesor Titular. Universidad de Los Andes. Centro Jardín Botánico.
- TYREE AND YANG. 1992. Hydraulic Conductivity Recovery versus Water Pressure in Xylem of *Acer saccharum*. Plant Physiology, Vol. 100, No. 2. pp. 669-676
- VAN DER HAMMEN, T. 1974. The Pleistocene changes of vegetation and climate in tropical South America Journal of Biogeography. Vol 1, N° 1, 3-26
- VAN DER HAMMEN, T. 1988. The Tropical Flora in Historical Perspective. Taxon, Vol. 37, No. 3, pp. 515-518.
- VAN DER HAMMEN, T. 2000. Aspectos de historia y ecología de la biodiversidad norandina y amazónica. 24 (91): 231-245.
- VAN DER HAMMEN, T.; NOLDUS, G. y SALAZAR, E. 2003. Un diagrama de polen del pleistoceno final y holoceno de Mullumica. Maguaré 17:247- 259pp
- VAN DER HAMMEN, T. and CLEEF, A. M. 1983. Trigonobalanus and the Tropical Amphi-Pacific Element in the North Andean Forest. Journal of Biogeography, Vol. 10, No. 5 pp. 437-440
- VARESCHI V. 1970. Flora de los páramos de Venezuela. Universidad de los Andes. Ediciones del Rectorado. Mérida, Venezuela

- VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S.; SARAHYBA, L. S.; and ARRUDA, R. C. O. 2002. Leaf anatomy of three herbaceous bamboo species. *Braz. J. Biol.*, 62(4B): 907-922, 2002
- WOODWARD, F. 1986. Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* L. taken from a wide altitudinal range.
- WOODWARD, F. and BAZZAZ, F. 1988. The responses of stomatal density to CO<sub>2</sub> partial pressure. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 39, N° 209, pp. 1771-1781.
- WOODWARD V F. I. and KELLY, C. K. 1995. The Influence of CO<sub>2</sub> Concentration on Stomatal Density. *New Phytologist*, Vol. 131, No. 3. pp. 311-327.
- WOODWARD, F. I.; LAKE, J. A. and QUICK, W. P. 2002. Stomatal Development and CO<sub>2</sub>: Ecological Consequences. *New Phytologist*, Vol. 153, No. 3, Special Issue: Stomata. pp. 477-484

**Referencia de internet:**

CORPOANDES. 2007. Dossier Municipio Arzobispo Chacón. (Acceso: 6 de Abril de 2011)